

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE**



**Université de Mouloud MAMMERRI de Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de Biochimie-microbiologie**

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Biologie

Option : Biochimie appliquée

Thème

Etude bibliographique des effets des rayonnements électromagnétiques (micro-onde) et les ultrasons sur les aliments et évaluation physicochimiques de quelques produits alimentaires commercialisés.

Présenté par : BEHLOUL Lyes

MOKRANI Milila

Devant le jury

Présidente : M^{me} ABDOUNE S Maitre assistante A à l'UMMTO

Promotrice : M^{me} ISSELNANE S Maitre assistante B à l'UMMTO

Examinatrices : M^{me} DERMECHE S Maitre assistante A à l'UMMTO

M^{me} SENOUSSE C Maitre assistante A à l'UMMTO

Année : 2015/2016.

REMERCIEMENT

Avant tout on remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé, la force et le courage mais surtout la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

Nous tenons à exprimer notre profonde et sincère gratitude à Mr MATI A qui nous a proposé ce sujet, et à notre promotrice Melle ISSELNANE Souad, pour sa gentillesse, sa disponibilité et sur tout pour ses remarques et ses conseils, sa disponibilité et la bienveillance dont elle a toujours fait preuve durant ce travail.

Nous remercions vivement Mme ABDOUNE S., Maitre assistante A à l'université Mouloud MAMMARI de Tizi-Ouzou, qui nous a fait l'honneur de présider le jury de notre soutenance.

Nos remerciements s'adressent également à Mme DERMECHE S. Maitre assistante A à l'université Mouloud MAMMARI de Tizi-Ouzou et Mme SENOUSI C. Maitre assistante A à l'université Mouloud MAMMARI de Tizi-Ouzou, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nos profond remerciement vont également à nos chers familles et les personnes qui nous ont aidés et soutenue durant tout le long de notre cursus.

Nous adressons nos sincères remerciements à tous les professeurs, qui nous ont chaleureusement encadré et soutenu tout le long du stage et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé nos réflexions et ont accepté à nous rencontrer et répondre à nos questions durant notre recherche.

MERCI

DEDICACES

Je dédie cet humble travail avec grand amour, sincérité et fierté :

A mes chers parents vraiment aucune dédicace ne sera exprimer mon attachement, mon amour et mon affection je vous offre ce modeste travail en témoignage de tous les sacrifices et l'immense tendresse ;

A mes sœurs Tinhinane et Ania à qui je souhaite beaucoup de réussite et de bonheur ;

A mes grands- parents paternel et maternel, mes grandes –mère paternel et maternel, mes oncles paternel et maternel et mes tantes paternel et maternel ;

A mes copines avec qui j'ai passé des moments les plus agréables (Ferroujda, Fadhila, Ouiza, Celia et Hassina), à mon binôme Lyes avec qui j'ai partagé ce travail et surmontée toutes les difficultés rencontrées à sa réalisation ;

Enfin à tous ceux qui sont chères, proches de mon cœur et à tous ceux qui m'aiment et qui auraient voulu partager ma joie.....

Milila

DEDICACE

Je dédie mon mémoire :

A mes chers parents, pour leurs soutiens, patiences et leurs sacrifices durant mes études et durant ce projet ;

A mon frère Ghiles et mes sœurs Melissa, Nassima et Ouiza en témoignage de la fraternité, avec mes souhaits de bonheur de santé et de succès ;

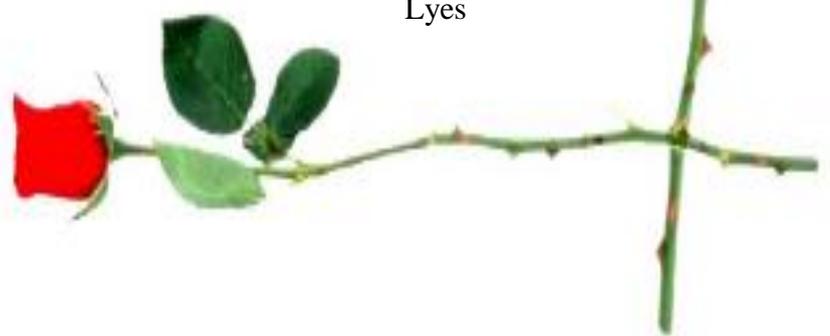
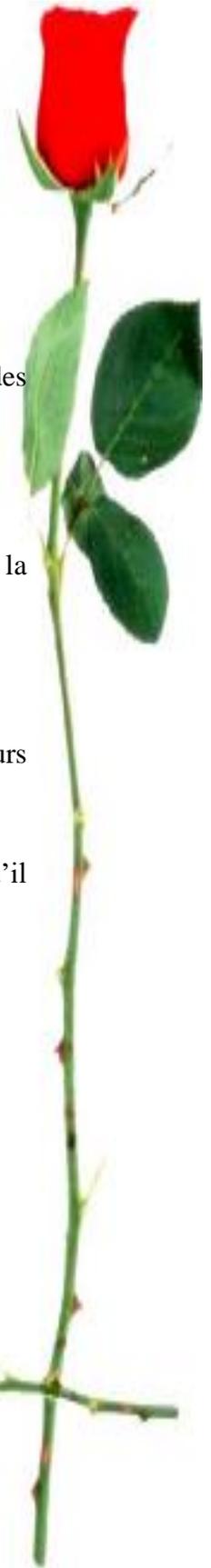
A tous les membres de ma famille et mes amis pour leurs conseils et leurs encouragements ;

Et à tous ceux qui ont contribué de pré ou de loin à la réalisation de ce travail, qu'il trouve ici notre gratitude et de notre reconnaissance.

A tout les membres de ma promotion

A tout mes enseignants depuis mes premières années d'études.

Lyes



SOMMAIRE

Etude bibliographique

Introduction.....1

I Les micro-ondes

I.1 Généralités sur les ondes électromagnétiques.....2

I.1.1 Rayonnements non-ionisants.....2

I.1.2 Rayonnements ionisants.....3

I.2 Utilisation des micro-ondes en agroalimentaire et leurs effets sur les aliments.....3

I.2.1 Le principe de fonctionnement des fours à micro-ondes.....3

I.2.2 Les applications agroalimentaires des micro-ondes.....4

I.2.3. Les avantages et les risques de l'utilisation des micro-ondes sur les aliments...9

I.2.4 Quelques conseils d'utilisation des fours à micro-ondes.....13

II Les ultrasons

II.1 Généralités.....15

II.2 Mécanisme de fonctionnement des ultrasons.....16

II.3 Applications agro-alimentaires.....17

II.3.1 Application des ultrasons dans la transformation des aliments.....17

II.3.2 Application des ultrasons dans la conservation des aliments.....20

II.3.3 Application des ultrasons dans l'extraction.....22

II.3.4 Autres applications.....23

II.4 Les effets des ultrasons sur les aliments.....25

II.5 Dangers pour la santé humaine.....25

Conclusion.....26

Partie pratique

I Matériels et méthodes

I.1 Matériels	27
I.1.1 Matériels biologique.....	27
I.1.2 Produits chimique, réactifs et solvants.....	27
I.1.3 Appareillage et verreries.....	27
I.2 Les méthodes	28
I.2.1 Les méthodes physicochimiques	28
I.2.1.1 Dosage des protéines par la méthode de Bradford.....	28
I.2.1.2 Détermination de l'indice d'iode et d'acidité d'une matière grasse	29
I.2.1.3 Dosage des sucres par la méthode de DNS (acide 3,5 dinitrosalicylique) (MILLER, 1959)	30
I.2.1.4 Dosage de la vitamine C dans différentes catégories de jus.....	31
I.2.2 Méthodes chromatographiques.....	32
I.2.2.1 Chromatographie de perméation sur gel de SEPHACRYL S200.....	32
I.2.3 Méthodes électrophorétiques.....	32
I.2.3.1 Electrophorèse en PAGE-native.....	32
I.2.3.2 Electrophorèse en PAGE-SDS.....	33
I.2.4 Hydrolyse enzymatique des protéines sériques du lait de vache par la trypsine.....	33

II Résultats et discussion

II.1 Méthodes physico-chimiques.....	35
II.1.1 Dosage des protéines du lait par la méthode de BRADFORD (1976).....	35
II.1.2 Détermination des indices d'acide et d'iode d'une matière grasse.....	36
II.1.2.1 Détermination de l'indice d'acide.....	36
II.1.2.2 Détermination de l'indice d'iode.....	37

II.1.3 Dosage des sucres réducteurs par la méthode utilisant l'acide 3,5 dinitrosalysilique (DNS).....	38
II.1.4 Dosage de la vitamine C dans un jus d'orange.....	40
II.2 Chromatographie d'exclusion moléculaire sur gel de SEPHACRYL S200.....	42
II.3 Isolement et caractérisation électrophorétique des séroprotéines bovines en PAGE-native.....	43
II.4 Hydrolyse enzymatique des protéines sériques du lait de vache par la trypsine.....	44
Conclusion.....	47
Références bibliographiques.....	49
Annexes	

Liste des abréviations :

α -La : l' α -lactalbumine

β -Lg : β -lactoglobuline

Da : Daltons

dB : Décibel

DO : Densité Optique

Hz: Hertz

Kj: kilo joule

KPa: Kilo Pascal

M : Molarité

mA : milliampère

MHz: Mégahertz

N : Normalité

PAGE : Electrophorèse sur Gel de Polyacrylamide

pHi : Potentiel d'hydrogène isoélectrique

PM : Poids Moléculaire

R²: coefficient de corrélation

SDS : Sodium Dodécyl Sulfate

TEMED: N,N,N',N'-Tetra methyl-ethylene diamine

Tris: Tris hydroxyl-methyl-amino-methane

UHT: Upérisation Haute Température

Liste des figures :

Numéro de la figure	Le titre	Numéro de la page
1	Spectre électromagnétique.	2
2	La structure de base d'un four à micro-onde.	4
3	Domaine de fréquence des sons.	15
4	Schématisation de l'outillage de découpe.	18
5	Produire d'une émulsion par a : agitation mécanique ; b/ par ultrason.	19
6	Extraction d'huile essentielle de basilic par les ultrasons.	23
7	Courbe étalon pour la détermination de la concentration des protéines du lait par la méthode de Bradford (1976).	29
8	Courbe étalon pour le dosage des sucres réducteurs dans des jus par la méthode de DNS.	31
9	Les étapes de l'hydrolyse trypsique des protéines sériques du lait de vache.	34
10	Les concentrations protéiques des différents échantillons du lait.	35
11	L'acidité et l'indice d'acide de l'huile d'olive et de tournesol.	37
12	Concentrations en sucres réducteurs en (mg/ml) de quelques variétés de jus.	39
13	Concentrations en vitamine C de quelques jus commercialisés.	41

14	Chromatogramme des protéines sériques du lait de vache sur gel de SEPHACRYL S200.	43
15	Electrophorègramme des fractions protéiques obtenu après une chromatographie de perméation.	44
16	Electrophorègramme montrant les résultats d'une hydrolyse enzymatique des protéines sériques du lait de vache en PAGE-SDS.	45

Liste des tableaux :

Numéro du tableau	Le titre	Numéro de page
I	Chauffage de certains aliments liquides par le four micro-onde et leurs effets.	7
II	Autres applications des ultrasons dans la transformation des aliments.	24
III	L'indice d'iode de l'huile d'olive et de tournesol.	38
IV	Résultats du dosage de la vitamine C après différent traitements.	42

Synthèse

bibliographique

Introduction

Introduction

Les produits alimentaires, tels que les fruits et légumes, les graisses et les huiles, les produits laitiers, la viande, sont des mélanges complexes de vitamines, de sucres, de protéines, de lipides et de composés minéraux. Avant que ces produits puissent être commercialisés, ils doivent être traités et conservés. Différentes méthodes peuvent être utilisées à cet effet, par exemple la friture, le séchage et la cuisson. Néanmoins, de nombreux ingrédients et produits alimentaires sont bien connus pour être thermiquement sensibles et vulnérables aux changements chimiques, physiques et microbiologiques. Ceci a conduit à l'utilisation de nouvelles techniques durables et innovantes telles que le traitement par ultrasons et par micro-ondes.

Les micro-ondes se réfèrent aux ondes électromagnétiques dans la gamme de fréquences de 300 à 300 000 mégahertz. Elles ont de nombreuses applications dans des domaines aussi variés que le téléphone cellulaire, le four à micro-ondes ou les systèmes de réception par satellite de la télévision.

De nos jours, le recourt aux micro-ondes pour la cuisson, le chauffage et la décongélation des aliments est chose courante. Dans un four, lorsqu'une micro-onde traverse la matière, elle agite les molécules sensibles, surtout les molécules d'eau. Cette agitation représente une augmentation de la température des molécules. Les micro-ondes ont donc des effets thermiques. Cependant, la sécurité de ces aliments a suscité un certain intérêt public. En effet, la qualité nutritionnelle de ces aliments serait abaissée et des produits chimiques nocifs seraient formés pendant la cuisson aux micro-ondes.

L'ultrason est une onde mécanique et élastique, qui se propage au travers de supports fluides, solides, gazeux ou liquides. La gamme de fréquences des ultrasons se situe entre 20 000 et 10 000 000 Hertz, trop élevées pour être perçues par l'oreille humaine.

L'utilisation des ultrasons dans la technologie alimentaire pour le traitement, la conservation et l'extraction est un système qui a évolué au cours des dernières années. Les ultrasons offrent un net avantage en terme de productivité, de rendement et de sélectivité, avec un meilleur temps de traitement, une qualité améliorée, une réduction des risques chimiques, et la préservation de l'environnement en réduisant l'utilisation de l'eau et des solvants, et la production de substances dangereuses.

Les objectifs du présent document sont : de présenter les principes de base du fonctionnement des fours à micro-ondes et des ultrasons ; d'identifier les risques alimentaires associés à l'utilisation des micro-ondes et des ultrasons ; et de déterminer le risque pour la santé en raison de la consommation d'aliments exposés aux micro-ondes et aux ultrasons, ainsi que l'application de certaines méthodes physicochimiques, chromatographiques et électrophorétiques sur quelques produits commercialisés.

I. Les micro-ondes

I.1 Généralités sur les ondes électromagnétiques

Le spectre électromagnétique (figure 1) comprend une gamme des ondes électromagnétiques de fréquence allant de 0 jusqu'à 10^{22} Hertz, qui sont classés par ordre croissant commençant par des fréquences extrêmement basses, les fréquences très basses (ELF/VLF), les fréquences radio (RF), les micro-ondes, les infrarouges (IR), lumière visible, les ultraviolets (UV), les rayons X et enfin les rayons gamma.

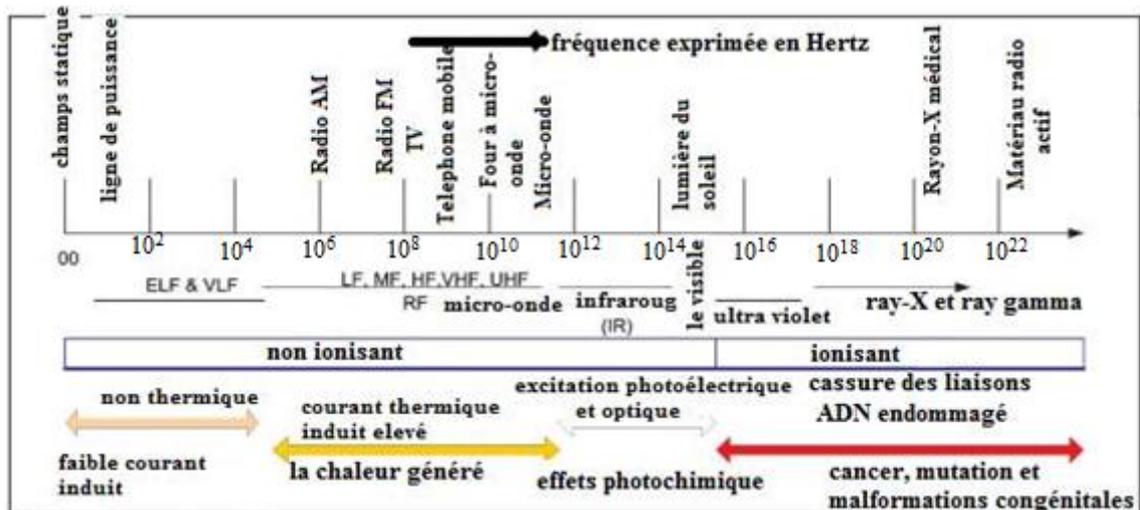


Figure 1 : Spectre électromagnétique et effet général des rayonnements pour différentes gammes (ZAMANIAN et HARDIMAN, 2005).

Ce spectre électromagnétique est subdivisé en rayonnements ionisants et rayonnements non ionisants.

I.1.1 Rayonnement non-ionisants

La partie inférieure du spectre électromagnétique est constituée de rayonnements électromagnétiques non-ionisants, avec des niveaux d'énergie inférieurs à celui requis pour les effets au niveau atomique. Parmi ces rayonnements non ionisants on trouve les fréquences radio (RF), les micro-ondes, les ondes millimétriques, les infrarouges (IR) et la lumière visible (ZAMANIAN et HARDIMAN, 2005). Cependant, les chercheurs ne sont pas sûrs de l'effet spécifique résultant d'une exposition prolongée à des rayonnements non-ionisants (ZAMANIAN et HARDIMAN, 2005).

I.1.2 Rayonnements ionisants

Le rayonnement ionisant possède une énergie électromagnétique suffisante pour affecter les atomes et les molécules à partir des tissus et modifier les réactions chimiques dans le corps (conversion totale ou partielle des molécules en ions). Les ultraviolets, Les rayons X et les rayons gamma sont des formes des rayonnements ionisants (ZAMANIAN et HARDIMAN, 2005).

Certaines études suggèrent, que les risques possible pour la santé pourraient être liés à une exposition excessive à des grandes puissances de rayonnement électromagnétique. Ces risques pour la santé comprennent le cancer, les tumeurs, la fatigue, la maladie d'Alzheimer et la maladie de parkinson (ZAMANIAN et HARDIMAN, 2005).

I.2 Utilisation des micro-ondes en agroalimentaire et leurs effets sur les aliments

Les micro-ondes ont été découvertes durant la seconde guerre mondiale (1945), par l'ingénieur américain Percy Spencer qui travaillait sur l'élaboration de magnétrons pour radars. Alors qu'il passait à proximité d'un magnétron en activité, il découvrait que sa tablette de chocolat située dans sa poche avait fondue. A partir de là l'idée d'utiliser les micro-ondes à des fins alimentaires a vu le jour.

L'expression «micro-ondes» fait référence à un rayonnement électromagnétique dans la gamme de fréquences de 300 MHz à 300 GHz, avec une longueur d'onde de 1 mm à 1 m (AHMED et RAMASWAMY, 2007). Les ondes électromagnétiques sont des perturbations du champ électromagnétique composé à la fois d'un champ électrique et d'un champ magnétique. Elles peuvent aussi bien se propager dans l'air, dans le vide ou dans n'importe quel corps. Elles n'ont pas besoin de support pour se déplacer avec une vitesse égale à la vitesse de la lumière ($3 \cdot 10^8$ m/s) (ANDRE, 2008).

Le four à micro-onde domestique (figure 2) produit des ondes de 915 à 2450 mégahertz. Il est composé :

- d'un magnétron (électrode producteur de micro-onde) dans lequel l'énergie électrique est convertie en un champ électromagnétique oscillant ;
- d'un guide d'onde qui dirige les micro-ondes générés par le magnétron dans la cavité de cuisson ;
- d'un agitateur pour distribuer les micro-ondes et permettre un chauffage plus uniforme des aliments ;

- d'une plaque tournante qui permet à l'aliment d'être uniformément exposé aux micro-ondes ;
- et d'une porte spécialement conçue pour empêcher la fuite des micro-ondes hors du four.

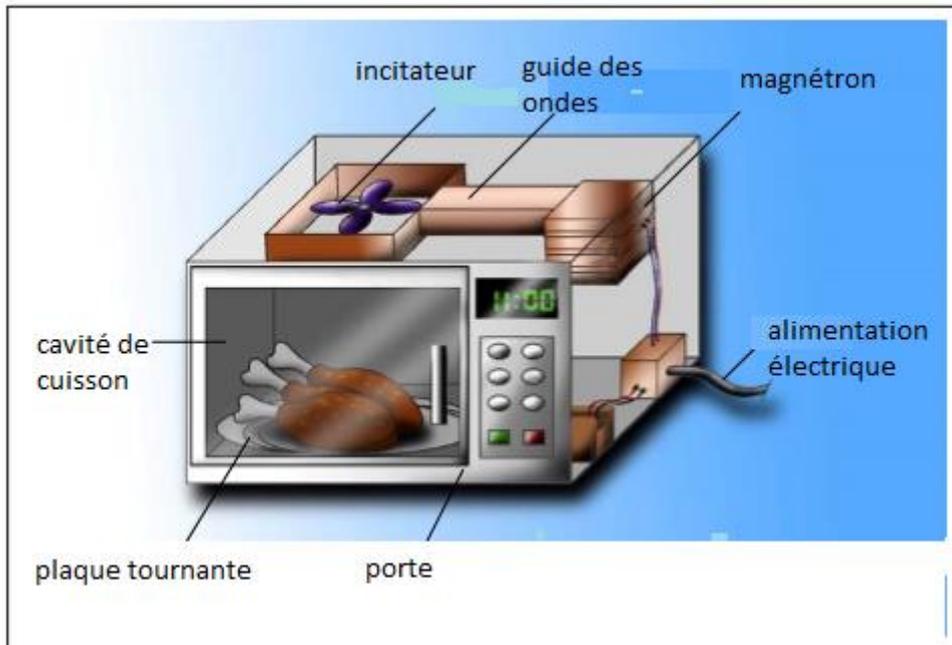


Figure 2 : Structure de base d'un four à micro-ondes (Anonyme 1, 2005).

I.2.1 Le principe de fonctionnement des fours à micro-ondes

Dans le corps du four à micro-onde, des ondes électromagnétiques de hautes fréquences sont produites par un magnétron, ces micro-ondes pénètrent directement dans l'aliment pour exciter et agiter les molécules d'eau et les ions. Ces dernières sont agitées environ 4,5 milliard de fois par seconde, ce qui génère de la chaleur et par la suite conduit à l'élévation de la température. Les deux mécanismes principaux, à savoir les interactions dipolaires et ioniques, expliquent comment la chaleur est générée à l'intérieur des aliments (SALAZAR-GONZALEZ *et al*, 2011).

Lorsque les micro-ondes pénètrent les aliments, une interaction dipolaire se produit; les molécules d'eau et d'autres molécules polaires ont tendance à s'aligner avec le champ électrique. Sous l'action de ces ondes, les molécules d'eau continuent à être agitées en créant un frottement intense consécutif qui génère de la chaleur pour chauffer l'aliment (ANDRÉ, 2008 ; HOSSAN *et al*, 2010).

Outre les molécules d'eau dipolaires, des composés ioniques (comme les sels dissous) dans les aliments peuvent également être accélérés par le champ

électromagnétique. Lorsque les solutions ioniques sont exposées à un champ de micro-ondes, les ions sont obligés de circuler d'abord dans un sens, puis dans le sens opposé lors d'un champ alternatif rapide. Les collisions résultant entre les ions et les autres molécules provoquent la conversion de l'énergie cinétique des ions mobiles en énergie thermique (SALAZAR-GONZALEZ *et al*, 2011).

Une solution ayant une forte concentration d'ions serait d'une collision ionique plus fréquente et présente donc une augmentation de température supérieure à celle d'une solution à faible concentration d'ions (SUAREZ *et al*, 2000; SINGH et HELDMAN, 2009).

La forme alimentaire, le volume, la surface, la composition d'un aliment et l'équipement de traitement sont des facteurs essentiels dans le chauffage par micro-ondes. Ces facteurs peuvent influencer sur la quantité et la distribution de l'énergie absorbée (FU, 2004 ; YANG et GUNASEKARAN, 2004).

Les micro-ondes ont trois caractéristiques qui se prêtent à la préparation des aliments :

- elles sont réfléchies par le métal ;
- elles traversent facilement le verre, le papier et le plastique ;
- elles pénètrent dans les aliments jusqu'à 2 ou 3 cm de profondeur. Cette ampleur de la pénétration est déterminée par la propriété diélectriques (YAM et LAI, 2006).

I.2.2 Les applications agroalimentaires des micro-ondes

Les micro-ondes sont utilisées dans de nombreuses applications. Ils peuvent être utilisés dans l'industrie pharmaceutique (séchage des produits thermosensibles) (OBERLINE, 1999), la décontamination des déchets hospitaliers (OBERLINE, 1999), le traitement de caoutchouc et des résines...etc. (OBERLINE, 1999). Cependant, leur application dans les industries alimentaires et agricoles ainsi que dans notre vie quotidienne, comme outil de réchauffage des aliments est le plus utilisé.

I.2.2.1 La cuisson

Lors de la cuisson par micro-ondes, la chaleur est produite à l'intérieur de l'aliment, alors qu'avec un four conventionnel, la chaleur est perdue lorsque l'air chaud à l'intérieur du four échappe à l'extérieur. De ce fait, on a moins de perte d'énergie avec la cuisson par les micro-ondes, ce qui nous permet d'économiser au moins 20% de l'énergie (HILL et ILSI, 1998).

Lors de la cuisson, le phénomène d'évaporation se produit, les vapeurs d'eau ne trouvent pas une porte de sortie que par éclatement. Si on cuit un œuf dur ou avec sa coquille dans un four à micro-onde, il pourrait éclater, même chose quand on chauffe les tomates entières et les légumes ou les fruits qui possèdent de l'eau. Pour éviter cet éclatement, il faut piquer leurs peaux avant de les mettre dans le four à micro-onde (HOFFMAN et ZABIK, 1985).

Une étude a été faite par VILLAMIEL *et al* (1996) sur le changement chimique pendant la cuisson du lait cru dans un four à micro-onde. Ces expériences ont montré que la proline du lait subissait une isomérisation provoquant un nouvel arrangement spatial de la molécule et aboutissant à la synthèse d'une autre molécule neuro-toxique : la D proline.

I.2.2.2 Le chauffage et le séchage

Les opérations de chauffage et de séchage par les micro-ondes ont trouvé plusieurs applications dans la transformation des aliments au niveau des industries agro-alimentaires (tableau I), certaines de ces utilisations se basent sur la concentration des solutions ou des suspensions sensibles à la chaleur (YUAN et PAL, 1995), tel que le séchage de miel (CUI *et al*, 2008) et la lyophilisation du lait écrémé (WANG et GUOHUA, 2005).

Le chauffage par les micro-ondes est une technologie émergente qui permet d'agir sur les propriétés de conservation par la réduction du nombre des microbes dans les aliments (TANG *et al*, 2002). Le chauffage a lieu en raison de l'interaction électromagnétique des rayonnements à certaines fréquences avec des matériaux diélectriques, ceci est aussi appelé un chauffage volumétrique (ZHU *et al*, 2007).

La profondeur d'un matériau est inversement proportionnelle à la fréquence. Par conséquent, une pénétration plus profonde des ondes serait obtenue à des fréquences plus basses, alors que des fréquences plus élevées entraîneraient un réchauffement de la surface (WANG, 2009).

D'une manière générale, le temps et la température du procédé de chauffage dépendent d'un certain nombre de facteurs y compris la composition, la taille, la qualité, la forme, la densité et l'état physique de l'aliment.

La réduction du temps de séchage peut être très bénéfique pour préserver la couleur et l'arôme de l'aliment (VENKATESH et RAGHAVAN, 2004). La qualité peut souvent être améliorée par l'utilisation du vide. Cela réduit les contraintes thermiques,

ainsi que l'oxydation pendant le traitement. YONGSAWATDIGUL et GUNASEKARAN (1996) ont montré que la texture et la couleur des canneberges séchées sous vide par un four à micro-onde étaient meilleures que celles des échantillons séchés à l'air. Le séchage du poisson le préserve en inactivant les enzymes et en éliminant l'humidité nécessaire pour la croissance bactérienne et les moisissures (BLIA et MONDOL, 2001 ; BELLAGHA *et al*, 2002 ; DUAN *et al*, 2004).

Tableau I : Chauffage de certains aliments liquides par le four micro-onde et leurs effets (CLAUDIA *et al*, 2011)

Aliments	Les conditions de traitement	Les résultats
Jus de pomme	Chauffage à température situé entre 52,5 et 65°C, 700 W, ou Chauffage discontinu à 76,2°C, pendant 60 s, 720 W ou 70,3 ° C, pendant 90 s, 900 W	Taux de destruction plus rapide de <i>S. Cerevisiae</i> et <i>L. Plantarum</i> par rapport au chauffage conventionnel.
L'eau de noix de coco	Chauffage discontinu à température de 52 à 92.9C° pendant 25s	Inactivation plus vite de la polyphénole oxydase et peroxydase par apports au chauffage conventionnel
Jus de pamplemousse	Chauffage discontinu par pasteurisation pendant 30s, 900W	Une meilleure conservation de l'acide ascorbique, l'acide phénolique totale et l'activité antioxydante.
Lait	Traitement par un flux continu à la micro-onde à température allant de 80 à 92C°, pendant 15s, 523W	Meilleur caractéristiques organoleptiques.

	Chauffage par un flux continu à une T° situé entre 137.8 et 140.6°C.	
La purée de pomme de terre	Chauffage à 135°C, pendant 30s.	Aucun changement de la couleur et la viscosité.

I.2.2.3 La décongélation

Il s'agit de la méthode la plus rapide pour décongeler un aliment, cela dure quelques minutes seulement au lieu de quelques heures. Cependant, il faut savoir qu'aux micro-ondes, les aliments peuvent décongeler de manière inégale (OBERLIN, 1999).

Les techniques classiques de décongélation en chambre froide, par vapeur ou eau chaude, posent aux industriels un certain nombre de difficultés : pertes de matières par exsudats du fait d'un séjour relativement long en chambre froide (48 heures à -4°C ou 24 heures à température positive), développement de bactéries et oxydations des viandes (OBERLIN, 1999).

La décongélation par les micro-ondes réduit considérablement la perte par exsudation. Pour la viande de bœuf, les pertes seraient de l'ordre de 5% par les procédés traditionnels (PRIOU et DECAREAU, 1981), deux ou trois fois moindre par les micro-ondes. La diminution de l'exsudat permet une meilleure préservation de la texture et l'aspect d'un aliment décongelé. Cette technologie permet un gain sur la qualité des produits, un gain de matières par diminution des pertes de poids liée à la réduction des exsudats, et un gain dans l'organisation de la production (PRIOU et DECAREAU, 1981).

La décongélation aux micro-ondes présente une qualité bactériologique très remarquable et peut avoir aussi un effet bactéricide propre, puisque dans certains cas, le produit renferme des densités bactériennes plus faibles après qu'avant la décongélation.

BEZANSON *et al* (1973) ont constaté une amélioration de la qualité organoleptique des aliments décongelés dans un four à micro-onde par rapport à ceux décongelés traditionnellement. En se référant à des essais de National Fishery Service (Etat Unis), on conclue que les poissons décongelés par les micro-ondes sont riches en protéines, et leurs qualités gustative est améliorée.

I.2.2.4 La pasteurisation et la stérilisation

En raison des effets thermiques indiscutables des micro-ondes, elles peuvent être utilisées pour la pasteurisation et la stérilisation. Quelques exemples d'aliments tels que le yogourt, et le lait pré-emballés ont été pasteurisés et stérilisés (HELMAR *et al*, 2007).

VALERO *et al* (2000) ont évalué les changements chimiques et sensoriels dans le lait pasteurisé dans un four à micro-ondes et par un chauffage classique. D'après les résultats, aucune différence n'a été observée dans les valeurs de pH, concentration des monosaccharides, et des composés volatils de tous les échantillons ni après le traitement, ni pendant la période de stockage. Le goût et l'odeur de laits traités aux micro-ondes ne sont pas affectés pendant le traitement. Le chauffage aux micro-ondes était apparemment une bonne alternative à la pasteurisation classique selon cette étude.

I.2.3 Les avantages et les risques de l'utilisation des micro-ondes sur les aliments

I.2.3.1 Les avantages

L'utilisation de la technologie des micro-ondes a gagné l'acceptation dans l'industrie alimentaire pour plusieurs types de procédés tels que le chauffage, la décongélation et le séchage, (DATTA et ANANTHESWARAN, 2001; TOURABI *et al*, 2008; SAKIYAN *et al*, 2010 ; CAMPANONE et ZARITZKY, 2005, 2009). Ils offrent plusieurs avantages qualitatifs et quantitatifs par rapports aux techniques traditionnelles :

- le chauffage aux micro-ondes est plus efficace que le chauffage classique, car la chaleur est générée au sein de la nourriture (SUAREZ *et al*, 2000), ce qui nous permet une économie d'énergie ;
- le temps de chauffage pour de nombreux matériaux est d'environ un quart du temps utilisé dans le chauffage conventionnel ;
- la réduction de la dégradation thermique des nutriments essentiels et l'augmentation de la rétention des facteurs de qualité alimentaire (SUAREZ *et al*, 2000) ;
- le rendement global d'un système de micro-ondes est très élevé à cause de l'efficacité des magnétrons à haute puissance (85% à 900 MHz, 80% à 2450 MHz), (MEREDITH, 1998) ;
- le chauffage permet le transfert rapide d'énergie dans les aliments (DORANTES-ALVAREZ *et al*, 2000);
- le chauffage aux micro-ondes préserve la saveur, les caractéristiques sensorielles, et la couleur des aliments (AHMED et RAMASWAMY, 2007) ;

- les systèmes de chauffage peuvent être activés ou désactivés instantanément (DATTA, 2003).

I.2.3.2 Les risques sur les aliments

L'inconvénient majeur reconnu dans le chauffage par le four à micro-ondes est la distribution non uniforme de la température dans les aliments (VADIVAMBAL et JAVAS, 2010). Cette distribution non uniforme a été observée principalement dans les aliments solides (MANICKAVASAGAN *et al*, 2006). Cependant, le chauffage par micro-ondes est adapté pour les aliments liquides dans les systèmes continus, mais d'autres inconvénients et risques peuvent avoir lieu.

I.2.3.2.1 Risques chimiques

Les processus de cuisson, en particulier ceux à haute température sont connus pour induire la production de substances potentiellement cancérigènes. La cuisson par micro-ondes peut également augmenter la production de substances cancérigènes ou mutagènes dans les aliments. Cependant, il n'y a pas de preuve scientifique que la production de toute substance cancérigène augmenterait avec le chauffage par micro-ondes (Anonyme 1, 2005).

La formation de produits chimiques cancérogènes peut avoir lieu dans certains types d'aliments à la suite d'un séchage ou d'une cuisson. Parmi ces substances cancérogènes, les amines hétérocycliques (HCAs), groupe de composés présents dans la viande cuites, les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), contenant deux ou plusieurs noyaux aromatiques, et les nitrosamines qui sont formés par une réaction entre un agent de nitrosation (par exemple, des nitrites) et d'une amine secondaire ou tertiaire (Anonyme 1, 2005).

Une étude (JONKER *et al*, 1995) a été menée pour comparer l'effet de la cuisson par les micro-ondes avec d'autres méthodes conventionnelles sur la formation de ces produits chimiques. Il a été constaté que la cuisson par micro-ondes n'a pas produit une quantité importante de HCAs, nitrosamines ou HAP dans les produits carnés. L'utilisation de la cuisson par micro-ondes pour précuire la viande avant la cuisson au barbecue a en effet été recommandée afin de minimiser la formation de HCA et les HAP.

Il a également été rapporté que d'autres produits chimiques peuvent être formés à la suite de la cuisson par micro-ondes. Cependant, leur association avec la cuisson à micro-ondes n'a pas été confirmée (Anonyme 1, 2005).

I.2.3.2.2 Risques microbiologiques

Les résultats de nombreuses études (WELT *et al*, 1994 ; HILL et ILSI, 1998 ; CELANDRONI *et al*, 2004) ont conclu que la cuisson par micro-ondes est aussi efficace que les méthodes conventionnelles, et peut tuer les agents pathogènes d'origine alimentaire à condition que la température appropriée et le temps soient atteints (Au moins 75 °C pendant 15 secondes).

Le chauffage inégal des aliments lors de la cuisson dans un four à micro-ondes ne peut induire à des températures adéquates pour tuer les microorganismes, donc l'aliment reste contaminé. Ceci pourrait être évité en couvrant la nourriture pendant la cuisson aux micro-ondes (HILL et ISLI, 1998).

I.2.3.2.3 Perte d'éléments nutritifs

Les protéines seraient dénaturées, avec la modification de la structure moléculaire lors du chauffage. Les vitesses de dégradation dépendent du temps de chauffage et de la température. Il a été démontré que la valeur nutritive des protéines dans des aliments traités par chauffage classique et micro-ondes sont comparable (PETRUCELLI *et al*, 1994 ; HILL et ISLI, 1998).

Le chauffage des aliments conduirait à diverses réactions de décomposition (à savoir les réactions d'oxydation) de ses constituants lipidiques, y compris des triglycérides saturés et des acides gras insaturés, ainsi que le cholestérol, en présence d'oxygène (HILL et ISLI, 1998).

L'augmentation subséquente de produits d'oxydation de graisse est particulièrement préoccupante pour la santé. Diverses études ont été conduites pour étudier la stabilité des lipides lors de la cuisson aux micro-ondes, y compris l'étude de l'hydrolyse des triglycérides dans le soja, le jaune d'œuf et de la viande, etc (HILL et ISLI, 1998). Les données disponibles ont suggéré que la cuisson par micro-ondes n'a pas entraîné de manière significative des modifications chimiques.

De nombreuses études ont été menées pour comparer la rétention des vitamines dans les différents types de viande et de légumes soumis à la cuisson traditionnelle et aux micro-ondes (DECAREAU, 1992). La rétention des vitamines dans les aliments

chauffés aux micro-ondes est égale ou mieux que les aliments préparés de manière classique en raison du temps de chauffage plus court. La rétention des vitamines varie avec la taille et la forme de la nourriture, le temps de cuisson, la température interne, etc.

I.2.3.2.4 Risques liés aux matériaux de cuisson

De nos jours, des matériaux d'emballage ou contenant sont en plastique, en papier, en verre, en céramique et en métal. Cependant, toutes ces matières ne conviennent pas à la cuisson aux micro-ondes. Les matériaux tels que le plastique, le papier, le verre et la céramique sont généralement transparents aux micro-ondes. Cependant, certains d'entre eux peuvent absorber certaine quantité d'énergie à micro-ondes et donc de réduire la quantité d'énergie qui doit être absorbée par les aliments (Anonyme 1, 2005).

D'autre part, il y a eu des inquiétudes sur la possibilité de transfère de ces matériaux chimiques en contact avec les aliments (par exemple les matières plastiques, etc.) dans la nourriture pendant la cuisson (Anonyme 1, 2005).

Parmi les matières plastiques, les plus couramment utilisés pour la cuisson par micro-ondes sont le polypropylène et le polyéthylène téréphtalate cristallin (CPET), qui ont des points de fusion de 210-230°C. Même si le polyéthylène peut être utilisé pour les aliments à haute teneur en eau, il ne peut pas être utilisé pour les aliments à forte teneur en graisse ou en sucre car ces aliments peuvent atteindre une température au-dessus de 100°C pendant la cuisson aux micro-ondes (HILL et ISLI, 1998).

Pour le papier et le carton, ils peuvent absorber une énergie micro-ondes. Cependant, pas tous les types de papier ne sont appropriés pour la cuisson par micro-ondes. CASTEL et al (1994) ont révélé que les aliments emballés avec des papiers cirés peuvent être contaminés par des hydrocarbures cirés après la cuisson aux micro-ondes.

Après avoir traversé le récipient en verre, l'énergie des micro-ondes peut être concentrée au centre, d'où la température au centre peut être beaucoup plus élevée que l'extérieur (HILL et ISLI, 1998).

La céramique elle-même est adaptée à la cuisson aux micro-ondes. Cependant, il a été observé que des étincelles se sont produites lorsque le conteneur en céramique avec une jante en métal doré a été utilisé (HILL et ISLI, 1998).

L'énergie des micro-ondes serait réfléchiée par les métaux. Elle n'est pas en mesure de pénétrer dans l'aliment. L'utilisation de récipients en métal pour la cuisson aux micro-ondes n'est donc pas recommandée (Anonyme 1, 2005).

I.2.3.2.5 Brulures physiques

Le chauffage de l'eau seulement dans une tasse à l'aide des micro-ondes peut entraîner une eau surchauffée. La température atteint un point d'ébullition sans paraître à ébullition. Pour éviter l'eau surchauffée, il faut éviter un chauffage excessif de l'eau ou des liquides dans le four à micro-ondes, ou laisser reposer l'eau pendant au moins 30 secondes avant de la déplacer ou de mettre d'autres ingrédients dans l'eau (Anonyme 1, 2005).

I.2.3.2.6 Risques de rayonnements

Il y a eu des préoccupations au sujet de la fuite des micro-ondes provenant des fours à micro-ondes. D'une manière générale, les fours à micro-ondes sont spécialement conçus de telle sorte que l'alimentation est coupée lorsque la porte est ouverte. Les micro-ondes peuvent être divulguées si la porte ne correspond pas bien ou si elle est endommagée (Anonyme 1, 2005).

I.2.4 Quelques conseils d'utilisation des fours à micro-ondes

- lire le manuel du four soigneusement pour voir les techniques de manipulation recommandées et les méthodes de nettoyage ;
- ne pas faire fonctionner le four à micro-ondes si la porte ne ferme pas bien ou le four ne fonctionne pas correctement ;
- garder le four à micro-ondes propre ;
- utiliser des ustensiles et plastiques fabriqués spécialement pour la cuisson par micro-ondes ;
- ne pas utiliser des récipients avec une décoration métallique, sacs de rangement en plastique, des sacs d'épicerie en plastique, plateaux en mousse ou une feuille d'aluminium pour la cuisson par micro-ondes ;
- respecter les bonnes pratiques d'hygiène, comme se laver les mains avant et après la manipulation des aliments ;
- couvrir les aliments avec une pellicule en plastique, cependant, laisser une petite partie sans couvert pour laisser échapper la vapeur, car ces aliments peuvent devenir extrêmement chaud et faire fondre la pellicule;

- cuire les gros morceaux de viande à puissance moyenne pendant des périodes plus longues. Cela permet à la chaleur d'atteindre le centre de la viandes sans cuisson les parties extérieures ;
- pour une cuisson uniforme, coupées en petits morceaux et mettre les aliments uniformément sur un plat;
- laisser reposer la nourriture pendant deux minutes après la cuisson ;
- bien cuire les aliments. Cas de volaille et de la viande qui doivent être cuits jusqu'à ce que le jus soit clair ;
- décongeler complètement les aliments congelés avant de les cuire dans le four à micro-ondes, car des parties dégelées et congelés dans le même aliment peut conduire à une cuisson inégale ;
- couvrir les aliments avec un couvercle pour four à micro-ondes pour assurer le chauffage sécuritaire et uniforme (Anonyme 1, 2005).

II les ultrasons

II.1 Généralités

Les ultrasons, tout comme les sons audibles, sont des ondes mécaniques et élastiques, c'est-à-dire des vibrations d'un milieu. La différence entre un son et un ultrason est la fréquence à laquelle le milieu vibre, qui se mesure en Hertz. On parle d'ultrasons quand la vibration se fait entre 16000 Hertz et 10 millions d'Hertz. La gamme de fréquences audibles par l'homme se situe entre 16 et 16 000 Hertz (figure 3).

Les sons les plus aigus que peut entendre notre oreille sont de l'ordre de 16000 à 18000 Hertz pour les enfants, mais guère plus de 14000 Hertz pour les adultes... C'est pourquoi on ne peut pas entendre les ultrasons !

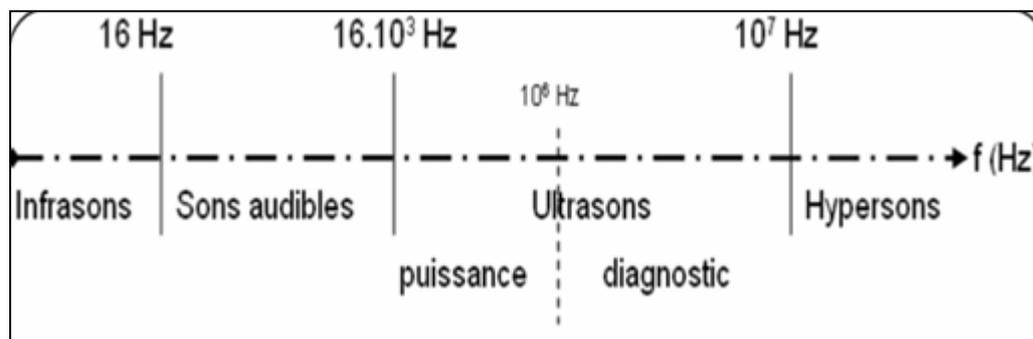


Figure 3 : Domaine de fréquence des sons (LAUGIER, 2007)

Le système de production des ultrasons est formé d'un générateur, un transducteur, avec un système d'application. Ce générateur produit de l'énergie électrique qui sera converti en ultrasons à l'aide d'un transducteur (ERCAN *et al*, 2013).

La production des ultrasons repose sur trois types d'émetteurs qui sont utilisés pour générer des ultrasons, en utilisant la transformation de l'énergie électrique transportée par des courants alternatifs de fréquence élevée en énergie mécanique (des vibrations du milieu) (MULET *et al*, 2003), on distingue des :

- générateurs piézoélectriques constitués d'une mosaïque de lamelles de quartz, reliées à une source de courant alternatif. Lors de l'application de cette tension, les lamelles de quartz sont alors déformées et produisent des vibrations mécaniques qui sont transmises au milieu dans lequel se trouve l'appareil ;
- générateurs magnétostrictifs constitués de corps ferromagnétiques (ex : tôles de nickel), placés dans un champ magnétique variable. Ce type d'émetteur ne permet pas la production d'ultrasons de fréquence supérieure à 50 KHz ;

- générateurs électrostrictifs constitués de corps en céramiques placés dans un champ électrique variable (ERCAN *et al*, 2013) ;

Il est à noter que les ultrasons (fréquence située entre $16 \cdot 10^3$ et 10^7 Hz) sont communément utilisés par les animaux pour communiquer ou pour se diriger, tel que les chauves souris qui utilisent les ultrasons comme sonar pour se diriger (LAUGIER, 2007).

On classe les ultrasons en fonction de leurs fréquences (les ultrasons de puissance, forte intensité et faible fréquence, de 16 à 1000 KHz. Et les ultrasons de diagnostic, faible intensité et haute fréquence, de 1 à 10 MHz), et de leurs intensités acoustique (PETIT *et al*, 2002).

La vitesse de propagation (célérité, c en mètre /seconde) dépend de la masse volumique du milieu traversé ainsi que son élasticité (exemple : 1500m/s dans l'eau et 343 m/s dans l'air).

Les ultrasons sont utilisés dans l'industrie ainsi que dans le domaine médical. Les ultrasons ainsi créés peuvent se propager dans l'air, ou bien dans un liquide.

II.2 Mécanisme de fonctionnement des ultrasons

Les ultrasons se propageant dans l'air peuvent servir en médecine, ou encore dans l'alimentation, pour découper des aliments,...etc. Les ultrasons ont également de nombreuses applications lorsqu'ils se propagent dans un liquide ; celles-ci sont le plus souvent basées sur un phénomène physique appelé la cavitation. Cette dernière est caractérisée par la formation de microbulles dans un liquide. Elle apparaît quand une forte pression négative est appliquée au liquide et que, la pression tombe plus bas que la pression de vapeur du liquide (LAUGIER, 2007).

Ces bulles sont remplies par la forme vapeur des gaz dissous dans le liquide, ou par la vapeur du liquide. Elles subissent au même titre que le liquide, les alternances de compressions et de dépressions, modifiant ainsi leur volume (LAUGIER, 2007).

On distingue deux types de cavitation : la cavitation stable qui a lieu à faible intensité ultrasonore (SUSLICK, 1989), de l'ordre de 1 à 3 W/cm² (RATOARINORO, 1992). Dans ce cas les bulles de gaz vibrent avec une faible amplitude autour d'une position d'équilibre pendant plusieurs cycles et les variations de volume s'effectuent de manière stable. Après des milliers de cycles, il se crée une circulation autour de ces bulles (micro-courant). Alors que la cavitation transitoire a lieu à forte intensité

ultrasonore (SUSLICK, 1989), elle se produit sous des pressions supérieures à 10W/cm² (RATOARINORO, 1992).

Sous certaines conditions, les bulles atteignent une taille telle que la vapeur contenue dans ces bulles se condense brutalement, engendrant des chocs très violents entre les molécules. Les chocs, ainsi créés, s'accompagnent très localement d'une augmentation très importante de la température instantanée (5500°C), et de la pression (5.10⁴ kPa) en très peu de temps (de l'ordre de la microseconde), ainsi que de la formation de radicaux libres, tels que le peroxyde d'hydrogène (LAUGIER, 2007).

II.3 Applications agro-alimentaires

II.3.1 Application des ultrasons dans la transformation des aliments

II.3.1.1 Découpe des aliments

La découpe de produits alimentaires à l'aide des ultrasons est relativement récente. Le premier brevet dans ce secteur (découpe de pâtisserie) date de 1974. Depuis, cette technologie s'est fortement développée compte tenu des solutions qu'elle apporte à de nombreuses problématiques de la découpe des aliments mous, collants, moelleux, friables, hétérogènes. Elle est plus adaptée aux produits dits fragiles.

La découpe par ultrasons se fait grâce à la sonotrode (lame) et permet de diviser les produits selon une géométrie précise afin d'obtenir des morceaux de taille réduite. Ce ne sont pas les ultrasons qui assurent la découpe. Ces derniers sont, en effet, appliqués à la lame possédant une géométrie particulière. En vibrant à haute fréquence (20KHz), cette lame fait des micro- déplacements d'une amplitude variant entre 30 et 100 microns. Le fil de lame est alors soumis à une grande accélération mécanique, ce qui provoque la découpe ou le tranchage du produit sous la lame (CHEMAT *et al*, 2011) (figure 4).

II.3.1.2 Emulsification-homogénéisation

Si une bulle de cavitation s'effondre près de la surface de la couche de deux liquides non miscibles de limite de phase, l'onde de choc résultante peut fournir un mélange très efficace des deux couches, ce qui entraîne la formation de très fines émulsions, très stables (figure 5) (CANSELIER *et al*, 2002; FREITAS *et al*, 2006). Cela a été bien appliqué sur des produits pétrochimiques, polymères, produits chimiques, le textile, les cosmétiques et les industries pharmaceutiques et est en cours d'élaboration pour les produits alimentaires tels que les jus de fruits, la mayonnaise et le ketchup (WU *et al*, 2000).

Pour des applications telles que la mayonnaise, une excellente couleur blanche est produite qui reflète la petite taille des particules et leur distribution étroite (résultats non publiés) (WU *et al*, 2000).

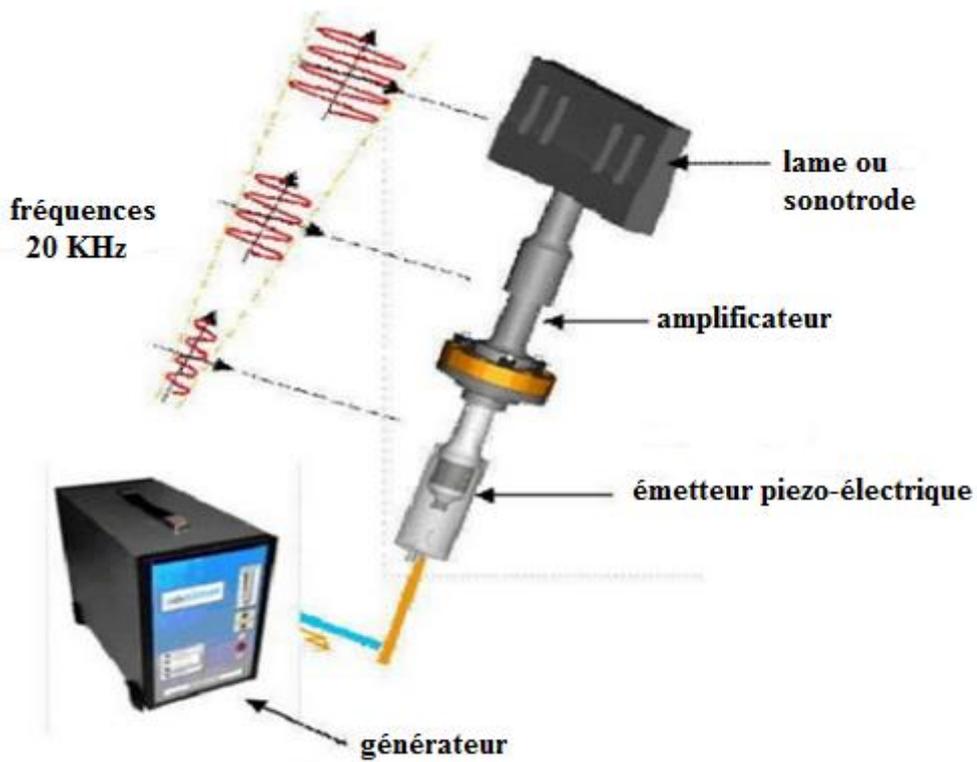


Figure 4 : Schématisation de l'outil de découpe (Anonyme 2, 2012).

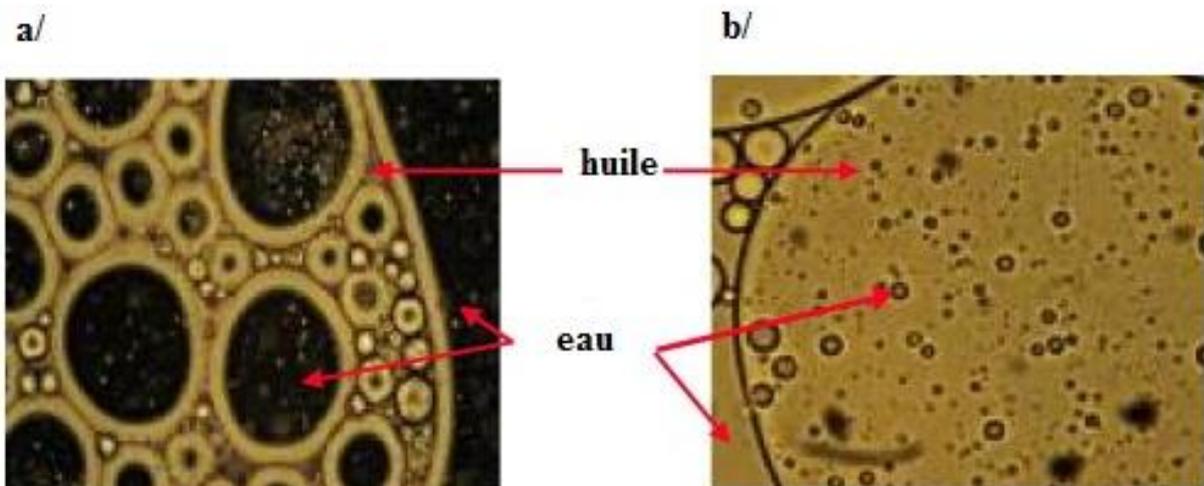


Figure 5 : Produire d'une émulsion par a : agitation mécanique ; b/ par ultrason (CHEMAT *et al*, 2011).

II.3.1.3 Viscosité

L'ultrason peut être appliqué pour augmenter ou diminuer la viscosité et, en fonction de l'intensité, temporaire ou permanente. La cavitation provoque le cisaillement qui, dans le cas des fluides thixotropes provoque une diminution de la viscosité. Ce qui est souvent un phénomène temporaire. Cependant, si suffisamment d'énergie est appliquée, le poids moléculaire peut être diminué entraînant une réduction de la viscosité permanente (SESHADRI *et al*, 2003). Récemment, BATES *et al* (2006) ont montré que l'inverse est également possible. Dans certaines purées de légumes, les ultrasons permettent en fait une meilleure pénétration de l'humidité dans le réseau de fibre qui provoque une augmentation de la viscosité de la purée de tomate.

II.3.1.4 Démoussage

La mousse est une dispersion de gaz dans un liquide. Les mousses trouvent des applications dans un large éventail de procédés industriels, y compris la production alimentaire et les produits cosmétiques (CHEMAT *et al*, 2011).

Le moussage intensif dans la plupart des processus technologiques a des conséquences négatives telles que la violation des règles de fabrication et la stérilité des procédés biotechnologiques, et l'augmentation des pertes de produits.

Dans l'industrie alimentaire, la mousse a toujours été contrôlée par l'utilisation de marteaux mécaniques, en abaissant la température du récipient d'emballage au-dessous du milieu ambiant, ou par l'addition d'antimousses chimiques (MOREY *et al*, 1999 ; MASON *et al*, 2005). Néanmoins, des problèmes subsistent, par exemple, les méthodes mécaniques ne sont efficaces que pour les mousses grossières (CHEMAT *et al*, 2011).

La technologie des ultrasons aéroporté est appliquée commercialement pour atteindre le démoussage des boissons gazeuses, où le moussage affecte négativement la qualité ou les rendements des produits, des systèmes de fermentation et d'autres procédés alimentaires (GALLEGO, 1998; MOREY *et al*, 1999). Néanmoins, l'énergie transmise dans l'application de démoussage est assez grande pour briser un mince film de liquide dans la mousse et offre un moyen unique de détruire la mousse sans l'utilisation de disjoncteurs mécaniques ou par l'addition d'anti mousses chimiques, qui peuvent ne pas être souhaitable dans les procédés alimentaires (DE-SARABIA *et al*, 2006 ; RODRIGUEZ *et al*, 2010).

II.3.2 Application des ultrasons dans la conservation des aliments

II.3.2.1 Inactivation microbienne

L'ultrason a non seulement suscité un intérêt considérable dans l'industrie alimentaire en raison de ses effets positifs dans le traitement, mais plus récemment, en raison de ses effets prometteurs dans la conservation des aliments. KNORR (2004) montre une réduction réussie de *E. coli* dans l'œuf entier liquide au moyen d'ultrasons. En règle générale, la plupart des micro-organismes ont montré une plus grande sensibilité aux ultrasons à des températures supérieures à 50°C (SALA *et al*, 1995; VILLAMIEL et DE JONG, 2000).

La pasteurisation par les ultrasons à 50°C a le potentiel de préserver la qualité de nombreux produits alimentaires en termes de propriétés physico-chimiques, de couleur et de saveur, par rapport aux techniques de pasteurisation classiques à des températures beaucoup plus élevées (SALA *et al*, 1995 ; ERCAN *et al*, 2013).

Les ultrasons utilisés pour leurs effets bactéricides sont situés dans une plage de fréquence allant de 20 à 100 KHz, et ayant des intensités acoustiques supérieures à 10⁴ W/m² (PETIT *et al*, 2002).

Le traitement aux ultrasons en addition avec un solvant comme l'éthanol, permet une réduction de la concentration de *B.Sorokiniana* à 16 % par rapport au témoin négatif et une destruction totale du *Fusariums*, plus particulièrement le *F.Graminearum* pour la semence d'orge (NECHED, 2015). Le traitement aux ultrasons (150W, 20KHz) pendant 187 minutes à environ 14°C, à permis de détruire la forme végétative de *Staphylococcus aureus* présente dans le lait UHT (ORDONEZ *et al*, 1987). En comparant la pasteurisation et la termosonication du lait entier cru, à 63°C pendant une période de 0-30 minutes, BERMUDEZ-AGUIRRE *et al*, (2009) ont constatés que la pasteurisation seule permet une réduction de 11% en 10 minutes et 90% en 30 minutes de *L. Innocua* et des bactéries mésophiles, contre une réduction de 82% après seulement 10 minutes avec la termosonication.

L'inactivation des spores d'*Aspergillus Niger* par le traitement aux ultrasons à été étudié par JIMENEZ-MUNGUIA *et al* (2001). Le mécanisme de l'inactivation microbienne est expliqué par le phénomène de cavitation qui est causé par un changement de pression (ERCAN *et al*, 2011). Durant le processus de cavitation, des changements de pression et de température sont localisés et qui vont provoquer la lyse

cellulaire par rupture des membranes et fragmentation de l'ADN par les radicaux produits (SALA *et al*, 1995).

II.3.2.2 Inactivation enzymatique

Pour l'inactivation enzymatique, les réactions enzymatiques induisent des changements indésirables qui diminuent la durée de conservation et de stockage des aliments. Les traitements thermiques traditionnels appliqués lors de l'inactivation enzymatique peuvent induire la dénaturation des nutriments et donc diminution de la qualité des aliments. C'est pour cette raison qu'ils ont recours aux technologies non thermiques (ex des ultrasons) pour l'inactivation enzymatique dans les aliments (PIYASENA *et al*, 2003 ; FENG *et al*, 2011). Ce mécanisme d'inactivation est expliqué par le phénomène de cavitation (ERCAN *et al*, 2013).

II.3.2.3 Fermentation

Plusieurs procédés qui se déroulent en présence de cellules ou d'enzymes sont activées par des ondes ultrasonores. Les ultrasons à haute intensité peuvent briser les cellules ou dénaturer les enzymes, cependant les ultrasons à basse intensité peuvent améliorer le transfert de masse des réactifs et des produits à travers la couche limite ou à travers la paroi cellulaire et la membrane (SINISTERRA, 1992; PITT et RODD, 2003). MATSUURA *et al* (1994) ont montré une augmentation de la vitesse de fermentation de saké, de la bière et du vin, lorsqu'un ultrason d'intensité relativement faible a été appliqué au cours de la fermentation. Le mécanisme proposé est que l'ultrason (un excellent outil de dégazage) réduit la teneur en CO₂ du milieu (produit pendant la fermentation) qui inhibe normalement la fermentation.

II.3.3 Application des ultrasons dans l'extraction

Parmi les Lacunes des technologies d'extraction existantes, l'augmentation de la consommation d'énergie (plus de 70% du processus global nécessitent de l'énergie), un rejet élevé de CO₂ et une consommation importante de produits chimiques nocifs. Ces lacunes ont forcé les industries alimentaires et chimiques à trouver de nouvelles techniques dites «vertes» qui utilisent généralement moins de solvant et d'énergie, telles que l'extraction par les ultrasons (CHEMAT *et al*, 2011).

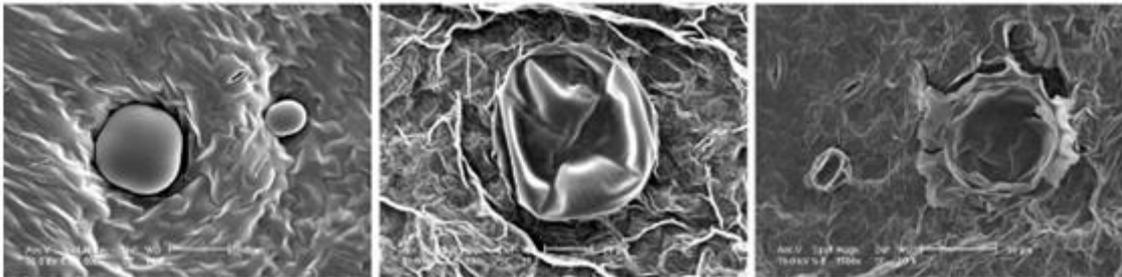
L'extraction de composés organiques à partir de plantes ou de graines a été classiquement basé sur la combinaison judicieuse de solvant, de la chaleur et / ou d'agitation. Cela peut être considérablement améliorée par l'utilisation d'ultrasons à haute intensité, comme l'énergie produite à partir de l'effondrement des bulles de

cavitation permet une plus grande pénétration du solvant dans le matériau cellulaire et améliore le transfert de masse vers et à partir des interfaces (VINATORU, 2001 ; KNORR, 2003 ; ZHANG *et al*, 2003 ; LI *et al*, 2004; VILKHU *et al*, 2006).

A des intensités ultrasonores plus élevées (à savoir, Watts / cm²), les procédés d'extraction peuvent être encore améliorés avec la rupture des parois cellulaires et la libération des matériaux cellulaires.

Une autre application des ultrasons dans l'industrie alimentaire est l'extraction de composés végétaux. Comme le montre la figure 6, une bulle de cavitation peut être générée à proximité de la surface de la matière végétale. La haute pression et la température impliqués dans ce processus va détruire les parois cellulaires de la matrice végétale et leur contenu peuvent être libérés dans le milieu. Ceci est un outil très intéressant pour l'extraction des ingrédients des produits naturels (CHEMAT *et al*, 2011). BALACHANDRAN et ses collaborateurs (2006) ont étudié l'effet des ultrasons sur l'extraction de gingembre. Le rendement final d'extraction a été amélioré de manière significative.

(1)



(2)

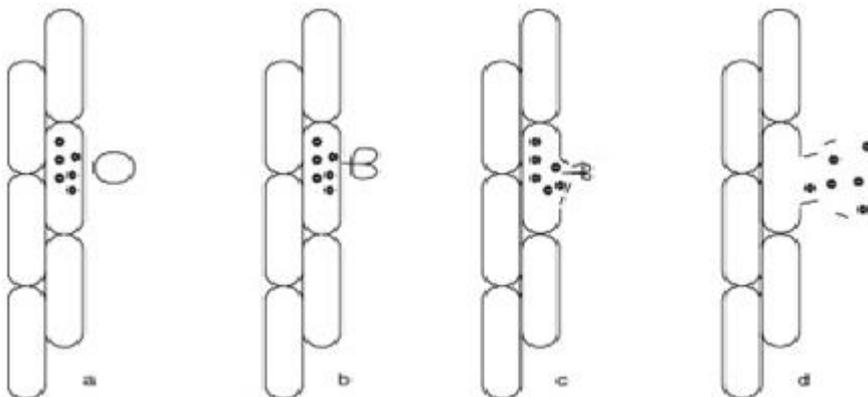


Figure 6 : Extraction d'huile essentielle de basilic par les ultrasons. (1) : vue sous microscope électronique (CHEMAT *et al*, 2011). (2) : (a : bulle de cavitation à

proximité de la paroi cellulaire d'un végétal, b : implosion de la bulle de cavitation, c : rupture de la paroi cellulaire après implosion, d : sorti du contenu cellulaire suite à une élévation de la température et de la pression).

II.3.4 Autres applications

Il existe un grand nombre d'autres applications potentielles des ultrasons de haute intensité dans la transformation des aliments, dont un certain nombre sont décrit ci-dessous (Tableau II).

Tableau II : Autres applications des ultrasons dans la transformation des aliments (CHEMAT *et al*, 2011).

Applications	méthodes conventionnelles	Le principe	Avantages	Produits
Cuisson	Cuisinière, bain d'eau, ...	Transfert de chaleur uniforme	-Moins de temps -Améliorer le transfert de la chaleur et de la qualité organoleptique	Viande, légumes
Congélation / cristallisation	Congélateur, congélation par immersion, par contact, ...	Transfert de chaleur uniforme	-Moins de temps -Petits cristaux -Améliorer la diffusion	Viande, légumes fruits, produits laitiers
Séchage	Atomisation, congélation, pulvérisation.	Transfert de chaleur uniforme	Moins de temps -Amélioration de la qualité organoleptique -Amélioration du transfert de chaleur	Produits déshydratés (fruits, légumes, ...)

Décapage / marinage	Eau salée	L'augmentation de transfert de masse	-Moins de temps -Amélioration de la qualité organoleptique -La stabilité du produit	Légumes, viande, poisson, fromage
Dégazage	Traitement mécanique	Phénomène de compression, raréfaction	-Moins de temps -Hygiène Améliorée	Chocolat, produits fermentés (bière, ...)
Filtration	Les filtres (membranes semi-perméables, ...)	Vibrations	-Moins de temps -Filtration Améliorée	Les liquides (jus de fruits, ...)
Démoulage	Moules graisser, moules en silicone	Vibrations	-Moins de temps -Réduction des pertes de produits	Les liquides (jus de fruits, ...) Les produits cuits (gâteau, ...)

II.4 Les effets des ultrasons sur les aliments

Les ultrasons sont à l'origine de la dépolymérisation de certaines macromolécules, comme l'amidon, ainsi que la polymérisation d'autres molécules, et la rupture de certaines zones d'ADN (SALA *et al*, 1995 ; VERCETA *et al*, 1997).

Ces modifications peuvent toucher même la structure quaternaire des protéines globulaires polymériques par rupture (PETIT *et al*, 2002), delipidation de certaines lipoprotéines, dissociation de l'hémoglobine avec modification de la structure de certains acides aminés. Ces modifications sont fortement dépendantes de la concentration de ces protéines et de la nature des gazes dissouts (SALA *et al*, 1995).

Les ultrasons entraînent l'inactivation de certaines enzymes tel que les lysozymes, des lipases, des protéases (VERCETA *et al*, 1997), des oxydases (BOISTIER *et al*, 1999), ainsi que le lactate déshydrogénase (SALAF *et al*, 1995). Par contre la catalase et la ribonucléase semblent être résistantes (SALA *et al*, 1995). Le mode d'action de

l'inactivation de ces enzymes n'est pas connu. Les radicaux libres pourraient en être la cause, alors que certains auteurs considèrent que le micro courant généré lors du phénomène de cavitation pourrait être à l'origine de l'inactivation enzymatique (VERCETA *et al*, 1997).

II.5 Dangers pour la santé humaine

A des niveaux de pression acoustique supérieurs à environ 155 dB, l'exposition a des ultrasons transmis dans l'air provoquera des effets nocifs aigus chez l'être humain, dus principalement à l'absorption de l'énergie sonore et au réchauffement subséquent, comme il peut créer une élévation de la température du corps à des niveaux correspondant à une fièvre légère pendant l'exposition, ou provoquer des lésions tissulaires et perte temporaire de l'audition suite à une exposition à des ultrasons transmis dans l'air, avec des risques d'effets néfastes sur l'ouïe (Anonyme 5, 1991).

Conclusion

La technologie utilise les micro-ondes et les ultrasons dans plusieurs domaines notamment dans l'industrie alimentaire. Dans ce travail nous avons vu que ces deux techniques présentaient certes des avantages considérables mais aussi des risques en raison des inévitables fuites d'ondes et des éventuelles perturbations génétiques des aliments.

De nombreuses études suggèrent que le traitement des aliments par les micro-ondes ou par les ultrasons induit à la perte de certains nutriments et au changement de structure chimiques. Ces ondes ont aussi un effet sur la santé humaine lors de l'exposition. Cependant, cette technologie possède certains avantages bien définis.

L'utilisation de micro-ondes est un moyen pratique pour décongeler, cuire ou réchauffer les aliments de nos jours. De nombreuses études ont été menées pour évaluer la sécurité ainsi que la possibilité de la perte de nutriments associée à la cuisson aux micro-ondes. De nombreuses études confirment que l'utilisation des micro-ondes pour la cuisson des aliments a donné lieu à des aliments avec des valeurs nutritionnelles comparables à ceux préparés par des procédés conventionnels, à condition que les consommateurs suivent les instructions données. L'utilisation appropriée des matériaux d'emballage pendant la cuisson aux micro-ondes aide à minimiser les risques résultant de la migration chimique à partir de matériaux d'emballage.

Les ultrasons peuvent jouer un rôle important en technologie alimentaire notamment dans la transformation, la conservation et l'extraction. L'utilisation des ultrasons peut maintenant être réalisée avec une reproductibilité élevée, ce qui réduit le coût du traitement, donne une plus grande pureté au produit final, élimine le post-traitement de certains aliments par rapport aux procédés classiques.

Des études récentes réalisées sur le marché concernant l'application à grand échelle de ces nouvelles technologies (comme les micro-ondes et les ultrasons) dans l'industrie alimentaire a révélé que de nombreuses entreprises sont réticentes quand à l'application de ces nouvelles technologies. La raison principale est la mauvaise compréhension de ces nouvelles techniques par les professionnels de l'alimentation et la raison ou le poids de la tradition.

Matériel et méthodes

Cette partie expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire pédagogique de biochimie de la faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques, de l'université Mouloud MAMMERY de Tizi-Ouzou.

I.1 Matériel

1.1.1 Matériel biologique

- lait de vache ; lait de sachet ; lait Candia.
- huile d'olive ; huile de tournesol.
- 04 sortes de jus commercialisés : Candia lacté ; Ramy orange ; Candia orange ; Ngaous orange ; Ramy boisson fraise.

1.1.2 Produits chimique, réactifs et solvants

- dosage des protéines : solution de BSA (sérum albumine bovine), NaCl (0,15 M), réactif de BRADFORD ;
- détermination des indices d'iode et d'acidité : empois d'amidon, éthanol, lugol, potasse (KOH), phénolphaléine, thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) ;
- dosage des glucides : Acide 3,5 dinitrosalicylique (DNS), solution de glucose (1 g/l) ;
- dosage de la vitamine C : 2,6 dichlorophénol indophénol (DCPIP), bicarbonate de sodium (Na_2CO_3), acide ascorbique ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$), acide acétique glacial.
- chromatographie de perméation sur gel de SEPHACRYL S200 : gel de séphacryl S200, tampon tris-HCl (0,02M, pH 8,4), bleu de dextran (1 mg/ml) ;
- l'hydrolyse enzymatique des protéines sériques du lait de vache par la trypsine : Tampon tris- HCl (pH 8,00), tampon d'échantillon pour PAGE-SDS, la trypsine ;
- l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide en conditions natives et dénaturantes : l'acrylamide ; Bisacrylamide ; bleu de comassie G250 ; glycine ; glycérol ; bleu de bromophénol ; Solution de persulfate d'ammonium ; SDS (sulfate dodécyl sodium) ; TCA ; TEMED ; 2-mercaptoéthanol ; méthanol ; acide acétique.

I.1.3 Appareillage et verreries

I.1.3.1 La verrerie

Tubes à essai ; burette ; béchers ; fioles jaugée ; entonnoirs ; éprouvettes graduées ; spatules ; pipettes graduées ; tubes à centrifugation ; micropipettes ; barreaux magnétiques.

I.1.3.2 Appareils

Balance de précision ; agitateur magnétique ; pH mètre ; bain marie ; spectrophotomètre ; centrifugeuse ; lyophilisateur ; chromatographie ; vortex ; autoclave.

I.2 Les méthodes

I.2.1 Les méthodes physico-chimiques

I.2.1.1 Dosage des protéines par la méthode de Bradford

BRADFORD(1976) a développé une technique basée sur l'adsorption du colorant bleu de comassie G250, se manifestant par le changement de sa couleur du brun orange en bleu après liaison non covalente (liens ioniques et interactions hydrophobes) avec les protéines. La densité optique peut être mesurée au spectrophotomètre à 595 nm.

C'est une méthode très performante, très sensible et très rapide, utilisée pour doser les faibles quantités de protéines, elle est aussi résistante à la plupart des interférents qui nuisent à la plupart des autres méthodes. Elle est considérée comme technique très simple et peu coûteuse, mais présente certains inconvénients tel que la non détection des peptides et protéines de faible poids moléculaire.

La teneur en protéines dans les échantillons est déterminée à l'aide de la courbe d'étalonnage $DO=f(C)$ établie avec l'albumine sérique bovine comme standard protéique (figure 7), et cela après mesure de la densité optique des différents échantillons. Le mode opératoire est donné en annexe1.

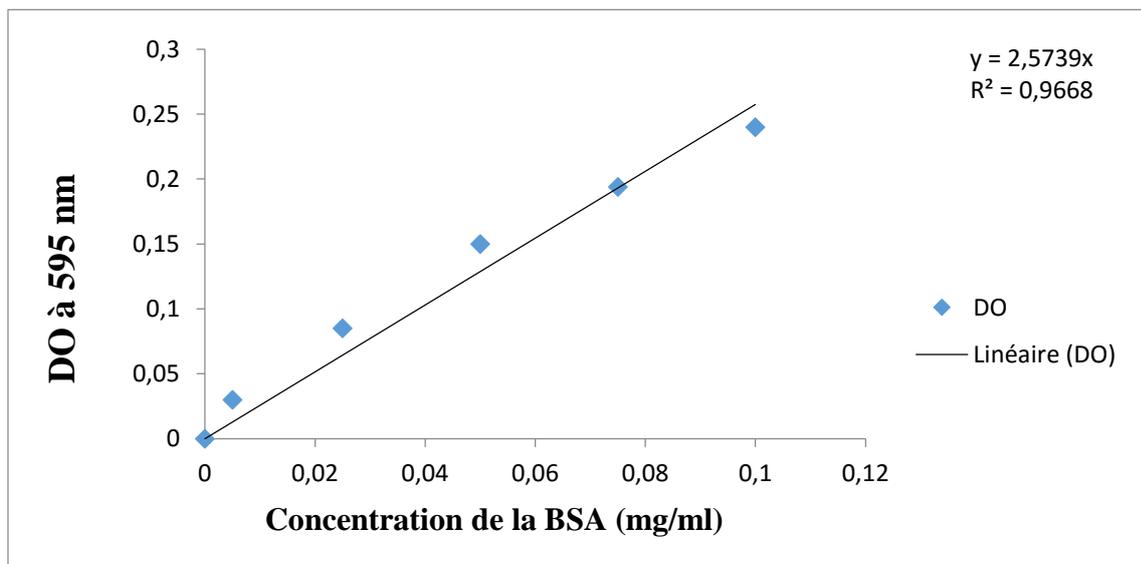


Figure 7 : Courbe étalon pour la détermination de la concentration des protéines du lait par la méthode de Bradford (1976).

Une autre méthode peut être utilisée pour le dosage des protéines, c'est la méthode colorimétrique de LOWRY *et al* (1951). Cette méthode est basée sur l'obtention d'un composé chromogène par une réaction d'oxydo réduction. Cette dernière a lieu entre, d'une part, des groupements de la protéine notamment les groupements phénoliques du tryptophane, de la tyrosine et dans une moindre mesure ceux de la cystéine et histidine (la liaison peptidique est aussi impliquée) et d'autre part, le réactif de Folin Ciocalteu. Cette réaction donne naissance à un complexe coloré : le bleu de molybdène (couleur bleu foncée) dont l'intensité est mesurée à 750 nm.

I.2.1.2 Détermination de l'indice d'iode et d'acidité d'une matière grasse

I.2.1.2.1 Détermination de l'indice d'acide

L'indice d'acide (I_a) d'un lipide est la masse d'hydroxyde de potassium (KOH), exprimée en milligrammes, nécessaire pour neutraliser l'acidité libre contenue dans un gramme de corps gras. La teneur en acides gras libres augmente avec le temps : l'indice d'acide permet donc de juger de leur état de détérioration. Cet indice, contrairement à l'indice de saponification, est déterminé à froid.

Cet indice est déterminé par titrimétrie à l'aide d'une solution d'hydroxyde de potassium (KOH) de concentration connue, en présence d'un indicateur coloré (la phénolphthaléine) qui indique la limite de la neutralisation (virage de l'incolore au rose pale). Le mode opératoire est donné en annexe 2.

Pour le calcul de cet indice d'acide :

$$I_A = m_{\text{KOH}} / 2 \quad \text{où } m : \text{ la masse de KOH.}$$

Alors que pour l'acidité : $A(\%) = m_0 * 100 / m$ où m_0 : la masse de l'acide oléique.

m : la masse de l'huile.

I.2.1.2.2 Détermination de l'indice d'iode

L'indice d'iode (I_{iode}) d'un lipide est la masse d'iode (I_2) (exprimée en grammes) capable de se fixer sur les insaturations (liaisons doubles le plus souvent) des acides gras contenus dans cent grammes de matière grasse. Cependant l'indice d'iode en lui-même ne possède pas d'unité.

Cet indice est déterminé par titrimétrie à l'aide d'une solution de thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, 0,1 N) en présence de cyclohexane (pour solubiliser l'échantillon) et du lugol (solution à base d'iode). Cette réaction se fait à chaud pour permettre l'accélération de la fixation d'iode sur les insaturations des acides gras. L'excès d'iode

non fixé est titré par la solution réductrice de thiosulfate de sodium. Donc cet indice d'iode nous renseigne sur le degré d'insaturation du corps gras. Pour le mode opératoire, voir l'annexe 3.

Pour le calcul de cet indice d'iode : $I_I = 12,69 * N * (V_0 - V) / M$

où N : la normalité de la solution de thiosulfate de sodium

V_0 : volume de thiosulfate nécessaire pour le titrage de tube témoin

V : volume de thiosulfate nécessaire pour le titrage de tube contenant l'huile

M : la masse de la matière grasse (l'huile).

I.2.1.3 Dosage des sucres par la méthode de DNS (acide 3,5 dinitrosalicylique) (MILLER, 1959)

On utilise les propriétés réductrices de sucres réducteurs. À chaud et en milieu alcalin, il y a réduction de l'acide 3,5-dinitrosalicylique ou DNS (aussi appelé acide 2-hydroxy-3,5-dinitrobenzoïque) de couleur jaune, qui joue le rôle d'oxydant, le glucose étant le réducteur. Le composé obtenu (l'acide 3-amino 5-nitrosalicylique) est rouge orangé à reflets pourpres. Il peut être dosé par spectrophotométrie à 530nm.

La gamme étalon est préparée à partir d'une solution de glucose de 1 g/l (figure 8), cette dernière est utilisée pour la détermination des différentes concentrations des échantillons. Pour le mode opératoire, voir l'annexe 4.

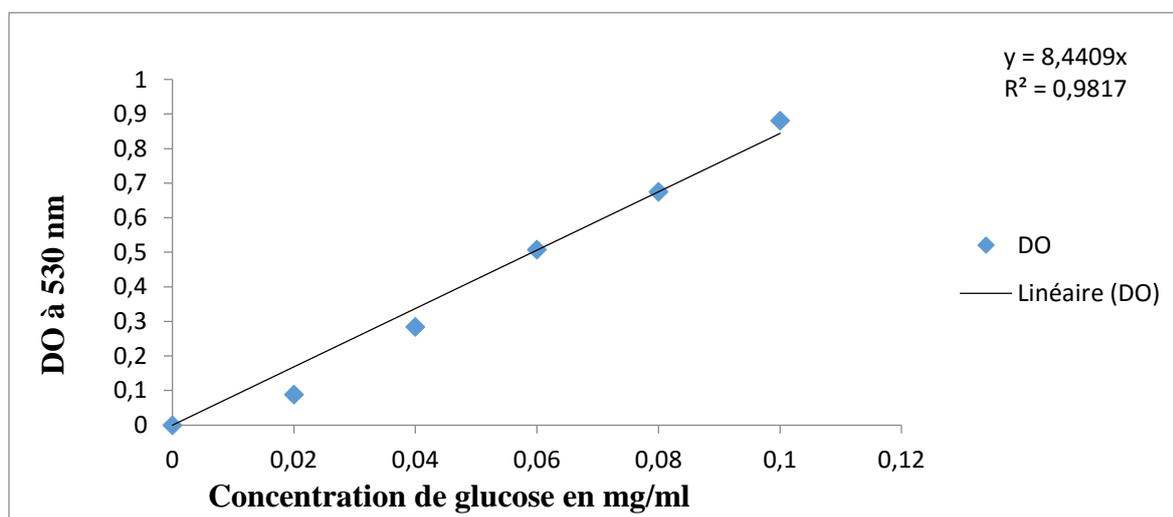


Figure 8: Courbe étalon pour le dosage des sucres réducteurs dans des jus par la méthode de DNS.

Une autre méthode peut être utilisée pour le dosage des sucres réducteurs, il s'agit de la méthode de FEHLING qui repose sur la réduction de la liqueur de Fehling par les sucres présents dans notre échantillon. Son principe repose sur la réduction de l'oxyde cuivrique CuO en petits grains rouge brique d'oxyde cuivreux Cu₂O (ENGELBRECHT, 2009).

I.2.1.4 dosage de la vitamine C dans différentes catégories de jus

La vitamine C, de formule brute $C_6H_8O_6$, et le nom communément donné est l'acide ascorbique. C'est une vitamine hydrosoluble, sensible à l'air, à la lumière et à la chaleur. C'est un cofacteur enzymatique, elle joue un rôle important dans le métabolisme des êtres vivants.

Le principe de dosage est de faire réagir un volume connu du jus avec le DCPIP jusqu'à la décoloration du jus de fruit puis on note le volume de DCPIP. Le but de ce travail est de comparer la teneur en vitamine C entre différentes catégories de jus.

Le dosage de la vitamine C est effectué par titrimétrie, à l'aide d'une solution de 2,6 dichlorophénol indophénol (DCPIP), préalablement étalonné par une solution d'acide ascorbique de concentration connue (0,4 g/l), dont les conditions expérimentales sont présentées en annexe 5

D'autres méthodes peuvent être utilisées pour le dosage de la vitamine C tel que la méthode utilisant le diiode et qui se fait par titrage de la solution d'iode de concentration connue sur une solution contenant la vitamine C en concentration inconnue. Lorsqu'il n'y a plus de molécules de vitamine C, les molécules d'iode vont s'accumuler dans la solution, et cette accumulation indique la fin du titrage et est mise en évidence par la formation d'un composé bleu en grande intensité (BOGDANSKI, 1958). Mais la méthode de DCPIP reste la plus utilisée et la plus juste du fait que ce réactif est un oxydant idéal et sélectif pour l'acide ascorbique.

I.2.2 Méthodes chromatographiques

I.2.2.1 Chromatographie de perméation sur gel de SEPHACRYL S200

La chromatographie de perméation est une technique permettant de séparer et de purifier les divers constituants d'un mélange selon l'importance relative de leurs masses moléculaires à travers une phase stationnaire constituée de séphacryl S200 préparé par réticulation covalente d'un allyle de dextrane avec du N, N' méthylène bisacrylamide. Cette chromatographie permet d'éluer les entités protéiques dans l'ordre décroissant de leurs poids moléculaires. Ce gel possède un domaine de fractionnement situé entre 5 milles et 250 milles Da. Les conditions expérimentales sont représentées en annexe 6.

I.2.3 Méthodes électrophorétiques

L'électrophorèse est une technique biochimique séparative basée sur la migration différentielle des molécules chargées sous l'effet d'un champ électrique en fonction de la charge, la masse et la forme. Les protéines peuvent se comporter comme des anions ou des

cations et se déplacer de ce fait soit vers l'anode ou vers la cathode. Ces particules se manifesteront sur l'électrophorogramme par des bandes de migration plus ou moins distinctes.

L'électrophorèse sur gel de polyacrylamide présente un support de séparation composé principalement d'acrylamide qui est l'unité de base et le bis-acrylamide qui est l'agent pontant, ils se polymérisent en présence d'un initiateur qui est le persulfate d'ammonium et d'un accélérateur qui est le TEMED. En fonction de ces deux substances (acrylamide et bis-acrylamide) on obtient différents maillages et donc différentes densités de gel.

I.2.3.1 Electrophorèse en PAGE-native

La PAGE-native est une méthode particulièrement résolutive pour les protéines sériques du lait. Basée sur la migration différentielle des molécules chargées sous l'effet d'un champ électrique en fonction de la charge et du poids moléculaire. La méthode de HILLIER (1976) est utilisée avec un gel de polyacrylamide à T= 12% et C= 2,7%. Le mode opératoire est donné en annexe 7.

I.2.3.2 Electrophorèse en PAGE-SDS (LAEMMLI, 1970)

Ce type de séparation est basé sur un système biphasique, comprenant deux types de gels : un gel de concentration, faiblement réticulé qui n'exerce aucun effet de tamisage moléculaire et tend plutôt à concentrer les échantillons, et un gel de séparation à travers lequel les protéines migrent selon leur poids moléculaire seulement.

Cette technique est réalisée dans des conditions dénaturantes et dissociantes en présence des composés suivants :

- le SDS (Sodium Dodécyl Sulfate) ($C_{12}H_{25}SO_4^-$) : c'est un détergent anionique capable de se fixer sur la périphérie des chaînes polypeptidiques formant ainsi un complexe chargé négativement, et donc toutes les protéines et polypeptides auront une charge pratiquement identique. Cela permet une séparation selon le poids moléculaire seulement.
- le 2- β -mercaptoéthanol (2ME) : sous l'effet d'un traitement thermique, cet agent réducteur dénature les protéines oligomériques en rompant les ponts disulfures, ce qui désorganise leur structure tridimensionnelle en les rendant ainsi sous une forme monomérique. Le mode opératoire est donné par l'annexe 8.

I.2.4 Hydrolyse enzymatique des protéines sériques du lait de vache par la trypsine

La trypsine est une enzyme digestive du suc pancréatique qui a pour rôle de digérer les protéines. Cette enzyme est une endoprotéase qui hydrolyse les liaisons peptidiques dans lesquelles un acide aminé basique (Lysine ou Arginine) engage sa fonction acide avec un autre acide aminé (sauf la proline)

L'hydrolyse enzymatique des protéines sériques est basée sur l'incubation de 5 ml d'une solution de protéines sériques du lait bovin (8 mg/ml) dans le tampon réactionnel (tris HCl, pH8, 0), ajouté de 0,4 ml de la solution enzymatique (1 mg/ml) dans la solution HCl de 10^{-3} N. Les conditions expérimentales sont représentées en annexe 9.

L'incubation du substrat, additionné de l'enzyme est réalisé à différents intervalles de temps (0, 15, 30, 45, 60 et 120 min) au bain marie à la température optimale de l'enzyme (37 à 40°C) avec un pH optimum qui est de 7,6 à 7,8. La réaction d'hydrolyse est arrêtée par chauffage à 100°C pendant 5 min (figure 9).

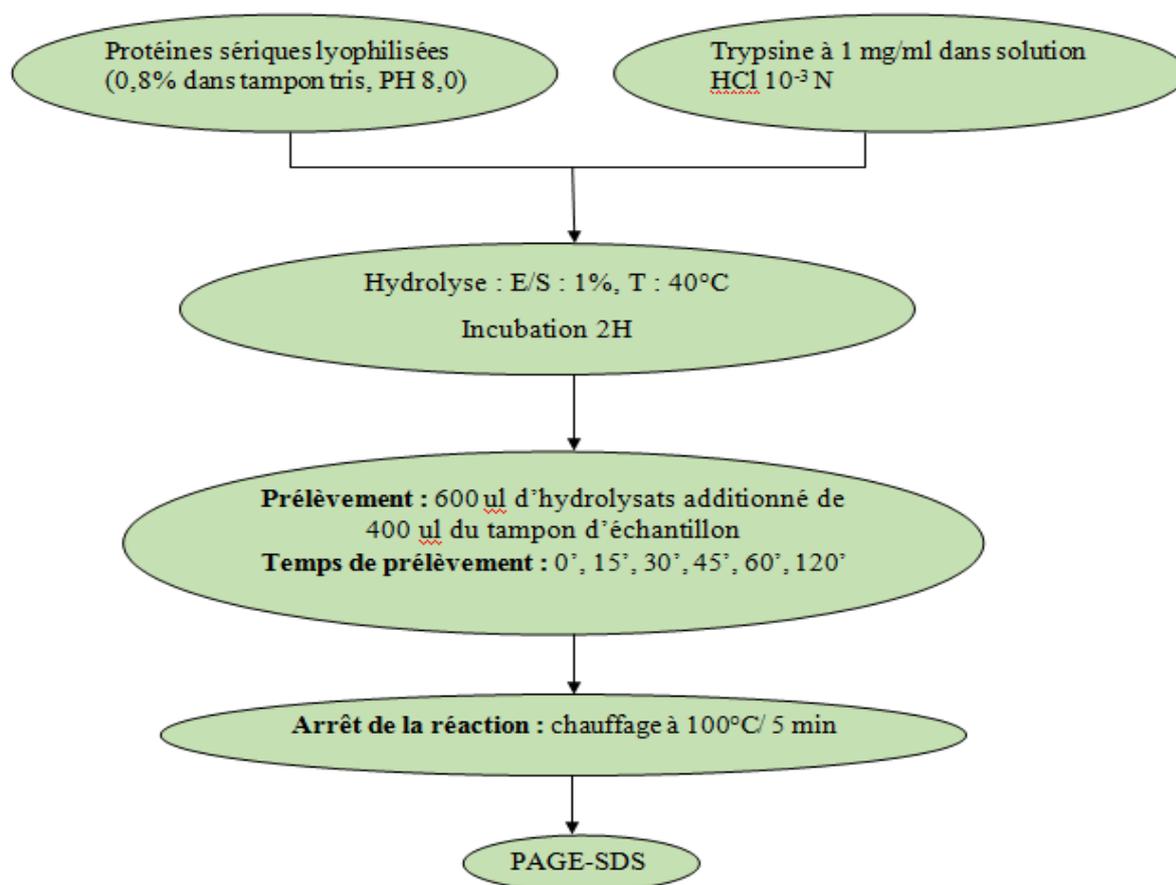


Figure 9 : Les étapes de l'hydrolyse trypsique des protéines sériques du lait de vache.

Résultats et discussion

II.1 Méthodes physico-chimiques

II.1.1 Dosage des protéines du lait par la méthode de BRADFORD (1976)

Aliment complet, le lait est une émulsion de matières grasses dans un sérum aqueux qui contient en suspension des protéines (34 g/l) et en solution des glucides (49 g/l), des minéraux, des vitamines et des enzymes (POUGHEON, 2001 ; YENNEK, 2010).

Les nombreuses protéines du lait peuvent être classées en deux groupes distincts : les caséines et les protéines du lactosérum (JOUAN, 2002). La caséine totale représente l'ensemble le plus important des protéines du lait de vache. Son taux s'élevant à environ 75 à 85 % alors que les protéines sériques ont un taux de 15 à 25 % (LAFITEDUPONT, 2011).

Les protéines du lait jouent un rôle essentiel dans notre régime alimentaire journalier, car elles sont consommées en grande quantité soit sous forme de lait de consommation ou produits laitiers (fromages, yaourt,...), ou dans nombreuses préparations alimentaires (plats cuisinés, sauces, pâtisseries, confiseries...). Leur composition équilibrée en résidus d'acides aminés essentiels et leur bonne digestibilité constitue un atout pour les consommateurs (LOUISOT, 1997).

Les résultats obtenus au cours du dosage des protéines totale et des protéines sériques par la méthode de BRADFORD (1976) (Figure 10), montre une légère variation de la teneur en protéines d'un type de lait à un autre.

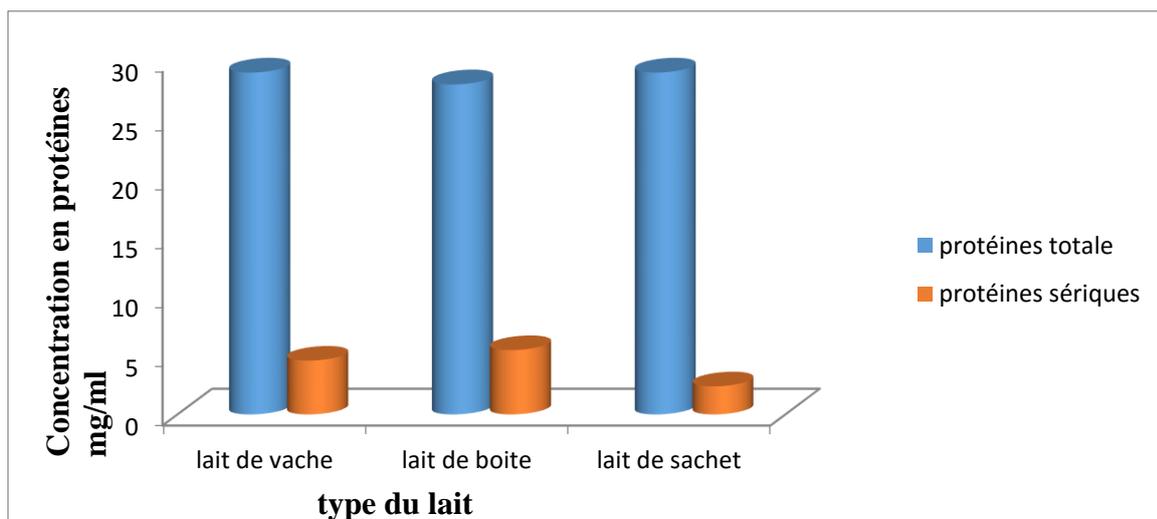


Figure 10 : Les concentrations protéiques des différents échantillons du lait.

L'analyse des résultats représentés dans la figure 10 montre que la teneur en protéines totales est similaire dans les trois laits testés avec une valeur moyenne de 29 g/l. Cette valeur est inférieure à la concentration moyenne en protéines totales du lait de vache donnée par AFNOR (entre 34 et 36 g/l).

Selon POUGHEON (2001), cette teneur en protéines peut être influencée par plusieurs facteurs qui peuvent être liés soit à l'animal (facteurs génétiques, état sanitaire, stade de lactation,...), soit au milieu et à la conduite d'élevage (saison, climat, et l'alimentation), ou suite à une protéolyse par les bactéries du fait d'une longue durée de stockage du lait ou à la température d'entreposage qui peut favoriser le développement des micro-organismes, ou suite à une complexation des protéines dénaturés avec d'autres composés.

Pour certains facteurs (la saison, le stade physiologique), l'éleveur n'a aucun moyen d'action, alors que d'autres (facteurs génétiques et l'alimentation) peuvent permettre à l'éleveur d'agir sur la composition du lait et améliorer ses caractéristiques (POUGHEON, 2001).

D'après les résultats (figure 10), les protéines sériques représentent 15,86% des protéines total du lait de vache, 19,64% de protéines total du lait Candia, et 8,27% dans le lait de sachet, teneur inférieur aux valeurs normales pour le lait de sachet (entre 15 et 25% des protéines totales). Ce résultat peut s'expliquer par une dénaturation partielle de ces protéines lors du traitement thermique de pasteurisation, ou par une protéolyse par les bactéries lactiques qui contamine le lait lors de la traite ou le stockage.

II.1.2 Détermination des indices d'acide et d'iode d'une matière grasse

II.1.2.1 Détermination de l'indice d'acide

L'indice d'acide est le nombre de milligramme d'hydroxyde de potassium nécessaire pour neutraliser les acides gras libres présents dans un gramme de corps gras (NJUSSA, 1999). Cet indice permet de mesurer la quantité d'acide gras libre résultant des réactions d'hydrolyse et d'oxydation des triglycérides (NDEYE, 2001). Les huiles destinées à la consommation doivent contenir moins de 1% d'acides gras libres (MAMBAP, 1989).

L'analyse de l'acidité libre des échantillons à donner les résultats qui sont exprimés en pourcentage de l'acide oléique dans la figure 11.

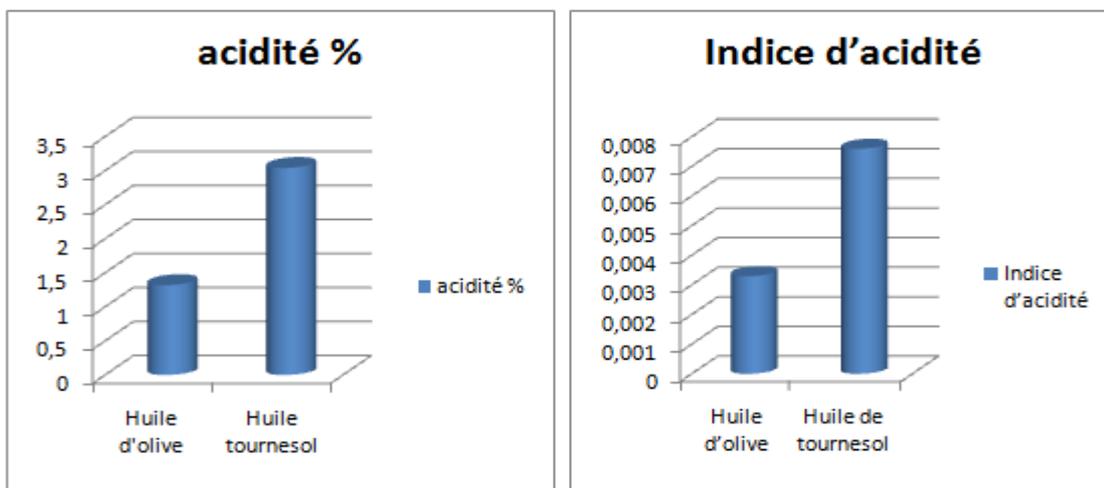


Figure 11: L'acidité et l'indice d'acide de l'huile d'olive et de tournesol.

On remarque que l'acidité libre d'huile d'olive (1,32 %) est inférieure à celle de tournesol qui (3,04 %). Selon les normes commerciales du conseil oléicole (2015), une huile d'olive raffinée présente une acidité libre maximale de 0,3% ; vierge extra : 0,8% au maximum ; huile d'olive vierge : 2% au maximum ; huile d'olive vierge courante : 3,3 % au maximum ; huile d'olive vierge lampante : son acidité libre est supérieure à 3,3 %.

On constate que notre huile d'olive est une huile vierge. Son acidité reste assez élevée pour que cette huile soit classer raffinée ou extra vierge. Ce résultat est sous l'influence de la maturité des fruits, la variété d'olive ou de stockage des olives. Ceci entraîne la détérioration des fruits et par conséquent l'augmentation de la teneur en acide gras (ELANTARI *et al*, 2000 ; TANOUTI *et al*, 2011).

Pour l'huile de tournesol la teneur en acidité est conforme aux normes de la commission internationale de codex alimentarius (maximum 4 mg de KOH/g d'huile).

II.1.2.2 Détermination de l'indice d'iode

L'indice d'iode est le nombre de grammes d'iode fixé sur les doubles liaisons de 100grammes de matières grasses. Il exprime le degré d'insaturation d'un corps gras et par suite sa prédisposition à l'oxydation (DJOM, 1993). Un corps gras est plus sensible à l'oxygène lorsqu'il est constitué d'un nombre élevé de doubles liaisons.

Une huile d'olive présente une teneur de 13,8 g (14,18%) d'acides gras saturés, et 72,96g (75%) d'acides gras mono-insaturés dont (l'acide oléique : 71,26 g et l'acide palmitoléique : 1,25 g), et 10,52 g (10,81%) d'acides gras polyinsaturés dont (l'acide linoléique W-6 : 9,76 g et l'acide alpha linoléique W-3 : 0,76 g) (VEILLET, 2010).

L'huile de tournesol est composée de 10,3 g (10,51%) d'acides gras saturés, et 19,5 g (19,7%) d'acides gras mono-insaturés qui est seulement l'acide oléique, et 65,7 g (67%) d'acides gras polyinsaturés composé seulement d'acide linoléique (anonyme 3).

Le tableau III renseigne sur l'indice d'iode pour l'huile d'olive et l'huile de tournesol. Les résultats obtenus sont identiques pour les deux types d'huile, mais inférieur aux normes fixés par le codex Alimentarius avec des valeurs de 80 à 88 pour l'huile d'olive et de 120 à 132 pour l'huile de tournesol. Du fait que cet indice d'iode pour l'huile d'olive est peu élevé, cette huile rancit moins vite par rapport aux autres huiles.

Tableau III : L'indice d'iode de l'huile d'olive et de tournesol.

Echantillons	L'indice d'iode
Huile d'olive	9,13
Huile de tournesol	9,13

Cette faible teneur en acides gras insaturés peut être due à l'oxydation des AG par l'oxygène de l'air, les conditions de conservation ou la durée du stockage.

II.1.3 Dosage des sucres réducteurs par la méthode utilisant l'acide 3,5 dinitrosalicylique (DNS)

Les glucides appelés également hydrates de carbone font partie, avec les protéines et les lipides, des constituants essentiels des êtres vivants et de leur nutrition, car ils sont un des principaux intermédiaires biologiques de stockage et de consommation d'énergie. Chez les organismes autotrophes, comme les plantes, les sucres sont convertis en amidon pour le stockage. Chez les organismes hétérotrophes, comme les animaux, ils sont stockés sous forme de glycogène puis utilisés comme source d'énergie dans les réactions métaboliques, leur oxydation lors de la digestion des glucides apportant environ 17 kJ/g. Ils constituent notre principale source d'énergie.

Au niveau des industries agro-alimentaires, les sucres sont utilisés comme additifs alimentaires pour plusieurs objectifs, tel que pour donner la saveur et le goût sucré, pour empêcher la croissance des micro-organismes dans les confitures, empêcher la formation de cristaux de glaces dans les mélanges congelés comme la crème, aide à la fermentation de la levure dans les produits comme le pain et utilisé comme édulcorant pour les personnes diabétiques.

Un ose est qualifié de réducteur seulement si sa forme à chaîne ouverte comporte une fonction aldéhyde ou cétone libre.

Les résultats obtenus lors du dosage des sucres réducteurs dans cinq variétés de jus de fruit par la méthode de DNS ont été résumés dans la figure 12. On remarque une variation de la teneur en sucres réducteurs d'un type de jus à un autre.

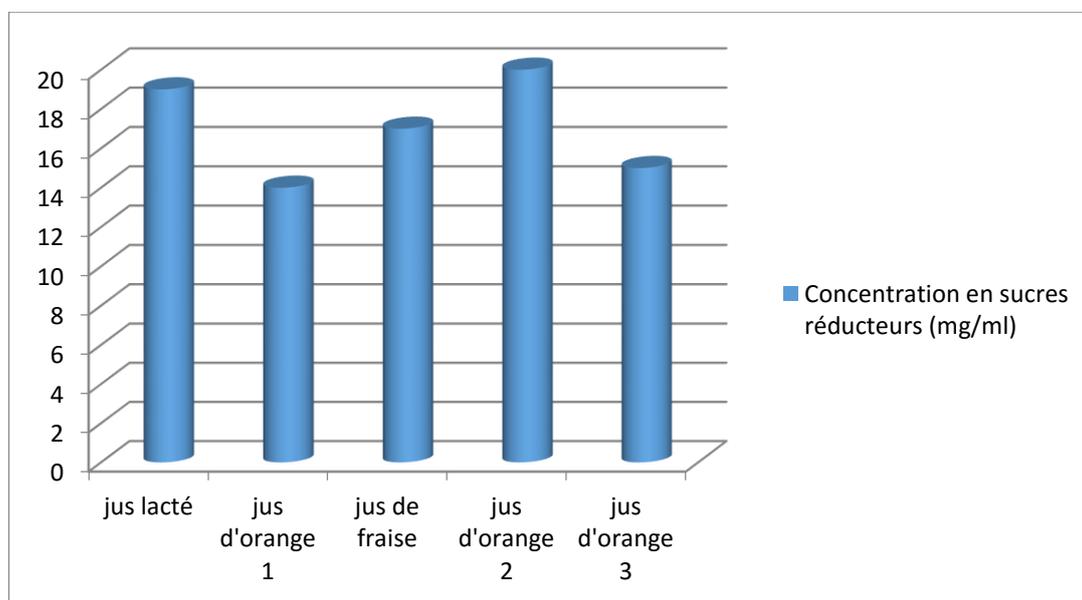


Figure 12 : Concentrations en sucres réducteurs en (mg/ml) de quelques variétés de jus.

Le jus d'orange 2 présente la teneur la plus élevée en sucres réducteurs, suivi du jus lacté, puis le jus de fraise, alors que le jus d'orange 3 et le jus d'orange 1 présentent les teneurs les moins importantes avec 15 mg/ml et 14 mg/ml respectivement. Ces concentrations restent inférieures à la teneur moyenne en sucres réducteurs dans un jus d'orange (45,4 mg / ml) (DOMINGUEZ LOPEZ, 2002).

Plusieurs facteurs peuvent influencer la composition de jus tel que la variété des oranges, le climat ainsi que le degré de maturité des oranges (BOUROKAA, 2012).

Cette teneur en sucres réducteurs peut aussi être réduite lors du traitement de conservation de jus par pasteurisation. Ce traitement thermique induit l'accélération de la réaction de MAILLARD résultant de la réaction initiale entre un sucre réducteur et un groupement aminé. Et donc indisponibilité de la fonction aldéhyde ou cétonique des sucres réducteurs qui sera lié à un groupement aminé (MACHIELS *et al*, 2002).

Le saccharose, le glucose et le fructose sont les principaux glucides de jus d'orange. Parmi les sucres réducteurs qu'on trouve dans un jus on cite le glucose et le

fructose et des disaccharides comme le lactose et le maltose (DOMINGUEZ LOPEZ, 2002).

II.1.4 Dosage de la vitamine C dans un jus d'orange

La vitamine C, appelée également acide ascorbique, de formule $C_6H_8O_6$ est utilisée comme additif alimentaire dans des boissons sous le code E 300. C'est une vitamine hydrosoluble sensible à la chaleur et à la lumière jouant un rôle important dans le métabolisme de l'être humain et de nombreux autres mammifères.

La vitamine C est un cofacteur enzymatique impliqué dans un certain nombre de réactions physiologiques (hydroxylation). Elle est requise dans la synthèse du collagène et des globules rouges et contribue au bon fonctionnement du système immunitaire. Elle joue également un rôle dans le métabolisme du fer en tant que promoteur de son absorption. C'est un puissant antioxydant, elle est capable de contrer l'action néfaste d'oxydants comme les radicaux libres.

On trouve la vitamine C en grande proportion dans les fruits et les légumes, notamment, le persil, les navets, kiwis, les agrumes, les crucifères, les poivrons, les fraises, les cassis, les oranges et le citron. Les apports journaliers recommandés en vitamine C sont d'environ 90 mg et 75 mg par jour pour les hommes et les femmes adultes respectivement (Anonyme 2).

Lors du dosage de cette vitamine C dans différents jus, on a obtenu les résultats présentés dans la figure 13.

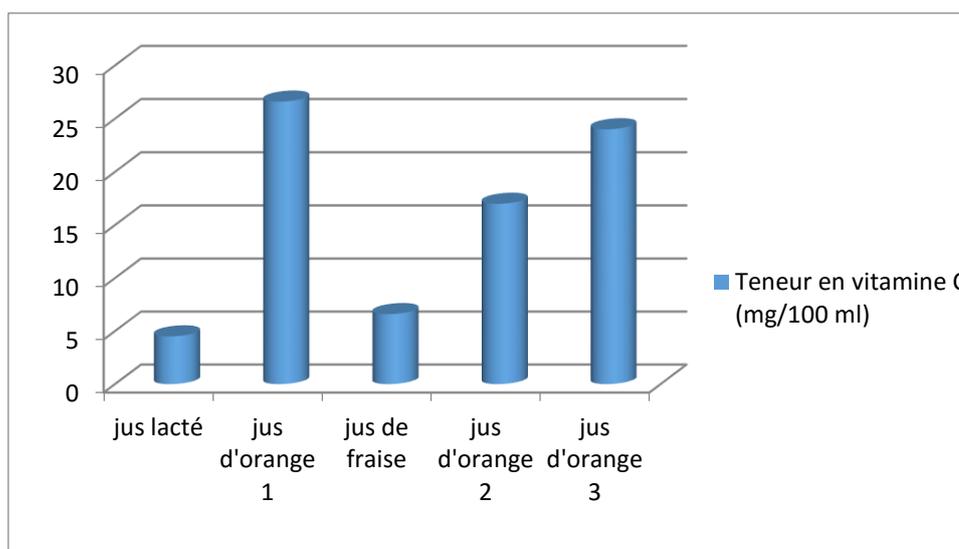


Figure 13 : Concentrations en vitamine C de quelques jus commercialisés.

On remarque que le jus d'orange 1 présente la teneur la plus élevée en vitamine C suivi de jus d'orange 3 puis le jus d'orange 2, alors que le jus de fraise et le jus lacté ont des teneurs très faibles en cette vitamine.

On remarque aussi que les jus les plus riches en vitamine C sont à base d'orange. Cette forte teneur en vitamine C dans ces jus peut s'expliquer par leur enrichissement en cette vitamine lors du processus de fabrication.

La concentration de la vitamine C dans le jus ngaous est de 17 mg/100ml de jus. Cette teneur est inférieure à celle établie par le fabricant (24,5 mg/100ml de jus). Afin de déterminer les facteurs influençant la teneur en vitamine C dans ces jus, on a réalisé un ensemble de traitements, les résultats obtenus sont présentés dans le tableau IV.

Il est à noter que le contenu en vitamine C des jus d'orange est très variable. Il dépend, entre autres, de la variété et de la maturité des oranges, de la manipulation des fruits frais, des procédés de transformation (pasteurisation, congélation), du temps d'entreposage et de l'emballage.

Tableau IV : Résultats du dosage de la vitamine C après différents traitements.

Les différents traitements de la solution d'acide ascorbique	Les concentrations (g/l)
Sans traitement	0,4
15 min à T° ambiante et exposer à la lumière	0,3
15 min à T° ambiante à l'abri de la lumière	0,4
15 min à T° de 40°C	0,4
15min à T° de 80°C	0,3

D'après nos résultats, on constate que la concentration de la vitamine C diminue après exposition à la lumière et après traitement thermique à 80°C, alors qu'elle reste stable après traitement à 40°C ainsi qu'à l'abri de la lumière.

La faible teneur en vitamine C dans ces différents jus d'orange, jus lacté et jus de fraise peut s'expliquer par la perte de cette vitamine favorisée par la température et la transmission de la lumière au sein du produit.

De toutes les vitamines, la vitamine C est certainement la plus fragile. Sensible à la lumière, à la chaleur (cuisson) et à l'air, elle est rapidement détruite (MASSOT, 2010).

II.2 Chromatographie d'exclusion moléculaire sur gel de SEPHACRYL S200

Dans le but d'une séparation des protéines sériques du lait de vache, on a réalisé une chromatographie sur gel de perméation (gel de SEPHACRYL S200) à débit de 30ml/h avec une colonne de 20 cm de longueur et 1 cm de largeur à une longueur d'onde de 280 nm. Après séparation, les séroprotéines ont été éluées comme indiqué dans le chromatogramme suivant (figure 14) en trois pics F1, F2, et F3.

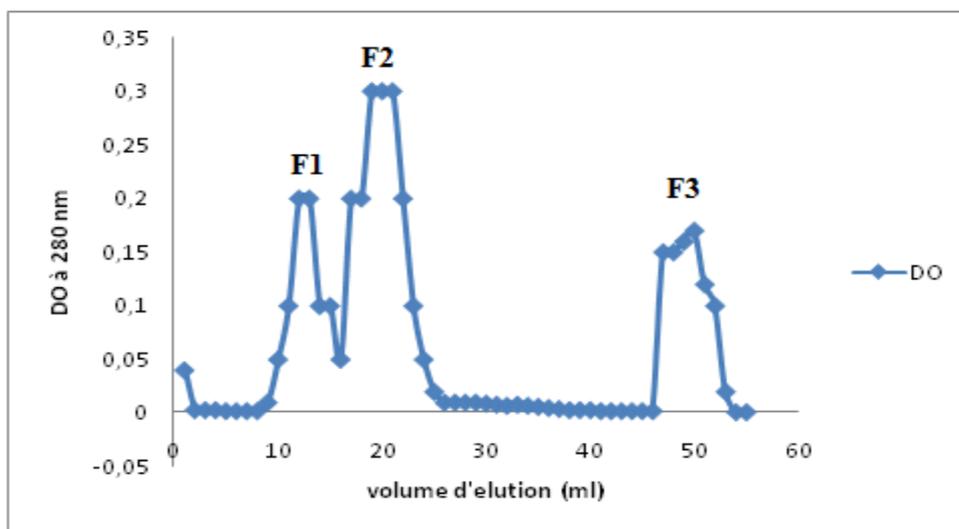


Figure 14 : Chromatogramme des protéines sériques du lait de vache sur gel de SEPHACRYL S200.

II.3 Isolement et caractérisation électrophorétique des séroprotéines bovines en PAGE-native

Deux grandes familles de protéines entrent dans la composition du lait. La première est constituée des caséines qui représentent environ 80% des protéines totales du lait. La seconde regroupe les protéines sériques qui sont constituées essentiellement de la beta-lactoglobuline (β -Lg), l' α -lactalbumine (α -La), l'albumine sérique bovine (BSA) et les immunoglobulines (Ig) (DE WIT, 1981 ; MORR, 1982). De masse moléculaire de 18362 Da pour la β -Lg, 14147 Da pour la α -La, 66000 Da pour la BSA, et entre 150 milles et 1 million Da pour les immunoglobulines (DE WIT, 1981 ; KINSELLA et WHITEHEAD, 1989 ; CAYOT et LORIENT, 1998), avec des pHi de 5,1 ; 4,2 ; 4,7 ; 5,5-8,3 respectivement.

L'électrophorèse en PAGE-native (figure 13) des différentes fractions issues de la chromatographie de perméation sur gel de Séphacryl S 200 montre que :

- La fraction F1 présente trois bandes qui correspondent aux Ig, BSA, et la β -Lg ;
- La fraction F2 présente quatre bandes de forte intensité correspondant aux Ig, BSA, α -La et la β -Lg ;
- La fraction F3 montre la présence d'une seule bande de faible intensité correspondant à la β -Lg.

L'électrophorègramme (figure 15) révèle que :

- on a pu isoler la β -Lg dans la fraction F3. Les Ig, BSA et α -La ont pu être éliminé avec cette chromatographie ;
- plusieurs protéines sériques, à savoir les Ig, BSA, α -La et la β -Lg étaient présentes dans les fractions F1 et F2. Ceci montre une mauvaise séparation de ces protéines en chromatographie de perméation. Par conséquent, il est nécessaire de recourir à d'autres techniques chromatographiques (chromatographie échangeuse d'ions,..) pour une meilleure purification de ces protéines.

Travaillant dans les mêmes conditions, MANUELA *et al* (2000) ont réussi à isoler chaque protéine sérique (BSA, Ig, α -La et β -Lg) dans une seule fraction. SENOUSI (2011) et ZENNIA (2015) ont pu isoler la α -La dans une fraction et la SA dans une autre fraction dans le lait camelin.

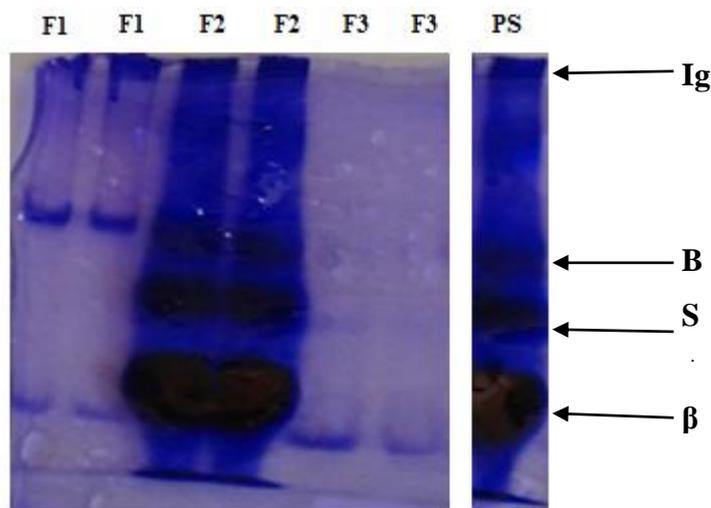


Figure 15 : Electrophorègramme des fractions protéiques obtenu après une chromatographie de perméation sur gel de séphacryl S200. (PS : protéines sériques bovine)

II.4 Hydrolyse enzymatique des protéines sériques du lait de vache par la trypsine

La trypsine est une enzyme digestive synthétisée et sécrétée par les cellules acinaires pancréatiques sous forme de zymogène (trypsinogène). L'activation du trypsinogène en trypsine est le résultat de l'hydrolyse d'un propeptide sous l'action de l'entérokinase ou par un effet d'auto activation par la trypsine elle-même. Elle catalyse l'hydrolyse d'une liaison peptidique et coupe à droite de l'arginine ou la lysine (VOET *et al*, 1995).

Nous avons suivi la cinétique de cette enzyme par électrophorèse en conditions dissociantes et dénaturantes (PAGE-SDS). On a obtenus des hydrolysats à différents temps d'incubation noté en minute comme suit : T'0, T'15, T'30, T'45, T'60, T'120. Les résultats sont montrés dans la figure 16.

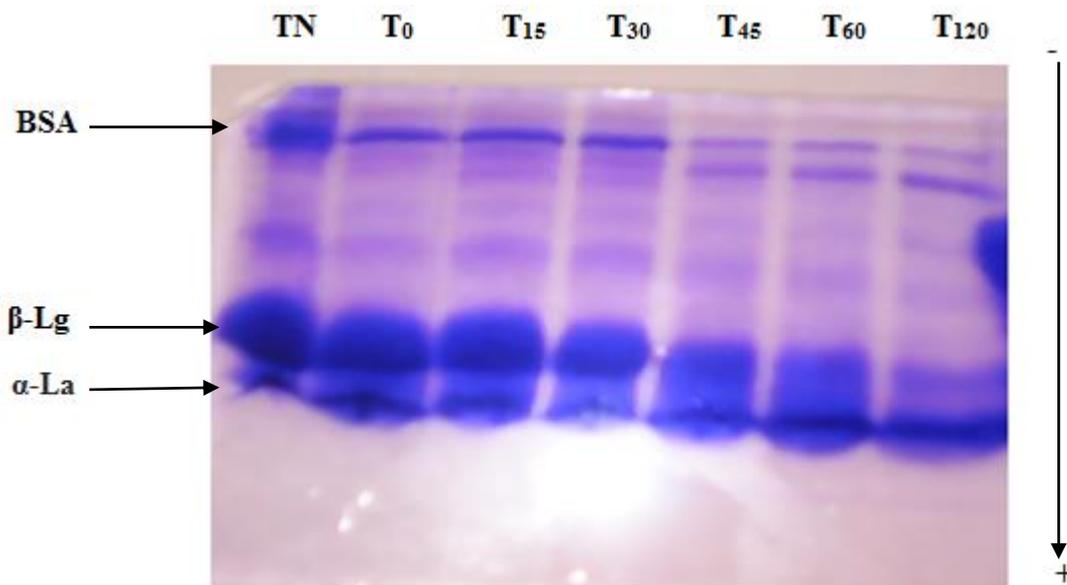


Figure 16: Electrophorogramme en PAGE-SDS des hydrolysats protéiques obtenus sous l'action de la trypsine à différents temps d'incubation : T₀, T₁₅, T₃₀, T₄₅, T₆₀, T₁₂₀ ; TN (témoin négatif): protéines sériques du lait de vache.

L'analyse du profile électrophorétique obtenu en PAGE-SDS (figure 16) montre l'existence de bandes intenses au niveau de témoins TN et même T₀ correspondant aux protéines sériques bovine (BSA, α-La et β-Lg).

La bande correspondante à l'Ig n'est pas apparue au niveau des différents puits du fait qu'on n'a pas donné le temps nécessaire pour que cette grosse protéine puisse migrer.

A partir de la figure 16, on remarque que la BSA résiste jusqu'à T= 30 minutes d'incubation mais à partir de T₄₅, il ya apparition de deux bande. Cela signifie que la BSA est hydrolysé en deux polypeptides.

Pour la β -Lg, la bande correspondante reste telle quelle jusqu'à 30 minutes d'incubation, puis la bande redevienne très fine du fait de son hydrolyse.

La α -La semble être résistante à l'action de la trypsine même après 120 minutes d'incubation, puisque la bande correspondante reste de la même intensité. Ceci pourrait être du a la structure globulaire compacte de la protéine qui rend le site de coupure de la trypsine inaccessible.

La β -Lg est plus sensible par rapport à α -La, du fait de sa structure globulaire moins compacte. Le site de coupure par la trypsine est de ce fait plus accessible (LUNG *et al*, 1991).

Nos résultats sont compatibles à ceux trouvés par CUSTODIO *et al* (2005) qui suggèrent qu'au début de la réaction, la trypsine hydrolyse partiellement la β -Lg. La α -La et la BSA étaient plus résistants que la β -Lg. Alors que les résultats de BENHATCHI (2011) montrent que la BSA et la α -La tentent à s'hydrolyser rapidement sous l'action de la trypsine, alors que la β -Lg résiste.

D'après LUNG *et al* (1991), le degré d'hydrolyse de la β -Lg par la trypsine atteint 6 % après deux heures d'incubation. Selon ANUELA *et al* (2000), après deux heures et demie de temps, la α -La est hydrolysé en six bandes, et la β -Lg en 5 bandes.

Conclusion

Les techniques de dosages physicochimiques étudiés (dosage des protéines, détermination de l'indice d'iode et d'acide, dosage des sucres réducteurs et dosage de la vitamine C) constituent une étape importante pour le contrôle de la qualité des denrées alimentaires. Du fait qu'il existe plusieurs techniques pour le dosage de chaque composé, cela permet d'augmenter les chances de mener à bien une évaluation de la qualité.

Les méthodes d'analyse classiques permettent de définir la composition d'un produit alimentaire pour élaborer une stratégie d'analyse et de contrôle appropriée selon le produit. Ceci peut se faire en utilisant des méthodes de pointes (techniques fines) tel que la chromatographie à basse et à haute pression et les techniques électrophoretiques.

Les résultats obtenus dans notre stage pratique montre que :

- les trois variétés de lait testés ont une teneur en protéines similaire, avec une valeur moyenne de 29 g/l, inférieur à la norme (34 à 36 g/l) du fait de l'influence de certains facteurs liés soit à l'animal, à la conduite d'élevage ou à une protéolyse par les bactéries lactiques ;

- l'acidité d'huile de tournesol est beaucoup plus importante que l'acidité d'huile d'olive du fait de sa richesse en acides gras libres, alors que l'indice d'iode est égale entre ces deux huiles du fait qu'ils ont une teneur équivalente en acides gras mono-insaturés et polyinsaturés ;

- le jus Ngaous présente la teneur la plus élevée en sucres réducteurs (20 g/l). Ce résultat pourrait être du à l'ajout de sucres comme additif pour améliorer la saveur et le gout sucré ;

- pour le dosage de la vitamine C, le jus Rami orange à la teneur la plus élevée due probablement à son enrichissement en cette vitamine lors de la fabrication, ou à la variété et la maturité des oranges utilisés ;

- les protéines sériques bovines séparées par chromatographie de perméation sur gel de Séphacryl S 200 n'ont pas pu être purifiées. L'utilisation d'autres techniques notamment à hautes performances, comme la HPLC, pourra améliorer ce résultat ;

- de toutes les protéines sériques, la α -La semble être résistante à l'hydrolyse trypsique qui pourrait s'expliquer par sa structure globulaire compacte maintenue par 4 ponts disulfures, ce qui pourrait masquer les sites se trouvant au cœur de la protéine.

Les méthodes utilisées sont de mise en œuvre facile, de faible coût et permettent d'obtenir des résultats fiables. Ces méthodes nous permettent un contrôle de qualité des produits alimentaires, d'assurer aux consommateurs une bonne qualité organoleptique (satisfaction), hygiénique (service), ainsi qu'une bonne qualité nutritionnelle (santé), ce qui constitue une garantie aux consommateurs.

Les references bibliographiques

Références bibliographiques :

Anonyme 1. (2005). Microwave cooking and food safety.

Anonyme 2. (2012): <http://www.sonimat.com>.

Anonyme 3. (2000). Source: Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids,. Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. Ces données sont le résultat d'un consensus entre les autorités canadiennes et américaines.

Anonyme 4: USDA National Nutrient Database for Standard Reference .

Anonyme 5 . (1991). Principes d'utilisation des ultrasons: partie II-application industrielles et commerciales

AHMED J. et RAMASWAMY H. S. (2007). Microwave Pasteurization and Sterilization of Foods. Ed. Handbook of Food Preservation ,2ème Ed ;Boca Ratón FL:CRC Press, 691-712.

ANALIA L. C; CARLOS A; PAOHA; RODOLFO H. et MASCHERONI. (2012). Modeling and simulation of micro wave heatin of foods under different process schedules. *Food Bioprocess Technol*; **5**, 738- 749.

AURLIE L. (2010). Les différents lait et leurs complexité, les protéines du lait de vache : Aspect nutritionnel et allergie alimentaire .

BAIY ; SAREN G. et HOU W. (2014). Reponse surface methodology (RMS) in evalution of the vitamin C concentration in microwave treated milk. *Pub Med* ; **52(7)**, 1-52.

BALA B. K. et MONDOL M. R. A. (2001). experimental investigation on solar drying of fish using solar tunnel dryer. *Drying Technol*; **12 (2)**, 427-436.

BALACHANDRAND S; KENTISH S.E., MAWSON R. et ASHOKKUMAR M. (2006). Ultrasonic enhancement of the supercritical extraction from ginger. *Ultrasonics Sonochemistry*; **13**, 471-479.

- BATES D.M; BAGNALL W.A. et BRIDGES M.W. (2006).** Method of treatment of vegetable matter with ultrasonic energy. *US patent application 20060110503*.
- BELHADI K. (2010).** Effets des facteurs d'élevage sur la production et la qualité du lait de vache en régions montagneuse. Obtention de diplôme de magisters en agronomie ; 98,8 et 9.
- BELLAGHA S ; SAHLI A ; FARHAT A ; KECHAOU N. et GLENZA A. (2007).** Studie of salting and drying of sardine (*Sardinella aurita*) : experimental kinetics and modelingue. *J Food Eng ; 78*, 947-952.
- BENHATCHI S. (2011).**Hydrolyse trypsique et chymotrypsique des proteines lactosérum camelin etude de l'antigénicité et allergénicité des hydrolysats chez la souris BACB/C, Diplôme de magister, physiologie de la nutrition et de la sécurité alimentaire, Unniversité de Oran.
- BERMUDEZ J. A; AGUIRRE D ; MAWSON R ; VERSTEEG K. et OSABEZANSONA A. (1975).** Microwaves temperating of frozen foods. *Food and Microwaves Meek Cents; 5*.
- BOISIHER; MARQADISE;LAGSIR-OULAHALN. et CALLARDM. (1999).** Application des ultrasons de puissance en industrie alimentaire. *ind-Alim-agri ; 116*, 23-31.
- CAMPANONE L. A. et ZARITZKY N. E. (2005).** Mathematical analysis of microwave heating process. *Journal of Food Engineering ; 69*, 359-368.
- CAMPANONE L. A. et ZARITZKY N. E. (2009).** Mathematical Modeling and simulation of microwave thawing of large solid foods under different operating conditions. *Food And Bioprocess Technology* ;doi:10.1007/s11947-009-0249-0.

CANOVAS G.V. (2009). Composition propriétés physicochimical characteristics and shelf life of whole milk after thermol and thermosonication. *Journal of Food Quality* ; **32**,283-302

CANSELIER J.P; DELMAS H; WILHELM A.M. et ABISMAIL B. (2002). Ultrasound emulsification - an overview. *J. Dispersion Science and Technology*; **23**, 333-349.

CAYO P.et LONENT D. (1998). Structures et technofonctions des proteines du lait. *Arilait Rcherches Paris*.

CELIA B. (2006). Etude de l'influence de l'emballage et de la matière sur la qualité du jus d'orange. Obtention du grade de docteur de l'ENSIA ; Ecole Supérieur des Industries Agricole et Alimentaire, pp. 223.

CELANDRONI F. et al. (2004). Effect of microwave radiation on Bacillus subtilis spores. *Journal of Applied Microbiology*. **97(6)**, 1220-7.

CHEMAT F ; ZILL-E-HUMA. et MUHAMMED KAMRAN KHAN. (2011). Application of ultrasound in food technology : Processing, preservation and extraction. *Eropean society of Sonochemistry* ; **18**, 813-35.

CLAUD OBERLIN. (1999). Les applications innovantes des micro-ondes dans l'industrie ; N°1, 79-85.

CLAUDIA SOLAZAR-GRONZALEZ ; FRNANDA SAN MARTINGRONAZALEZ

M ; AUREHO LOPEZ-MALO. et MARIA E. SOSAMARALE. (2012). Recent Studies Related to Microwave Processing of Foods. *Food Bioprocess Technol*; **5**, 31-46.

CONTAMINE F. (1993). Analyse d'un réacteur sono-chimique : puissance, transfère de matière liquide-solide et réactions chimiques, obtention de diplôme de Génie des procédés et l'environnement , Toulouse.

CORONEL P ; SIMUNOVIC J ; SANDEEP K. P. et KUMAR P. (2008). Dielectric properties of pumpable food materials at 915 MHz. *International Journal of Food Properties* ; **11**, 508-518.

CUI Z ; SUN L ; CHEN W. et SUN D. (2008). Preparation of dry honey by microwave-vacuum drying. *Journal of Food Engineering* ; **84 (4)**, 582-590.

DATTA A. K. et ANANTHESWRAN R. C. (2001). Handbook of microwave technology for food applications ; *USA: Marcel Dekker Inc.*

DATTA A. K. (2003). Microwave food preservation. In D. R. Heldman (Ed.), Encyclopedia of Agricultural, Food, and Biological Engineering. *New York: Marcel Dekker*, 657-661.

DECAREAU R.V. (1992). Chapter eight: Microbiological considerations. In: Microwave foods: new product development. Trumbull: *Food & Nutrition Press, Inc*; 189-201.

DECAREAU R. V. (1992). Chapter eight: Microbiological considerations. In: Microwave foods: new product development. Trumbull: *Food & Nutrition Press*; p.189-201.

DORANTES-ALVAREZ L ; BARBOSA-CANOVAS G. et GUTIERREZ-LOPEZ G. (2000). Blanching of Fruits and Vegetables Using Microwaves. In Food Bioprocess Technol Gould Eds. Innovations in Food Processing, Boca Ratón: CRC Press, 149- 162.

DUAN Z. H ; ZHANG M. et TANG J. (2004). Thinlayer hot-air drying of bighed carp. *Fish Sci* ; **23 (3)**, 29-32.

DUAN X ; ZHANG M ; MUJUMDAR A. S. et WANG S. (2010). Microwave freeze drying of sea cucumber (*Stichopus japonicus*). *Journal of Food Engineering* ; **96(4)**, 491-497.

EDITA J; BRANKICA S.S; ZORAN H. N. et ANET REZEK J. (2011). Application of high intensity ultrasound treatment on enterobacteriae count in milk, **61(2)**, 125-134.

ERCAN K ; HONG ; WANG H J. et GREGORY F. (2003). Non equilibrium Plasma-Activated Antimicrobial Solutions are Broad-Spectrum and Retain their Efficacies for Extended Period of Time ; **10**, 544-555.

FENG D; VAN D J. S.J. et ALDRICH C. (2006). Ultrasonic defouling of reverse osmosis membranes used to treat wastewater effluents. *Separation and Purification Technology*, **50**, 318-323.

FREITAS S., HIELSCHER G., MERKLEH.P. et GANDER B. (2006). Continuous contact and contamination free ultrasonic emulsification - a useful tool for pharmaceutical development and production. *Ultrasonics Sonochemistry*; **13**, 76-85.

FU Y. C. (2004). Fundamentals and Industrial Applications of Microwave and Radio Frequency in Food Processing. In : Food processing: principles and applications.ed, Iowa: Blackwell, 79-100.

GALLEGO J.A. (1998). Some applications of air-borne power ultrasound to food Processing. In: Mason (Eds.), *Ultrasound in Food Processing*. Blackie Academic & Professional, ed, Masson, London, 127-143.

GAUTHIER S.F. et POULIOT Y. (2003). Functional and biological properties of peptides obtained by enzymatic hydrolysis of whey proteins.*Journal of Dairy Science* ; **86**, 78-87.

HASAIN D; MOHSEN A; ABBAS REZAETASL. et EFARHANG.(2013). Drying characteristics of sardine fish dried with microwave heating. *Journal of the Saudi Society of Agricultral Science*; **13**, 121-127.

Hill A. et ILSI (1998). Europe Microwave Oven Task Force. *Microwave Ovens*.

HOFFMAN C. J. et ZABIK M. E. (1985). Current and future foodservice applications of microwave cooking/reheating. *Journal of the American Dietetic Association*.

HOSSAN M. R ; BYUN D. et DUTTA P. (2010). Analysis of microwave heating for cylindrical shaped objects. *International Journal of Heat and Mass Transfer* ; 53, 5129-5138.

JIMENEZ- MUNGUIAM T; ARCE-GARCIA; ARGAIZ A; PALOU E. et LOPEZMALOA. (2001). Mold spore inactivation during cavitation due to ultrasound treatments. *IFR Anoual Meeting Technical Program Abstrcet*, 154.

JONG J. W. (2000) In Memoriam. *Indo-Iranian Journal* ; 43,313-317.

JONKER D. et TIL H. P. (1995) Human diets cooked by microwave or conventionally: comparative sub-chronic (13-wk) toxicity study in rats. *Food and Chemical Toxicology*; 33(4), 245-256.

KANORR D. (2004). Application and potentialoy uptrasomics in food processing. *Trends in Food Science and Technology*; 15, 261- 266

KASSEM A.S; SHOKR A.Z; EL-MAHDY A.R; HAMED E.Y. et ABOUKARIMA A.M. (2010). Comparaison of drying characteristics of Thompson seedless grapes using combined microwave oven and hot air drying. *Journal of the Saudi Society of Agricultrale Science*; 10, 33-40.

KIM, H.Y; KIM Y.G. et KANG B.H. (2004). Enhancement of natural convection and pool boiling heat transfer via ultrasonic vibration; *Journal of Heat and Mass Transfer*;

47, 2831-2840.

KNORR D. (2003). Impact of non-thermal processing on plant metabolites. *Journal of Food Engineering*; **56**, 131-134.

KUMAR P; CORONEL P; SIMUNOVIC J; TROUNGV. D. et SANDEEP K. P. (2007). Measurement of dielectric properties of pumpable food materials under static and continuous flow conditions. *Journal of Food Science*, **72(4)**, 117-183.

LABORDE J.L; BOUYER C; CALTAGIRONE J.P. et GERARD A. (1998). Acoustic bubble cavitation at low frequencies. *Ultrasonics*; **36**, 589-594.

LAUGIER C. et CHATALIA R. (2007). (Guest Editors), Springer Tracts in Advanced Robotics (STAR), “Autonomous navigation in dynamic environments”, *Springer-Verlag*.

LI H; PORDESIMO L. et WEISS J. (2004). High intensity ultrasound assisted extraction of oil from soybeans. *Food Research International*; **37**, 731-738.

LIYD ; YUJJ ; LIU J. M ; OUYANG K ; ZANG F.P ; LIGL. et FANYL. (2015). Determination of multi-element in aquatic feed by microwave plasma-atomic emission spectroscopy. *Pub Med-indexed for MEDLINE* ; **35 (1)**, 7-234.

LORIMER J.P. et MASON T.J. (1987). Sonochemistry Part 1. *The Physical Aspects. Chem. Soc. Rev*; **16**, 239-274.

LOUISOT P. (1997). Les protéines. Dossier scientifique l’IFN ; N°9, 91.

LUNG C ; PAQUET D. et LINDEN G. (1991). Traitements de denaturation appliquée à la β -lactoglobuline avant hydrolyse trypsique ; **71**, 385-394

MANICKAVASAGAN A ; JAYAS D. S. et WHITE N. D. G. (2006). Nonuniformity of surface temperatures of grain after microwave treatment in an industrial microwave dryer. *Drying Technology*, **24(12)**, 1559-1567.

MANUELA E ; PINATADO F. et XAVIER M. (2000). Hydrolysis of ovine, caprine

and bivariate whey proteins by trypsin and pepsin. *Bioprocess Engineering* ; **23**,275-282.

MARCO F.C ; ANTONIO J. G ; LARREIRA D. M ; ROBERTO G ; RAQUEL G. et RUBENS. (2005). Hydrolyse of cheese whey proteins with trypsin, chymotrypsin and carboxypeptidase A. *Alim-Nutr, Ararquara* ; **16**, 105-109.

MASON T. J. (1990). Critical report an applied chemistry : chemistry with ultrasound. Elsevier , Amsterdam ; **vol.28**.

MASON T.J. (2005). Applications of ultrasound, in: Emerging Technologies for Food Processing . *Elsevier Amsterdam* ; 323-352.

MEREDITH R. (1998). Engineer's handbook of industrial microwave heating. *The Institution of Electrical Engineers*, London.

MICHEL P. L. et COLL. (1974). An evaluation of industrial Acoustic radiation above 10KHz ; 72-92 et 125.

MOREY M.D; DESHPANDE N.S. et BARIGOU M. (1999). Foam destabilization by mechanical and ultrasonic vibrations. *J. Coll. and Interface Sci*; **219**, 90-98.

MULET A ; CARCEL J ; BENEDITO C. ROSSELO C. et SIMAL. (2003). Ultrasonic mass transfer enhancement in food processing. In : transport phenomena of food processing, ed. chap 18, Boca Raton.

NICOLAS KUBAN. (2013). Les ondes électromagnétiques : innocuité ou danger pour la santé ; Diplôme d'états Docteur en Pharmacie ; faculté de pharmacie, Lorraine.

ORDONER J. A ; AGUILERA M. A ; GARCIA L. et SANZ B. (1987). Effect of combined ultrasonic heat treatment (thermo-ultrasonication) on the survival of a strain of staphylococcus-aureus. *Journal of Dairy Research* ; **45**, 61 et 67.

PETIT B ; RITZ. et FEDERIGHI. (2002). Nouveau traitement physique de conservation des aliments. *Méd : Vet* ; **10**, 653-664.

PETRUCELLI L. et FISHER G. H. (1994).D-aspartate and D-glutamate in microwaved versus conventional heated milk. *Journal of American College of Nutrition*; **13(2)**, 209-10.

PIYASEN P ; MOHAREB E. et MCKELLAR R. C. (2003). Inactivation of microbes using ultrasound : A review. *International Journal of Food Microbiology* ; vol **87(3)**, 207-216.

PITT W.G. et RODD A. (2003). Ultrasound Increases the Rate of Bacterial Growth. *Biotechnol. Prog* ; **19**, 1030 - 1044.

POUGHEON S. (2001). Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière. Obtention du grade de DOCTEUR VETRENAIRE. Université Paul-Sabastier, Toulouse, 102.

PRIOU A. (1981). Ensemble des travaux, obtention de diplôme de Doctorat, Université de Paul Sabatier ,437-479.

QING WANG ; ZENG-YI ; JING-RU BAI ; JUAN LIU. et HONG-OPEN LIU. (2012). Comparative study of the characteristics of oil shal withe hot drying and microwave drying. *Energy Procedia* ; **17**, 884-891.

RODRIGUEZ G ; RIERAE ; ALLEGO-JUAREZ J.A ; ACOSTA V.M ; PINTO A, MARTINEZ I. et BLANCO A. (2010). Experimental study of defoaming by airborne power ultrasonic technology. *Phys Procedia* ; **3**, 135–139.

SAHIMECRAM S. et SOYSAL C. (2011). Effect of ultrasound and temperature on tomato peroxidase. *Ultrasonic Sonochemistry* ; **18**, 689-695.

SAKIYAN O ; SUMNU G ; SAHIN S ; MEDA V; KOKSEL H. et ChHANG P. (2010). A study on degree of starch gelatinization in cakes baked in three different ovens. *Food Bioprocess Technology*.

SALA F. J ; BVRGOS J ; CONDONS ; LOPEZ P. et RASO J. (1995). Effect of heat and ultrasound on micro-organisms and enzymes. In : New methode of food preservation, ed. Blackic acadimic and professionnel, london, 176-204.

SARABIA J.A. GALLEGO-JUAREZ T.J. et MASON. (2006). Airborne ultrasound for the precipitation of smokes and powders and the destruction of foams. *Ultrason Sonochem* ; **13** 107–116.

SENOUSSI C. (2011). Les protéines du lait camelin collecté dans trois régions du sud algérien : essais de séparation et caractérisation de fraction proteose peptone. Obtention du diplôme de Magister, 32-33-36-39, 41-47 et 50.

SHOH A. (1975). Industriel application of ultrasound-A review ; **22**,60-71.

SINGH R. P. et HELDMAND. R. (2009). Introduction to Food Engineering 4^{ème} Ed ; Burlington: Academic Press.

SINISTERRA J.V. (1992). Application of ultrasound to biotechnology: an overview. *Ultrasonics* ; **30**, 180-185.

SONGUL S. E. et CIGDEM SOYSAL. (2013). Use of ultrasound in food préservation. *Natural Science* ; **vol.5**, 5-13.

SRI NAGESWARI K. (2003). Biological Effects of Microwaves and Mobile Telephony. *Electromagnetic Fields and Our Health*,11.

SUAREZ C ; VIOLLAZ P. E ; ROVEDO C. O ; TOLABA M. P. et HAROS M. (2000). Improved Drying Techniques and Microwave Food Processing ; in : Minimally processed fruits and vegetables , ed. Gaithersburg: Aspen, 175-188.

SUSLICK K.S. (1989) In Ultrasound: Its Chemical, Physical, and Biological Effects. VCH Publishers, New York.

TANG Z ; MIKHAYLENKO, G ; LIU F ; MAH J ; PANDIT R. et YOUNCE F. (2008). Microwave sterilization of sliced beef in gravy in trays. *Journal of Food*

Engineering ; **89**, 375-383.

TURABI E ; SUMNU G. et SAHIN S. (2008). Optimization of baking of rice cakes in infrared–microwave combination oven by response surface methodology. *Food Bioprocess Technology* ; **1**, 64–73.

VADIVAMBAL. et JAYAS D. S. (2010). Non-uniform Temperature Distribution During Microwave Heating of Food Materials. *Food Bioprocess Technol*, **3**, 161-171.

VALERO E ; VILLAMIEL M ; SANZ J. et MARTINEZ-CASTRO I. (2000). Chemical and sensorial changes in milk pasteurised by microwave and conventional systems during cold storage. *Food Chemistry* ; **70**, 77 –81.

VEILLET S. (2010). Enrichissements nutritionnel de l’huile d’olive entre tradition et innovation. Obtention le grade de Docteur en science, ununiversité de Avignon, Vaucluse, 160.

VENKATESH M. S. et RAGHAVAN G. S. V. (2004). An overview of microwave processing and dielectric properties of agri-food materials. *Biosystems Engineering*; **88(1)**, 1-18.

VERCETA ; LOPEZ P. et BURGOS J. (1997). Inactivation of heat resistant lipase and protease from *Pseudomonas fluorescens* by mono-thermosonication, **80**, 29-36.

VILLAMIEL M ; CORZO N ; MARTINEZ-CASTRO I. et OLANOA. (1996). Chemical changes during microwave treatment of milk. *Food Chemistry* ; **56(4)**, 385-388.

VILKHU K; MAWSON R; SIMONS L. et BATES D. (2006). Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry - a review. Submitted for publication.

VINATORU M. (2001). An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrasonics Sonochemistry*; **8**, 303-313.

WANG W. et GUOHUA C. (2005). Heat and mass transfer model of dielectric material-assisted microwave freeze drying of skim milk with hygroscopic effect. *Chemical Engineering Science* ; **60(23)**, 6542–6550.

WANG Y. et WANG J. (2009). Computer simulation of radio frequency heating. In : Food processing operations modeling. ed, Irudayaraj Boca Ratón: CRC Press, 81–112.

WELT B. A. et al. (1994). Effect of microwave radiation on inactivation of Clostridium sporogenes (PA 3679) spores. *Applied and Environmental Microbiology*; **60(2)**, 482-488.

WU H; HULBERG.J. et MOUNT J.R. (2000). Effects of ultrasound on milk homogenization and fermentation with yogurt starter. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **1**, 211-218.

YANG H. W. et GUNASEKARAN S. (2004). Comparison of temperature distribution in model food cylinders based on Maxwell's equations and Lambert's law during pulsed microwave heating. *Journal of Food Engineering* ; **64**, 445–453.

YUAN F. et PAL R. (1995). Measurement of solids concentration in using a microwave technique. *Chemical Engineering Science* ; **50(22)**, 3525-3533.

ZAMANIAN A. et HARDMAN C. (2005). Electromagnetic Radiation and Human Health: A Review of Sources and Effects. *High Frequency Electronic* ; 16-26.

ZENNIA S.A. (2015). Isolement et séparation des protéines sériques du lait de chamelle mise en évidence du phénomène de désamidation de α -lactalbumine ; conséquences sur la stabilité structurel. Science en biologie ; option Biochimie Appliquée et biotechnologie, 123, 53-56.

ZHANG R; XU Y. et SHI Y. (2003). The extracting technology of flavonoids compounds. *Food and Machinery*, **1**, 21-22.

ZHU J ; KUZNETSOV A. V. et SANDEEP K. P. (2007). Mathematical modeling of continuous flow microwave heating of liquids (effects of dielectric properties and design parameters). *International Journal of Thermal Sciences* ; **46**, 328–341.

Les annexes

Annexe 1 Préparation des solutions pour le dosage des protéines.

- **Solution de NaCl**

Poudre de NaCl.....0,105 g

Eau distillée.....12 ml

- **Solution de BSA de la gamme étalon**

Poudre de BSA.....0,51 mg

Solution de NaCl (0,15 M)....5, 1 ml

- **Solutions d'échantillons**

Le lait à 10^{-3}2 ml

Bleu de comassie G250.....1 ml

Lait sans caséines (10^{-2}).....2 ml

Bleu de comassie.....1 ml

I.1 Préparation de la gamme étalon

La gamme étalon est préparée à partir d'une solution de BSA de 0,1 mg/ml, suivant les volumes indiqués au niveau du tableau 1.

Tableau 1 : Préparation de la gamme d'étalonnage de la BSA (solution témoin).

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère(BSA) (ml)	0	0,1	0,5	1	1,5	2
NaCl (0.15M) (ml)	2	1,9	1,5	1	0,5	0
Réactif de Bradford (ml)	1 ml					

- incubation pendant **5** min à température ambiante ;

- homogénéiser rapidement les tubes et lire la DO à 595 nm contre le blanc.

1.2 Préparation des échantillons

- écrémage des différents échantillons du lait par centrifugation à 3000 g pendant 20 min ;

- faire des dilutions de 10^{-3} pour le dosage des protéines totales qui se fait comme suit :

- prendre 1 ml de chaque échantillon (lait de vache, lait Candia, lait de sachet) après écrémage ;
- ajouter 9 ml d'eau distillée et homogénéiser au vortex (10^{-1}) ;
- de ce tube, pipeter 1 ml, le verser dans un autre tube, puis ajouter 9 ml d'eau distillée ; homogénéiser au vortex (10^{-2}) ;
- prendre 1 ml de ce dernier tube et ajouter 9 ml d'eau distillée, homogénéisé (10^{-3}) ; ajouter 1 ml de réactif de Bradford pour les dilutions 10^{-3} ;
- incuber 5 min à température ambiante, puis mesurer la DO à 595 nm.

Pour le dosage des protéines sériques :

- faire une précipitation acide du lait écrémé pour éliminer les caséines ;
- réaliser une dilution de 10^{-2} par la méthode expliquée précédemment,
- ajouter 1 ml de bleu de coomassie, et laisser 5 min à température ambiante ;

Lecture de la DO à 595 nm.

Annexe 2 Préparation solutions pour indice d'acide

- **Solution de KOH**

KOH.....0,056 g

Eau distillée.....10 ml

- **Solution d'échantillon**

L'huile.....2,5g

Ethanol.....5 ml

Phénolphtaléine.....3 à 5 gouttes

Solution de KOH.....jusqu'à coloration rose pale persistante

2.1 Préparation des échantillons

- peser 2.5 g de l'échantillon (huile d'olive ou huile tourne sol) ;
- ajouter 5 ml d'éthanol avec ajout de 3 à 5 gouttes de phénolphtaléine ;

- titrer avec de la potasse alcoolique (0,1N) jusqu'à l'apparition d'une coloration rose pale persistante, puis mesurer son volume.

Annexe 3 Préparation des solutions pour indice d'iode

- **Solution de thiosulfate de sodium($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$)**

Thiosulfate de sodium (0,1 N).....0,49 g

Eau distillée.....20 ml

- **Solution d'échantillon**

L'huile.....0,5 g

L'hexane.....4 ml

Lugol.....5 ml

Empois d'amidon.....2 ml

Thiosulfate de sodium.....jusqu'à décoloration

3.1- Avant de commencer la méthode de détermination de l'indice d'iode, on procède d'abord à l'étape de la caractérisation qui consiste à vérifier la présence ou l'absence des insaturations dans une matière grasse donné qui se fait comme suit :

- prendre 1 ml de la matière grasse, et ajouter 0,5 ml du lugol ;
- faire un chauffage sous agitation jusqu'apparition d'une coloration jaune ;
- refroidir, puis ajouter quelque gouttes d'empois d'amidon ;
- s'il ya apparition d'une couleur bleu, cela signifie l'absence d'insaturations dans la matière grasse, s'il ya pas apparition de cette coloration donc cette dernière possède des insaturations, et puis continuer l'analyse pour la détermination de leurs nombres.

3.2 Préparation des échantillons

- Préparation de tube témoin :

- pipeter 5 ml du lugol, puis ajouter 2 ml d'empois d'amidon ;
- titrer par le thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3, 5 \text{ H}_2\text{O}$) jusqu'à décoloration, mesurer son volume.

-Préparation des tubes d'échantillons :

- pipeter 0,5 g d'huile (huile d'olive ou huile tourne sol) ; ajouter 4 ml d'hexane, puis agité pendant 3 min ; ajouter 5 ml du lugol ; chauffage sous agitation pendant 5 min ;
- après refroidissement, ajouter 2 ml d'empois d'amidon ; titrer à l'aide de thiosulfate de sodium jusqu'à décoloration, puis mesurer son volume.

Annexe 4 Préparation des solutions pour dosage des glucides par DNS

- **Solution de glucose (la gamme étalon) (1 g/l)**

Poudre de glucose.....0,01 g

Eau distillée.....10 ml

- **Solution d'échantillon**

Jus.....1 ml

Réactif de DNS.....2 ml

Eau distillée.....7 ml

4.1 Préparation de la gamme étalon

La gamme étalon est préparée à partir d'une solution de glucose de 1 g/l, suivant les volumes indiqués au niveau du tableau 2.

Tableau 2 : Préparation de la gamme d'étalonnage des sucres réducteurs.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution de glucose (ml)	0	0,2	0,4	0,6	0,8	1
Eau distillée (ml)	1	0,8	0,6	0,4	0,2	0
Réactif DNS (ml)	2 ml	2 ml	2 ml	2ml	2ml	2ml

- homogénéiser, puis chauffer au bain marie pendant 5 min ;
- refroidir, puis ajouter 7 ml d'eau distillée ;
- incuber pendant 15 min à température ambiante ;
- homogénéiser, et faire la lecture à 530 nm contre le blanc.

4.2 Préparation des échantillons

Faire des dilutions de 10^{-2} pour les différentes catégories de jus commercialisé qui se fait comme suit : prendre 1 ml de chaque échantillon ; ajouter 9 ml d'eau distillée et homogénéiser au vortex (10^{-1}) ; de ce tube, pipeter 1 ml, et le verser dans un autre tube, puis ajouter 9 ml d'eau distillée ; homogénéiser au vortex (10^{-2}).

-prendre 1 ml de la dilution 10^{-2} de chaque échantillon ; ajouter 2 ml du réactif (DNS) ; Chauffer pendant 5 min dans un bain marie ; après refroidissement, ajouter 7 ml d'eau distillée, puis homogénéiser ; incuber pendant 15 min à température ambiante ; faire la lecture à 530 nm contre le blanc.

Annexe 5 Préparation des solutions pour le dosage de la vitamine C

- Solution de DCPIP à 0,5 g/l

DCPIP.....0,05g

Eau distillée.....100 ml

- Solution d'acide ascorbique : 0,4 g/l

Acide ascorbique.....0,04 g

Eau distillée.....100 ml

- Solution d'échantillon

Jus ou acide ascorbique.....5 ml

Acide acétique glaciale.....1 ml

DCPIP..... jusqu'à coloration rose pale.

5.1 Préparation de la solution standard d'acide ascorbique :(0,4g/l)

-Prendre 5 tubes à essai ; verser 5 ml de la solution d'acide ascorbique dans chacun de ces tubes ; 1 tube reste sans traitement, et les autres seront traités comme suit :

- 1- laisser 15 min à température ambiante et exposé à la lumière ;
- 2- laisser 15 min à température ambiante et mettre à l'abri de la lumière ;
- 3- porter 15 min au bain marie à 40°C ;
- 4- porter 15 min au bain marie à 80°C.

- Ajouter 1 ml d'acide acétique glacial ; puis titrer avec la solution de DCPIP jusqu'apparition d'une coloration rose pale persistante, et puis noter les volumes de ce DCPIP correspondant.

5.2 Préparation des échantillons

- prendre 5 ml de chaque échantillon (de chaque catégorie de jus commercialisée) ;
- ajouter 1 ml d'acide acétique glacial ; titrer avec la solution de DCPIP jusqu'apparition d'une coloration rose pale persistante, puis noter les volumes de ce DCPIP correspondant.

Annexe 6 Préparation des solutions pour la chromatographie d'exclusion moléculaire

- Solution tampon Tris-HCl (0,02 M ; pH 8,4)

Tris.....1,21g
 Eau distillé.....500 ml
 HCl.....quelque gouttes jusqu'à PH 8,4

- Solution d'échantillon

Protéines sériques lyophilisés.....100 mg
 Tris HCl.....5 ml

A débit 0,5 ml/ min

6.1- Préparation des échantillons

-Réaliser un écrémage du lait par centrifugation : qui se fait dans une centrifugeuse réfrigéré (4°C) pendant 20 min à 3000 g. Après centrifugation, faire une filtration à l'aide d'un papier filtre pour se débarrasser de la matière grasse ;

-faire une précipitation acide de ce lait écrémé pour séparer les protéines sérique des caséines, qui se fait par abaissement de pH jusqu'à pHi des caséines qui est égale à 4,6 pour les faire précipiter ;

-après centrifugation, verser les protéines sériques dans des boudins de dialyse, puis mettre ces boudins dans des béchers rempli d'eau distillée (liquide de contre dialyse) et cela se fait à 4°C et sous agitation, et puis changer le milieu chaque 2 heures. Cette dialyse à pour but de dessaler notre échantillon avant de réaliser une chromatographie ;

-après quelques jours (élimination total des sels), verser les boudins dans des plateaux de lyophilisateur afin d'obtenir une poudre.

6.2 Préparation de la colonne

- dégazifier le gel à l'aide d'une pompe pour éliminer les bulles d'air ;

- remplissage de la colonne par cette phase stationnaire ;

- laver la colonne et tasser le gel par le tampon Tris-HCl (0,02M, pH 8,4) ;

- faire éluer le bleu de dextrine (1 mg/ml) de PM de 1 million dalton pour déterminer le volume mort V_0 (volume entre les billes) ;

- solubiliser 100 mg de protéines sériques lyophilisées dans 5 ml de tampon Tris-HCl, et les déposer en haut de la colonne, et les élués à débit de 0,5 ml / min ;

- des fractions de 1 ml sont recueillies pour les besoins de leur identification, tout en mesurant les DO des différentes fractions ;

- récolter les tubes ou il ya des piques dans le but de les identifier dans une électrophorèse en PAGE-native ;

- verser les tubes correspondants à chaque pique dans un plateau, puis mettre les plateaux dans un lyophilisateur, pour concentrer les protéines qu'elles contiennent.

Annexe 7 Solutions pour électrophorèse en PAGE native

- Solution d'acrylamide (A)

Acrylamide.....36g

Bisacrylamide.....1g

Eau distillée.....100 ml

- **Tampon de gel (B)**

Tris.....4,57g
Eau distillée.....50 ml
HCl(4 N).....jusqu'a pH 8,9

- **Tampon d'électrode**

Tris.....1,2g
Glycine.....5,76g
Eau distillée.....200 ml

- **Tampon d'échantillon**

Tampon de gel(B).....100ul
Eau distillée.....700ul
Glycérol 50%.....200ul
Bleu de bromophénol.....une tête d'aiguille
Protéines sériques lyophilisé.....1 mg

- **Préparation du gel : T=12% et C=2,7%**

Solution A.....3,25 ml
Solution B.....5 ml
Eau distillée.....1,68 ml
Dégazer le mélange
TEMED.....10ul
Solution de persulfate d'ammonium 10%.....75 ul

Couler et mettre la peigne immédiatement

- **Solution de fixation**

TCA (acide trichloracétique).....12 g
Eau distillée.....100 ml

- **Solution de coloration**

Bleu de comassie R250.....	0,5 g
TCA.....	4 g
Méthanol.....	100 ml
Eau distillée.....	100 ml

- **Solution de décoloration**

Acide acétique.....	37,5 ml
Eau distillée.....	312,5 ml
Méthanol.....	150 ml

7.1 Mode opératoire

- préparation du gel à T=12% et C=2,7%, puis le couler entre les deux plaques, et mettre le peigne immédiatement ;
- après solidification du gel, enlever le peigne, il ya formation de puits ;
- mettre le gel dans la cuve, et puis remplir le gel et la cuve avec le tampon d'électrode ;
- dissoudre 1 mg de protéines lyophilisés dans 1 ml de tampon d'échantillon ;
- dépôt des échantillons (20 ul) dans chaque puits à l'aide d'une aiguille;
- mettre le dispositif sous tension de 20mA et 250 V ;
- surveiller le bleu de bromophénol jusqu'à ce qu'il atteigne le front de migration, puis soulever le gel et laisser 45 min dans la solution de fixation, et puis 1 heure dans la solution de coloration, et enfin dans la solution de décoloration ;
- visualisation des bandes de migration.

Annexe 8 solutions pour électrophorèse en PAGE-SDS

- **Solution d'acrylamide (A)**

Acrylamide.....	36 g
Bisacrylamide.....	1 g
Eau distillée.....	100 ml

- **Tampon de gel de séparation**

Tris.....9,25 g
Eau distillée.....50 ml
HCl (4N).....jusqu'a pH 8,8

- **Tampon de gel de concentration (C)**

Tris.....3 g
Eau distillée.....50 ml
HCl (4N).....jusqu'a PH 6,8

- **Tampon d'électrode**

Tris.....1,2 g
Glycine.....5,76 g
SDS.....0,2 g
Eau distillée.....200 ml

- **Tampon d'échantillon**

Solution (C).....500 ul
Eau distillée.....250 ul
SDS (10%).....250 ul
2-mercaptoéthanol.....50 ul
Protéines lyophilisés (PS).....1 à 2 mg dans 800 ul de ce tampon
Chauffage à 100°C/ 5 min.....refroidir
Glycérol (50%).....200 ul
Bleu de bromophénol.....quelque graines

- **Solution de fixation**

TCA.....12 g
Eau distillée.....100 ml

- **Solution de coloration**

Bleu de comassie R250.....	0,5 g
TCA.....	4 g
Méthanol.....	100 ml
Eau distillée.....	100 ml

- **Solution de décoloration**

Acide acétique.....	37,5 ml
Eau distillée.....	312,5 ml
Méthanol.....	150 ml

- **Préparation de gel de séparation : T=17%et C=2,7%**

Solution A.....	4,6 ml
Solution S.....	2,51 ml
Eau distillée.....	2,73 ml
Dégazer pendant 2 minutes	
SDS (10%).....	100 ul
TEMED.....	50 ul
Persulfate d'ammonium (10%).....	100 ul

- **Préparation de gel de concentration : T=4,8% et C=2,7%**

Solution A.....	1,3 ml
Solution C.....	2,5 ml
Eau distillée.....	5,8 ml
Dégazer quelque secondes	
Solution de SDS à 10%.....	100ul
TEMED.....	50ul
Persulfate d'ammonium à 10%.....	100ul

8.1 Mode opératoire

- préparation du gel de séparation à T=17% et C=2,7%, puis le couler entre les deux plaques à environ 1.5 cm du sommet de la plaque ;
- préparation du gel de concentration à T=4,8% et C=2,7%, et le couler sur le gel de séparation, et mettre le peigne immédiatement ;
- après solidification du gel, enlever le peigne, il ya formation de puits ;
- mettre le gel dans la cuve, et puis remplir le gel et la cuve avec le tampon d'électrode ;
- ajouter quelques graines de bleu de bromophénol dans chaque tube d'échantillon ;
- dépôt des échantillons (20 ul) dans chaque puits à l'aide d'une aiguille;
- mettre le dispositif sous tension de 20 mA et 250 V ;
- surveiller le bleu de bromophénol jusqu'à ce qu'il atteigne le front de migration, puis démolir le gel et laisser 45 min dans la solution de fixation, et puis 1 heure dans la solution de coloration, et enfin dans la solution de décoloration ;

Annexe 9 Solutions utilisées pour hydrolyse enzymatique des protéines sériques du lait par la trypsine.

- **Préparation de l'échantillon : (PS 0,8% dans tampon Tris avec E/S 1%).**

Protéines sériques lyophilisés.....40mg

Tampon Tris-HCl.....5 ml

L'enzyme : la trypsine.....0,4 mg/0,4 ml de solution d' HCl

Faire un tube témoin sans mettre l'enzyme ;

Incubation à 40°C pendant 2 heures ;

Faire des prélèvements à 0, 15, 30, 45, 60 et 120 min ;

Arrêt de la réactionchauffage à 100°C/ 5 min

Tampon d'échantillon.....400 ul

Chauffage.....100°C/5min

Incubation à température ambiante.

- **Tampon d'échantillon**

Solution C.....500 ul

Eau distillée.....250 ul

SDS 10%.....250 ul

B-2-mercaptoéthanol.....50 ul

Protéines sériques lyophilisés.....1 à 2 mg dans 800 ul de ce tampon.

Chauffage à 100°C/ 5 min puis refroidir.

Solution de glycérol.....200 ul

Bleu de bromophénol.....quelque graines.

9.1 Préparation de l'échantillon : (PS 0,8% dans tampon Tris avec E/S 1%).

Prendre 40 mg de protéines sériques lyophilisé ; les solubiliser dans 5 ml de tampon Tris-HCl ; ajouter 0,4 mg d'enzyme : la trypsine (1 mg/ml d'HCl) ; faire un tube témoin sans mettre l'enzyme ; Incubation à 40°C pendant 2 heures ; faire des prélèvements à 0', 15', 30', 45', 60' et 120 min ; Arrêt de la réaction immédiatement après prélèvement par chauffage à 100°C/ 5 min ; Ajouter 400 ul de tampon d'échantillon pour chaque prélèvement ; Chauffage à 100°C pendant 5 minutes ; incubation à température ambiante.