



**HAL**  
open science

# Effet d'un chauffage micro-ondes et conventionnel sur la thermorésistance d'une Salmonelle traitée dans un produit à basse activité d'eau. Conséquences sur la qualité du produit

Lara Hanna-Wakim

► **To cite this version:**

Lara Hanna-Wakim. Effet d'un chauffage micro-ondes et conventionnel sur la thermorésistance d'une Salmonelle traitée dans un produit à basse activité d'eau. Conséquences sur la qualité du produit. Sciences du Vivant [q-bio]. ENSIA (AgroParisTech), 2008. Français. NNT : 2008AGPT0047 . pastel-00005601

**HAL Id: pastel-00005601**

**<https://pastel.hal.science/pastel-00005601>**

Submitted on 11 Jan 2010

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**ECOLE NATIONALE SUPERIEURE D'INDUSTRIES  
AGRICOLES ET ALIMENTAIRES (ENSIA)**



THESE

Pour obtenir le grade de  
DOCTEUR DE L'ECOLE DOCTORALE ABIES

Discipline : Génie des Procédés

Présentée et soutenue publiquement par

Lara HANNA WAKIM

Le 3 juillet 2008

**Effet d'un chauffage micro-ondes et conventionnel sur la  
thermorésistance d'une Salmonelle traitée dans un produit à basse  
activité d'eau. Conséquences sur la qualité du produit.**

Directeur de Thèse : Pr. Albert DUQUENOY

Encadreurs : Dr. Jean-Claude LAGUERRE/ Dr. Ali BASSAL.

Jury :

Rapporteurs : Pr. Arsène ISAMBERT

Dr. Jean-Dominique DAUDIN

Examineurs : Dr. Michel DELMOTTE

Dr. Ali BASSAL

Dr. Jean-Claude LAGUERRE

Pr. Albert DUQUENOY

*A Jacques,  
Pour tous les moments de bonheur qu'il m'a offert,  
Pour ceux à venir  
Avec tout mon amour...*

*A mes parents,  
A mes sœurs et frère,  
Pour leur amour et leur patience dans l'attente de mon retour après une longue  
absence...*

## **Remerciements**

*Au terme de 3 années passées à l'ISAB au sein du département STAI, je souhaiterais exprimer toutes mes reconnaissances aux personnes que j'y ai rencontrées.*

*Je remercie tout d'abord Messieurs Albert DUQUENOY et Jean-Claude LAGUERRE de m'avoir fait confiance pour mener à bien cette thèse, ainsi que pour leur soutien et les conseils qu'ils m'ont donné au cours de ce travail.*

*Je souhaite également remercier Monsieur Ali BASSAL, chercheur à l'IRAL au Liban, qui a bien voulu suivre de près ce travail en prodiguant ses précieux conseils et critiques ainsi que pour l'intérêt qu'il a toujours porté à ce travail.*

*Je suis extrêmement reconnaissante envers Monsieur Farès CHARBEL, Enseignant-Chercheur au département STAI, pour m'avoir introduit à l'ISAB, pour ses encouragements et son aide au cours de ces trois ans.*

*Je voudrais exprimer toute ma gratitude à Monsieur Bruno MARTIN, Chef du département STAI, pour son accueil, sa disponibilité et son écoute.*

*Je voudrais ensuite remercier mes rapporteurs, Monsieur Arsène ISAMBERTI ainsi que Monsieur Jean-Dominique DAUDIN pour avoir accepté de juger ce travail.*

*Je remercie également Monsieur Michel DELMOTTE de pouvoir participer au jury.*

*Merci à Cathy CHAPELIN pour les tests statistiques, sa disponibilité et sa gentillesse.*

*Ma thèse s'est déroulée au sein du département STAI pour lequel j'ai toujours un attachement particulier. Je pense aux nombreux chercheurs que j'ai croisés en arrivant, Delphine MARECK, Pascale GADHONA et Thierry RIBERREAU, de qui j'ai énormément appris.*

*Je remercie aussi les techniciens de laboratoire, Julien-Pierre BRUNEAU et David MARJER pour toute l'aide matérielle qu'ils m'ont fournie.*

*Je remercie chaleureusement ma collègue de foyer pendant 3 ans, Aline KADRI, avec qui j'ai eu de nombreuses discussions scientifiques. Merci pour toute la gentillesse dont tu as fait preuve, pour tes attentions, tes conseils, ton humour, des dons de patience, et bien d'autres choses encore.*

*Je pense également à Marie WALLART, ma « co-bureau », pour son dynamisme, sa sympathie et de qui j'ai appris bien des choses que ce soit sur le plan professionnel ou personnel. Toi aussi tu es exceptionnelle !*

*Au cours de cette thèse, j'ai pu également rencontrer bons nombres de doctorants et d'Ingénieurs avec qui j'ai pu tissé des liens d'amitié. Il y a donc, Nathalie, Afif, Aline, Ghenwa, Maya, Fida, Marc, Rémy, Jad, Sonja, Lamia, Elias, Olfa et Faten.*

*Je n'omettrai pas les 2 post-doctorants : Souad et Sameh dont j'ai apprécié la cordialité.*

*Mes remerciements s'adressent aussi à Carole Soreau, responsable de l'Internationale à l'ISAB, pour les bons moments passés ensemble, les crises de rires, ses délicieux repas. J'espère qu'elle puisse, un jour, visiter le Liban !*

*Un grand merci à toutes les personnes croisées au labo et qui m'ont aidé au cours de ce travail à travers différentes activités parallèles. Je cite, les stagiaires Thaïlandais, May, Ple et Keaw ainsi que les stagiaires Brésiliens, Jonaina, Fernanda, Pedro et Pauliana.*

*Je dois dire enfin que dans le cadre de ma vie à Beauvais, j'ai rencontré un grand nombre de personnes, des gens à la fois simples et passionnants. Leur présence a souvent été un encouragement pour moi dans les moments difficiles de ce travail. Qu'ils trouvent ici la manifestation de ma gratitude : la famille NAMMOUR, spécialement Marie et Habib, la famille MAALOUF, la famille AYYOUBI.*

## Résumé

Nous avons exploré dans la présente étude l'incidence des cinétiques de chauffage traditionnel (bain-marie) et micro-ondes sur la thermorésistance d'une souche de *Salmonella enterica arizonae* traitée dans un produit à faible activité d'eau ( $a_w = 0,51$ ), la crème de sésame achetée sur le marché libanais. Une solution de chlorure de sodium ayant une activité d'eau plus élevée ( $a_w = 0,99$ ), a été également contaminée artificiellement par la même souche bactérienne et traitée selon les 2 modes de traitement.

En plus de ces traitements au bain-marie et aux micro-ondes, des expériences, pour une même rampe thermique, ont été effectuées dans le but de comparer l'incidence de la cinétique et du mode de chauffage sur la thermorésistance de la souche étudiée traitée dans la crème de sésame. L'influence du traitement micro-ondes sur la qualité de la crème a elle aussi été examinée en vue d'une optimisation du traitement micro-ondes. Pour cela, trois critères ont été étudiés : la viscosité, la couleur et l'indice de peroxydes.

Pour les deux traitements, bain-marie et micro-ondes, l'activité de l'eau semble avoir une influence sur la thermorésistance de la bactérie : le temps de réduction décimale ( $D_{59}$ ) de *S. enterica*, dans la solution de chlorure de sodium, est deux fois plus élevé que celui obtenue dans la crème de sésame. D'autre part, la Salmonelle traitée dans la crème de sésame ( $a_w = 0,49$ ), riche en lipides, présente une thermorésistance plus forte que celle traitée dans la solution de NaCl ( $a_w = 0,99$ ). Cet effet protecteur des lipides est connu et a été mis en évidence par plusieurs auteurs qui concluent que celui-ci a pour conséquence d'augmenter la thermorésistance des bactéries. Nous notons aussi que la thermorésistance de cette souche diminue avec le pH. En effet, la crème de sésame a un pH de 5,80 à 20°C, alors que la solution de NaCl a un pH de 6,50 à 20 °C : pH et  $a_w$  contribuent donc conjointement à augmenter la thermorésistance de la souche bactérienne dans la crème de sésame par rapport à la solution de NaCl.

Par ailleurs, d'après nos travaux, il semblerait qu'une même rampe thermique réalisée avec deux modes de traitement thermique : bain-marie ou micro-ondes, ne donne pas de résultats équivalents en termes de destruction de *S. enterica*. En effet, à niveau de température atteinte égal, le traitement micro-onde donne systématiquement un nombre de réduction décimale supérieure à celle du traitement au bain-marie.

**Mots-clés :** bain-marie – micro-ondes – activité de l'eau – *Salmonella enterica arizonae*

## Abstract

We explored in this study the incidence of traditional heating (water bath) and microwave on the thermotolerance of one strain of *Salmonella enterica arizonae* treated in a low water activity product ( $a_w = 0.51$ ), the sesame cream bought from the Lebanese market. A sodium chloride solution with a higher water activity ( $a_w = 0.99$ ), was also been artificially contaminated by the same strain of bacteria and treated by the two way of treatment.

In addition of water bath and microwave treatments, experiments, under the same thermal ramp were realized in the order to compare the kinetic incidence and the way of heating on the thermotolerance of the bacterial strain treated in the sesame cream. We further examined the influence of the microwave treatment on the quality of the sesame cream in order to build an optimization of the treatment. Three criteria have been studied: viscosity, color and the peroxide index. Thereafter, an optimization of this decontamination treatment was highlighted.

For both treatments, the water activity seems to have an influence on the thermotolerance of bacteria: the decimal reduction time ( $D_{59}$ ) of *S. enterica*, in the sodium chloride solution ( $a_w = 0.99$ ), is two times higher than that obtained in the sesame cream ( $a_w = 0.49$ , rich in lipids). On the other hand, the *Salmonella* treated in the cream of sesame ( $a_w = 0.49$ ), rich in lipids, showed a thermotolerance stronger than that treated in the solution of NaCl ( $a_w = 0.99$ ). This protector effect of lipids was known and has previously been reported by many authors who conclude that the protective effect of lipids is attributable to increase the thermotolerance of bacteria. We noted that the thermotolerance of this strain decrease with the pH. The sesame cream has a pH of 5.80 at 20°C where the sodium chloride solution has a pH of 6.50 at 20°C: pH and  $a_w$  contribute together to increase the thermotolerance of the bacteria in the sesame cream against the NaCl solution.

Furthermore, according to our works, it would appear that the same thermal ramp made with two types of heat treatment: water bath or microwave, does not provide equivalent results in terms of destruction of *S. enterica*. Indeed, for the same temperature reached, microwave treatment systematically gives higher number of decimal reduction than the water bath treatment.

**Keywords :** water bath - microwave – water activity – *Salmonella enterica arizonae*.

## Communications

### Publications

- **HANNA L., LAGUERRE J.C., BASSAL A., DUQUENOY A., 2008.**  
“Determination and comparison of D and z values for *Salmonella enterica* in the sesame cream and NaCl solution.” International journal of Natural and Social Science, 1, (1): 16-22.
- **LAGUERRE J.C., HANNA L., BASSAL A., DUQUENOY A., 2007.** “Survival of *Salmonella enterica* heated by microwave energy in a low water activity product.” International journal of Natural and Social Science (*en préparation*).
- **HANNA L., LAGUERRE J.C., BASSAL A., DUQUENOY A., 2007.**  
“Comparison of microwave treatment and thermal treatment for inactivation of *Salmonella enterica*.” Journal of Food Science (*en préparation*).

### Communications orales

- **HANNA L., (Novembre 2003).** « Effet d'un traitement micro-ondes sur la décontamination microbiologique de produits agricoles et alimentaires à faible activité d'eau. » Loncinade ENSIA, Paris.
- **HANNA L., (Février 2004).** « Effet d'un traitement micro-onde sur la contamination microbiologique de la crème de sésame. » ISAB, Beauvais.
- **HANNA L., (Mai 2005).** « Effet d'un traitement micro-onde sur la contamination microbiologique des produits à faible activité d'eau. » ISAB, Beauvais.
- **HANNA L., (Mars 2006).** « Incidence des cinétiques de chauffage sur la décontamination de la crème de sésame. » Loncinade ENSIA, Paris.

## **Congrès**

Participation au “13<sup>th</sup> World Congress of Food Science & Technology, FOOD IS LIFE”. 17-21 September 2006, Nantes, France.

**Poster** présenté: “Effect of microwave treatment on pathogens survival in low water activity product”.

## **Workshop :**

« Organic Management » workshop within the frame of the USAID funded Sustainable Agri-Business Initiative for Lebanon (SABIL) project, World Vision-Lebanon, USEK and the Order of Engineers and Architects-Beirut, March 14, 15, 29 and 30, 2007.

## **Modules suivis :**

- Préparation à l’insertion professionnelle – Réfléchir à son projet personnel et professionnel. Mars 2005.
- Rédaction d’article scientifique. Janvier jusqu’au Juin 2005.
- Pratique de la recherche ateliers : Anglais scientifique - Write Right. Juin 2005.
- Journées ABIES. Mars 2005
- Journées ABIES. Mars 2006.
- Séminaires de l’UMR Génial :
  - Novembre 2003 : Effet d’un traitement micro-ondes sur la décontamination microbiologique de produits agricoles et alimentaires à faible activité d’eau. »
  - Mars 2006 : « Incidence des cinétiques de chauffage sur la décontamination de la crème de sésame. »

## **Enseignements : Année 2006 – jusqu’au présent**

- Université Saint Esprit de Kaslik – Liban, Faculté des Sciences Agronomiques : Enseignements du cours « Conditionnement et Emballage », 2<sup>ième</sup> année Agroalimentaire.

- Université Saint Esprit de Kaslik – Liban, Faculté des Sciences Agronomiques : Enseignements du cours « Aliments d’origine végétale », 3<sup>ième</sup> année Agroalimentaire.
- Université Saint Esprit de Kaslik – Liban, Faculté des Sciences Agronomiques : Travaux pratiques du Cours « Aliments d’origine végétale », 3<sup>ième</sup> année Agroalimentaire.

## Table des matières

<b>Remerciements</b> .....	iv
<b>Résumé</b> .....	vi
<b>Abstract</b> .....	vii
<b>Communications</b> .....	viii
<b>Table des matières</b> .....	xi
<b>Introduction</b> .....	1
<b>Partie 1 : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE</b> .....	5
<b>CHAPITRE I : DECONTAMINATION PAR LA CHALEUR</b> .....	7
<b>I.1. DESTRUCTION THERMIQUE DES MICRO-ORGANISMES</b> .....	9
I.1.1. Notion de thermorésistance .....	9
I.1.2. Notion de valeur stérilisatrice .....	12
I.1.3. Méthodes de calcul de la valeur stérilisatrice à température variable et du temps de barème.....	13
<i>I.1.3.1. Méthode de Bigelow</i> .....	13
<i>I.1.3.2. Méthode de Ball</i> .....	15
<b>I.2. FACTEURS INFLUENCANT LA THERMORESISTANCE</b> .....	16
I.2.1. Le pH .....	16
I.2.2. Les solutés et l'activité de l'eau .....	16

<b>CHAPITRE II : CHAUFFAGE MICRO-ONDES</b> .....	18
<b>II.1. GENERALITES</b> .....	20
II.1.1. Nature des micro-ondes et domaine spectral.....	20
II.1.2. Mécanismes d’action des micro-ondes .....	23
II.1.3. Caractéristiques diélectriques d’un matériau .....	24
<b>II.2. APPAREILLAGE</b> .....	25
II.2.1. Eléments constitutifs d’un dispositif micro-ondes .....	25
II.2.2. Différents types d’applicateurs.....	27
II.2.2.1. <i>Multimode</i> .....	28
II.2.2.2. <i>Monomode</i> .....	28
II.2.2.3. <i>Stéréomode</i> .....	28
<b>II.3. ACTION DES MICRO-ONDES SUR LE PRODUIT</b> .....	29
II.3.1. Paramètres importants du produit .....	29
II.3.1.1. <i>Propriétés diélectriques</i> .....	29
II.3.1.2. <i>Propriétés thermiques</i> .....	30
II.3.1.3. <i>Activité d’eau</i> .....	30
II.3.2. Puissance absorbée.....	31
II.3.3. Profondeur de pénétration .....	33
<b>CHAPITRE III : CHAUFFAGE MICRO-ONDES ET SYSTEMES BIOLOGIQUES</b> .....	35
<b>III.1. EFFET SUR LES MICRO-ORGANISMES</b> .....	37
III.1.1. Effets thermiques spécifiques .....	37
III.1.2. Effets non thermiques .....	37
<b>III.2. EFFET SUR LA QUALITE DES PRODUITS</b> .....	39

<b>CHAPITRE IV : LA CREME DE SESAME</b> .....	41
IV.1. PROCEDE DE FABRICATION.....	42
IV.2. COMPOSITION CHIMIQUE.....	42
IV.3. PRINCIPAUX CONTAMINANTS .....	44
IV.4. IMPACT D'UN TRAITEMENT THERMIQUE SUR LA QUALITE DE LA CREME DE SESAME .....	46
IV.4.1. La rancidité .....	46
IV.4.2. Rhéologie et viscosité .....	47
 <b>CHAPITRE V : LE CONTAMINANT, <i>Salmonella enterica arizonæ</i></b> .....	49
V.1. DESCRIPTION DES SALMONELLES.....	50
V.2. NOTE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LA THERMORESISTANCE DES SALMONELLES.....	52
 <b>Partie 2 : MATERIELS ET METHODES</b> .....	56
<b>I. LA SOUCHE BACTERIENNE ET MATIERE PREMIERE</b> .....	57
I.1. CARACTERISTIQUES .....	57
I.2. MILIEUX DE CULTURE .....	57
I.3. CONDITIONS DE CULTURE ET CONTAMINATION DU PRODUIT .....	57
I.4. MATIERE PREMIERE .....	58
I.4.1. Mesure de la teneur en eau .....	58
I.4.2. Mesure de l'activité de l'eau .....	58

<b>II. LE CHAUFFAGE BAIN-MARIE</b> .....	59
<b>II.1. DISPOSITIF UTILISE</b> .....	59
<b>II.2. LE PROTOCOLE</b> .....	60
<b>III. LE SYSTEME D'EXPOSITION MICRO-ONDES</b> .....	61
<b>III.1. LE MATERIEL UTILISE</b> .....	61
<b>III.2. LE PROTOCOLE D'EXPOSITION</b> .....	62
<b>IV. CHAUFFAGE PAR RAMPE THERMIQUE</b> .....	63
<b>IV.1. RAMPE EN BAIN-MARIE</b> .....	64
<b>IV.2. MICRO-ONDES</b> .....	65
<b>V. MORTALITE CELLULAIRE</b> .....	66
<b>V.1. CAS D'UN PALIER DE TEMPERATURE</b> .....	66
<b>V.2. CAS D'UNE RAMPE DE TEMPERATURE</b> .....	67
<b>V.3. CAS D'UN TRAITEMENT PAR MICRO-ONDES</b> .....	68
V.3.1. Effet purement électromagnétique sur les microorganismes ..	68
V.3.2. Effets électromagnétiques et thermiques associés .....	68
<b>V.4. METHODE DE CALCUL</b> .....	69
<b>VI. CRITERES DE QUALITE</b> .....	70
<b>VI.1. VISCOSITE</b> .....	70
<b>VI.2. COULEUR</b> .....	72
<b>VI.3. INDICE DE PEROXYDES</b> .....	72

<b>Partie 3 : RESULTATS ET DISCUSSIONS .....</b>	<b>74</b>
<b>CHAPITRE I : MESURES PHYSIQUES .....</b>	<b>76</b>
<b>I.1. EVOLUTION TYPE TEMPERATURE.....</b>	<b>77</b>
I.1.1. En bain-marie .....	77
I.1.2. Aux micro-ondes .....	78
<b>CHAPITRE II : EFFETS SUR LA DESTRUCTION DES MICRO- -ORGANISMES .....</b>	<b>81</b>
<b>II.1. DESTRUCTION DES MICRO-ORGANISMES EN BAIN-MARIE .....</b>	<b>82</b>
II.1.1. Résultats bruts .....	82
II.1.2. Calcul de $D_0$ et $z$ en négligeant les phases de montée et de refroidissement.....	83
II.1.3. Calcul de $D_0$ et $z$ par intégration de Bigelow .....	84
II.1.4. Comparaison de nos résultats.....	85
II.1.5. Conclusion.....	86
<b>II.2. DESTRUCTION DES MICRO-ORGANISMES AUX MICRO-ONDES.....</b>	<b>87</b>
II.2.1. Résultats bruts .....	87
II.2.2. Interprétation à l'aide de $D_p$ et $z$ pour un effet lié à la puissance .....	88
II.2.3. Interprétation à l'aide de l'association des 2 modèles: thermique et micro-ondes. ....	90
<b>II.3. EFFET DE LA CINETIQUE DE CHAUFFAGE .....</b>	<b>92</b>
II.3.1. Le problème.....	92
II.3.2. Les résultats bruts.....	92

II.3.3. Interprétation des résultats .....	93
II.3.4. Conclusion .....	95
<b>CHAPITRE III : EFFETS SUR LA QUALITE DU PRODUIT .....</b>	<b>96</b>
<b>III.1. VISCOSITE .....</b>	<b>97</b>
<b>III.2. COULEUR.....</b>	<b>102</b>
<b>III.3. INDICE DE PEROXYDES .....</b>	<b>105</b>
<b>III.4. OPTIMISATION DE LA DECONTAMINATION DE LA CREME</b>	
DE SESAME .....	106
<b>CONCLUSION .....</b>	<b>108</b>
<b>NOUVEAU CHAPITRE DE LA THESE.....</b>	<b>111</b>
I. PLACE ET ENJEUX.....	112
II. GESTION DU PROJET ET MOYENS DE MIS EN ŒUVRE.....	113
III. COMPETENCES DEVELOPPEES DANS LE CADRE DU SUJET .....	114
IV. EVALUATION DES RETOMBES DE LA THESE .....	115
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>116</b>
<b>ANNEXES .....</b>	<b>130</b>

## Liste des abréviations et sigles

- $a_w$  : activité d'eau
- NaCl : chlorure de sodium
- D : temps de réduction décimale (en s)
- z : valeur d'inactivation thermique (°C)
- n : nombre de réduction décimale
- VS : valeur stérilisatrice
- VP : valeur pasteurisatrice
- MO : micro-ondes
- BM : bain-marie
- UFC : Unité Formant Colonie
- k : indice de consistance
- N : indice d'écoulement
- CUT : Come Up Time
- CDT : Come Down Time
- $\gamma$  : vitesse de cisaillement (s<sup>-1</sup>)
- $\tau_0$  : contrainte seuil
- $P_s$  : Puissance spécifique
- SDCE : somme des carrés des écarts
- IP : indice de peroxydes
- $D_{ps}$  : temps de réduction décimale correspondant à une puissance spécifique fixe.
- $\Delta E$  : paramètre global de couleur
- $\Delta C$  : écart de saturation

## Liste des tableaux

**Tableau 1.** Composition chimique de la crème de sésame.

**Tableau 2.** Composition en acides gras de la crème de sésame.

**Tableau 3.** Composition chimique dans 100g de matière sèche de crème de sésame traitée suivant quatre méthodes différentes de traitements.

**Tableau 4.** Les critères de qualité de la crème de sésame.

**Tableau 5.** Les temps de prélèvements des échantillons de NaCl pour les différents traitements au bain-marie.

**Tableau 6.** Les temps de prélèvements des échantillons de crème de sésame pour les différents traitements au bain-marie.

**Tableau 7.** Durées d'application micro-ondes et températures de sortie des produits.

**Tableau 8.** Températures moyennes atteintes de la crème de sésame traitée au bain-marie et aux micro-ondes pour une même rampe thermique.

**Tableau 9.** Temps de réduction décimale expérimentaux et valeurs de  $z$  de la *Salmonella enterica* traitée au bain-marie dans deux milieux à différentes activités d'eau.

**Tableau 10.** Temps de réduction décimale et valeurs de  $z$  corrigés de la *Salmonella enterica* placée dans deux milieux à différente activité d'eau et traitée au bain-marie.

**Tableau 11.** Temps de réduction décimale et valeurs de  $z$  de la *Salmonella enterica* cultivée dans deux milieux à différentes activités d'eau et traitée aux micro-ondes.

**Tableau 12.** Temps de réduction décimale et valeurs de  $z$  corrigées de la *Salmonella enterica* cultivée dans deux milieux à différentes activités d'eau et traitée aux micro-ondes.

**Tableau 13.** Comparaison des valeurs du nombre de réduction décimale ( $n$ ) et de la valeur stérilisatrice (VP) de *S. enterica arizonae* traitée au bain-marie et micro-ondes.

**Tableau 14.** Temps de réduction décimale et valeurs de  $z$  de la *Salmonella enterica* cultivée dans la crème de sésame et traitée, pour une même rampe, au bain-marie et aux micro-ondes.

## Liste des figures

**Figure 1.** Courbe de survie d'un micro-organisme.

**Figure 2.** Influence de la température sur la résistance d'un micro-organisme.

**Figure 3.** Aire d'intégration permettant de calculer une valeur stérilisatrice selon la méthode de Bigelow.

**Figure 4.** Représentation des champs constitués d'une onde électromagnétique loin de tout obstacle (onde dite progressive).

**Figure 5.** Le spectre électromagnétique et exemples d'ordre de grandeur et d'utilisations associées.

**Figure 6.** Schéma de principe d'un dispositif micro-onde.

**Figure 7.** Coupe schématique d'un magnétron.

**Figure 8.** Dessin schématique du dispositif du traitement classique

**Figure 9.** Dessin schématique de l'appareil micro-ondes utilisé.

**Figure 10.** Organigramme descriptif du traitement préalable à la rampe en bain-marie.

**Figure 11.** Courbes de montée en température, pour une même rampe thermique, de la crème de sésame traitée au bain-marie et aux micro-ondes.

**Figure 12.** Organigramme de détermination des paramètres de thermorésistance.

**Figure 13.** Organigramme de calcul des paramètres de thermoresistance.

**Figure 14.** Suivi de température de la solution de NaCl suivant différents traitements bain-marie.

**Figure 15.** Suivi de température de la crème de sésame suivant différents traitements bain-marie.

**Figure 16.** Suivi de température de la solution de NaCl traitée à  $P_s = 5$  W/g pour différentes températures finales.

**Figure 17.** Suivi de température de la crème de sésame traitée à  $P_s = 5$  W/g pour différentes températures finales.

**Figure 18.** Courbe de survie de la *Salmonella enterica* dans une solution de NaCl (0,9%) pour différentes températures de traitement au bain-marie.

**Figure 19.** Courbe de survie de la *Salmonella enterica* traitée, dans la crème de sésame, pour différentes températures de traitement au bain-marie.

**Figure 20.** Variation de  $\log D_0$  en fonction de la température pour la *Salmonelle* traitée dans la solution de NaCl.

**Figure 21.** Variation de  $\log D_0$  en fonction de la température pour la *Salmonelle* traitée dans la crème de sésame.

**Figure 22.** Courbe de survie de la *Salmonella enterica* dans une solution de NaCl (0,9%) pour différentes puissances spécifiques de traitement aux micro-ondes.

**Figure 23.** Courbe de survie de la *Salmonella enterica* dans une solution de la crème de sésame pour différentes puissances spécifiques de traitement aux micro-ondes.

**Figure 24.** Variation de  $\log D_p$  en fonction de  $P_s$  dans la solution de NaCl.

**Figure 25.** Variation de  $\log D_p$  en fonction de  $P_s$  dans la solution de crème de sésame.

**Figure 26.** Nombre de réduction décimale ( $n$ ) de la *Salmonella enterica arizonae* inoculée dans la crème de sésame et traitée au bain-marie et aux micro-ondes.

**Figure 27.** Le nombre de réduction décimale en fonction de la valeur pasteurisatrice (VP) au cours des 2 traitements.

**Figure 28.** Courbe d'écoulement de la crème de sésame à  $P_s = 5\text{W/g}$  pour une température finale de  $50^\circ\text{C}$  montrant 2 comportements rhéologiques.

**Figure 29.** Courbe d'écoulement de la crème de sésame à  $P_s = 7,5\text{W/g}$  pour une température finale de  $50^\circ\text{C}$  montrant 2 comportements rhéologiques.

**Figure 30.** Courbe d'écoulement de la crème de sésame à  $P_s = 12\text{ W/g}$  pour une température finale de  $50^\circ\text{C}$  montrant 2 comportements rhéologiques.

**Figure 31.** Courbe d'écoulement de la crème de sésame à  $P_s = 15\text{ W/g}$  pour une température finale de  $50^\circ\text{C}$  montrant 2 comportements rhéologiques.

**Figure 32.** Courbe d'écoulement de la crème de sésame à  $P_s = 20\text{ W/g}$  pour une température finale de  $50^\circ\text{C}$  montrant 2 comportements rhéologiques.

**Figure 33.** Variation de l'indice de consistance pour différentes températures finales de traitement en fonction des puissances spécifiques étudiées.

**Figure 34.** Evaluation de  $\log \Delta E$  de la crème de sésame suite aux différentes puissances appliquées.

**Figure 35.** Evaluation de  $\log \Delta C$  de la crème de sésame suite aux différentes puissances appliquées.

**Figure 36.** Courbe de  $\log D_p$  en fonction de  $P_s$  pour l'écart  $\log \Delta E$ .

**Figure 37.** Courbe de  $\log D_p$  en fonction de  $P_s$  pour l'écart  $\log \Delta C$ .

**Figure 38.** Variation de l'indice de peroxydes (IP) sous différentes puissances spécifiques et températures.

**Figure 39.** Zone optimale pour la décontamination de la crème de sésame.

## Liste des annexes

**Annexes 1. Table de Mitschka:** Simple conversion of Brookfield R.V.T. readings into viscosity functions.

**Annexe 2.** Analyse de variance de l'inde d'écoulement de la crème de sésame selon la loi plastique.

**Annexes 3.** Gamme multiple de tests de l'indice d'écoulement en fonction de la puissance spécifique.

**Annexe 4.** Gamme multiple de tests de l'indice d'écoulement en fonction de la température.

**Annexe 5.** Analyse de variance du seuil  $\tau_0$ .

**Annexe 6.** Gamme multiple de tests du seuil  $\tau_0$  en fonction de la puissance spécifique.

**Annexe 7.** Gamme multiple de tests du seuil  $\tau_0$  en fonction de la température.

**Annexe 8.** Gamme multiple de tests de l'indice de consistance en fonction de la température selon le modèle plastique.

**Annexe 9.** Gamme multiple de tests de l'indice de consistance en fonction de la puissance spécifique selon le modèle plastique.

**Annexe 10.** Analyse de variance de l'écart  $\Delta E$ .

**Annexe 11.** Analyse de la Somme des carrés sur l'écart  $\Delta E$ .

**Annexe 12.** Gamme multiple de tests de  $\Delta E$  en fonction de la température.

**Annexe 13.** Gamme multiple de tests de  $\Delta E$  en fonction de la puissance spécifique.

**Annexe 14.** Gamme multiple de tests de  $\Delta C$  en fonction de la puissance spécifique.

**Annexe 15.** Gamme multiple de tests de  $\Delta C$  en fonction de la température.

**Annexe 16.** Analyse de la somme des carrés sur  $\Delta C$ .

**Annexe 17.** Publication : **HANNA L., LAGUERRE J.C., BASSAL A., DUQUENOY A., 2008.** "Determination and comparison of D and z values for *Salmonella enterica* in the sesame cream and NaCl solution." International journal of Natural and Social Science, 1, (1): 16-22.

# **Introduction**

Les graines de sésame ou *Sesamum indicum* sont considérées comme une des premières graines huileuses jamais cultivées. Cultivées principalement dans les régions tropicales et subtropicales, elles sont récemment adaptées aux régions semi-arides (Johnson *et al.*, 1979). Au Moyen-Orient, les graines de sésame décortiquées sont principalement utilisées dans la production de la crème de sésame (« Tehineh »), produit huileux de consistance pâteuse, obtenu par broyage des graines décortiquées et torréfiées soit à la vapeur à 100°C soit à l'air chaud (Dagher, 1991).

Utilisée dans la préparation de plusieurs plats traditionnels Libanais, la crème de sésame est l'un des rares produits à procédé de fabrication simple, obtenu par décortilage, trempage, lavage, grillage et broyage des graines de sésame. Ce produit ne contient aucun additif de conservation. De plus, il a une date limite de consommation d'un an ou plus sans réfrigération, ce qui peut constituer un risque potentiel sur la santé publique, surtout que c'est un milieu très nutritif favorable au développement de micro-organismes (Ayaz *et al.*, 1986). Parmi ces micro-organismes figure la Salmonelle, responsable d'une grande partie des toxi-infections alimentaires (Ayaz *et al.*, 1986). Sensible à la chaleur et capable de se développer à une température maximale de 49,5°C, les souches thermorésistantes de la Salmonelle sont peu communes et leur thermorésistance est influencée par l'activité de l'eau. Elle augmente quand l'activité de l'eau du substrat diminue (ICMSF, 1996).

Ainsi, des échantillons de crème de sésame produits au Liban et exportés vers l'Europe et l'Australie ont été détectés positifs pour la Salmonelle, ce qui a créé une crise nationale suivie d'une campagne menée par les ministères en charge, visant à détecter la source de contamination et prendre les mesures correctives adéquates : application du système HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Points) (Dagher, 1991).

Le recours à des experts internationaux et nationaux a eu lieu et les rapports techniques ont précisé deux sources probables de contamination :

- une contamination croisée des graines de sésame avant et après torréfaction due à la mauvaise manipulation des graines et par l'intermédiaire des sacs, du personnel, de la pierre broyeuse, etc....
- une contamination durant le remplissage du produit fini à la main ou à la machine.

Toutes les mesures prises par l'Etat n'étaient pas suffisantes pour résoudre le problème de la crème, car le vrai problème est dans le procédé de fabrication de ce produit qui ne subit aucun traitement de stabilisation. La solution serait donc de trouver une méthode de conservation efficace et adéquate au produit. Parmi les solutions envisageables, le traitement micro-ondes pourrait être applicable.

De nombreuses études montrent que les micro-ondes peuvent présenter divers intérêts dans ces procédés. De même quelques travaux font état de l'utilisation des micro-ondes pour le chauffage de produits agroalimentaires (Decareau, 1985) avec de bons résultats sur la qualité hygiénique et nutritionnelle, (Gundavarapu, 1995).

Il apparaît donc, d'après les différents travaux cités, que les micro-ondes peuvent donner des résultats satisfaisants en décontamination de produits agroalimentaires. Il nous semble alors intéressant d'étudier de façon plus systématique l'impact d'un traitement micro-ondes sur la qualité microbiologique et organoleptique de différents types de produits secs, produits qui pour l'instant disposent, à part l'ionisation, de peu de moyens de traitement physique.

L'objectif initial de ce projet était d'étudier l'impact de différents types de traitements micro-ondes sur la qualité microbiologique et organoleptique de différentes sortes de produits à faible activité d'eau et, d'autre part, de concevoir et développer une méthode de décontamination de matières premières agricoles et alimentaires à faible activité d'eau basée sur l'utilisation des micro-ondes comme alternative à l'ionisation. Pour des raisons pratiques et de temps, un seul produit à faible activité d'eau, la crème de sésame, a été étudié.

La crème de sésame est riche en matières grasses (58,9%) qui peuvent subir une oxydation accélérée lors d'un traitement thermique, ce qui d'une part diminue la valeur nutritionnelle du produit par oxydation des acides gras insaturés, et d'autre part affecte la qualité organoleptique en entraînant des altérations au niveau de l'apparence, de la texture, de la flaveur et de la couleur. Il faut donc minimiser autant que possible l'oxydation des matières grasses (Simic *et al.*, 1992) et préserver le mieux la couleur du produit initial.

Ce mémoire comporte trois parties. Dans **la première**, nous décrirons, dans un premier chapitre, la décontamination par la chaleur ainsi que la méthode de détermination des paramètres de thermorésistance d'un micro-organisme. Le chapitre II décrit quelques caractéristiques des ondes électromagnétiques ainsi que quelques applications de celles-ci dans le domaine de la décontamination bactérienne. L'exposé bibliographique s'attache ensuite plus particulièrement aux interactions entre les micro-ondes et les systèmes biologiques. Ainsi, le chapitre III décrit l'effet d'un chauffage micro-ondes sur les micro-organismes et sur la qualité du produit traité. Le chapitre IV détaille les caractéristiques de la crème de sésame, le procédé de fabrication, les principaux germes contaminants et aussi l'impact d'un traitement thermique sur la qualité de la crème. Le dernier chapitre expose les caractéristiques de la Salmonelle.

**La deuxième partie** décrit les matériels employés lors de nos travaux ainsi que les méthodes d'évaluation des critères de qualité des produits.

Enfin, **la troisième partie** consiste en la présentation et la discussion des résultats obtenus. Dans cette troisième partie, nous verrons comment l'activité de l'eau ( $a_w$ ) semble avoir une influence sur la thermorésistance de la *Salmonella enterica arizonae* traitée dans la solution de NaCl ( $a_w = 0,99$ ) et de crème de sésame ( $a_w = 0,49$ ). Le chapitre II est consacré aux résultats obtenus lors de la décontamination de la crème de sésame par traitement classique appliqué à différentes températures et aux résultats obtenus avec un traitement micro-ondes appliqué à différentes puissances spécifiques  $P_s$  (5-7,5-12-15-20 W/g). Dans ce chapitre sont exposés également les résultats comparatifs entre micro-ondes et chauffage par contact pour une même rampe thermique en terme de nombre de réduction décimale. Nous montrons, dans ce chapitre, l'effet du traitement micro-onde qui l'emporte sur le traitement classique. Le chapitre III expose également l'effet des micro-ondes sur la qualité du produit, ceci pour aborder à la fin l'optimisation de la décontamination de la crème de sésame par micro-ondes.

**Partie 1 :**  
**PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

L'exposé bibliographique s'articule autour de cinq chapitres.

Le premier (Chapitre I) traite la décontamination par la chaleur. Une description de la notion de thermorésistance des micro-organismes y est développée ainsi que les méthodes de détermination des paramètres de thermorésistance. Le chapitre II présente les propriétés des ondes électromagnétiques, expose différents types d'applicateurs des micro-ondes, et enfin précise les paramètres importants de ces applications liés au produit et aux micro-ondes employées. Le chapitre III est consacré aux interactions entre les micro-ondes et les systèmes biologiques. Il s'attache à décrire les paramètres importants de ces interactions ainsi que l'impact du traitement micro-ondes sur la thermorésistance des bactéries et la qualité de produit traité. Le chapitre IV décrit le procédé de fabrication de la crème de sésame, sa composition chimique et les principaux germes contaminants. Le dernier chapitre présente une description de la Salmonelle et de ses caractéristiques.

**CHAPITRE I :**  
**DECONTAMINATION PAR LA CHALEUR**

La sécurité alimentaire, dont la qualité microbiologique des aliments est une composante essentielle, représente un enjeu considérable. Sur le plan du commerce international, elle est très souvent invoquée pour justifier le renforcement des barrières à l'importation.

La maîtrise de la qualité microbiologique repose sur le respect des règles d'hygiène tout au long des filières de production, de transformation et de distribution et sur la validation des pratiques industrielles par l'analyse du produit fini. Cette stratégie doit intégrer de façon optimale les différentes démarches de prévention, d'inhibition, d'élimination des micro-organismes dans les matières premières et dans les produits transformés.

Les techniques thermiques de destruction des micro-organismes sont très largement utilisées dans l'agroalimentaire. La connaissance des modalités de cette destruction est importante afin d'en tirer, en pratique, le meilleur parti possible.

## I.1. DESTRUCTION THERMIQUE DES MICRO-ORGANISMES

Des traitements thermiques à température peu élevée (de l'ordre de 80°C à 100°C) suffisent à détruire des micro-organismes sous leur forme végétative. Le produit peut néanmoins contenir encore des micro-organismes sous forme sporulée, susceptible de donner de nouveau des formes végétatives (Stumbo, 1973).

Après un traitement plus drastique (température plus élevée ou de plus grande durée) on peut arriver à éliminer aussi les formes sporulées contenues dans le produit. Ce produit sera alors dit « stérilisé ». À moins d'une nouvelle contamination, due à un emballage non hermétique par exemple, aucun micro-organisme ne se développera dans un produit stérilisé (cas des conserves). Aucun micro-organisme ne se développera non plus dans un produit seulement pasteurisé si celui-ci est un milieu impropre au développement microbien.

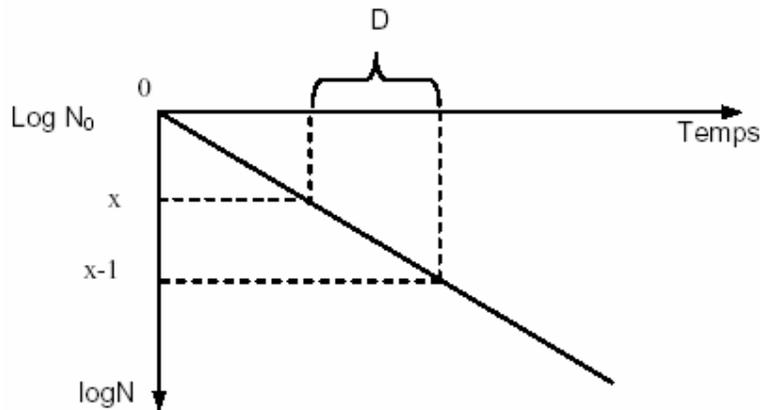
Si bien que, en fonction de leur intensité et de leurs objectifs, on peut distinguer 3 types de traitements thermiques (Cheftel *et al.*, 1997) :

- **la stérilisation** : traitement thermique à haute température, supérieure à 100°C, capable de détruire toutes les formes microbiennes présentes, y comprises les endospores bactériennes ;
- **la pasteurisation** : traitement thermique à basse température visant la destruction des formes végétatives thermosensibles à l'exclusion des endospores bactériennes qui, si le pH et l' $a_w$  le leur permettent, peuvent germer et altérer le produit ;
- **la pasteurisation stabilisatrice** : traitement thermique du même type que le précédent concernant des produits dont le pH bas et/ ou l'activité d'eau ne permet pas la germination des endospores bactériennes.

### I.1.1. Notion de thermorésistance

Lorsque l'on soumet une suspension de micro-organismes à un traitement thermique à température constante, on observe au cours du temps une décroissance exponentielle du nombre de colonies dénombrables. Aussi peut-t-on suivre la destruction des microorganismes en représentant le logarithme décimal du rapport  $N_m/N_0$  entre le nombre de micro-organismes survivants  $N_m$ , par unité de masse ou de volume de suspension, et l'effectif initial  $N_0$  en fonction du temps (Larousse, 1991). La courbe obtenue (figure 1) est généralement linéaire et l'élément important pour le technologue

est la plus petite des pentes des parties linéaires, celle-ci traduisant la thermorésistance maximale constatée.



**Figure 1.** Courbe de survie d'un micro-organisme (Fogel *et al.*, 2004).

L'inverse de cette pente est noté  $D_T$  : c'est le temps nécessaire pour que la courbe de survie du microorganisme, à la température  $T$ , traverse un cycle logarithmique décimal.  $D_T$  est aussi de ce fait le temps de traitement pour que le nombre de micro-organismes soit divisé par 10. On l'appelle donc « temps de réduction décimale » : plus il est grand, et mieux le micro-organisme résiste à la chaleur. Pour un produit maintenu à température constante pendant un temps  $t$  on aura les relations suivantes entre ce temps, le temps de réduction décimale  $D$  et le nombre de réductions décimales  $n$  ou le nombre de micro-organismes résiduels ( $N_0$  est l'effectif des microorganismes au début de ce temps  $t$ ):

$$n = \frac{t}{D_T} = \text{Log} \frac{N_0}{N_m} \quad (1)$$

Ou encore :

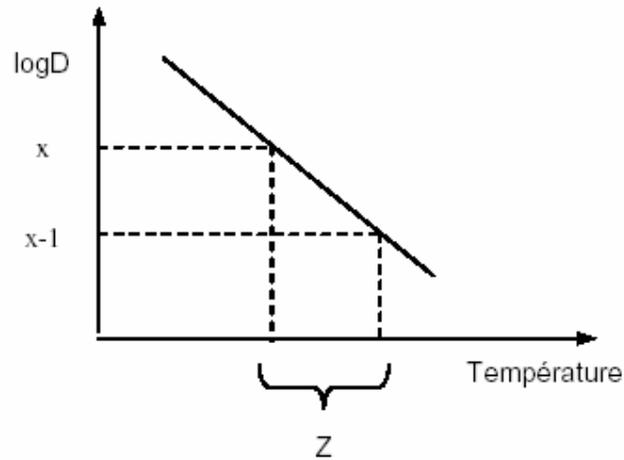
$$N_m = N_0 \cdot 10^{-\frac{t}{D_T}} \quad (2)$$

Cette dernière forme correspond aussi à la solution de l'équation cinétique d'une réaction du premier ordre :

$$\frac{dN_m}{dt} = -kN_m = -\frac{2,303}{D_T} \cdot N_m \quad (3)$$

Pour étudier l'influence de la température sur le temps de réduction décimal  $D$ , on trace le logarithme (base 10) de  $D$  en fonction de la température ( $\log D = f(t)$ ). Les

points obtenus forment une droite que l'on appelle « courbe fantôme TDT » (TDT = Temps de Destruction Thermique) caractérisée par l'inverse de sa pente (symbole Z) (Bourgeois *et al.*, 1996).



**Figure 2.** Influence de la température sur la résistance d'un micro-organisme (Larousse, 1991).

Z correspond à l'élévation de température nécessaire pour réduire à 1/10 la durée du traitement thermique standard en obtenant le même taux de destruction. C'est un paramètre de thermorésistance caractéristique de chaque espèce de microorganisme (Fogel *et al.*, 2004). Ses valeurs sont moins fluctuantes que D et sont généralement de l'ordre de 4 à 7°C pour les formes végétatives et de l'ordre de 10°C pour les spores ( $z = 10^\circ\text{C}$  pour *Clostridium botulinum*). Plus il est petit, plus le processus de destruction thermique des micro-organismes est influencé par la température du traitement. Le comportement de chaque souche de micro-organisme lors d'un traitement thermique peut donc être caractérisé par un simple couple ( $D_{T_{ref}}$ , Z).

On peut donc représenter, comme en cinétique chimique, la dépendance de D à la température T par une loi d'Arrhenius. On préfère toutefois utiliser la relation :

$$D_T = D_{T_{ref}} \cdot 10^{\frac{T_{ref}-T}{z}} \quad (4)$$

qui équivaut à la loi d'Arrhenius lorsque T prend ses valeurs sur un intervalle de quelques dizaines de degré centigrades autour d'une température de référence  $T_{ref}$ .

### I.1.2. Notions de valeur stérilisatrice (VS) et de valeur pasteurisatrice (VP)

Ces grandeurs ont été proposées pour quantifier un traitement de stérilisation et de pasteurisation, respectivement (Mafart, 1991). Elles représentent en effet un nombre d'unités de stérilisation ou de pasteurisation cumulées lors du traitement thermique. Un couple standard température-temps ( $T^*$ ,  $t^*$ ) de référence choisi en fonction du domaine d'application (Hayakawa, 1970), permet de définir l'unité de stérilisation ou de pasteurisation. Il est dans le cas de la stérilisation de :

$$T^* = 250^\circ\text{F} = 121,1^\circ\text{C} ; t^* = 1 \text{ minute}$$

Pour la pasteurisation deux couples de références sont proposés, notamment dans le cas du lait (Veisseyre, 1975 ; Mafart, 1991), selon qu'on considère une pasteurisation basse ( $T^* = 60^\circ\text{C} ; t^* = 1 \text{ min}$ ) ou une pasteurisation haute ( $T^* = 70^\circ\text{C} ; t^* = 1 \text{ min}$ ). C'est ce dernier couple de référence qui est généralement utilisé pour la pasteurisation de plats cuisinés (Roux, 1994).

Dans tous les cas on peut exprimer le nombre de VP ou de VS cumulées lors d'un traitement à une température constante  $T$  pendant un temps  $t$  par l'expression générale ci-dessous :

$$F_{T^*} = t \cdot 10^{\frac{T-T^*}{z}} \quad (5)$$

Avec  $F_T$  correspondant à VS si  $T^*$  est égale à  $121,1^\circ\text{C}$  ou à VP si  $T^*$  est égale à  $60^\circ\text{C}$  (pasteurisation basse) ou  $70^\circ\text{C}$  (pasteurisation haute) et  $z$  relatif à un germe cible comme précisé plus bas.

Lorsque le traitement est réalisé à température variable, la VS ou la VP peuvent être calculées par la relation suivante :

$$F_{T^*} = \int 10^{\frac{T-T^*}{z}} .dt \quad (6)$$

Pour des raisons de sécurité, le choix de la valeur stérilisatrice appliquée est basé sur la destruction du micro-organisme dangereux le plus résistant. Ainsi, en

appertisation, on vise la destruction des spores de *Clostridium botulinum* ; dans le domaine de la cuisson du jambon, on vise la destruction du Streptocoque-D, réputé le plus thermorésistant (Bigelow *et al.*, 1920).

Le choix du micro-organisme cible étant fait, il reste à fixer le taux de réduction décimale à atteindre (une réduction décimale n correspond à un taux de survivants  $N/N_0 = 10^{-n}$ ).

Cette réduction décimale n est telle que, conformément à l'équation :

$$\log \frac{N}{N_0} = -\frac{t}{D_T} = -n \quad (7)$$

d'où :

$$t = n.D_T$$

On cherche généralement à atteindre un nombre de réduction décimale (n) de 12 pour la destruction de *C. botulinum*. Si la population initiale de produit est  $N_0 = 10^3$ , cela signifie qu'après traitement thermique, la population de *C. botulinum* est réduite à  $N = 10^{-9}$ . Autrement dit, la probabilité de trouver une spore est de  $10^{-9}$ . Dans le cas de la pasteurisation de plats cuisinés le germe cible est *Enterrococcus faecalis* (anciennement dénommé *Streptococcus faecalis* ou Streptocoque D), ( $D_{70} = 2,95$  min;  $z = 10^\circ\text{C}$ ) auquel on cherche à assurer une réduction décimale n de 13, ce qui correspond à une VP de l'ordre de 40 min (Roux, 1994).

### I.1.3. Méthodes de calcul de la valeur stérilisatrice à température variable et du temps de barème

#### I.1.3.1. Méthode de Bigelow

Considérée comme la méthode de référence pour le calcul de la VS ou de la VP, elle est basée sur l'équation (6) discrétisée comme suit :

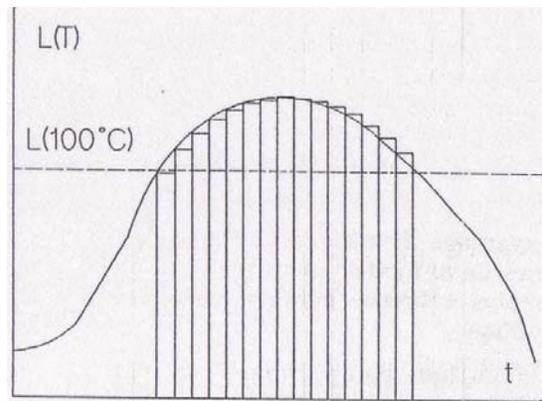
$$F_{T^*} = \sum 10^{\frac{T_i - T^*}{z}} \cdot \Delta t_i \quad (8)$$

En posant :

$$L_{T_i} = 10^{\frac{T_i - T^*}{z}} \quad (\text{appelé suivant les auteurs, facteur de Bigelow, valeur de destruction biologique ou encore facteur de létalité}).$$

Et en traçant  $L_T$  en fonction de  $T$ , On peut calculer la VP ou la VS comme étant l'aire sous la courbe  $L_T$  comme indiqué sur la figure 3.

Ainsi la méthode de Bigelow ne fait appel à aucun modèle mathématique mais a recours à l'enregistrement de température à cœur du produit lors du traitement thermique. A partir de cet enregistrement on résout graphiquement (figure 3) l'équation (8) en prenant comme incrément  $\Delta t_i = 1$  minute.



**Figure 3.** Aire d'intégration permettant de calculer une valeur stérilisatrice selon la méthode de Bigelow (Fogel *et al.*, 2004).

En pratique, cela revient à tracer la courbe  $L(T) = f(t)$  et à faire la somme des traitements élémentaires à la température  $T$  pendant la durée  $\Delta t$  depuis  $100^\circ\text{C}$  lors de la montée en température, et jusqu'à  $100^\circ\text{C}$  lors du refroidissement.

Bien que cette méthode soit la plus juste au niveau de la détermination de la valeur stérilisatrice, elle aura pour contre partie une absence totale d'extrapolation. La méthode de Bigelow ne permet d'orienter les essais que dans les conditions fixes : de température initiale, du milieu chauffant, de nature du produit, de géométrie de format, etc. Dès que l'un de ces facteurs varie, Bigelow n'est plus valable. Cet inconvénient majeur explique pourquoi la méthode de Ball est préconisée lorsqu'on recherche un nouveau barème de stérilisation.

### 1.1.3.2. Méthode de Ball

La méthode de Ball est une méthode semi-analytique permettant de calculer le temps de barème pour une valeur stérilisatrice donnée. Elle est basée sur la formule suivante :

$$t_B = f_h \cdot \log \left( j \cdot \left( \frac{T_\infty - T_0}{g} \right) \right) \quad (9)$$

avec :

$T_\infty$  : la température de palier (°C)

$T_0$  : la température initiale du produit (°C)

$f_h$  : le taux de chauffage (minutes)

$j$  : facteur de retard ou hétérogénéité du chauffage

$t_B$  : temps de barème.

$g = T_\infty - T_g$  : écart de température entre le fluide chauffant et celle du produit ( $T_g$ ) au temps de barème ( $t_B$ ).

Par ailleurs, Ball considère les hypothèses suivantes (Mafart, 1991 ; Bimbenet *et al*, 2002) :

- Le facteur de latence de refroidissement  $j_c = 1,41$
- $f_h$  est constant et égal à  $f_c$
- Le palier de l'autoclave est atteint immédiatement

On obtient la valeur de  $g$  à l'aide d'une table de Ball donnant celle-ci en fonction de  $f_h/u$  pour une valeur de  $z$  donnée,  $u$  étant une fonction dépendant de la VS recherchée comme suit :

$$u = F_0 \cdot 10^{\frac{121,1 - T_\infty}{z}} \quad (10)$$

$F_0$  étant la valeur stérilisatrice recherchée.

L'utilisation de la méthode de Ball nécessite la connaissance du couple  $f$  et  $j$ . Lorsque  $f$  et  $j$  ne peuvent pas être évalués, on utilise la méthode de Bigelow. Les éléments permettant d'appliquer cette méthode au calcul d'un barème de pasteurisation peuvent être trouvés dans l'ouvrage de Ball (Bimbenet *et al*, 2002).

## I.2. FACTEURS INFLUENCANT LA THERMORÉSISTANCE

La survie des micro-organismes est considérablement influencée par la nature chimique et physique de l'environnement. Il s'avère indispensable de voir l'adaptabilité des micro-organismes à des conditions différentes de milieux environnants. Seront cités, dans cette partie, les facteurs majeurs de l'environnement qui affectent la survie bactérienne tels que le pH, les solutés et l'activité de l'eau.

### 1.2.1. Le pH

Les micro-organismes se multiplient souvent dans une gamme étendue de pH, il y a cependant des limites à leur tolérance. Chaque espèce se développe dans une gamme définie de pH et a un pH optimum de croissance. La grande majorité des microorganismes préfèrent les milieux dont le pH se situe à une valeur voisine de 7, car ils tendent à maintenir un pH interne voisin de la neutralité. Mais il existe certaines bactéries qui sont adaptées à des milieux acides ou alcalins. Les acidophiles ont leur optimum de croissance entre pH 1 et 5,5 ; les neutrophiles entre pH 5,5 et 8,0 ; les alcalophiles entre 8,5 et 11,5 (Booth, 1985 ; Gottschal et Prins, 1991).

Pour survivre, les micro-organismes doivent souvent s'adapter aux modifications de pH de l'environnement. Chez les bactéries, les systèmes antiports potassium/proton et sodium/proton corrigent probablement les faibles variations de pH. D'autres mécanismes entrent en jeu si le pH devient trop acide. Si le pH descend en-dessous de 5,5-6,0, *Salmonella typhimurium* et *E. coli* synthétisent une série de protéines nouvelles caractérisant leur réponse à la tolérance acide (Atlas, 1984 ; Gottschal et Prins, 1991). Plusieurs auteurs ont étudié l'effet du pH sur la thermorésistance de certaines bactéries (Anellis *et al.*, 1954 ; Corry et Barnes, 1968). Ils ont démontré que le temps de réduction décimale des bactéries diminue lorsque le pH augmente.

### 1.2.2. Les solutés et l'activité de l'eau

Les micro-organismes peuvent être influencés par des modifications de la concentration osmotique de leur environnement parce qu'ils en sont séparés par une membrane plasmique perméable sélective. Le plus souvent, les micro-organismes gardent la concentration osmotique de leur cytoplasme au-dessus de celle de leur habitat grâce à des solutés compatibles, ainsi la membrane plasmique est toujours fermement maintenue contre la paroi cellulaire (Brown, 1976 ; Stetter, 1995). Quelques bactéries comme *Halobactérium salinarium* augmentent leur concentration osmotique à l'aide d'ions potassium ou sodium.

L'ajout des quantités élevées de sucre, comme le sucrose, ou du sel, comme le NaCl, à un milieu tend à abaisser son activité d'eau car ces solutés se lient aux molécules d'eau en diminuant la quantité d'eau « libre » disponible (Herbert et Codd, 1986).

Les microorganismes ne réagissent pas de la même façon selon qu'il y a présence de sel ou de sucre. Certaines bactéries, comme les halophiles, requièrent du NaCl pour survivre. De tels micro-organismes peuvent supporter un taux de 15% de NaCl (MacLeod, 1985). Blackburn *et al* (1997) montrent que la *Salmonella enteritidis* présente une thermorésistance plus élevée dans une solution de NaCl à 3,5 % (v/v) par rapport à une solution de NaCl à 0,5 % (v/v). D'autres auteurs (Mañas *et al.*, 2001) signalent que la thermorésistance de la Salmonelle augmente avec l'ajout de chlorure de sodium, de sucrose, glycérol et fructose.

**CHAPITRE II :**  
**CHAUFFAGE MICRO-ONDES**

Les traitements thermiques sont, de nos jours, les principaux moyens de décontamination bactérienne. Les traitements chimiques tendent à être supprimés à cause de la pollution secondaire qu'ils engendrent. Les traitements thermiques, quant à eux, lorsqu'ils sont utilisés dans le domaine de l'agroalimentaire, peuvent altérer la saveur, le goût, la teneur en vitamines et autres nutriments de l'aliment. Avec la demande croissante des consommateurs pour des produits plus naturels et ressemblant le plus possible aux produits frais, les efforts d'amélioration vont dans le sens d'une amélioration des propriétés organoleptiques du produit tout en assurant une bonne « salubrité » de celui-ci. Les technologies développées depuis quelques années se sont donc axées sur des procédés thermiques induisant une montée rapide en température ou sur des traitements non thermiques (haute pression, champ électrique pulsé...). Les procédés basés sur un rayonnement électromagnétique (micro-ondes, hautes fréquences, infrarouge,..) apparaissent aussi être de bonnes alternatives aux traitements conventionnels thermiques et chimiques.

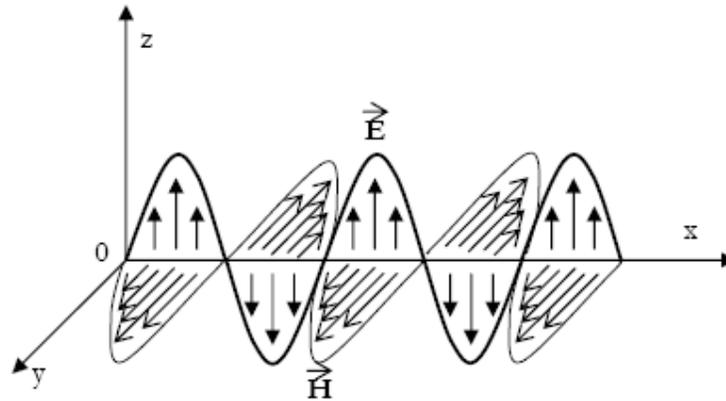
Ce premier chapitre a pour but de décrire quelques nouvelles techniques de décontamination utilisant des rayonnements électromagnétiques non ionisants.

Une première partie rappelle quelques notions générales sur les ondes électromagnétiques. Une seconde partie est consacrée à la description sommaire de quelques techniques de décontamination utilisant des rayonnements électromagnétiques non ionisants avec des exemples d'applications de chacune d'elles.

## II.1. GENERALITES

### II.1.1. Nature des micro-ondes et domaine spectral

Ce sont des ondes constituées d'un champ magnétique et d'un champ électrique se propageant dans un milieu matériel ou dans le vide (Figure 4). De nombreuses sources artificielles émettent de l'énergie sous la forme d'ondes électromagnétiques.



**Figure 4.** Représentation des champs constitués d'une onde électromagnétique loin de tout obstacle (onde dite progressive) avec  $E$  : champ électrique variable de l'onde électromagnétique suivant l'axe OZ,  $H$  : champ magnétique variable de l'onde électromagnétique suivant l'axe OY. L'axe OX représente la direction de propagation de l'onde dans le vide (Rougier, 2003).

Le spectre électromagnétique décrit la répartition des ondes électromagnétiques en fonction de leur fréquence ( $f$ ) : les ondes de faible fréquence, de quelques kilohertz (kHz) à plusieurs gigahertz (GHz), sont appelées ondes radio ou ondes hertziennes, par référence à Heinrich Hertz, physicien allemand qui fut le premier à produire et à détecter de telles ondes. A des fréquences plus élevées se trouvent par ordre de fréquence croissant l'infrarouge, la lumière visible (longueur d'onde entre 400 et 700 nm) et l'ultraviolet. Enfin, aux fréquences les plus élevées, se trouvent le domaine des rayons X (entre 1 et 100 nm), puis celui des rayons gamma (longueur d'onde inférieure à 1 nm) (Figure 5).

La fréquence ( $f$ ) correspond donc au nombre d'oscillations en un point de l'espace par unité de temps. Elle se mesure en cycles par seconde ou Hertz (Hz) (1 cycle par seconde = 1 Hz). Pour une onde progressive, la longueur d'onde est la distance

minimum qui sépare deux points de l'espace où les oscillations sont en phase. Elle se mesure en mètres (m). La fréquence est liée à la longueur d'onde par la relation :

$$\lambda = \frac{v}{f} \quad (11)$$

avec :

$\lambda$  : longueur d'onde en m,  
 $v$  : vitesse de propagation de phase dans le milieu en  $\text{m.s}^{-1}$  et  
 $f$  : fréquence en Hz.

Plus la fréquence est élevée plus la longueur d'onde est courte.

A toute onde électromagnétique est associée une particule de masse pratiquement nulle appelée photon dont l'énergie est liée à la longueur d'onde par la relation :

$$E = h.f = \frac{h.c}{\lambda} \quad (12)$$

où  $h$  est la constante de Planck ( $6,62.10^{-34}$  joules seconde (J.s)) et  $c$  la vitesse de la lumière dans le vide.

Selon leur fréquence et leur énergie, les ondes électromagnétiques peuvent être classées parmi les « rayonnements ionisants » (rayons X et gamma) ou les « rayonnements non ionisants » (ultraviolets, visible, infrarouges, radiofréquences et micro-ondes, basses fréquences) (Figure 5). La limite entre les rayonnements ionisants et non ionisants (dans le vide) est  $\lambda = 10 \text{ nm}$  : lorsque  $\lambda$  est inférieure à 10 nm, les rayonnements sont dits ionisants (Delmotte *et al.*, 1998).

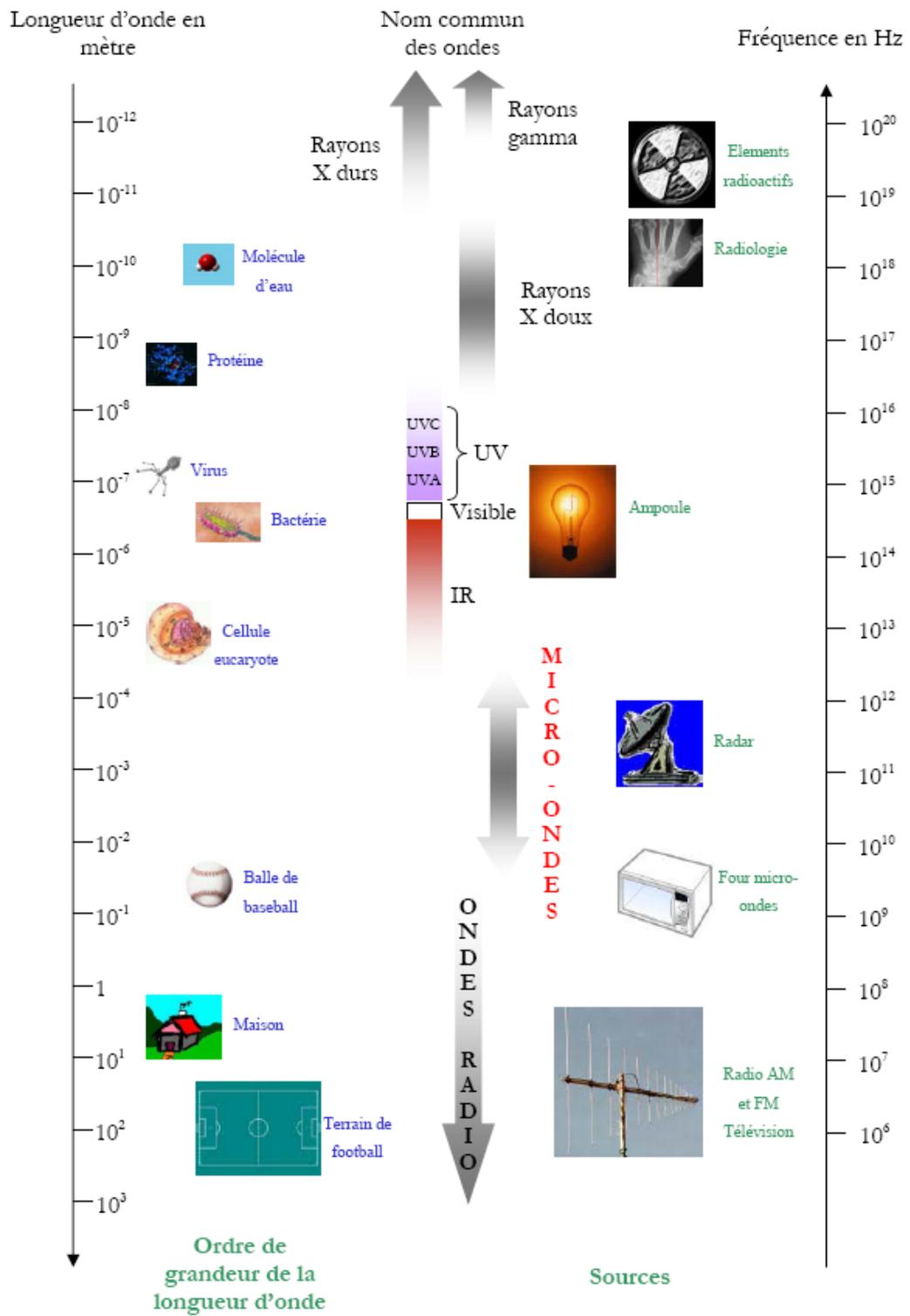


Figure 5. Le spectre électromagnétique et exemples d'ordre de grandeur et d'utilisations Associées (Rougier, 2003).

## II.1.2. Mécanismes d'action des micro-ondes

Les micro-ondes se situent dans la bande de fréquences comprises entre 3 kHz et 300 GHz. Leur longueur d'onde varie entre 1 mm et 30 cm. La technologie micro-ondes a vu le jour avec la conception du radar vers 1930, puis s'est largement développé dans de nombreux domaines, dont celui de la décontamination.

Quand un matériau est soumis à une onde électromagnétique on observe une interaction entre le champ électrique de celle-ci et les constituants du milieu se traduisant par une absorption d'énergie. Ce phénomène d'absorption dépend du champ électrique et de la fréquence de l'onde, de la nature du milieu ainsi que des propriétés électriques et diélectriques de celui-ci (Knuston *et al.*, 1987). Ainsi, lorsque la fréquence de l'onde est basse (fréquences du courant électrique), l'énergie absorbée par le milieu se dégrade en énergie thermique par effet Joule. Cette déperdition est notamment fonction de la conductance  $\sigma$  du milieu et de sa charge (électrons libres – métaux, ions – solutions ioniques). Au contraire, si la fréquence de l'onde est élevée (dans la gamme des fréquences micro-ondes) et que le milieu contient des molécules polaires, l'énergie absorbée est dégradée en chaleur par relaxation diélectrique (Coffey *et al.*, 1988). Cette déperdition de chaleur dépend des propriétés diélectriques ( $\epsilon'$  et  $\epsilon''$ ) du milieu. Ces propriétés sont présentées plus loin. Le mécanisme mis en jeu peut s'expliquer comme suit ; lorsqu'une molécule polaire est soumise à un champ micro-ondes, celle-ci cherche à s'aligner sur le champ électrique de l'onde. Ce champ étant alternatif (2450 MHz), la molécule cherchera à tourner à la même fréquence afin de rester aligné sur le champ. On parle de couplage entre la molécule et le champ (Kozempel *et al.*, 1998). Si la molécule se trouve dans un milieu condensé (liquide, solide) elle sera en interaction avec ses voisines et ne pourra donc pas tourner sans entraves. Le frottement engendré par la rotation de toutes ces molécules cherchant à s'aligner sur le champ électrique va générer de la chaleur. Ce phénomène est aussi appelé perte par relaxation diélectrique. Dans les produits alimentaires c'est majoritairement la molécule d'eau qui est concernée par ce phénomène, mais de nombreuses molécules polaires absorbent également les micro-ondes (alcool, sucres, acides aminés, ..). Il doit être souligné en outre, que dans le cas d'aliments riches en ions, à la perte par relaxation diélectrique s'ajoute une perte par effet joule due à l'oscillation des charges (Decareau, 1985).

D'après ce qui précède, on peut conclure que l'impact de l'onde sur un milieu est essentiellement d'ordre thermique. Toutefois, certains auteurs évoquent le fait qu'il

puisse également exister des effets athermiques, liés à la nature électromagnétique de l'onde (Kozempel *et al*, 1998). Ce point sera discuté dans le chapitre suivant.

### II.1.3. Caractéristiques diélectriques d'un matériau

Les interactions entre les ondes et la matière dépendent des caractéristiques électromagnétiques du milieu à la fréquence de l'onde utilisée, comme la permittivité et la conductivité électrique.

Les milieux sont caractérisés par une permittivité relative  $\epsilon_r$  qui traduit à l'échelle macroscopique les phénomènes qui se passent au niveau microscopique tels que les différents types de polarisation électrique (Levêque, 1994). La permittivité d'un matériau est un nombre complexe :

$$\epsilon_r = \epsilon' - j \epsilon'' \quad (13)$$

avec la partie réelle,  $\epsilon'$  (constante diélectrique), qui traduit la capacité d'un matériau à être polarisé par un champ électrique externe et la partie imaginaire,  $\epsilon''$  (coefficient d'absorption), qui traduit les pertes électriques, c'est-à-dire l'énergie absorbée dissipée en chaleur.

La partie imaginaire peut être exprimée par une conductivité électrique équivalente selon la relation :

$$\epsilon_e'' = \frac{\sigma}{\epsilon_0 \cdot \omega} + \epsilon'' \quad (14)$$

avec  $\sigma$ , la conductivité en  $S.m^{-1}$ ,  $\epsilon_0$ , la permittivité absolue du vide soit  $8,854.10^{-12} F.m^{-1}$  et  $\omega$ , la pulsation en  $rad.s^{-1}$  (Nelson, 1973).

La permittivité dépend de nombreux paramètres tels que la fréquence ou la température.

Remarque : C'est la permittivité relative du matériau qui est prise en compte lors des interactions avec les hautes fréquences (>1 MHz). Aux basses fréquences, c'est la conductivité ( $\sigma$ ) qui définit l'aptitude du matériau à propager un courant de charge.

## II.2. APPAREILLAGE

### II.2.1. Eléments constitutifs d'un dispositif micro-ondes

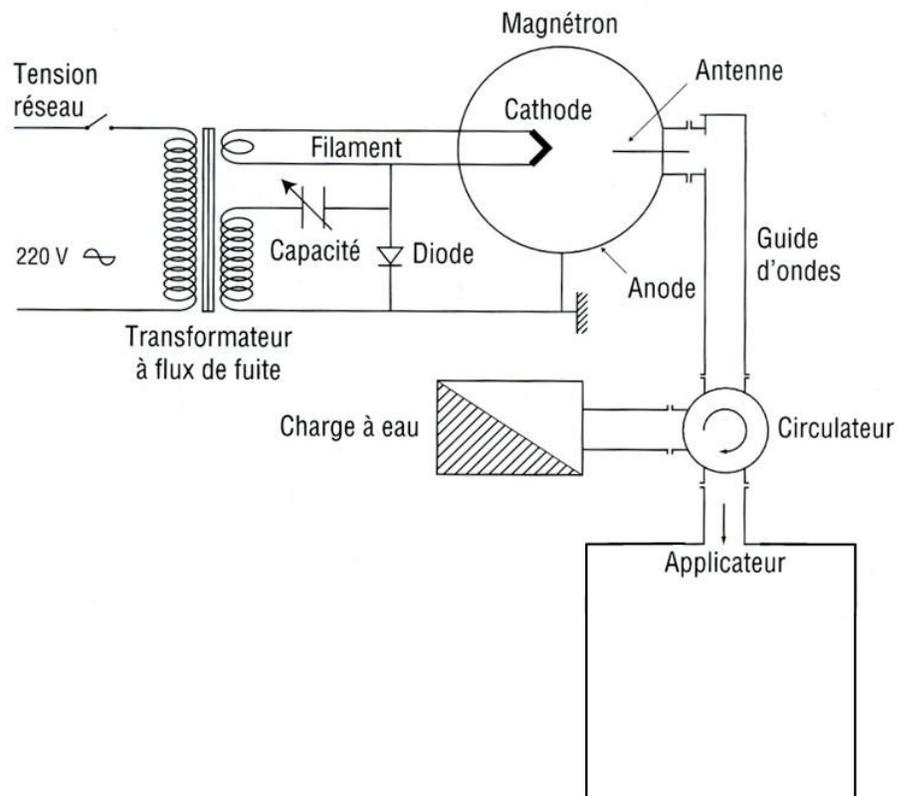
Trois éléments principaux constituent le dispositif micro-ondes :

- le générateur équipé d'un tube magnétron qui transforme l'énergie électrique en énergie micro-ondes
- un transporteur d'ondes ou guide d'ondes
- l'applicateur, où le matériau à traiter est placé.

A ces 3 éléments peuvent s'ajouter :

- une charge à eau ou un absorbeur d'ondes refroidi à l'eau ou à l'air, permettant d'absorber les ondes résiduelles.
- Un circulateur, qui est un dispositif permettant de diriger les ondes réfléchies vers la charge à eau. C'est un élément de protection du magnétron.

Ces éléments sont représentés dans la figure 6.



**Figure 6.** Schéma de principe d'un dispositif micro-onde (source : Novelect).

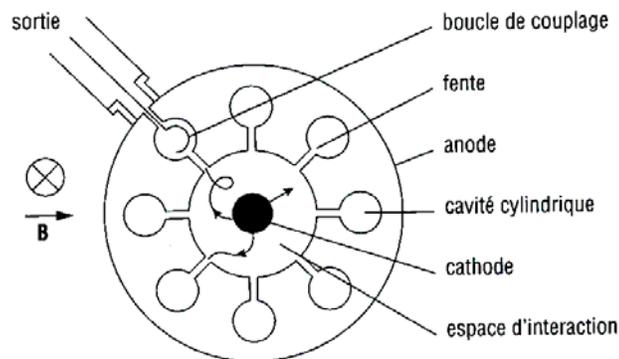
- *L'émetteur :*

Grâce à des tubes émetteurs d'ondes, le courant électrique du réseau est transformé en rayonnement micro-ondes. Deux types sont utilisés :

- les magnétrons pour les puissances de 0,6 à 6 kW, sous des tensions de 2 500 à 7 300 V. Leur durée de vie est de l'ordre de 4 000 heures ;
- les klystrons pour les puissances de 30 à 100 kW, sous des tensions de plus de 30 000 V. Plus coûteuse que les magnétrons, leur durée de vie est d'environ 10 000 heures.

Les rendements de conversion des klystrons (rapport entre énergie électromagnétique émise sous forme d'onde et l'énergie électrique consommée à partir du réseau d'alimentation) sont souvent voisins de 50 %, mais peuvent atteindre 60 à 70 % (Goldbith, 1972).

Le rôle du magnétron est de produire une tension électrique alternative à la fréquence de 2 450 MHz servant à alimenter une antenne. Le magnétron, en général de structure cylindrique, est un tube constitué comme une diode classique. Il comporte une cathode centrale, qui émet des électrons, et une anode concentrique externe percée de cavités résonnantes (figure 7).



**Figure 7.** Coupe schématique d'un magnétron (source : Novelect).

Un champ électrique de direction radiale est appliqué entre l'anode et la cathode. Un champ magnétique uniforme de direction parallèle à l'axe du tube est créé, par des

aimants ou bobines. La cathode émet des électrons qui sont accélérés par le champ électrique suivant des trajectoires radiales vers l'anode.

L'association des deux champs électrique et magnétique confère aux électrons un mouvement de giration. Ce mouvement provoque la résonance électrique des cavités, et comme les cavités de l'anode sont couplées, cette résonance est transmise à une antenne placée dans l'une des cavités, et reliée au milieu extérieur, ce qui permet d'émettre la puissance électromagnétique. La fréquence et la puissance émises par l'antenne du magnétron dépendent de paramètres dimensionnels, de paramètres électriques et de paramètres magnétiques. Ainsi un générateur micro-ondes est caractérisé par la puissance émise par l'antenne du magnétron et la fréquence de l'onde émise ainsi que la puissance qu'elle transporte suivant le régime de propagation dans le volume entourant l'antenne (Knuston *et al.*, 1987).

- *Le transporteur d'ondes* ou « guides d'ondes » est généralement un simple tuyau métallique à section rectangulaire qui réfléchit les ondes sur ses parois, comme la lumière dans les jets d'eau d'une fontaine lumineuse.

- *L'applicateur* correspond au four, ou plus généralement à la chambre de traitement thermique. Sa conception dépend du produit et surtout, de la façon dont on veut répartir l'énergie. On peut souhaiter concentrer l'énergie sur un axe (applicateur à cavité monomode) ou, le plus souvent, distribuer l'énergie le plus uniformément possible (applicateur à cavité multi-mode). Dans ce dernier cas, l'applicateur est souvent équipé de « brasseurs d'ondes » constitués de plaques de métal mobiles disposées de manière à uniformiser le champ électrique.

## II.2.2. Différents types d'applicateurs

L'applicateur est l'élément essentiel du dispositif car il permet le transfert de l'énergie électromagnétique provenant du générateur au sein du matériau à traiter.

Sa conception dépend non seulement de la nature, de la forme, et des dimensions des produits à traiter mais aussi de la fréquence de travail ainsi que de la puissance mise en œuvre. Il existe deux types d'applicateurs : les applicateurs monomodes et les applicateurs multimodes.

### *II.2.2.1. Monomode*

Un applicateur monomode est défini par un seul mode de propagation transportant la puissance.

Les modes de propagation sont les distributions particulières des champs électromagnétiques imposées par les réflexions sur les parois d'un guide d'ondes (Delmotte *et al.*, 1998).

Dans le cas d'un traitement précis et ponctuel, cette cavité sera très utile puisqu'elle permet de connaître avec précision la répartition du champ électromagnétique.

Dans le cas d'applicateur cylindrique monomode, on montre que le champ électrique est parallèle à l'axe du cylindre et est maximum sur cet axe. De plus, il est nul sur les parois, ce qui permettra de traiter des objets filiformes avec efficacité (Metaxas et Meredith, 1983).

### *II.2.2.2. Multimode*

Un applicateur multimode, comme son nom l'indique, est caractérisé par un nombre de modes de propagation important. L'apparition de plusieurs modes de propagation provient de l'augmentation des dimensions de l'applicateur et de la multiplication des sources d'excitation. De ce fait, la propagation des ondes devient complexe et variée (Delmotte *et al.*, 1998).

Ce type d'applicateur, est employé pour les produits en masse, dans les fours ou dans les tunnels. La présence d'un brasseur d'ondes est souvent indispensable, afin d'assurer l'homogénéité du champ hyperfréquence (Metaxas et Meredith, 1983).

Généralement, les enceintes multimodes sont employées pour les grands volumes, dans le but d'obtenir une certaine distribution des points à champ fort.

### *II.2.2.3. Stéréomode*

L'applicateur Stéréomode, fabriqué par MES (Micro-ondes Energie Systèmes), a été développé pour obtenir des traitements thermiques plus homogènes et un meilleur rendement énergétique qu'avec les cavités multimodes, tout en permettant le traitement de quantités de produit plus importantes qu'avec les applicateurs monomodes (Germain *et al.*, 2001).

Ce type d'applicateur fournit effectivement un gradient thermique minime pour les produits alimentaires pâteux, les solutions de viandes, les produits pulvérulents, les céréales, les produits divisés, etc. Le bon rendement énergétique pour un stéréomode consiste à choisir les dimensions de l'applicateur en fonction du volume et des propriétés diélectriques du produit à traiter (Delmotte *et al.*, 1998). Il est plus particulièrement adapté au traitement en continu de produits à fortes pertes diélectriques, pouvant être pompés ou convoyés par une vis sans fin le long d'un tube transparent aux micro-ondes.

## **II.3. ACTION DES MICRO-ONDES SUR LE PRODUIT**

### **II.3.1. Paramètres importants du produit**

Trois éléments sont à prendre en considération pour caractériser l'effet des micro-ondes sur un produit : ses propriétés diélectriques, ses propriétés thermiques et son activité d'eau.

#### *II.3.1.1. Propriétés diélectriques*

Les propriétés diélectriques tels que la constante diélectrique ( $\epsilon'$ ) et le coefficient d'absorption ( $\epsilon''$ ) jouent un rôle important dans le chauffage micro-ondes (Nelson *et al.*, 2000). La chaleur est générée dans le produit par absorption des micro-ondes (Mudgett, 1986) et les propriétés diélectriques dépendent des facteurs suivants :

- la fréquence des micro-ondes ; ainsi les hautes fréquences sont plus pénétrantes que les micro-ondes.
- la composition du produit,
- sa température,
- l'état physique de l'eau contenue dans le produit,
- la densité du produit.

L'aptitude à absorber les micro-ondes est influencée significativement par ces facteurs. Ainsi, l'ajout du sel au produit, par exemple, augmente la capacité d'absorption des micro-ondes et par conséquent un chauffage plus rapide (Anantheswaran *et al.*, 1993). D'autre part, la présence d'eau libre (les végétaux) et des lipides dans l'aliment provoquent aussi un chauffage rapide (Schiffman, 1993 ; Flores, 1994).

En pénétrant dans l'aliment à traiter, l'onde électromagnétique a l'avantage, par rapport, aux traitements thermiques classiques, de créer une élévation de chaleur directement dans la masse. Cependant il peut exister, en particulier avec les micro-ondes, une hétérogénéité de traitement, due soit au produit lui-même, soit à une mauvaise répartition du champ dans l'enceinte (Schiffman, 1993).

#### *II.3.1.2. Propriétés thermiques*

L'aptitude d'un produit à chauffer aux micro-ondes ne dépend pas uniquement de ses propriétés diélectriques. Ses propriétés thermiques peuvent en effet avoir un effet décisif dans certains cas. Par exemple, la température de l'huile, à chaleur spécifique réduite, augmente plus rapidement que celle de l'eau traitée sous les mêmes conditions de traitements micro-ondes (Ryyanen et Ohlson, 1996 ; Zhang *et al.*, 1999).

La composition de l'aliment, si elle évolue au cours du chauffage (opération entraînant une élimination partielle de l'eau), peut entraîner une modification de ses propriétés thermiques telles que, la chaleur spécifique, la conductivité thermique de même que sa densité. Par conséquent, le chauffage devient non uniforme.

#### *II.3.1.3. Activité d'eau*

L'activité de l'eau ( $a_w$ ) est un concept thermodynamique défini par Scott (1957), lié au potentiel chimique de l'eau du produit par rapport à celui de l'eau pure dans les mêmes conditions de température et de pression. En toute rigueur, l' $a_w$  d'un produit ne peut se mesurer que pour un état d'équilibre thermodynamique.

Il est possible qu'une population microbienne en croissance puisse modifier, par respiration, l'hydratation et donc l' $a_w$  du produit dans lequel elle se développe. Cette approximation est cependant admise et dans la pratique, l' $a_w$  est utilisée communément par les microbiologistes pour décrire, dans un produit, l'eau disponible pour les micro-organismes (Le Meste *et al.*, 2002).

Tous les micro-organismes n'ont pas les mêmes exigences. C'est ainsi qu'ont été définis des minima d' $a_w$  de croissance. De manière générale, les bactéries à l'exception des halophiles, font partie des microorganismes les moins résistants. Les bactéries gram – en particulier ne se développent plus en dessous de 0,94 d' $a_w$  (Beuchat, 1974 ; Corry,

1968), tandis que les bactéries gram + ont des  $a_w$  minimales de l'ordre de 0,90 (Witter and Anderson, 1987).

D'autres paramètres physiologiques peuvent être affectés par une diminution de l' $a_w$  du milieu. Ainsi, il a été démontré qu'une diminution d' $a_w$  pouvait augmenter la thermo résistance de bactéries. L'exemple le plus connu est celui du genre Salmonella qui acquiert une thermorésistance dès que l' $a_w$  est ramenée au dessous de 0,6 (Corry, 1968).

### II.3.2. Puissance absorbée

Dans les milieux complexes tels que les aliments la génération de chaleur suite à l'absorption des micro-ondes est liée à la présence de molécules polaires (eau, alcool,..). Toutefois une petite partie de l'énergie dissipée est liée à l'oscillation d'ions. Dans ces conditions la puissance absorbée par l'aliment s'exprime par la relation (15) où le terme (a) correspond à la puissance par unité de volume dissipée par effet joule et le terme (b) la puissance volumique dissipée par relaxation diélectrique (Schiffman, 1995).

$$P = \underbrace{\frac{1}{2} \cdot \sigma \cdot E_{int}^2}_{(a)} + \underbrace{\frac{1}{2} \cdot \omega \cdot \varepsilon'' \cdot E_{int}^2}_{(b)} = \frac{E_{int} \cdot \omega}{2} \cdot \left( \frac{\sigma}{\omega} + \varepsilon'' \right) \quad (15)$$

avec :

$E_{int}$  : champ électrique à l'intérieur du produit chauffé ( $V \cdot cm^{-1}$ ).

(C'est la résultante entre le champ appliqué sur le produit et le champ de dépolarisation correspondant à une réaction du produit à la sollicitation électrique).

$\varepsilon''$  : coefficient d'absorption

$\omega$  : pulsation du champ électrique

Si on néglige la puissance dissipée par effet joule cette relation peut encore s'écrire comme suit :

$$Q = 55,61 \times 10^{-14} E_{int}^2 f K = 55,61 \times 10^{-14} E_{int}^2 f \varepsilon' tg \delta \quad (16)$$

avec :

f : fréquence des micro-ondes

K ( $= \varepsilon' tg \delta$ ) : facteur de perte caractéristique du produit traité.

$$\delta : \text{angle de perte qui se définit par : } tg \delta = \frac{\varepsilon''}{\varepsilon'}$$

$\varepsilon'$  : constante diélectrique

$\varepsilon''$  : coefficient d'absorption

Dans cette loi, apparaissent ainsi deux facteurs dépendants de l'appareillage et figés lors de la construction : le champ électrique et la fréquence du rayonnement (Mudgett, 1989).

Afin d'éviter toute perturbation dans les télécommunications, l'administration alloue en France, à l'application industrielle des micro-ondes, la fréquence de 2450 MHz sans aucune restriction et la 915 MHz sous condition. Cela signifie que le seul facteur modulable par l'utilisateur est le temps d'exposition du produit traité. L'autre facteur important qui apparaît dans l'expression de la puissance absorbée est le facteur de perte  $K$ .

Selon Goldblith et Wang (1967), et concernant ce facteur de perte, on peut dégager les tendances suivantes :

- Il augmente sensiblement avec l'humidité du produit.
- Il diminue légèrement lorsque la température augmente, sauf en cas de modifications des propriétés diélectriques. Ce phénomène est décrit par Brunton *et al.* (2006) dans le cas de la cuisson de la viande de bœuf. La constante diélectrique ( $\epsilon'$ ) et le coefficient d'absorption ( $\epsilon''$ ) diminuent légèrement de 5 à 85°C, puis augmentent rapidement à partir de ce point.
- Les graisses et les huiles absorbent mal les micro-ondes à cause d'un facteur de perte bas. Le facteur de perte d'un produit alimentaire sera d'autant plus faible qu'il sera riche en graisses.

Si nous considérons par exemple une substance de masse  $m$  soumise à un rayonnement micro-ondes. Désignons par  $Q_i$  la puissance incidente (constante durant un traitement donné) délivrée par les micro-ondes,  $Q$  la puissance absorbée par le produit et  $Q_r$  la puissance réfléchie. Quand on expose une petite quantité de produit, on se trouve dans le cas où  $Q < Q_i$  : la puissance absorbée est limitante : les micro-ondes distribuent plus d'énergie que le produit n'est capable d'en absorber. Dans ces conditions,  $Q$ , donc la vitesse de chauffage, dépend des propriétés diélectriques de l'aliment. Si au contraire, on expose une quantité suffisante de produit, on se trouve dans le cas où c'est la puissance des micro-ondes qui est limitante, avec  $Q = Q_i$  : l'aliment serait alors capable d'absorber une puissance supérieure à celle que fournit les micro-ondes.

La quasi-totalité de l'énergie fournie étant absorbée, on peut écrire :

$$Q.t = m.C_p(T - T_0) \quad (16)$$

avec :  $m$  : masse de produit exposé

$C_p$  : chaleur spécifique du produit

$T_0$  : température initiale du produit à  $t = 0$

$T$  : température du produit au temps  $t$ .

D'où :

$$T = T_0 + \left( \frac{Q_i}{m.C_p} \right) \cdot t \quad (17)$$

La vitesse de chauffage est alors :

$$\frac{dT}{dt} = \frac{Q_i}{m.C_p} \quad (18)$$

Ainsi, les propriétés diélectriques de l'aliment n'interviennent absolument plus. A puissances incidentes et à masses exposées égales, seule intervient la chaleur spécifique du produit.

Deux raisons font que dans les conditions industrielles la puissance limitante est celle de l'émetteur d'ondes : tout d'abord une raison technique, dans la mesure où les ondes non absorbées peuvent retourner dans les tubes (si l'appareil n'est pas équipé d'un circulateur ou de tout autre dispositif de protection), détériorant ceux-ci. La deuxième raison est d'ordre financier : toute énergie non absorbée engendre une perte de rendement et correspond également à un sous-chargement de l'appareil, entraînant donc une augmentation de son coût d'investissement spécifique (Knuston *et al.*, 1987).

### II.3.3. Profondeur de pénétration

La conversion en chaleur de l'énergie portée par l'onde électromagnétique implique que celle-ci va s'atténuer en traversant la matière. On peut définir une profondeur de pénétration par la distance parcourue par l'onde lorsqu'elle a perdu 63 % de son énergie (Goldbith et Wang, 1967).

Cette distance  $D$  est égale à :

$$D = \frac{\lambda_0 \sqrt{2}}{2\pi} \left[ \varepsilon' \left( \sqrt{1 + \left( \frac{\varepsilon''}{\varepsilon'} \right)^2} - 1 \right) \right]^{-0.5} \quad (19)$$

(Decareau, 1985)

avec :  $\lambda_0$  : longueur d'onde dans l'air.

Ceci donne pour des valeurs de  $\varepsilon''$  de l'ordre de 10 (valeur moyenne des produits organiques non déshydratés) et en fonction des fréquences des appareils commercialisés :

- en HF : 13,56 MHz    1m  
                          27,12 MHz    0,5m
- en micro-ondes : 915 MHz    1,5 cm  
                          2 450 MHz    5 cm.

La profondeur de pénétration diminue lorsque le facteur de perte augmente, ce qui se conçoit aisément : une couche superficielle de matière qui absorbe intensément les micro-ondes intercepte le rayonnement et joue un rôle d'écran vis-à-vis des couches intérieures. Pour cette raison, la profondeur de pénétration des micro-ondes est d'autant plus faible que le produit est humide. C'est ainsi que, selon Mudgett (1986), la profondeur de pénétration relative à une pomme de terre moyennement humide est de 3cm et pour une pomme de terre très humide, de 1,7 cm (Singh et Heldman, 1993).

**CHAPITRE III :**  
**CHAUFFAGE MICRO-ONDES**  
**ET**  
**SYSTEMES BIOLOGIQUES**

Même si la plupart des recherches actuelles sur les interactions micro-ondes et systèmes biologiques concerne l'incidence des ondes liées à la téléphonie mobile sur la santé publique, de nombreuses études ont été réalisées sur l'effet bactéricide des micro-ondes. En effet, comme nous l'avons mentionné dans les chapitres précédents, les micro-ondes sont utilisées comme moyen de stérilisation ou de décontamination depuis de nombreuses années. De plus, l'utilisation très répandue au niveau domestique du four à micro-ondes, qui fonctionne à la fréquence de 2,45 GHz, a contribué au développement des études sur les interactions micro-ondes et micro-organismes à cette fréquence.

Sont étudiés dans ce chapitre, les conséquences d'un traitement micro-ondes sur un système biologique. Une première partie traite l'effet des micro-ondes sur les micro-organismes et ceci en distinguant effet thermique et effet athermique. L'effet du chauffage micro-ondes sur la qualité des produits traités est exposé dans la deuxième partie.

### III.1. EFFET SUR LES MICROORGANISMES

#### III.1.1. Effets thermiques spécifiques

Plusieurs théories ont été avancées pour imaginer comment l'énergie micro-ondes pourrait détruire les micro-organismes. Une des possibilités serait liée à l'absorption sélective de l'énergie micro-onde par le micro-organisme résultant en son inactivation. Le milieu environnant resterait quant à lui à des températures inférieures (Sasthy et Palaniappan, 1991). Khalil et Villota (1989) parlent d'un chauffage très important induit par les micro-ondes de certains composants cellulaires, tels que les protéines ou lipides.

L'effet bactéricide des micro-ondes à 2,45 GHz a été testé sur un grand nombre de microorganismes comme par exemple, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, etc., aussi bien sur des milieux liquides (Rosaspina *et al.*, 1993, 1994 a, b ; Sahin *et al.*, 1998 ; Wu, 1996), que dans des milieux solides (Atmac *et al.*, 1996 ; Kindle *et al.*, 1996 ; Latimer et Masten, 1977 ; Levre et Valentini, 1998 ; Salvatorelli *et al.*, 1996 ; Woo *et al.*, 2000). Ces travaux, réalisés à des températures comprises entre 80 et 100°C, montrent que l'action destructrice des micro-ondes est essentiellement due à l'effet thermique associé.

Plusieurs auteurs (Heddleson *et al.*, 1996) ont étudié l'effet des micro-ondes sur la thermorésistance de plusieurs souches de Salmonelle traitées dans du lait. Les résultats ont montré une destruction de 99,9% des bactéries pour une température finale de traitement de 63°C.

#### III.1.2. Effets non thermiques

L'éventualité d'effets non thermiques ou spécifiques des micro-ondes demeure un sujet controversé. La controverse n'est pas seulement scientifique, elle est pour une bonne part politique et commerciale. L'idée que des effets non thermiques puissent être générées par des radiofréquences (RF) et micro-ondes (MO) implique qu'il y ait des effets à un niveau assez faible, voire très faible (Vander Vorst, 2003).

Dès 1971, Michelson et Dodge, indiquaient que : «Le niveau d'exposition maximale admissible (MPE) est pris en compte pratiquement en fonction de l'acceptation

ou du rejet des effets non thermiques des micro-ondes comme significatifs du point de vue biologique. » (Michelson et Dodge, 1971).

Par ailleurs, la possibilité d'effets isothermes ne doit pas détourner l'attention portée aux effets « non thermiques » qu'on devrait plutôt appeler effets *microthermiques* (Vander Vorst, 1997). La question est de savoir s'il est possible qu'un rayonnement électromagnétique extrêmement faible ait des effets biologiques importants. Ceci mène à considérer la possibilité pour les micro-ondes de jouer un rôle d'amorce. Les effets microthermiques pourraient n'apparaître que dans certaines plages de fréquences, se satureraient à intensité plutôt faible et pourraient être masqués par des effets thermiques. De telles théories ont été démontrées (Fröhlich, 1980, Vander Vorst, 1993). Un exemple bien connu est le système visuel humain à faibles intensités : un gain énergétique supérieur à  $10^6$  permet au photon d'amorcer l'impulsion nerveuse, l'énergie étant fournie par le système biologique.

De manière à avoir plus d'informations sur les mécanismes d'action des micro-ondes, en particulier au niveau des effets non thermiques, de nombreuses études sur les interactions entre les micro-ondes et certains constituants cellulaires tels que la membrane, l'ADN et les protéines du choc thermique (HSP : Heat Shock Protein) ont été réalisées.

Rosen *et al.* (2002) ont signalé une augmentation du nombre de ruptures d'un seul brin d'ADN et aussi du nombre de rupture des deux brins dans les cellules cérébrales de rats après exposition à des micro-ondes. D'autres auteurs (Garaj-Vrhovac *et al.*, 1992 ; Vander Vorst, 1993 ; Rosen et Rosen, 1995) ont mesuré la synthèse des HSP chez le ver *C. elegans* lorsque celui-ci était soumis à des micro-ondes de faible intensité (750 MHz, 0,5 W), comparables à celles émises par les téléphones mobiles. Après une exposition de 18 heures, les scientifiques ont montré une élévation considérable de la synthèse des HSP. Ils expliquent qu'une augmentation de la température de l'animal exposé ne semble pas être la cause de cette réponse cellulaire. Selon eux, le mécanisme cellulaire serait déclenché par un effet non thermique. Les micro-ondes pourraient rompre les liaisons de faible énergie (liaisons hydrophiles, hydrophobes et liaisons hydrogène) qui maintiennent la structure spatiale des protéines et donc modifier l'activité biologique. En réponse, les mécanismes de régulation déclencheraient la synthèse massive des HSP. Les ondes pourraient également déclencher un stress oxydatif connu pour induire la synthèse d'HSP.

Bien que certains auteurs aient montré que l'application des micro-ondes n'altèrent pas les qualités nutritives des aliments (Cross et Fung, 1982 ; Villamiel *et al.*,

1996), des études sur l'application des micro-ondes dans des conditions faiblement thermiques ont été réalisées afin de mettre en évidence des effets athermiques éventuels des micro-ondes sur la destruction des micro-organismes. Par exemple, Kozempel et ses collaborateurs (1998) ont décrit un procédé de traitement micro-ondes de différents liquides alimentaires tels que l'eau, des œufs liquides, de la bière, du jus de pomme et du jus de tomate. Les résultats de ces études montrent une bonne efficacité des micro-ondes appliquées dans ces conditions faiblement thermiques (environ 40°C comme température maintenue par des tubes refroidissants) avec un abattement de la charge microbienne compris entre 0,1 et 4,6 unités log selon le produit traité pour un temps de traitement de 1,1 à 1,5 min aux micro-ondes.

De plus, de nombreuses hypothèses concernant l'effet non thermique des micro-ondes sur la membrane cellulaire ont été émises. Un changement de concentration en ions de part et d'autre de la membrane et la réorientation de grosses molécules, comme les protéines membranaires, pourraient être le mécanisme d'action non thermique des micro-ondes (Barnes et Hu, 1977). De plus, le comportement diélectrique des macromolécules biologiques (protéines, lipides, glucides, acides nucléiques) est fonction de la quantité de molécules d'eau en contact étroit avec elles (eau liée). L'eau liée à la membrane pourrait donc être nécessaire pour induire et potentialiser des effets spécifiques des micro-ondes (Vela et Wu, 1979).

### **III.2. EFFET SUR LA QUALITE DES PRODUITS**

L'état physique de la matière dépend de sa température et les réactions chimiques sont accélérées par la chaleur. On peut citer les réactions de Maillard et de caramélisation qui pourront se produire à la suite de la libération de jus par les tissus animaux ou végétaux soumis à la chaleur (Cheftel *et al.*, 1997).

Le traitement micro-ondes est un traitement relativement rapide, ce qui nous permet de dire que la qualité du produit traité n'est pas largement affectée. Grâce au temps de chauffage court, les caractéristiques des produits cuits et/ou pasteurisés se rapprochent de celles d'un produit frais : couleur, goût, texture, vitamines.

Le traitement micro-ondes ne modifie pas plus la valeur nutritionnelle que les autres modes de cuisson. En ce qui concerne les protéines, on observe la même dénaturation que lors de tout autre traitement à la chaleur ; il n'y a pas d'anomalie sur les

processus de digestion « in vitro » ou « in vivo ». Les compositions en graisses ou en acides gras ne sont pas particulièrement modifiées et les phénomènes d'oxydation se développeraieent moins que dans le cas d'autres traitements conventionnels.

La perte en vitamines (A, E) ne semble pas accentuée par le chauffage par micro-ondes et dans le cas de vitamines hydrosolubles, il y aurait même globalement un effet favorable sur la préservation de celles-ci car le traitement thermique est moins sévère (Finot, 1996).

**Chapitre IV :**  
**LA CREME DE SESAME**

## **IV.1. PROCEDE DE FABRICATION**

La crème de sésame est un produit pâteux obtenu à partir de graines de sésame. La fabrication de ce produit est largement répandue dans les pays du Moyen-Orient. Le procédé de fabrication ne varie pas trop d'une usine à l'autre.

Les graines de sésame sont, tout d'abord, séparées et nettoyées des impuretés. Les graines sont trempées dans de l'eau pendant 6 à 10 heures (Ayaz *et al.*, 1986), et selon El-Adawy et Mansour (2000), une durée de 16 heures est recommandée. Les graines passent ensuite à travers une machine à décortiquer pour enlever le son tout en permettant aux graines de sésame de frotter les unes contre les autres mais également contre le fond de la cuve. Les coques sont séparées en les trempant dans une solution saline (15-17 %). Les particules légères (coques, débris, poussières,...) flottent à la surface alors que les graines, plus lourdes coulent au fond de la cuve. Les graines décortiquées sont nettoyées par de l'eau pour enlever les traces de sel. Les graines sont ensuite cuites pendant 2 heures, à une température de 90-100°C, dans une machine à vapeur équipée de palettes mobiles pour maintenir un transfert de chaleur uniforme. Les graines traitées sont refroidies par aération à la température de la chambre. Ensuite, les graines brûlées sont enlevées pour prévenir une couleur brune de la crème. Les graines de sésame cuites sont, à la fin, écrasées traditionnellement, entre des pierres de meulage ou par l'utilisation des broyeurs spécifiques jusqu'à l'obtention d'un produit pâteux qui sera distribué dans des boîtes plastiques.

## **IV.2. COMPOSITION CHIMIQUE**

Durant le processus de fabrication de la crème de sésame, une certaine quantité d'eau et de minéraux est perdue et la teneur en lipides est plus élevée comparativement aux graines de sésame entières.

Sawaya *et al.* (1985) et El-Adawy et Mansour (2000) ont analysé la teneur en lipides, acides gras, protéines, acides aminés, fibres, cendres et minéraux de 10 échantillons de crème de sésame provenant de l'Arabie Saoudite, de la Tunisie et du Liban.

Les résultats sont représentés dans les tableaux 1 et 2. En se basant sur ces résultats, on peut affirmer que la crème de sésame renferme une teneur élevée en lipides

(58,9 %) et une teneur de 24,7 % en protéines. D'autres auteurs (Johnson *et al.*, 1979, Kavar, 1999) ont aussi analysé la crème de sésame, et les résultats s'avèrent identiques.

**Tableau 1.** Moyenne de la composition chimique de 10 échantillons de crème de sésame

Eléments	Concentration/100g± SD
Humidité (g)	0,7±0,42
Protéines (g)	24,7±1,70
Lipides (g)	58,9±2,54
Fibres (g)	2,3±0,21
Cendres (g)	3,0±0,18
Na (mg)	251±77,2
K (mg)	354±44,01
Ca (mg)	61,0±27,0
P (mg)	692±71,4
Mg (mg)	362±40,9
Fe (mg)	7,2±0,49
Zn (mg)	7,8±0,68
Cu (mg)	2,0±0,24
Mn (mg)	1,5±0,17
Se (mg)	0,1±0,01

Source : Sawaya *et al.*, 1985.

**Tableau 2.** Composition en acides gras de la crème de sésame.

Acides gras	g/100g
Palmitique (C16 :0)	9,8 ± 0,15
Palmitoléique (C16 :1)	0,1 ± 0,01
Hepatodécanoïque (C17 :0)	0,1 ± 0,01
Stéarique (C18 :0)	6,4 ± 0,34
Oléique (C18 :1)	42,4 ± 1,00
Linoléique (C18 :2)	39,7 ± 0,53
Linoléinique (C18 :3)	0,4 ± 0,42
Archidonique (C20 :0)	0,5 ± 0,01
Béhénique (C22 :0)	0,2 ± 0,03

Source : Sawaya *et al.*, 1985.

D'un autre côté, El-Adawy et Mansour (2000) ont étudié l'effet de différents traitements thermiques sur la composition chimique de la crème de sésame. L'étude montre que les teneurs en protéines, et en fibres, les liaisons N-libres, les minéraux et les cendres ne sont

pas affectés de façon significative par le traitement de torréfaction. Pourtant, il semble qu'une torréfaction par air chaud suivi d'un traitement sous vide permette de mieux préserver la teneur en acides aminés essentiels de la crème qu'une torréfaction à vapeur ou par plaques chauffantes. En plus, ces deux derniers traitements semblent diminuer la teneur en huile dans la crème. Les résultats sont présentés dans le tableau 3.

**Tableau 3.** Composition chimique dans 100g de matière sèche de crème de sésame traitée suivant quatre méthodes différentes de traitements.

Paramètres	Vapeur	Chauffage sous vide	Plaques chauffantes	Air chaud
Humidité	1,98 g	1,55 g	1,45 g	1,67 g
Huile brute	58,63 g	59,29 g	58,59 g	59,37 g
Protéines	22,35 g	22,06 g	22,59 g	21,90 g
Fibres	2,86 g	2,62 g	2,92 g	2,40 g
Cendres	2,62 g	2,88 g	2,73 g	2,83 g
N-libres	13,54 g	13,15 g	13,17 g	13,50 g

Source : El-Adawy et Mansour, 2000.

Notons, par ailleurs, que la crème de sésame utilisée dans les expériences avaient un taux d'humidité moyen de  $1,56 \% \pm 0,02$  et une activité d'eau ( $a_w$ ) de  $0,49 \pm 0,1$ .

### IV.3. PRINCIPAUX GERMES CONTAMINANTS

Ayaz *et al.* (1986) ont étudié la microbiologie de la crème provenant de 10 usines en Arabie Saoudite. Les tests effectués portaient sur : les coliformes totaux, les Staphylocoques, le *Bacillus cereus*, le *Clostridium perfringens* et la Salmonelle.

Le profil microbiologique de la crème de sésame est comme suit : Les Coliformes totaux varient entre 10 et 300 UFC/g, *Staphylococcus aureus* varient entre 10 et 400 UFC/g, *Bacillus cereus* varient entre 10 et 250 UFC/g et le *Clostridium perfringens* varie entre 10 et 100 UFC/g. En plus, les auteurs ont noté la présence de 20 % de *Salmonelle enterica* sérotype *enteritidis* dans les échantillons collectés. Ayaz *et al.* affirment que la contamination est due à un défaut au cours du processus de fabrication.

A plusieurs reprises, la Salmonelle multirésistante a été détectée au niveau de la consommation du «Halwa» : un dessert de la cuisine libanaise, à base de crème de

sésame, de sucre, d'acide citrique et d'extraits de racines de *Saponaria officinalis*. Brockmann *et al.* (2004) ont collecté 117 échantillons de produits issus de graines de sésame, dont la crème de sésame, le Halwa, de l'huile de sésame et des céréales, et y ont examiné l'occurrence de la Salmonella. Les auteurs ont trouvé 9,4 % des échantillons contaminés par la *Salmonella Typhimurium* (DT 134, Offa, Tennessee et Poona) ainsi que de la *Salmonella Typhimurium* (DT 104). Selon les auteurs, la probabilité pour que la contamination survienne au cours de la fabrication est réduite à cause des températures utilisées qui sont relativement élevées (de l'ordre de 100°C). Toutefois, la contamination survient au cours de la phase de récolte des graines de sésame. Notons qu'au cours de ces investigations, deux autres types de Salmonelles étaient détectés en Australie dans le Halwa produit au Liban.

En plus des études citées ci-dessus, l'Organisation du Développement des Industries des Etats-Unis (UNIDO) en collaboration avec l'Université Saint-Joseph (USJ) du Liban ont effectué une recherche, en 2003, sur le profil microbiologique de la crème de sésame issue du marché Libanais. Les résultats montrent la présence de Salmonelle et de coliformes dans l'eau et dans la crème au cours du processus de fabrication et dans le produit fini (Zakkour, 2004).

Le LIBNOR (Institut Libanais des Standards et Spécifications) a sorti, en 2002, des normes microbiologiques pour la crème de sésame. Ces normes sont listées dans le tableau 4.

**Tableau 4.** Les critères de qualité de la crème de sésame.

Critère microbiologique	Germes aérobiques totales (UFC/g)	Coliformes (UFC/g)	E.coli (UFC/g)	Salmonella dans 25g	Levures et champignons (UFC/g)
n	5	5	5	5	5
c	2	2	2	0	2
m	10 <sup>3</sup>	10	1	-	100
M	10 <sup>4</sup>	100	10	-	1000

Source : LIBNOR, 2002.

Où :

n = nombre d'échantillons à analyser

c = nombre maximal d'échantillons subissant une contamination entre m et M

m = la limite de la contamination microbienne dans le produit

M = la limite maximale de microorganismes à ne pas dépasser dans n'importe quel échantillon à tester.

#### **IV.4. IMPACT D'UN TRAITEMENT THERMIQUE SUR LA QUALITE DE LA CREME**

Les méthodes courantes de conservation de la nourriture reposent principalement sur des transferts d'énergie et/ou de masse qui ont pour objectif d'allonger la durée de vie des produits alimentaires (pasteurisation et stérilisation, séchage, déshydratation osmotique, réfrigération et congélation) ou de les transformer par le jeu de réactions biochimiques ou de changement d'état (cuisson, fermentation, obtention d'état cristallisé ou vitreux...). Ces transformations sont rarement exclusives et les transferts souvent couplés sont associés à des changements d'états.

La crème de sésame, riche en lipides, subit des modifications suite à un traitement thermique. Parmi les principaux changements observés, on peut citer : la rancidité ou l'oxydation des lipides, la modification de la viscosité et de la couleur.

##### **IV.4.1. La rancidité**

Riche en lipides et particulièrement en acides gras insaturés, la crème de sésame se trouve exposée à l'oxydation. Les acides gras insaturés tels que les palmitoléiques, oléiques, linoléiques et linoléiques s'oxydent en présence d'oxygène pour donner des produits rances qui affectent négativement la qualité et la conservation de la crème (Abou-Gharbia *et al.*, 1996). Pourtant certains auteurs (Terrones, 1990 ; Yoshida *et al.*, 1995) considèrent la crème de sésame comme un produit stable à l'oxydation à cause de la présence des quantités élevées d'antioxydants dans son huile tels que les tocophérols, sésamole et sésamoline transformée en sésaminol durant le raffinage. Elle renferme aussi les glucosides, des antioxydants qui, avec le sésaminol, jouent le rôle de radicaux libres éboueurs (Abou-Gharbia *et al.*, 1996 ; Osawa, 1994). Signalons aussi le pouvoir protecteur des acides aminés libres ainsi que la protection des lipides par des non lipides qui les couvrent et agissent comme bouclier (Abou-Gharbia *et al.*, 1996).

Plusieurs facteurs causent l'oxydation telle que la présence d'oxygène dans les aliments. Pour cette raison, la plupart des huiles végétales, dont les acides gras réagissent avec l'oxygène, sont emballées sous gaz inertes. En plus, l'exposition directe aux rayons

solaires affecte la stabilité des lipides dans ces produits. Les rayons ultraviolets et les rayons visibles causent aussi une détérioration oxydative des lipides pour former des odeurs rances, des pertes en nutriments et une décoloration (Lennersten et Lignert, 2000 ; Yen et Shyu, 1989). Par ailleurs, la nature des acides gras influe sur l'oxydation, le développement de la rancidité dépend du degré d'insaturation. Ainsi, l'acide linoléique est plus sensible à l'oxydation que l'acide linoléique et l'acide oléique est le moins réactif.

La température joue aussi un rôle important dans l'oxydation des lipides des huiles. Plusieurs recherches ont porté sur l'effet du traitement thermique sur la stabilité de l'huile de sésame et tous les résultats montrent que cette huile présente une meilleure résistance à l'oxydation que les autres huiles végétales à cause de la présence d'antioxydants naturels, tels que les lignines (sésamol, sésamine et sésamoline) et les tocophérols, en particulier  $\gamma$ -tocophérols (Abou-Gharbia *et al.*, 2000 ; Yen and Shyu, 1989 ; Yoshida *et al.*, 1995). Pour cette raison, l'huile de sésame est ajoutée aux autres huiles végétales pour augmenter leur stabilité thermique (Yen, 1991 ; Sumainah *et al.*, 2000). Yen et Shyu (1989) ont étudié l'effet de différentes températures de cuisson des graines de sésame (180°C, 190°C, 200°C et 210°C) sur l'oxydation de l'huile de sésame. Ils ont conclu que l'huile de sésame préparée à 200°C pendant 30 minutes donne la meilleure stabilité oxydative grâce à la présence du sésamol libre et de la sésamoline formée durant la cuisson.

D'un autre côté, Yoshida et Kajimoto (1994) ont étudié l'effet d'un traitement micro-ondes sur l'oxydation de l'huile de sésame. Ils ont observé que l'indice de peroxydes (IP) de l'huile (sous 2450 MHz) dépend du temps de traitement et cet indice arrive à 2,25 et 3,23 milli-équivalent d'oxygène/kg (még/kg) d'huile après 12 et 16 minutes, respectivement. Après 8 minutes de traitement micro-ondes, aucune différence significative avec l'huile non traitée n'est observée.

#### IV.4.2. Rhéologie et viscosité

La rhéologie est une partie de la mécanique qui étudie la plasticité, l'élasticité, la viscosité et la fluidité caractéristiques des corps déformables. Les fluides se classent en deux groupes : les fluides newtoniens et les fluides non-newtoniens. Dans les premiers, la contrainte est proportionnelle à la vitesse de cisaillement. Par exemple, l'eau, le miel,

le lait et les jus de fruits présentent des caractéristiques newtoniennes (Singh et Heldman, 1993).

Dans les fluides non-newtoniens, la contrainte et la vitesse de cisaillement n'obéissent pas à une loi du premier ordre et la viscosité varie selon ces deux facteurs. Plusieurs types de comportement régissent ces systèmes : écoulement Plastique de Bingham, écoulement Pseudoplastique et écoulement Dilatant. Ces types d'écoulement sont indépendants du temps. Ce qui veut dire que ces fluides réagissent directement suite à une contrainte de cisaillement réduite. Par contre, l'écoulement Thixotropique et Rhéopectique sont dépendants du temps, c'est-à-dire que la viscosité apparente (le rapport entre la contrainte de cisaillement et la vitesse de cisaillement) atteint une valeur constante seulement après qu'un certain temps se soit écoulé suite à l'application de la contrainte de cisaillement (Singh et Heldman, 1993 ; Philipps *et al.*, 1983).

D'après Abu-Jdayil *et al* (2002), la crème de sésame est un fluide non-newtonien pseudoplastique. Dans ce type de produit, la viscosité diminue lorsque la contrainte de cisaillement augmente, comme c'est le cas de la mayonnaise, la moutarde, les purées de fruits... (Singh et Heldman, 1993 ; Philips *et al.*, 1983). Ces auteurs ont aussi démontré qu'en augmentant ou diminuant la vitesse de cisaillement, l'indice de consistance diminue significativement, avec l'élévation de la température. Notons que l'indice de consistance ( $k$ ) est un paramètre numériquement égal à la viscosité apparente à  $1s^{-1}$  (Launay, 1991).

Une étude sur le comportement rhéologique de la crème de sésame effectuée par Abu-Jdayil (2003) aboutit à d'autres conclusions. L'auteur affirme en effet que la crème de sésame a un comportement Thixotropique. Autrement dit, la viscosité apparente du produit, sous une vitesse de cisaillement constante, diminue avec le temps de cisaillement. Ceci est probablement dû à la destruction des structures tridimensionnelles des lipides par la contrainte de cisaillement.

Linder et Kinsella (1991) ont noté que l'addition de petites quantités d'eau (< 6%) à la crème de sésame augmente significativement la viscosité. Ils affirment par ailleurs que le degré de thixotropie (cassures des molécules) augmente avec la contrainte de cisaillement mais diminue avec la température.

**CHAPITRE V :**  
**LE CONTAMINANT :**  
*Salmonella enterica arizonae*

## V.1. DESCRIPTION DES SALMONELLES

Bactérie Gram négative, la *Salmonella* est l'un des genres de la famille des *Enterobacteriaceae* et les "Approved lists of Bacterial names" considèrent que cinq espèces ont un statut dans la nomenclature : *Salmonella arizonae*, *Salmonella choleraesuis* (espèce type du genre), *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhi* et *Salmonella typhimurium*. Ces bâtonnets Gram – sont aérobies facultatifs, catalase +, mobiles et font fermenter le glucose (Guthrie, 1992).

L'espèce comprend 7 sous-espèces dont deux (IIIa et IIIb) correspondent aux bactéries antérieurement appelées Arizona. La très grande majorité (99,8 %) des *Salmonella* isolées chez l'homme et les animaux à sang chaud appartient en Europe occidentale à la sous-espèce I. Les sous-espèces II, IIIa et IIIb sont fréquemment isolées comme bactéries présentes dans l'intestin des animaux à sang froid, les sous-espèces IV, V et VI, qui sont rares, paraissent cantonnées à l'environnement. La *Salmonella* est aussi isolée à partir de l'eau contaminée par de la matière fécale (Varnam et Evans, 1991) et peut être aussi présente dans certaines plantes cultivées dans de la terre enrichie en déchets comme source de nutriments. Notons aussi que l'irrigation par de l'eau contaminée par de la *Salmonelle* favorise le développement de cette bactérie dans les cultures (Blackburn et McClure, 2002 ; Barbour *et al.*, 1984 ; Barbour *et al.*, 1986a ; Barbour *et al.*, 1986b)

Afin d'éviter toute confusion, le nom de *Salmonella enterica* a été proposé comme nom spécifique, les 7 sous-espèces sont désignées subspecies, *enterica*, *salamæ*, *arizonæ*, *diarizonæ*, *houtenæ*, *bongori* et *indica*. Parmi les espèces fréquemment incriminées, on trouve *Salmonella enteritidis* variété *typhimurium* et *Salmonella cholerae-suis*.

Chacune des sous-espèces est subdivisée en sérovars basé sur l'identification des facteurs antigéniques O, H et Vi. Chaque sérovar est défini par une association caractéristique de ces facteurs, appelée formule antigénique.

A l'exception de *Salmonella typhi*, tous les sérotypes produisent des gaz au cours de la fermentation des glucides (glucose et divers hydrates de carbone).

Les produits impliqués dans la transmission de la Salmonelle sont : la viande surtout crue, le lait et les produits laitiers, les œufs et leurs dérivés (Varnam et Evans, 1991).

Une dose de  $10^5$  à  $10^7$  cellules est exigée pour initier la contamination, pourtant des doses plus petites sont suffisantes pour provoquer les symptômes de la Salmonelle (diarrhée, vomissements, douleurs abdominales, fièvre pouvant être élevée). Selon le sérotype de Salmonelles, une dose de 10-100 cellules peut parfois être suffisante pour développer une infection (Blackburn et McClure, 2002).

La Salmonellose humaine est principalement divisée en deux groupes majeures : le type non-typhoïdien connu aussi sous le nom de gastro-entérites et le type typhoïdien, une infection connue sous le nom de fièvre entérique. Le premier type est caractérisé par des diarrhées, des douleurs abdominales, du vomissement et de la fièvre, alors que le second type se caractérise par un malaise, des maux de tête, des toux sèches, des constipations et de la fièvre (Zakkour, 2004).

La *Salmonella enterica*, sur laquelle se fait notre étude, se développe sous des températures optimales qui varient entre 8 et 45°C et un pH entre 4 et 9 et sous des activités de l'eau supérieures à 0,94 (Guthrie, 1992). Toutefois, l'application de températures élevées permet de limiter sa présence dans les aliments. Une étude menée par Doyle et Mazzotta (2000) montre qu'un temps de 1,2 secondes sous 71°C est suffisant pour obtenir une réduction décimale de Salmonella avec un z de 5,3°C (Blackburn and McClure, 2002 ; Bell et Kyriakides, 2002). Il faut noter toutefois qu'avec des activités d'eau réduites, comme dans le cas des produits riches en lipides, les Salmonelles deviennent plus thermorésistantes (Varnam et Evans, 1991).

Notons qu'en plus des procédures de contrôle citées ci-dessus, des mesures préventives comme des étapes de fabrication bien maîtrisées et du conditionnement adéquat ainsi que l'application de la méthode HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point) demeurent les meilleures méthodes adaptées pour assurer un produit exempt de Salmonelle.

## V.2. NOTE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LA THERMORESISTANCE DES SALMONELLES

La qualité microbiologique des aliments est de première importance pour la sécurité alimentaire. En Europe comme aux Etats-Unis la sécurité alimentaire constitue un sujet d'inquiétude tant des instances officielles que des consommateurs. Les maladies infectieuses d'origine alimentaire sont souvent liées à des défauts d'hygiène (Arvieux, 1998) et peuvent être graves comme le cas des toxi-infections à *Salmonella*.

Plus de 60% des toxi-infections dans le monde sont dues à *Salmonella*. Les salmonelloses sont de ce fait devenues un phénomène de santé publique ce qui justifie l'implication de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) dans la lutte contre les salmonelloses (Salm-Surv, 2005). Quelques épidémies les plus spectaculaires (Tamplin, 1997) :

- Au Canada en 1984, 2700 cas de *Salmonella typhimurium* (1 mort) concernant du cheddar.
- En 1985, 16 000 cas confirmés dans 6 Etats du fait de la consommation de lait provenant de Chicago. Ce fut la plus grande toxico-infection alimentaire de Salmonelle aux Etats-Unis.
- En 1994, la glace « Shawn » faisait 224 000 malades (la plupart d'eux étaient jeunes) aux Etats-Unis. Il n'y avait pourtant que 6 salmonelles par moitié de coupe de glace. La glace ne contenait pas d'œuf, mais sa mixture était transportée dans un équipement qui contenait auparavant un ovoproduit à base d'œuf cru contaminé.
- En France, la dernière grande épidémie en date est celle de 1993 impliquant *Salmonella paratyphi B* dans du fromage de chèvre (273 cas dont 1 mort).

Les principaux réservoirs alimentaires de salmonelles sont habituellement des viandes hâchées, de la charcuterie (saucisses, salaison, pâtes), de la volaille, des rôtis de bœuf préparés d'avance et des œufs (ovoproduit, crème pâtissière, mayonnaise, crème glacée), du poisson et coquillages (huîtres, moules, mollusques, crustacés).

La température optimale de croissance des salmonelles est de 35/37°C, cependant ces bactéries peuvent se multiplier de 8 à 45/47°C avec une croissance nettement retardée

par les températures inférieures à 10°C (Guthrie, 1992). Les souches thermorésistantes de *Salmonella* sont rares et la thermorésistance est influencée par l'activité de l'eau. Elle augmente quand l'activité de l'eau du substrat diminue (ICMSF, 1996). Ainsi des études effectuées (Denis *et al.*, 1995), ont montré que la thermorésistance de *Salmonella Enteritidis* est multipliée par un facteur de 7 à 60°C dans l'œuf entier salé à 11% ( $a_w = 0,91$ ) par rapport à l'œuf entier nature ( $a_w = 0,98$ ). Des *Salmonella* "habituées" à des milieux relativement secs ( $a_w = 0,95$ ) ont une résistance thermique plus élevée.

Senhaji et Loncin (1977) ont remarqué que la destruction de la salmonelle est plus lente dans un produit ayant un  $a_w = 0,65$  que celle observée dans d'autres milieux ayant comme  $a_w = 0,80$  et  $0,90$ . Mattick *et al.* (2001) ont démontré également que les milieux à basse activité d'eau (proche de  $0,65$ ) sont favorables pour la survie des bactéries traitées à 55°C ou 60°C. Ceci confirme aussi les résultats obtenus par Alvarez *et al.* (2003) dans leurs travaux sur la thermorésistance de la Salmonelle dans des milieux à différentes  $a_w$ . Ils ont trouvé que  $D_{60}$  de la *Salmonella serovar Enteritidis* passe de 0,1 min ( $a_w$  de 0,99) à 2,7 min ( $a_w$  de 0,96).

Toutefois, il est intéressant de signaler que l'effet de l'activité de l'eau sur la thermorésistance des bactéries dépend largement du type de soluté (Alvarez *et al.*, 2003 ; Lee et Goepfert, 1975 ; Smith *et al.*, 1982). La survie de certaines bactéries, comme la Salmonelle, inoculées dans des produits traités aux micro-ondes semblent être largement influencée par le contenu en sodium (Heddleson *et al.*, 1996). Ceci a, en effet, poussé plusieurs auteurs à travailler sur la thermorésistance des salmonelles traitées dans différentes solutions modèles.

Heddleson *et al.*, (1990) ont évalué la thermorésistance de plusieurs souches de salmonelles traitées aux micro-ondes dans différentes solutions : chlorure de sodium, solution tampon phosphate et une solution de caséine, sucrose et de l'huile de maïs. D'après leurs travaux, la solution de NaCl constitue le milieu qui protège le mieux la bactérie : 37,62% de la population bactérienne survit dans le NaCl contre 0,22% dans la solution tampon phosphate.

Lee et Goepfert (1975) avaient traité une souche de *S. typhimurium* au bain-marie à 48°C dans une solution tampon phosphate. Ils ont observé que l'augmentation de la concentration de sucrose de 0 à 30% (v/v) dans la solution tampon phosphate a augmenté la thermorésistance de la bactérie. Ceci peut s'expliquer par le fait que le sucrose stabilise la membrane cellulaire des bactéries empêchant ainsi la rupture des ARN.

Plus tard, Mañas *et al.* (2001) ont montré que la concentration en NaCl influe sur la thermorésistance de la *S. typhimurium* traitée au bain-marie. Ces auteurs ont remarqué que l'ajout de 5% de NaCl au milieu traité (tryptic soy agar à 0,6% d'extrait de levures) a augmenté les valeurs de  $D_{58}$  de 0,4 à 0,66 min.

D'autre part, plusieurs auteurs ont étudié la thermorésistance de la salmonelle dans différentes sortes de produits alimentaires. Winter *et al.* (1946) ont montré que *S. senftenberg* 775W a pu survivre 5 min à 60°C dans de l'œuf liquide. Solowey *et al.* (1948) ont travaillé sur la même souche et ils ont montré qu'elle présente un  $D_{61}= 1,1$  min dans l'œuf entier liquide et un  $D_{61}=1,19$  min dans un bouillon de tryptose. Un peu plus tard, Read *et al.* (1968) ont recherché la thermorésistance d'une souche de *Salmonella senftenberg* 775W traitée, au bain-marie, dans du lait en poudre. Les valeurs de D varient entre 34 à 0,55s pour des températures de 65,6 et 73,9 °C respectivement.

Ng *et al.* (1969) ont traité du lait contaminé par plusieurs souches de Salmonelles. Ils ont déterminé un  $D_{57}$  qui varie entre 0,9 et 1,3 min pour les souches étudiées.

Murphy *et al.* (2002) ont travaillé sur la thermorésistance d'un mélange de souche de salmonelles inoculées dans du poulet et traitées au bain-marie de 55 à 70°C. Les valeurs de D varient entre 24 min à 55 °C et 0,1 min à 70°C avec un z de 6,3 °C.

Concernant les produits pâteux, rares sont les travaux sur la thermorésistance des salmonelles traitées dans ces types de produits. Ayaz *et al.* (1985) ont présenté une étude microbiologique de quelques échantillons de crème de sésames produits à l'Arabie Saoudite. Ces auteurs ont détecté la présence de plusieurs bactéries dans les échantillons testés. Toutefois, ils n'ont pas déterminé des temps de réduction décimale de ces bactéries.

En 2003, Dergham a travaillé sur la thermorésistance d'une souche de *Salmonella agona* dans la crème de sésame traitée sous 4 températures au bain-marie. Ces résultats montrent des valeurs de D de 51,8 min, 29,2 min, 14,8 min et 4,6 min pour les températures de 62, 66, 70 et 74 °C respectivement. La valeur de z trouvée est de 11,7 °C.

Plus tard, Zakkour (2004) a étudié la destruction par micro-ondes (1000 W) d'une *Salmonella enteritidis* traitée dans la crème de sésame. Les micro-ondes utilisées dans ces travaux ont réduit la *Salmonelle enteritidis* de 96,93%.

D'après les travaux évoqués ci-dessus, nous pouvons remarquer que les recherches sur la thermorésistance des salmonelles dans les produits comme la crème de

sésame demeurent très rares. La difficulté de l'étude de la thermorésistance de cette bactérie dans tel produit réside au fait qu'une surestimation de la résistance à la chaleur se répercute sur la qualité organoleptique du produit, alors qu'une sous-estimation occasionne l'augmentation de la probabilité que le contaminant pathogène persiste après traitement de la chaleur ou la cuisson.

Nous pouvons conclure, à la fin, que les propriétés physico-chimiques, l' $a_w$  et le pH ont une influence sur la thermorésistance des salmonelles. Cette thermorésistance diminue avec le pH (Blackburn *et al.*, 1997 ; Denis *et al.*, 1995 ; Baird-Parker *et al.*, 1970). Dans leurs conditions de travail, ces auteurs ont montré que le pH optimum de survie de *S. enteritidis* varie entre 5,9 et 6,5. La croissance et la survie de souches de *Salmonella* dans le blanc d'œuf sont réduites à des pH alcalins (Schuman et Sheldon, 1997). Un pH proche de 9 dans l'albumine réduit la résistance de cette bactérie à la chaleur.

L'activité de l'eau du milieu est considérée également comme facteur limitant dans la thermorésistance des salmonelles. Sachant que la thermorésistance augmente lorsque l' $a_w$  du milieu diminue, certains auteurs (Calhoun et Frazier, 1966) avaient signalé que cet effet est observé après l'ajout d'une concentration élevée de chlorure de sodium (>6 %v/v) au milieu traité. Une concentration élevée en sucrose (30% (v/v)) a le même effet sur la thermorésistance de la salmonelle.

Il convient alors de dire que la thermorésistance des salmonelles ne dépend pas seulement de l' $a_w$  du milieu mais de l'effet que peut causer certains solutés sur cette activité d'eau.

Le contenu en lipides semble avoir également un effet protecteur pour les salmonelles. Cet effet protecteur des lipides a été étudié par Senhaji et Loncin (1997) dans leurs travaux sur le *Bacillus subtilis* et la *Pseudomonas fluorescens*. Ces auteurs ont conclu que l'effet protecteur des lipides a pour conséquence d'augmenter la thermorésistance des bactéries. Ceci est confirmé par nos résultats obtenus sur *Salmonella enterica* inoculée dans la crème de sésame, comparativement au même inoculum dans la solution de NaCl.

En effet, le cumul de trois facteurs améliorant la thermorésistance des microorganismes : une basse activité d'eau et (ou?) une forte teneur en lipides, un pH un peu acide, rendent la bactérie difficile à détruire dans un produit donné.

**Partie 2 :**  
**MATERIELS ET METHODES**

## **I. SOUCHE BACTERIENNE ET MATIERE PREMIERE**

### **I.1. CARACTERISTIQUES**

La souche bactérienne utilisée, *Salmonella enterica arizonae*, est issue de la Collection de l'Institut Pasteur de Lille (Numéro CIP : 82.30). Cette souche est utilisée pour contaminer la solution de NaCl à 0,9% (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany) et la crème de sésame.

### **I.2. MILIEUX DE CULTURE**

Les milieux de culture utilisés sont :

- Pour le dénombrement des Salmonelles : la PCA (Plate Count Agar) (Dickinson and Company Sparks, Le Pont de Claix, France).
- Pour la croissance en milieu liquide : du Trypticase Soy Broth (TSB) (Sharlau Microbiology S.A., Barcelona Spain).

Ces milieux sont stérilisés en flacons de 500 ml à l'autoclave (Stericlav-Commodore Internationale, 33295 Blanquefort – Cedex, France) pendant 20 minutes à 121°C.

### **I.3. CONDITIONS DE CULTURE ET CONTAMINATION DU PRODUIT**

La souche lyophilisée de *S. enterica* est réhydratée dans 2 ml d'eau distillée stérile puis mise en culture dans 9 ml d'un bouillon nutritif TSB. Un volume de 1 ml y est prélevé et mis en culture sur une boîte de Pétri (PCA) puis incubé à 30°C pendant 18h. Les colonies sont ensuite collectées puis mises en culture dans des erlenmeyers contenant 100 ml de TSB et incubées à nouveau à 30°C pendant 18h.

Les cellules bactériennes sont ensuite centrifugées (Eppendorf 5810R) à 10°C (4000 rpm) et le culot recueilli est dilué dans 5 ml d'une solution de NaCl (0,9%) puis le tout est ajouté à 150 ml de produit (crème de sésame et solution de NaCl) pour la contamination artificielle. Le dénombrement de la population initiale  $N_0$  est réalisé selon la méthode NF V08-052.

## **I.4. MATIERE PREMIERE**

La matière première utilisée pour les expériences est la crème de sésame achetée sur le marché Libanais de marque : « El Wady El Akhdar ».

Avant l'utilisation du produit, il est nécessaire de mélanger la boîte pour mieux homogénéiser le produit. Afin de s'assurer de la stérilité du produit, un dénombrement total des germes (méthode NF ISO 4833) et un dénombrement de la présence des Salmonelles (méthode NF V08-052) sont effectués.

La même marque de crème provenant du même marché a été utilisée pour l'ensemble des essais afin d'éviter une variabilité trop grande de la matière première.

### **I.4.1. Mesure de la teneur en eau**

Vu que l'eau joue un rôle majeur dans un traitement micro-ondes, la mesure de la teneur en eau de la crème de sésame s'avère indispensable.

La teneur en eau de la crème déterminée à l'étuve (105°C pendant 24h, ISO 17892-1 :2004) est de 1,56 %  $\pm$  0,02 mesurée sur 3 échantillons de crème.

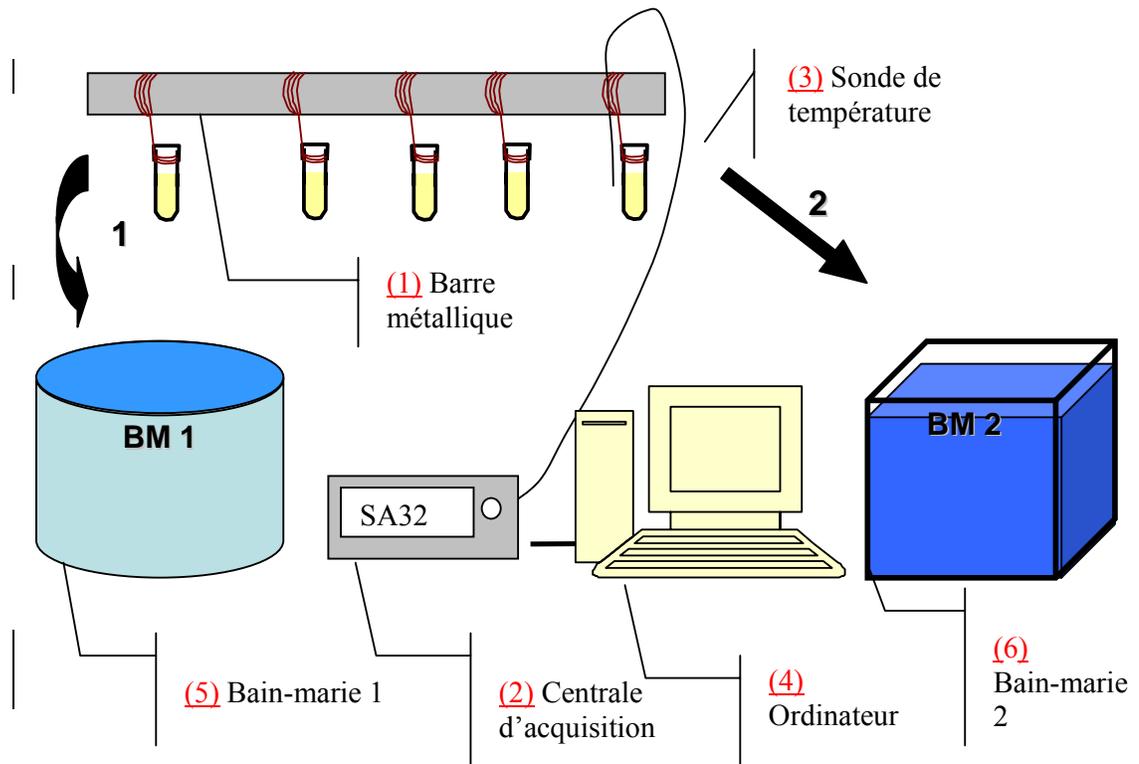
### **I.4.2. Mesure de l'activité d'eau**

L'activité de l'eau ( $a_w$ ) mesurée à l'aide d'un  $a_w$ -mètre (GBX, CAP-26, France) est de 0,49  $\pm$  0,1 mesurée sur 3 échantillons de crème. Cet appareil utilise un hygromètre à miroir permettant de déterminer la température de rosée de l'air qui est en contact et en équilibre avec l'échantillon. L' $a_w$  est fonction de cette température de rosée et la température de l'échantillon.

## II. LE CHAUFFAGE CLASSIQUE OU BAIN-MARIE

### II.1. DISPOSITIF UTILISE

Le chauffage traditionnel est réalisé grâce au dispositif illustré dans la figure 8.



**Figure 8.** Dessin schématique du dispositif du traitement classique

Le produit traité (NaCl ou crème de sésame) est placé dans des micro-tubes (Supelco, 2 ml ; 32 x 11,5 mm de verre).

Ce dispositif est constitué :

- d'une barre métallique (1) servant de support pour les micro-tubes contenant le produit à traiter,
- d'une centrale d'acquisition (AOIP SA32) équipée d'une sonde de température (thermocouple de type k,  $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ) (3) placée dans un micro-tube témoin pour le suivi de température. Les données collectées sont envoyées à un ordinateur (4)
- de deux bains marie (5) et (6).

## II.2. LE PROTOCOLE

Un traitement thermique classique de décontamination est caractérisé par 3 phases principales : une phase de montée en température (CUT, Come Up Time), une phase de maintien ou palier et une phase de refroidissement (CDT, Come Down Time).

Pour réaliser l'ensemble de ces 3 phases, nous avons utilisé 2 bains-marie et un bain de glace. Un premier bain-marie (Polysat 22, Bioblock Scientific) dont la température est fixée à 90°C sert à faire monter rapidement la température du produit jusqu'à une température légèrement inférieure à la température de traitement.

Le deuxième bain-marie (Salvis AG, CH-6015- Reussbühl) est maintenu à la température du traitement voulu. Les températures utilisées sont : 55 – 57 – 59 et 61°C. La température est suivie grâce à l'utilisation d'un thermocouple installé au milieu d'un micro-tube témoin. Les enregistrements effectués toutes les 5 secondes, sont collectés par l'intermédiaire d'une centrale d'acquisition et affichés sur l'écran d'un ordinateur.

La phase de refroidissement est réalisée à l'aide d'un bain de glace (0°C) où le produit est maintenu jusqu'à l'obtention d'une température de 4°C.

Les différents temps de palier chaud sont présentés dans le tableau 5 pour la solution de NaCl et dans le tableau 6 pour la crème de sésame.

**Tableau 5.** Les temps de palier chaud des échantillons de NaCl pour les différents traitements au bain-marie.

Température (°C)	Temps de palier chaud (s)								
<b>55</b>	180	360	540	720	900	1080	1200	1320	
<b>57</b>	45	90	135	180	225	270	360	480	600
<b>59</b>	30	60	90	120	150	180	240	300	
<b>61</b>	10	20	30	40	50	120	180		

**Tableau 6.** Les temps de palier chaud des échantillons de crème de sésame pour les différents traitements au bain-marie.

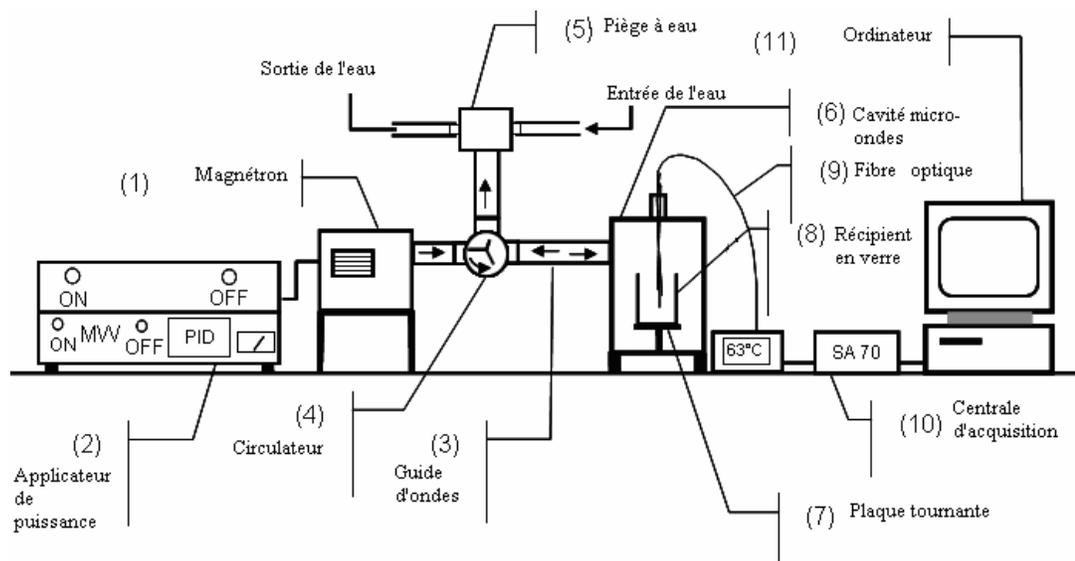
Température (°C)	Temps de palier chaud (s)									
<b>55</b>	180	360	540	720	900	1080	1320	1620	1920	
<b>57</b>	45	90	135	180	225	270	360	600	900	1080
<b>59</b>	30	60	90	120	150	180	300	420	540	
<b>61</b>	10	20	30	40	50	90	150	210		

Après refroidissement du produit dans un bain de glace (0°C), 1 mL de produit est prélevé à l'aide d'une seringue d'une capacité de 1 mL. Le prélèvement était réalisé au centre du micro-tube dans l'axe à mi-hauteur en évitant de mélanger le produit bien qu'il est à noter que le gradient de température est faible dans cette zone. Pour la solution de NaCl, la même seringue est utilisée pour le prélèvement et la même méthode de prélèvement a été réalisée. Notons qu'ici, nous supposons que la convection naturelle assure l'uniformité de la température et de la concentration en microorganismes. Différentes dilutions des cellules viables (1ml du produit traité) sont ensuite cultivées sur boîtes de PCA et incubées à 30°C ± 1°C pendant 48 h puis dénombrées en UFC/ml.

### III. LE SYSTEME D'EXPOSITION MICRO-ONDES

#### III.1. LE MATERIEL UTILISE

La figure 9 illustre l'appareil micro-ondes utilisé dans les expériences. L'appareil comporte une cavité stéréomode (société MES, Villejuif - Paris).



**Figure 9.** Dessin schématique de l'appareil micro-ondes utilisé.

Cet appareil est constitué de cinq parties principales :

- un générateur de puissance (2) avec une puissance maximale de 1800 W fonctionnant à 2450 MHz ;
- un magnétron (1) ;

- un guide d'ondes (3), servant à « guider » les micro-ondes vers le produit. Par ailleurs, celui-ci est équipé d'un circulateur (4) permettant de diriger les ondes réfléchies vers un piège à eau (5) et d'un adaptateur d'impédance (tige métallique dont l'enfoncement plus ou moins profond dans le guide facilite l'absorption de l'onde par le produit) réglée à un niveau fixe pour toutes les expériences;
- un applicateur ou cavité micro-ondes (6) de forme parallélépipédique équipé d'un plateau tournant (7) destiné à recevoir le produit et placé au centre de la cavité à 1 cm de sa base.
- Des sondes à fibres optiques (FISO Technologies, Québec, Canada -  $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ ) (9) reliées à une centrale (FISO UMI Signal Conditionner) permettent le suivi de la température du produit.
- une centrale d'acquisition (AOIP SA70) (10) assure la collecte des données et le transfert à un programme Labview® (National Instrument) implémenté sur ordinateur (11).

### III.2. LE PROTOCOLE D'EXPOSITION

Le but de ce travail étant d'évaluer l'incidence des micro-ondes sur la décontamination et la qualité de la crème de sésame, le produit contaminé par *Salmonella* est soumis à différents couples (puissances spécifiques/temps d'exposition). Pour cela, un volume de 2 ml du produit (NaCl ou crème) est disposé dans 17 micro-tubes (de mêmes caractéristiques et dimensions que ceux utilisés pour le traitement au bain-marie) et un volume égal de produit contaminé est mis dans un autre micro-tube placé au centre de la plaque tournante. Le choix de 18 micro-tubes s'explique par les limites de l'appareil. En effet, un volume de 2 ml du produit contaminé n'est pas suffisant pour faire fonctionner l'appareil. Les 17 micro-tubes servent simplement de charge et ne sont donc pas contaminés. Les micro tubes sont placés sur le plateau tournant de la cavité micro-onde et subissent le traitement adéquat.

Cinq puissances spécifiques ont été utilisées pour ces traitements : 5 – 7,5 – 12 – 15 et 20 W/g. Le suivi de température était assuré grâce à une sonde à fibre optique, installée au centre d'un micro tube témoin, qui enregistre toutes les 5 secondes. Cette sonde transmet les informations de températures à un ordinateur où elles sont traitées grâce à un logiciel d'acquisition.

Les échantillons sont prélevés dès que leur température atteint une certaine valeur fixée à 48 – 50 – 55 et 60°C pour chaque puissance spécifique (mentionnée ci-dessus).

Le tableau 7 représente les durées d'application des micro-ondes pour les 2 produits concernés.

**Tableau 7.** Durées d'application micro-ondes et températures de sortie des produits.

<b>Crème de sésame</b>		<b>NaCl</b>			
	<b>T (°C)</b>	<b>t (s)</b>		<b>T (°C)</b>	<b>t (s)</b>
<b>5 W/g</b>	48	141s	<b>5 W/g</b>	48	116s
	50	161s		50	136s
	55	206s		55	181s
	60	261s		60	236s
<b>7,5 W/g</b>	48	101s	<b>7,5 W/g</b>	48	86s
	50	116s		50	106s
	55	126s		55	111s
	60	136s		60	123s
<b>12 W/g</b>	48	81s	<b>12 W/g</b>	48	66s
	50	96s		50	81s
	55	106s		55	91s
	60	121s		60	106s
<b>15 W/g</b>	48	61s	<b>15 W/g</b>	48	46s
	50	65s		50	51s
	55	71s		55	56s
	60	76s		60	61s
<b>20 W/g</b>	48	51s	<b>20 W/g</b>	48	36s
	50	56s		50	41s
	55	61s		55	46s
	60	66s		60	51s

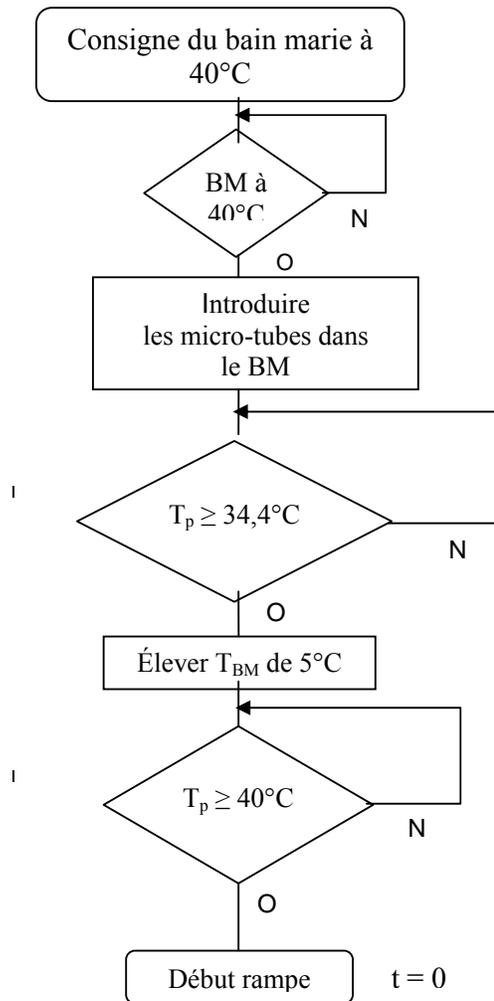
Les produits sont aussitôt leur sortie refroidis dans un bain de glace (0°C) jusqu'à 4°C. Le dénombrement est réalisé de la même manière que celle effectuée au bain-marie.

#### **IV. CHAUFFAGE PAR RAMPE THERMIQUE**

La crème de sésame contaminé avec *S. enterica* a été soumise à des rampes thermiques de 1,8°C/min environ réalisées soit à l'aide d'un bain-marie soit par chauffage micro-ondes. Ces essais devaient permettre de comparer l'incidence de la cinétique et du mode de chauffage sur la thermorésistance des germes de *S. enterica*.

#### IV.1. RAMPE EN BAIN-MARIE

Pour ce type de traitement, la crème de sésame placée dans les mêmes micro-tubes utilisés précédemment est traitée au bain-marie. Des essais préliminaires ont permis de déterminer la température initiale convenable du bain-marie à fixer pour réaliser les rampes thermiques. Le descriptif du traitement réalisé est illustré dans la figure 10.



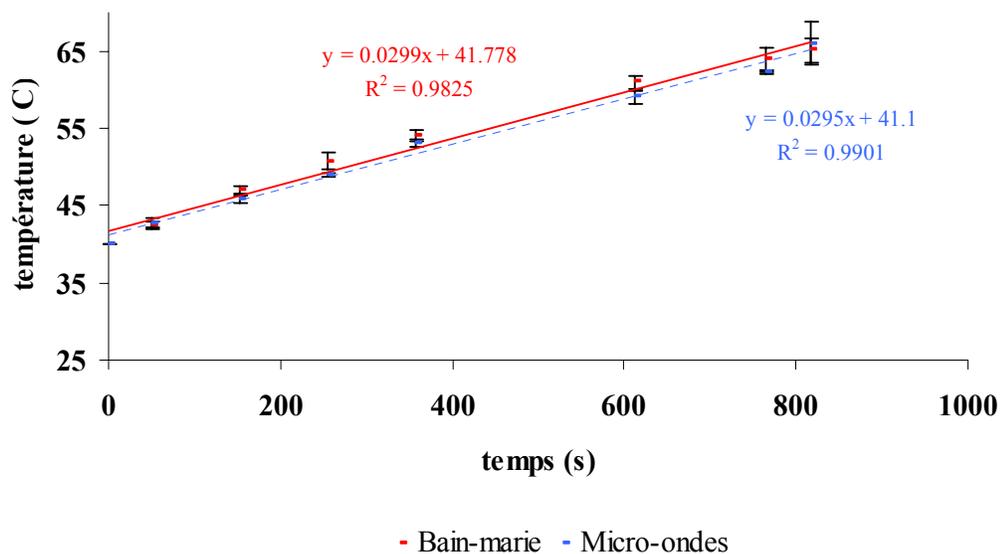
**Figure 10.** Organigramme descriptif du traitement préalable à la rampe en bain-marie.

Le temps initial est considéré lorsque la température du produit atteint 40°C. Nous avons effectué des prélèvements à différents temps : 51 – 153 – 255 – 357 – 612 – 765 – 816 secondes.

## IV.2. MICRO-ONDES

La crème de sésame contaminée, placée dans les mêmes micro-tubes, est traitée aux micro-ondes. Nous avons calculé la puissance spécifique convenable qui doit être appliquée pour avoir la même rampe qu'au bain-marie. Cette puissance est de 2,5 W/g. Une fois la puissance spécifique fixée, 17 micro-tubes sont traités aux micro-ondes avec une température initiale du produit de 23°C. Lorsque le produit atteint 40°C, nous déclenchons le chronomètre pour arrêter le traitement aux mêmes temps que ceux utilisés pour la rampe bain-marie.

L'enregistrement de la température, toutes les 5 minutes, est réalisé par l'utilisation des sondes à fibres optiques.



**Figure 11.** Courbes de montée en température, pour une même rampe thermique, de la crème de sésame traitée au bain-marie et aux micro-ondes.

Les points expérimentaux dans la figure 11 représentent la moyenne de 5 essais. Comme le montre la figure 11, le produit se trouve dans les mêmes conditions de chauffage au cours des deux traitements micro-ondes et bain-marie.

Les températures atteintes pour chaque point mesuré, pour les 2 traitements réalisés, sont exposées dans le tableau 8.

**Tableau 8.** Températures moyennes atteintes de la crème de sésame traitée au bain-marie et aux micro-ondes pour une même rampe thermique.

	Bain-marie	Micro-ondes à $P_{s\text{ moy}} = 2,54 \text{ W/g}$
Temps (s)	Température moyenne (°C)	Température moyenne (°C)
0	40	40
51	42,48	42,64
153	47,04	45,82
255	50,78	49,01
357	54,14	53,02
612	60,94	59,03
765	63,96	62,17
816	65,06	65,95

D'après le tableau 8, nous constatons que les températures atteintes, pour les deux types de traitements, sont quasiment identiques.

## V. MORTALITE CELLULAIRE

### V.1.CAS D'UN PALIER DE TEMPERATURE

Lorsque la température de la préparation microbienne est constante, on peut appliquer la formule 1 (cf. partie I, chapitre I) :

$$D_T = \frac{t}{n}$$

Ou mieux tracer l'évolution de  $n$  en fonction du temps et obtenir par régression linéaire la pente de la droite de régression qui est l'inverse de  $D_T$ .

Dans notre cas se pose le problème de la montée en température initiale (CUT) et du refroidissement (CDT) qui contribuent à la destruction des microorganismes. Nous pouvons poser que, pour un temps  $t$  au bout duquel nous arrêtons le traitement en palier (avant refroidissement) :

$$n \text{ dénombré } (t) = n \text{ (CUT)} + n \text{ (Palier } t \text{-CUT)} + n \text{ (CDT)}.$$

Toutefois, si nous faisons en sorte d'obtenir des montées en température initiales identiques, et de même pour les refroidissements, en considérant deux durées  $t_1$  et  $t_2$

$$n \text{ dénombré } (t_1) = n \text{ (CUT)} + n \text{ (Palier } t_1 \text{-CUT)} + n \text{ (CDT)}.$$

$$n \text{ dénombré } (t_2) = n \text{ (CUT)} + n \text{ (Palier } t_2 \text{-CUT)} + n \text{ (CDT)}.$$

Si les deux échantillons prélevés sont issus de la même préparation ( $t_1=t_2$  donneraient le même nombre de "survivants"), nous pouvons faire la différence membre à membre des deux expressions pour obtenir :

$$n \text{ dénombré } (t_2) - n \text{ dénombré } (t_1) = n (t_2-t_1).$$

Ou encore:

$$\text{Log} \frac{N(t_1)}{N(t_2)} = \frac{(t_2 - t_1)}{D_T}$$

Nous effectuons donc la régression linéaire en fonction de la différence de durée du palier, de ce nombre de réductions décimales, en prenant pour  $t_1$  la plus petite durée de traitement et en calculant le rapport entre les dénombrements effectués à toutes les autres durées de traitement et le premier dénombrement réalisé sur les tubes traités.

## V.2. CAS D'UNE RAMPE DE TEMPERATURE

Lorsque la température n'est pas constante, le nombre de réductions décimales n'est plus proportionnel au temps. Nous avons vu que (cf. partie 1, chapitre I):

$$n = \text{Log} \left[ \frac{N_0}{N(t)} \right] = \frac{\int_0^t 10^{\frac{T(t)-T_{ref}}{z}} . dt}{D_{Tref}}$$

Partant du relevé des températures au cours du temps, et de mesures  $n_i$  de  $n$  après un temps  $t_i$  de chauffage suivi d'un refroidissement par un bain de glace, nous pouvons calculer des valeurs théoriques  $m_i$  une fois choisi les valeurs de  $D_{Tref}$  et  $z$ . Nous avons pris arbitrairement  $T_{ref} = 61^\circ\text{C}$ . Nous avons considéré que le meilleur choix est lorsque la somme  $\sum (n_i - m_i)^2$  est minimale. Nous avons réalisé le calcul des  $m_i$  et de la somme du carré des écarts dans un fichier Excel et recherché le meilleur couple ( $D_{61^\circ\text{C}}$ ,  $z$ ) à l'aide du solveur.

Les cinq répétitions de l'expérience ont été prises en compte lorsque nous avons calculé les valeurs de  $D$  et  $z$  correspondants.

### V.3. CAS D'UN TRAITEMENT PAR MICRO-ONDES

#### V.3.1. Effet purement électromagnétique sur les microorganismes

Si nous supposons que l'effet des micro-ondes n'est pas thermique, alors nous pouvons poser comme hypothèse que le nombre de réductions décimales est proportionnel au temps d'application de celles-ci à puissance micro-ondes constante, soit :

$$n = \frac{t}{D_p}$$

où le temps de réduction décimale dépend de la puissance appliquée. Un graphe de  $n$  en fonction de  $t$  doit donc présenter une partie linéaire dont l'inverse de pente est  $D_p$ .

Par analogie avec les traitements thermiques, nous avons posé que  $\text{Log}(D_p)$  varie linéairement avec la puissance spécifique  $P_s$  (Watt par gramme de produit traité) : le graphe du  $\text{Log} D_p$  en fonction de  $P$  doit donc présenter une partie linéaire dont l'inverse de la pente est  $z_p$ . Ici encore il faut choisir une valeur de référence pour  $P_s$  : nous avons choisi 10 W/g.

#### V.3.2. Effets électromagnétiques et thermiques associés

Si champ électromagnétique et chaleur s'associent pour détruire les microorganismes, il nous faut poser, sous les mêmes hypothèses ci-dessus concernant l'effet des micro-ondes:

$$n = \frac{t}{D_p} + \frac{\int_0^t \frac{T(u)-61}{z} .du}{D_{61}} = n_{MO} + n_{Therm}$$

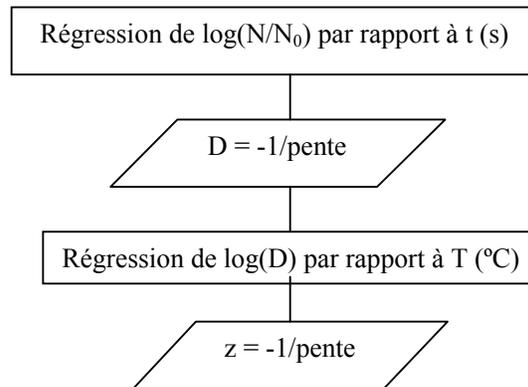
En utilisant les valeurs de  $z$  et  $D_{61}$  trouvée avec le traitement purement thermique, nous pouvons calculer  $n_{MO}$  et en déduire  $D_p$  et  $z_p$  comme ci-dessus.

Toutefois nous pouvons aussi penser que les micro-ondes affectent les valeurs  $D_{61}$  et  $z$ , c'est dire qu'elles modifieraient la thermorésistance et la thermo-dépendance des microorganismes. Dans ce cas il conviendrait de comparer l'effet des "rampes micro-ondes" avec les "rampes bain-marie" et de traiter les effets des micro-ondes comme indiqué au V.2.

#### V.4. METHODE DE CALCUL

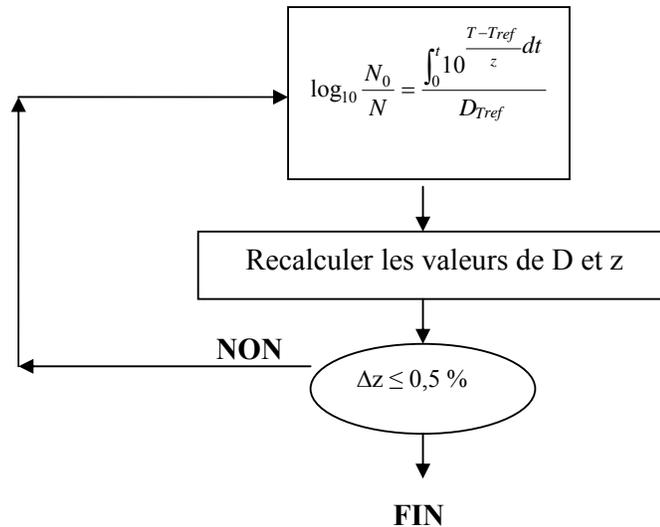
Les expériences, au bain-marie, ont été réalisées en double avec 3 répétitions de la mesure. Pour les graphes de destruction du micro-organisme, une valeur moyenne est calculée en utilisant la méthode des tableaux croisés.

La détermination des paramètres de thermorésistance est schématisée par l'organigramme présenté en figure 12.



**Figure 12.** Organigramme de détermination des paramètres de thermorésistance.

Un calcul itératif (figure 13) était effectué pour la précision des valeurs de  $D_0$  et  $z$  trouvées. Pour cela, on s'est inspiré de la méthode de Tajchakavit et Ramaswamy (1997) avec des modifications dans le calcul. Le principe est de tenir compte, dans le calcul, de la variation de la température au cours du temps durant les 3 phases du traitement (montée rapide, maintien, refroidissement). Ce qui nous amène à trouver des valeurs corrigées de  $D_0$  et de  $z$ . Pour la réalisation de ce calcul, nous avons utilisé le solveur de MS Excel<sup>®</sup> et les étapes sont décrites dans l'organigramme suivant :



**Figure 13.** Organigramme de calcul des paramètres de thermorésistance.

Pour le traitement micro-ondes, on s'est basé sur la même méthode pour corriger les valeurs de  $D_p$  et on a calculé des valeurs de  $D_p$  qui ont été identifiées par minimisation de la somme des carrés des écarts (SDCE) entre le nombre de réduction décimale effectif et calculé. Les valeurs de  $D_p$  servent ensuite à déterminer le  $z$  correspondant. Nous avons utilisé le solveur d'Excel<sup>®</sup> pour faire ce calcul.

Notons que les expériences ont été réalisées en triple et toutes les répétitions effectuées (bain-marie et micro-ondes) ont servi pour le calcul.

## VI. CRITERES DE QUALITE ETUDIES

### VI.1. VISCOSITE

La viscosité, étudiée sur les échantillons traités aux micro-ondes, est mesurée à l'aide d'un viscosimètre Brookfield (RDV-II, LR 99102-MA) qui donne le taux du moment de rotation, proportionnel à la contrainte de cisaillement, ainsi que la viscosité du produit.

En se basant sur l'explication faite dans la partie bibliographique (III.2), il est nécessaire de tracer des courbes d'écoulement caractérisant l'essai effectué. Pour cela, on calcule une contrainte de cisaillement ( $\tau$ ) et une vitesse de cisaillement ( $\gamma$ ) en se référant à la méthode adaptée par Mitscka (1982).

Pour ce type d'appareil et ces types de mobiles (mobiles 2 et 3), on convertit la valeur du taux du moment de rotation (%), affichée sur l'appareil, en contrainte de

cisaillement ( $\tau$ ), et la vitesse de rotation du mobile utilisé (tours/min) en vitesse de cisaillement ( $\gamma$  en  $s^{-1}$ )

La contrainte et la vitesse de cisaillement sont données par les relations suivantes :

$$\tau = \mu \cdot \gamma \quad \text{et} \quad \tau = C \cdot \alpha$$

où  $\tau$  représente la contrainte de cisaillement (Pa)

$\mu$  (Pa.s) est la viscosité apparente (fluide non-newtonien) lu sur le viscosimètre

$\alpha$  (%) est la valeur du moment de rotation affiché sur l'appareil

C est la valeur donnée par la table (Mitschka, 1982, annexe 1) correspondant à la vitesse de rotation du mobile utilisé.

$\gamma$  est la vitesse de cisaillement en  $s^{-1}$

Les résultats du calcul nous ont permis de caractériser le comportement de la crème de sésame à l'écoulement grâce aux courbes donnant les valeurs de  $\tau$  en fonction de  $\gamma$ .

Pour le comportement pseudo-plastique de la crème, les résultats ont été lissés selon la loi de puissance d'Ostwald :

$$\tau = k \cdot \gamma^{(n)}$$

$\gamma$  : la vitesse de cisaillement ( $s^{-1}$ )

n : l'indice d'écoulement

k : l'indice de consistance.

En considérant le produit comme plastique, nous appliquons la loi de Hershel-Bulkley (loi en puissance + seuil) :

$$\tau - \tau_0 = k \cdot \gamma^{(n)}$$

où :  $\gamma$  : la vitesse de cisaillement ( $s^{-1}$ )

n : l'indice d'écoulement

k : l'indice de consistance.

$\tau_0$  : contrainte seuil ou seuil d'écoulement.

L'interprétation des résultats est alors faite selon la puissance spécifique en fonction de l'indice de l'écoulement (n) et de l'indice de consistance (k).

## VI.2. COULEUR

La couleur est mesurée à l'aide d'un colorimètre Minolta (CR 300, Japon). Ce colorimètre utilise 3 paramètres pour définir la couleur : la teinte (hue), qui désigne en fait la couleur, la saturation (chroma), qui mesure la pureté de la couleur, et la luminance (value), qui indique si une image est sombre ou claire. C'est sur ces 3 paramètres, auxquels l'œil est sensible, que s'appuie la classification TSL. Ces trois attributs de la couleur sont représentés dans un espace colorimétrique TSL (Teinte, Saturation, Luminosité). Il est aussi intitulé HST (Hue, Saturation, Lightness), HCL (Hue, Chroma, Lightness), HSB (Hue, Saturation, Brightness) ou HSV (Hue, Saturation, Value).

Le produit à tester (crème traitée et non traitée aux micro-ondes) est déposé dans une cuve sur laquelle l'appareil passe pour réaliser la mesure. Sur l'écran s'affiche alors les valeurs des 3 paramètres L, a et b. Nous avons pris la luminance E et la saturation C comme critères de mesure de nos échantillons.

Ainsi, calcule-t-on l'écart  $\Delta E$  telle que  $\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$ .

$\Delta E$  explique l'écart de couleur entre le produit initial et final et  $C = \sqrt{(a^2 + b^2)}$

## VI.3. INDICE DE PEROXYDES

L'indice de peroxydes (IP) est déterminé, selon la méthode de l'AOAC (1990), sur les échantillons de crème de sésame traités aux micro-ondes aussi bien que sur la crème de sésame non traitée.

La méthode consiste tout d'abord à extraire l'huile de sésame et ceci en ajoutant 40 ml de méthanol et 20 ml de chloroforme à 20g de crème de sésame. Après agitation du mélange, un volume de 20 ml de chloroforme est de nouveau ajouté ainsi qu'un volume de 20 ml d'eau distillée. Le mélange est agité pendant 30s. Les solvants sont évaporés par chauffage et la partie liquide est alors récupérée.

La deuxième phase consiste à mélanger 5g de l'huile extraite avec 30 ml d'une solution d'acide acétique : chloroforme (3 : 2). On ajoute ensuite 1 ml d'une solution d'iodure de potassium (KI) et le mélange est placé, pour 1 minute, à l'obscurité. Un volume de 50 ml d'eau distillée est ajouté au mélange sur lequel on verse quelques

gouttes d'amidon jusqu'à l'apparition d'une couleur bleu foncée. A l'aide d'une burette, on fait titrer le mélange à l'aide d'une solution de thiosulfate de sodium  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  (0,099 N). Le titrage est arrêté lorsque le mélange devient incolore. Le volume de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  utilisé est alors noté pour le calcul.

L'indice de peroxydes est calculé selon la formule suivante :

$$\text{IP} = (\text{T} * \text{V} * 1000) / \text{m}$$

où : T est le facteur de normalité exacte de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

V est le volume de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  utilisé pour le titrage (ml)

m est la masse de l'huile utilisée pour l'analyse (g).

**Partie 3 :**  
**RESULTATS ET DISCUSSION**

Cette partie se compose autour de trois chapitres. Le premier est consacré aux mesures physiques effectuées avant le traitement de décontamination.

Le second chapitre présente les résultats obtenus lors d'une décontamination par l'utilisation d'un traitement classique, ou bain-marie, ainsi que lors d'un traitement micro-ondes.

Le chapitre suivant expose les effets de la décontamination, par micro-ondes, sur la qualité du produit en termes d'indice de peroxydes, de couleur et de viscosité.

Une dernière partie présente une optimisation du traitement de décontamination de la crème de sésame.

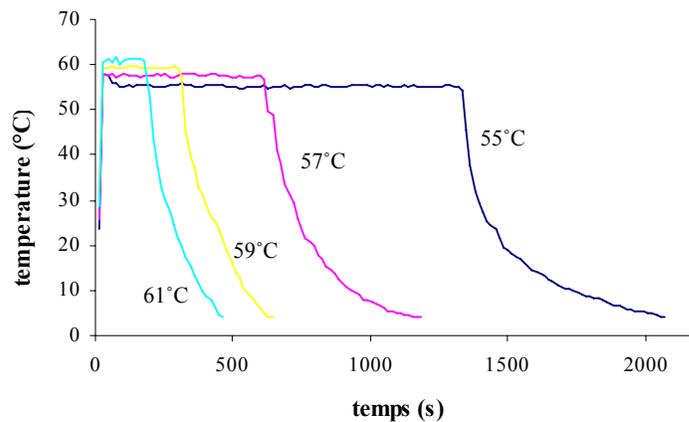
**CHAPITRE I :**  
**MESURES PHYSIQUES**

## I.1. QUELQUES EXEMPLES D'EVOLUTION DE LA TEMPERATURE DU PRODUIT LORS DES DIFFERENTS TRAITEMENTS THERMIQUES

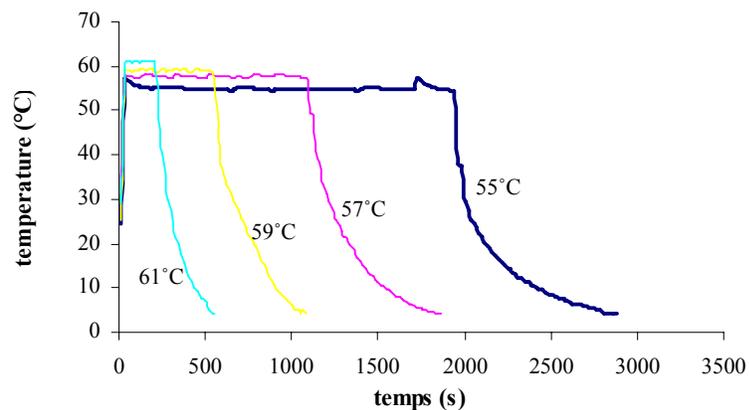
### I.1.1. En bain-marie

La température enregistrée est considérée représentative de toute la masse du produit compte tenu des faibles dimensions des tubes utilisés (diamètre de 11,5 mm, hauteur de 32 mm) et du faible volume de produit (2 ml).

Les figures 14 et 15 présentent le suivi de températures de la solution de NaCl (0,9%) et de la crème de sésame respectivement pour les différents traitements bain-marie.



**Figure 14.** Suivi de température de la solution de NaCl suivant différents traitements bain-marie.



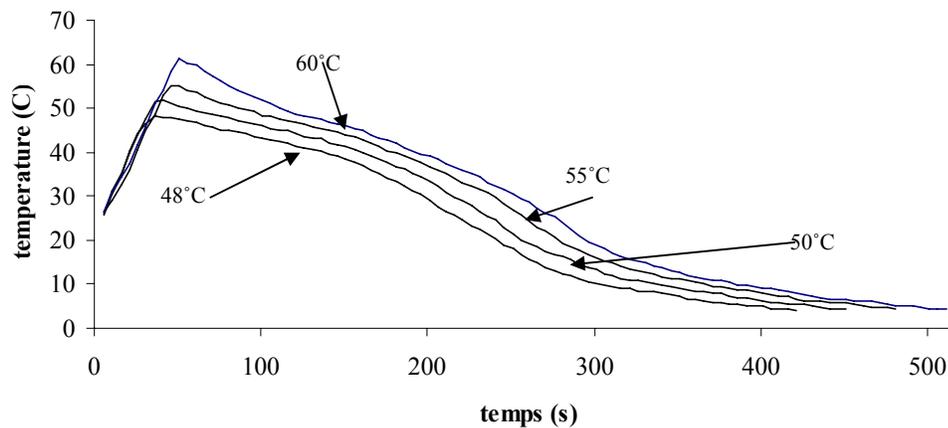
**Figure 15.** Suivi de température de la crème de sésame suivant différents traitements bain-marie.

La température du bain-marie peut être considérée constante. Pour la solution de NaCl et pour les températures de 55, 57, 59 et 61°C, sa température moyenne est de  $55,9^{\circ}\text{C} \pm 0,44$ ,  $58,2^{\circ}\text{C} \pm 0,32$ ,  $60^{\circ}\text{C} \pm 0,30$  et de  $61,5^{\circ}\text{C} \pm 0,51$  respectivement.

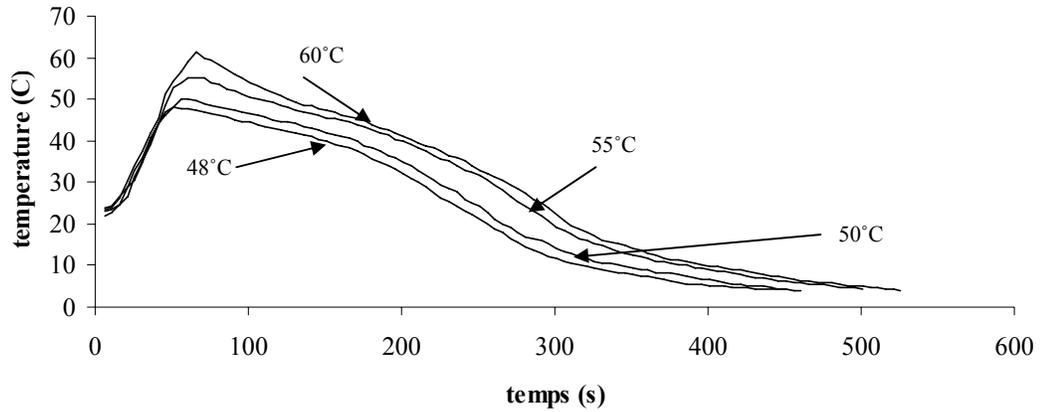
Lors du traitement de la crème de sésame, la température moyenne du bain-marie est de  $55,8^{\circ}\text{C} \pm 0,51$ ,  $58,4^{\circ}\text{C} \pm 0,25$ ,  $59,8^{\circ}\text{C} \pm 0,22$  et de  $61,7^{\circ}\text{C} \pm 0,39$  pour les températures de 55, 57, 59 et 61°C respectivement.

### I.1.2. Aux micro-ondes

Les figures 16 et 17 montrent, à titre d'exemple, le profil de température, aux micro-ondes, pour les deux produits pour une puissance spécifique de 20 W/g.



**Figure 16.** Suivi de température de la solution de NaCl traitée à  $P_s = 20$  W/g pour différentes températures finales.



**Figure 17.** Suivi de température de la crème de sésame traitée à  $P_s = 20$  W/g pour différentes températures finales.

Nous avons calculé la température réduite des échantillons traités, au bain-marie et micro-ondes, durant la phase de refroidissement en utilisant la formule ci-dessous :

$$U_r = \frac{(T_{mesuree} - T_{ba\ inf\ roid})}{(T_f - T_{ba\ inf\ roid})}$$

avec :

$T_{\text{bain froid}}$  : température du bain de glace égale à 0°C

$T_f$  : température du produit au début du refroidissement (°C).

Nous avons ensuite tracé les courbes de  $\log U_r$  en fonction du temps pour déterminer les paramètres de pénétration de la chaleur  $f_c$  et  $j_c$ . Les résultats sont présentés dans le tableau 8bis.

**Tableau 8bis.** Valeurs de  $f_c$  et  $j_c$  de la solution de NaCl et crème de sésame traités au bain-marie et micro-ondes.

	Bain-marie				Micro-ondes ( $P_s = 20$ W/g)				
	NaCl		Crème de sésame		NaCl		Crème de sésame		
	$f_c$ (s)	$j_c$	$f_c$ (s)	$j_c$	$f_c$ (s)	$j_c$	$f_c$ (s)	$j_c$	
<b>55°C</b>	769	0,67	1000	0,6	<b>48°C</b>	256	0,54	303	0,3
<b>57°C</b>	500	0,89	714	0,8	<b>50°C</b>	294	0,4	294	0,33
<b>59°C</b>	303	1,1	476	0,9	<b>55°C</b>	312	0,99	303	0,46
<b>61°C</b>	256	1	303	0,9	<b>60°C</b>	312	0,4	323	0,35

Le tableau 8bis montre que la crème de sésame, traitée aux micro-ondes, se refroidit sensiblement à la même vitesse ( $f_c$  proches). Il en est de même pour la solution de NaCl. Par ailleurs, les valeurs de  $j$ , plutôt proches de 1, suggèrent une prédominance de la convection lors du refroidissement du NaCl et de la crème de sésame après les deux modes de chauffage.

Toutefois, les valeurs de  $f_c$  entre bain-marie et micro-ondes, pour les deux produits, ne sont pas semblables. Cette différence pourrait être due à une erreur de manipulation au cours du processus de suivi de température dans le bain de glace. La sonde de température pourrait être déplacée du centre géométrique du micro-tube, touchant par exemple, les parois ou le fond provoquant ainsi une acquisition erronée de températures.

**CHAPITRE II :**  
**EFFET SUR LA DESTRUCTION DES**  
**MICROORGANISMES**

## II.1. DESTRUCTION DES MICRO-ORGANISMES EN BAIN-MARIE

### II.1.1. Résultats bruts

Aux températures étudiées (55 à 61°C), les courbes de survie du micro-organisme semblent suivre une cinétique d'ordre 1 (Figs. 18 et 19). Comme le montrent les figures 18 et 19, le temps nécessaire pour détruire un pourcentage déterminé de cellules dans la solution de NaCl est plus court que celui observé dans la crème de sésame.

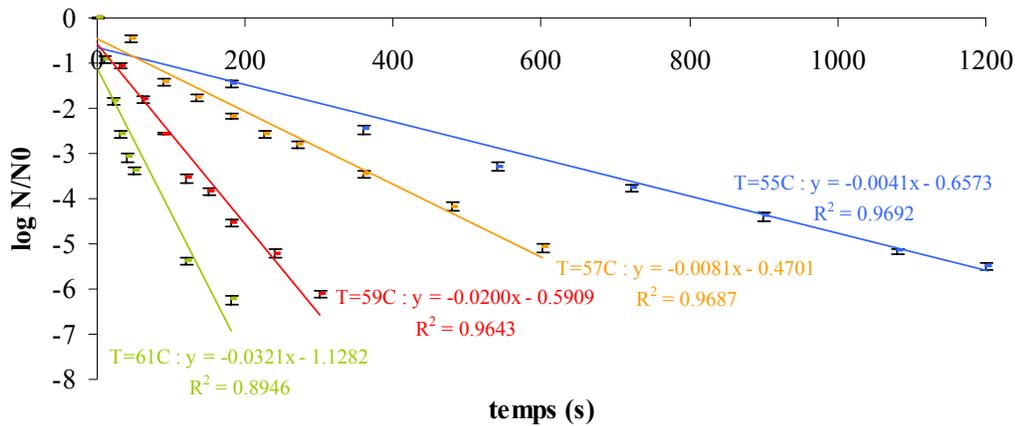


Figure 18. Courbe de survie de *Salmonella enterica* dans une solution de NaCl (0,9%), pour différentes températures de traitement au bain-marie.

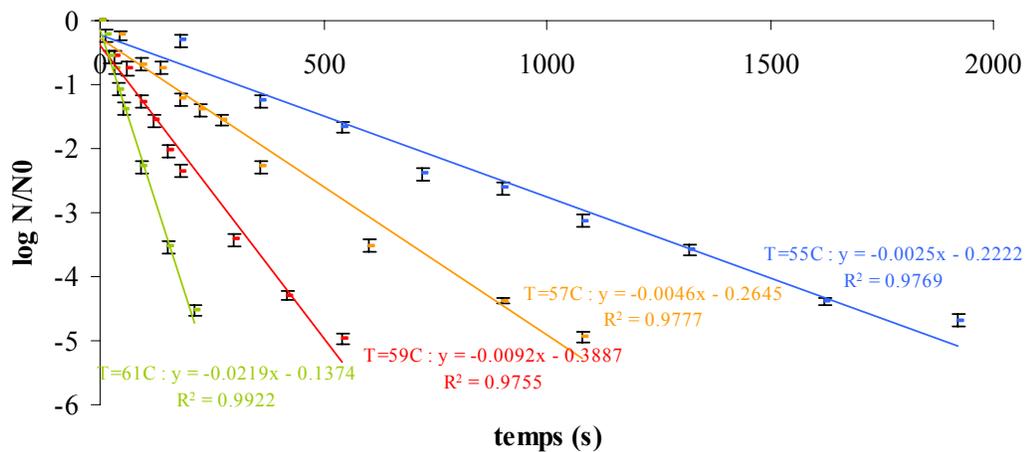


Figure 19. Courbe de survie de *Salmonella enterica* dans la crème de sésame, pour différentes températures de traitement au bain-marie.

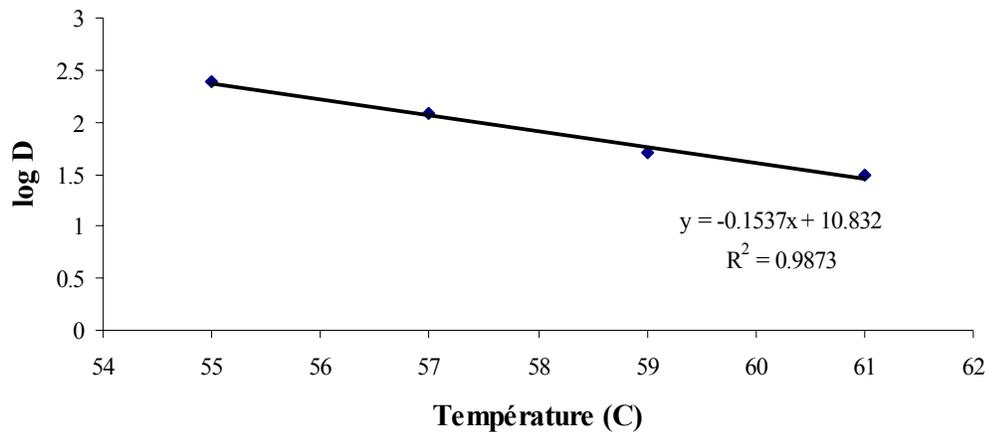
Les points des courbes représentent les valeurs moyennes de 2 manipulations et 3 répétitions du dénombrement pour chacune.

Pour une même température et au bout d'un même temps de traitement, il semble clair que nous avons pu tuer plus de Salmonelles dans la solution de NaCl que dans la crème de sésame.

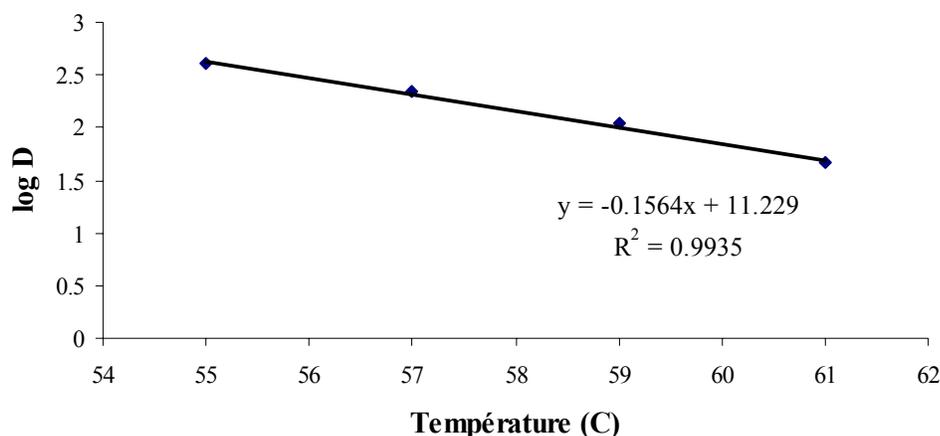
### II.1.2. Calcul de $D_0$ et $z$ en négligeant les phases de montée et de refroidissement

Pour chaque produit étudié, et en se basant sur le calcul décrit au paragraphe V.2 de la Partie 2, nous avons calculé les valeurs de  $D_0$  correspondantes pour chaque température ainsi que les valeurs de  $z$ .

Les figures 20 et 21 représentent la variation de  $\log D_0$  en fonction de la température. L'inverse de la pente sert à calculer les valeurs de  $z$ .



**Figure 20.** Variation de  $\log D_0$  en fonction de la température pour la Salmonelle traitée dans la solution de NaCl.



**Figure 21.** Variation de  $\log D_0$  en fonction de la température pour la *Salmonelle* traitée dans la crème de sésame.

Le tableau 9 montre les valeurs des D et z trouvées pour la *Salmonelle* traitée dans les 2 produits étudiées.

**Tableau 9.** Temps de réduction décimale expérimentaux et valeurs de z de la *Salmonella enterica* traitée au bain-marie dans deux milieux à  $a_w$  différentes.

Produits	$a_w$	$D_0$ (s) sous différentes températures (°C)				$D_{61 \text{ th}}(s)$	z (°C)
		55	57	59	61		
NaCl	>0,99	244 (0,97) <sup>a</sup>	124 (0,97)	50,0 (0,96)	31,1 (0,89)	31,5	6,51 (0,99)
Crème	0,49	400 (0,98)	217 (0,98)	109 (0,98)	45,7 (0,99)	48,3	6,39 (0,99)

<sup>a</sup> Les valeurs entre parenthèses sont les coefficients de détermination  $r^2$ .

Le  $D_{61 \text{ th}}$  correspond à un  $D_0$  théorique à la température constante de 61°C. Ce  $D_{61}$  est calculé d'après l'équation de la droite de régression de  $\log D_0$  en fonction de la température.

### II.1.3. Calcul de $D_0$ et z par intégration du facteur de Bigelow

Pour plus de précision et pour les raisons expliquées à la partie 2 (§V.2), on s'est inspiré de la méthode de Tajchakavit et Ramaswamy (1995) pour chercher des valeurs calculées des  $D_0$  et z (tableau 10).

Le tableau 10 expose les temps de réduction décimale de la *Salmonelle* dans les deux milieux traités.

**Tableau 10.** Temps de réduction décimale et valeurs de z corrigés de la *Salmonella enterica* cultivée dans deux milieux d'activité d'eau différente et traitée au bain-marie.

Températures (°C)	Valeurs de D (s)			
	NaCl (0,9%)		Crème de sésame	
	Mesurées	Calculées	Mesurées	Calculées
55	244	290	400	437
57	124	133	217	215
59	50,0	60,0	109	106
61	31,1	27,6	45,7	52,2
<b>z (°C)</b>	<b>6,51</b>	<b>5,87</b>	<b>6,39</b>	<b>6,51</b>

#### II.1.4. Comparaison de nos résultats avec ceux de la littérature

D'après ces résultats, on peut constater une différence visible entre les valeurs calculées et mesurées. Ces différences pourraient être liées aux erreurs expérimentales et notamment les variations de température du bain marie. En effet, les valeurs faibles de z obtenues indiquent que la destruction thermique des micro-organismes est largement affectée par les variations de température du bain-marie autour de la température de consigne.

D'autre part, il est clair, d'après les tableaux 9 et 10, que l'activité de l'eau semble avoir une influence sur la thermorésistance de *Salmonella enterica arizonæ*. Par exemple, la valeur de  $D_{59}$ , avec  $a_w = 0,99$ , pour le NaCl, est approximativement deux fois plus petite que celle obtenue, avec une  $a_w$  de 0,49, pour la crème de sésame.

Toutefois, l'ensemble de tous les résultats mène à la même conclusion concernant l'influence de l'activité de l'eau sur les valeurs de  $D_0$ .

Ces résultats sont conformes à ceux obtenus par Mattick *et al.* (2001) dans leurs travaux sur la thermorésistance de la *Salmonella enterica typhimurium* cultivée sur milieux à différents  $a_w$ . Ces auteurs ont remarqué que la destruction de cette bactérie est plus lente dans un produit ayant un  $a_w = 0,65$  que celle observée dans d'autres milieux ayant comme  $a_w = 0,80$  et  $0,90$ . Mattick *et al.* (2001) ont démontré également que les milieux à basse activité d'eau (proche de 0,65) sont favorables pour la survie des bactéries traitées à 55°C ou 60°C.

Ceci confirme aussi les résultats obtenus par Alvarez *et al.* (2003) dans leurs travaux sur la thermorésistance de la Salmonelle dans des milieux à différentes  $a_w$ . Ils ont trouvé que

$D_{60}$  de la *Salmonella serovar Enteritidis* passe de 0,1 min ( $a_w$  de 0,99) à 2,7 min ( $a_w$  de 0,96). Le temps de réduction décimale  $D_{60}$  de la *Salmonelle*, utilisée dans nos expériences, passe de 0,7 min ( $a_w$  de 0,49) dans la crème de sésame à 1,1 min ( $a_w$  de 0,99) dans la solution de NaCl.

*S. enterica* est 1,5 à 2 fois plus thermorésistante dans la crème de sésame que dans la solution de NaCl. Ceci est en accord avec les résultats obtenus par d'autres auteurs (Denis *et al.*, 1995). Ces auteurs ont déterminé la thermorésistance de la *Salmonella enteritidis* dans différents produits qui diffèrent par leurs pH et activité de l'eau. Ils ont trouvé un temps de réduction décimale à 57°C de 2,3 min dans l'œuf entier (pH= 7,2 et  $a_w$  = 0,98) contre un 2,7 min pour l'œuf entier salé (11%) avec une  $a_w$  de 0,91. Cette valeur n'est pas en concordance avec la valeur obtenue dans nos expériences sur la solution de NaCl où  $D_{57}$  = 2,06 min, inférieur à 2,7 min ci-dessus, alors que le pH de notre solution est de 6,5, plus faible que pour l'œuf.

Cependant, il est difficile de savoir quel critère ( $a_w$  ou pH) a plus d'influence sur la thermorésistance de *Salmonella enterica arizonae* traitée dans ces deux différents produits.

Par ailleurs, les valeurs expérimentales et calculées de  $z$  (5,87-6,51°C), pour la *Salmonella enterica arizonae* inoculée dans les deux produits utilisés, sont incluses dans l'intervalle de valeurs (4,6-7 °C) obtenu par Blackburn *et al.* (1997) dans leurs travaux sur la thermorésistance de la *Salmonella enteritidis* type 4 traitée dans des milieux à différents pH et concentration en chlorure de sodium.

#### II.1.5. Conclusion

Nos résultats montrent que cette bactérie *Salmonella enterica arizonae* est beaucoup plus thermorésistante dans la crème de sésame que dans la solution de NaCl.

Il est connu que la thermorésistance de cette souche diminue avec le pH (Anellis *et al.*, 1954, Denis *et al.*, 1995). Il faut noter que la crème de sésame a un pH de 5,80 à 20°C, alors que la solution de NaCl a un pH de 6,50 à 20 °C : pH et  $a_w$  contribuent conjointement à augmenter la thermorésistance de la souche bactérienne dans la crème de sésame par rapport à la solution de NaCl. Si bien que la différence de thermorésistance de *S. enterica* entre les 2 produits (crème et NaCl) est assez importante.

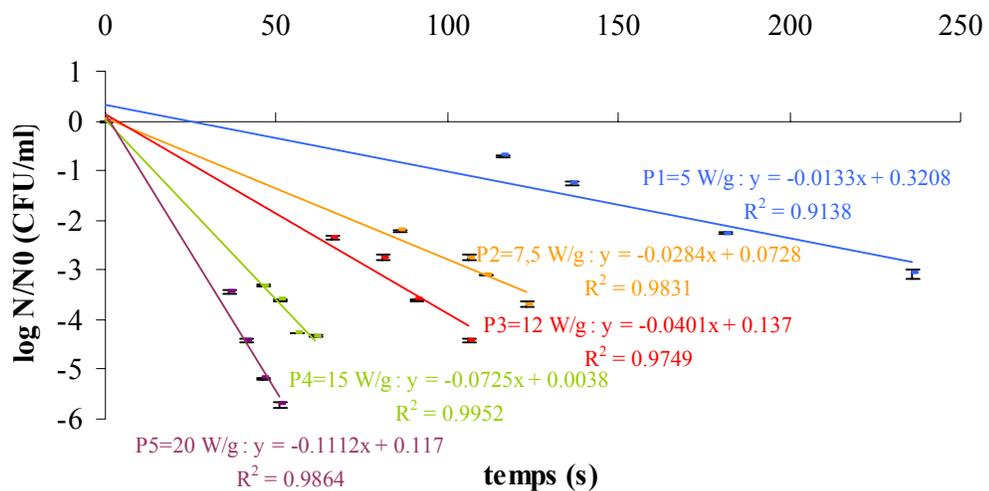
## II.2. DESTRUCTION DES MICRO-ORGANISMES AUX MICRO-ONDES

Ce travail a porté ici aussi sur la souche de *Salmonella* inoculée dans les deux milieux à activités d'eau différente.

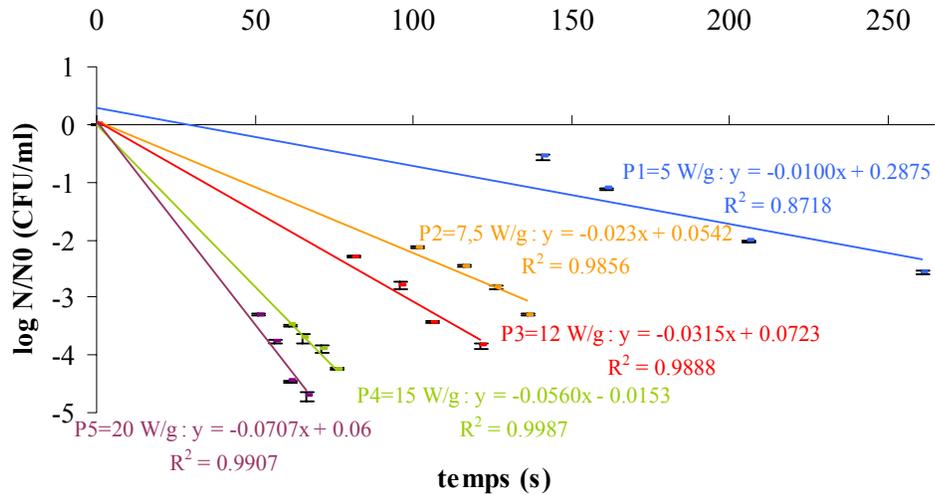
Pour ce type de traitement, D est calculé par rapport à une puissance spécifique fixe et non une température, nous parlons alors de  $D_p$ , à la place de  $D_0$ . L'unité de  $D_p$  étant toujours la seconde, alors que celle de z est le W/g puisque z correspond, à ce niveau, à un écart de puissance et non un écart de température.

### II.2.1. Résultats bruts

Les figures 22 et 23 illustrent les cinétiques de destruction du micro-organisme sous différentes puissances spécifiques, dans la solution de NaCl et la crème de sésame.



**Figure 22.** Courbe de survie de *Salmonella enterica* dans une solution de NaCl (0,9%), pour différentes puissances spécifiques de traitement aux micro-ondes.

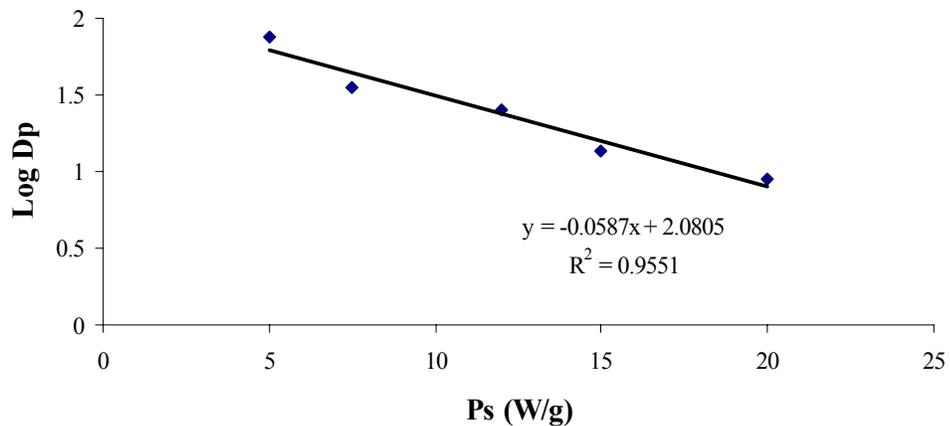


**Figure 23.** Courbe de survie de *Salmonella enterica* dans la crème de sésame pour différentes puissances spécifiques de traitement aux micro-ondes.

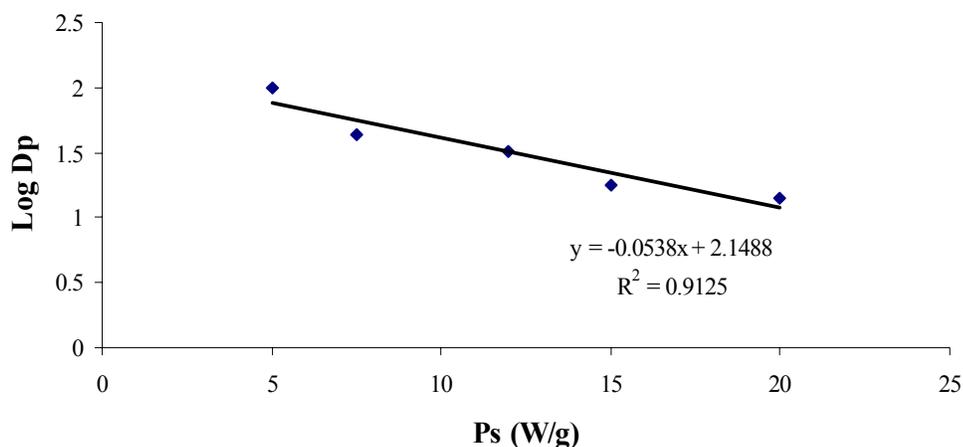
Les points expérimentaux figurant dans les figures 22 et 23 correspondent à 3 répétitions du traitement.

### II.2.2. Interprétation à l'aide de $D_p$ et $z$ pour un effet lié à la puissance.

Les figures 24 et 25 illustrent la variation des  $\log D_p$  en fonction des puissances spécifiques pour la Salmonelle traitée dans la solution de NaCl et de crème de sésame.



**Figure 24.** Variation de  $\log D_p$  en fonction de  $P_s$  dans la solution de NaCl.



**Figure 25.** Variation de  $\log D_p$  en fonction de  $P_s$  dans la crème de sésame.

La comparaison des valeurs de  $D_p$  et de  $z$  (tableau 11), pour la *Salmonella* traitée dans la solution de NaCl et de crème de sésame, montre que la thermorésistance de cette bactérie est accrue dans la crème. Les valeurs de  $D_p$  diminuent avec le pH et augmentent avec l' $a_w$  (le même phénomène que celui observé au bain-marie).

**Tableau 11.** Temps de réduction décimale et valeurs de  $z$  de la *Salmonella enterica* cultivée dans des milieux à différentes activités d'eau et traitée aux micro-ondes.

Produits	$a_w$	$D_p$ (s) sous différentes puissances spécifiques (W/g)					$D_{10th}$	$z$ (W/g)
		5	7,5	12	15	20		
NaCl	>0,99	75,1 (0,92) <sup>b</sup>	35,2 (0,98)	24,9 (0,97)	13,8(0,99)	9,0 (0,99)	31,7	17,0 (0,96)
Crème	0,49	99,7 (0,87)	43,6 (0,99)	31,8 (0,99)	17,9(0,99)	14,2 (0,99)	40,8	18,6 (0,91)

<sup>b</sup> Les valeurs entre parenthèses désignent les coefficients de régression  $r^2$  des courbes

Le  $D_{10 \text{ W/gth}}$  correspond à un  $D_p$  théorique à la puissance spécifique de 10 W/g. Il est calculé d'après l'équation de la droite de régression de  $\log D_p$  en fonction de la puissance spécifique.

Les résultats présentés dans le tableau 11 montrent que le temps de réduction décimale diminue de 75,1 à 9s, pour la solution de NaCl, et de 99,7s à 14,2s, pour la crème de sésame, lorsque la puissance spécifique augmente de 5 W/g à 20 W/g.

L'incidence de l'activité de l'eau sur la thermorésistance de *S. enterica arizonae* a été étudiée. Pour une puissance spécifique de 20W/g, le temps de réduction décimale de cette souche, dans la crème de sésame ( $a_w = 0,49$ ), est multipliée par 1,6 par rapport à la solution de NaCl ( $a_w = 0,99$ ) traitée à la même puissance spécifique. D'après ces

résultats, il semble que l'influence de l' $a_w$  sur la thermorésistance de la Salmonelle est similaire en bain marie et micro-ondes.

D'autre part, il est intéressant de signaler que l'effet de l'activité de l'eau sur la thermorésistance des bactéries dépend largement du type de soluté (Alvarez *et al.*, 2003 ; Lee and Goepfert, 1975 ; Smith *et al.*, 1982). La survie de certaines bactéries, comme la Salmonelle et la Listeria, inoculées dans des produits traités aux micro-ondes semblent être largement influencée par le contenu en sodium (Heddleson *et al.*, 1996) ainsi que de la teneur en lipides. D'autre part, la Salmonelle traitée dans la crème de sésame ( $a_w = 0,49$ ), riche en lipides, présente une thermorésistance plus forte que celle traitée dans la solution de NaCl ( $a_w = 0,99$ ). Cet effet protecteur des lipides a été étudié par Senhaji et Loncin (1997) dans leurs travaux sur le *Bacillus subtilis* et la *Pseudomonas fluorescens*. Ces auteurs ont conclu que l'effet protecteur des lipides a pour conséquence d'augmenter la thermorésistance des bactéries.

### II.2.3. Interprétation à l'aide de l'association des 2 modèles : thermiques et micro-ondes.

Pour les raisons expliquées à la partie 2, nous avons effectué une correction des valeurs expérimentales de  $D_p$  et  $z$ . Le traitement micro-onde effectué dans nos expériences est un chauffage non-isotherme à la différence du traitement bain-marie. Plusieurs auteurs (Tajchakavit *et al.*, 1998) ont signalé que la destruction des microorganismes, durant la période de refroidissement peut être comparable à celle effectuée durant la phase de montée en température. Le fait de ne pas prendre en considération la contribution de la phase de refroidissement pourrait causer alors des erreurs dans le calcul des paramètres de thermorésistance. En effet, le mécanisme avec lequel les micro-ondes agissent sur un produit alimentaire est différent de celui d'un traitement classique (bain-marie). D'après certains auteurs (Tajchakavit et Ramaswamy, 1995), la destruction des micro-organismes aux micro-ondes est à la fois due à des effets thermiques et/ou non-thermiques. La montée en température est réalisée à l'intérieur du produit suite à l'absorption des micro-ondes tandis que le refroidissement se fait à partir de la surface par transfert convectif. Il existe donc une différence entre ces deux modes. Nous distinguons deux effets : un effet thermique combiné à l'effet micro-onde et un effet micro-onde seul. Nous avons alors cherché lequel des deux l'emporte sur l'autre. Pour cela, nous avons calculé l'écart entre le nombre de réduction décimale expérimentale ( $n_{exp}$ ) et celui des micro-ondes agissant seul et nous l'avons comparé à

l'écart entre le  $n_{exp}$  et celui des micro-ondes avec la phase de refroidissement. Aussi, avons-nous calculé l'écart entre le  $n_{exp}$  et celui des micro-ondes avec de la phase thermique (sans refroidissement) (cf. partie 2, § V.3). Les valeurs des  $D_p$  et  $z$  obtenues sont représentées dans le tableau 12.

**Tableau 12.** Temps de réduction décimale et valeurs de  $z$  corrigées de la *Salmonella enterica* cultivée dans des milieux à différentes activité d'eau et traitée aux micro-ondes.

Puissances spécifiques (W/g)	Valeurs de $D_p$ (s)			
	NaCl (0,9%)		Crème de sésame	
	Effet MO seul	Effet MO + Thermique	Effet MO seul	Effet MO + Thermique
5	75,1	68,1	99,7	86,2
7,5	35,2	48,5	43,6	63,2
12	24,9	26,3	31,8	36,0
15	13,8	17,5	17,9	24,8
20	9,0	9,9	14,2	13,3
<b><math>z</math> (W/g)</b>	<b>17,0</b>	<b>16,9</b>	<b>18,6</b>	<b>18,5</b>

D'après le tableau 12, nous pouvons conclure qu'il n'y a pas de différences notables entre les valeurs expérimentales et corrigées.

Les valeurs de  $D_p$  se rapportant à l'effet MO sont ajustées selon 2 modèles avec pour critère d'ajustement la somme des carrés des écarts  $(n_{exp} - n_{calc})^2$  où  $n_{exp} = \log \frac{N_0}{N}$  et  $n_{calc}$  dépend du modèle.

**Modèle 1** – On considère l'effet MO seul, et les valeurs sont issues des courbes de  $\log N$  en fonction du temps ( $D_p$  étant égal à l'inverse de la pente de la droite de régression de  $\log N$  en fonction du temps). Et  $z_p$  représente l'inverse de la pente de la droite de régression de  $\log D_p$  en fonction de la puissance spécifique.

$$n_{calc} \text{ est alors } n_{MO} = \frac{t_{MO}}{D_p}$$

où  $t_{MO}$  est le temps d'application des microondes

$$\text{et } D_p = D_{Pref} \cdot 10^{\frac{(P_{ref} - P)}{z_p}}$$

avec  $P_{ref} = 5W/g$  et  $D_{Pref}$  et  $z$  sont des cellules variables fixées après la recherche effectuée par le solveur d'Excel®.

**Modèle 2** – On considère des effets additifs MO + thermique, et  $n_{calc}$  est dans ce cas

$n_{MO} + n_{ref}$  avec :

$$n_{MO} = \frac{t_{MO}}{D_p} \text{ inchangé}$$

$$n_{ref} = \frac{\int_0^{t_f} 10^{\frac{T-61}{z}} dt}{D_{61}} \text{ où } t_f \text{ comprend aussi le temps de refroidissement.}$$

$D_{61}$  et  $z$  sont calculés à partir des résultats présentés dans le tableau 10 et ont pour valeurs :

Pour le NaCl :  $D_{61} = 27s$  et  $z = 6^\circ C$

Et pour la crème :  $D_{61} = 52s$  et  $z = 7^\circ C$

Le meilleur modèle, donnant la plus faible somme des carrés des écarts, est le modèle 2.

En effet, tous ces résultats montrent que la *Salmonella enterica arizonae* est très difficile à détruire dans les produits choisis. D'une part, la solution de chlorure de sodium provoque un chauffage non uniforme qui donne une réduction bactérienne non uniforme et d'autre part, dans la crème, le pourcentage élevé en lipides (58,9%) a un effet protecteur pour les bactéries.

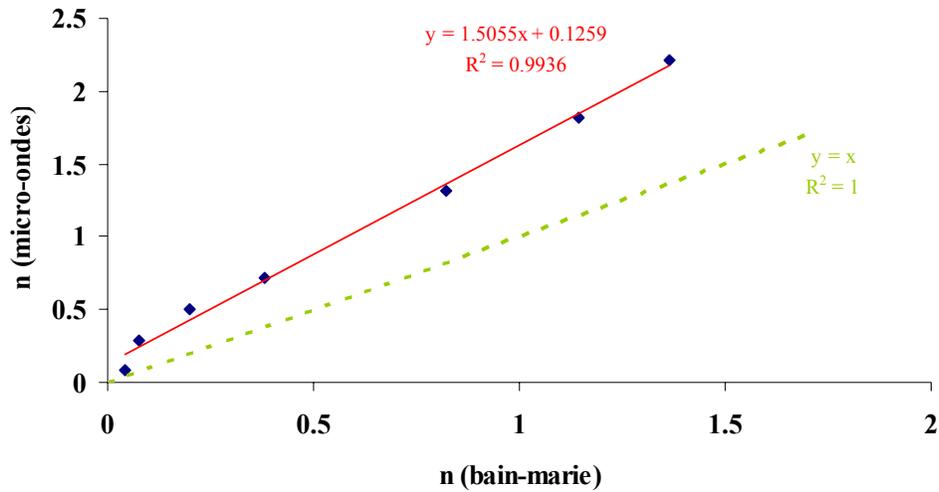
## II.3. EFFET DE LA CINÉTIQUE DE CHAUFFAGE

### II.3.1. Le problème

Des expériences au bain-marie et aux micro-ondes, pour une même rampe thermique, ont été effectuées dans le but de comparer l'incidence de la cinétique et du mode de chauffage sur la thermorésistance des germes de *S. enterica arizonae* traitée dans la crème de sésame.

### II.3.2. Les résultats bruts

La figure 26 représente les valeurs du nombre de réduction décimale ( $n$ ) obtenues à durée égale de chauffage pour les 2 modes de traitements effectués, bain-marie et micro-ondes.



**Figure 26.** Nombre de réduction décimale ( $n$ ) de la *Salmonella enterica arizonae* inoculée dans la crème de sésame et traitée au bain-marie et aux micro-ondes.

### II.3.3. Interprétation des résultats

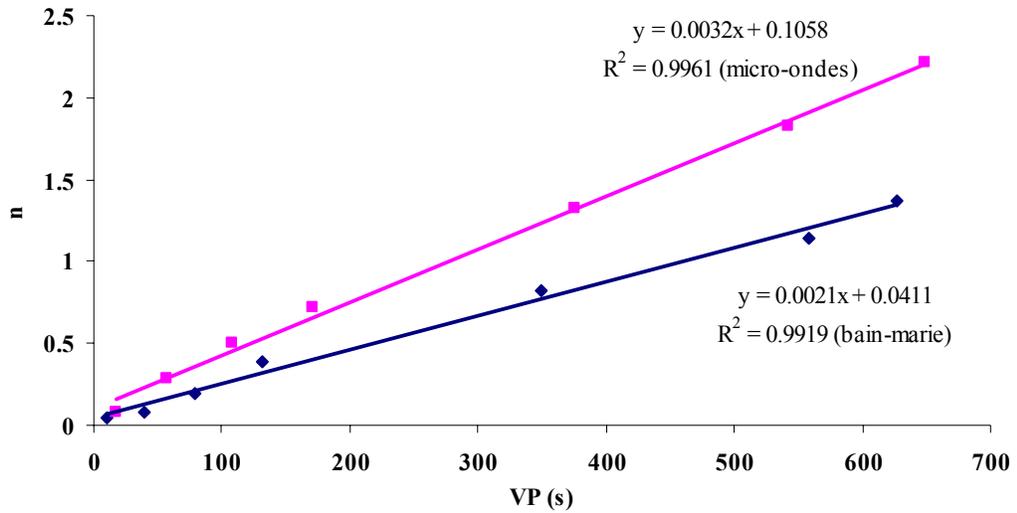
Il semble clair, d'après la figure 26, qu'il y a un effet traitement micro-onde qui l'emporte sur l'effet traitement bain-marie. En effet, en prenant comme repère la première bissectrice, les points représentant les valeurs de  $n$  sont localisées du côté de l'axe des ordonnées (micro-ondes), ce qui justifie notre affirmation.

La figure 27 représente le nombre de réduction décimale ( $n$ ) en fonction de la valeur pasteurisatrice (VP) au cours des 2 traitements. La valeur pasteurisatrice étant calculée à partir de la formule suivante :

$$VP = \int_0^t 10^{\frac{T-T_{ref}}{z}} \cdot dt$$

où :  $T_{ref}$  est fixée à 61°C.

Ainsi, à temps de traitements égaux, nous constatons un effet plus fort des micro-ondes sur les bactéries que lorsque seule la température agit (bain-marie).



**Figure 27.** Le nombre de réduction décimale en fonction de la valeur pasteurisatrice (VP) au cours des 2 traitements.

Cet effet se traduit par les valeurs de  $n$  plus élevées trouvées lors du traitement micro-ondes par rapport à celles trouvées au traitement bain-marie. A titre d'exemple, le nombre de réduction décimale en micro-ondes est approximativement 4 fois plus élevé que celui en bain-marie pour un traitement pendant 153s (tableau 13).

Les traitements par rampes à 1,8°C/min montrent toutefois moins d'efficacité que les traitements précédents comme en témoigne le tableau 13 où on trouve les valeurs de  $n$  déduites des VP et du  $D_{61}$  et du temps réel de d'un  $D_{2,5}$  de 100 s environ déduit du couple  $D_{10}=41$  s et  $Z_p=18$  calculé pour les rampes précédentes. Ces valeurs calculées montrent aussi que le traitement en bain-marie aurait dû être plus efficace que le traitement par micro-ondes.

Une autre façon de comparer les rampes et les paliers est d'ajuster de nouvelles valeurs de  $D_{61}$  et de  $z$  sur les résultats observés pour les 2 traitements rampes. Rappelons que les cinq répétitions de l'expérience ont été prises en compte dans nos calculs. Les résultats sont présentés dans le tableau 14.

**Tableau 13.** Comparaison des valeurs du nombre de réduction décimale (n) de *S. enterica arizonae* calculés à partir des lois précédemment ajustées avec ceux effectivement obtenus pour les rampes au bain-marie et par micro-ondes.

Temps (s)	Valeur pasteurisatrice (VP) (s)	n selon VP/D <sub>61</sub>	n constaté en rampe par micro-ondes	n selon t/D <sub>2,5</sub>	n constaté en rampe bain-marie
51	10,8	0,2	0,14	0,51	0,06
153	38,9	0,8	0,23	1,5	0,12
255	78,7	1,6	0,36	2,5	0,21
357	132	2,6	0,53	3,6	0,32
612	350	7,0	1,23	6,1	0,78
765	558	11	1,89	7,6	1,21
816	627	12	2,11	8,1	1,36

**Tableau 14.** Temps de réduction décimale et valeurs de z de la *Salmonella enterica* cultivée dans la crème de sésame et traitée, pour une même rampe, aux bain-marie et aux micro-ondes.

Produit	a <sub>w</sub>	Rampe Bain-marie		Rampe Micro-onde	
		D <sub>61</sub> (s)	z (°C)	D <sub>61</sub> (s)	z (°C)
Crème	0,49	390	25,2	277	37,9

#### II.3.4. Conclusion

Il est bien clair, d'après le tableau 14, que le traitement micro-onde est plus efficace que le traitement bain-marie pour une même rampe thermique.

Toutefois, la valeur de D<sub>61</sub> obtenu par rampe thermique est différente que celle obtenue à température quasi-constante. C'est un résultat surprenant. En effet, le traitement de produits très visqueux comme la crème est généralement lent à cœur ou en moyenne (échangeur à surface raclée). De ce fait, le traitement subi par le produit s'apparente plus à une rampe qu'à un échelon. L'utilisation de D et z trouvés pour des traitements échelon (CUT rapide + palier+ CDT rapide) ne sont peut être pas utilisables, en particulier z qui est utilisé pour calculer les valeurs pasteurisatrices qui constituent les critères utilisés pour caractériser les traitements de pasteurisation.

**CHAPITRE III :**  
**EFFETS SUR LA QUALITE DU PRODUIT**

### III.1. VISCOSITE

La viscosité de la crème de sésame fraîche et traitée aux micro-ondes a été déterminée selon la méthode décrite dans la partie 2. L'interprétation des résultats a été effectuée en fonction de la contrainte de cisaillement et la vitesse de cisaillement à température ambiante.

En partant de la formule :  $\tau - \tau_0 = k \cdot \dot{\gamma}^{(n)}$

où :  $\tau_0$  : contrainte seuil (Pa)

k : indice de consistance

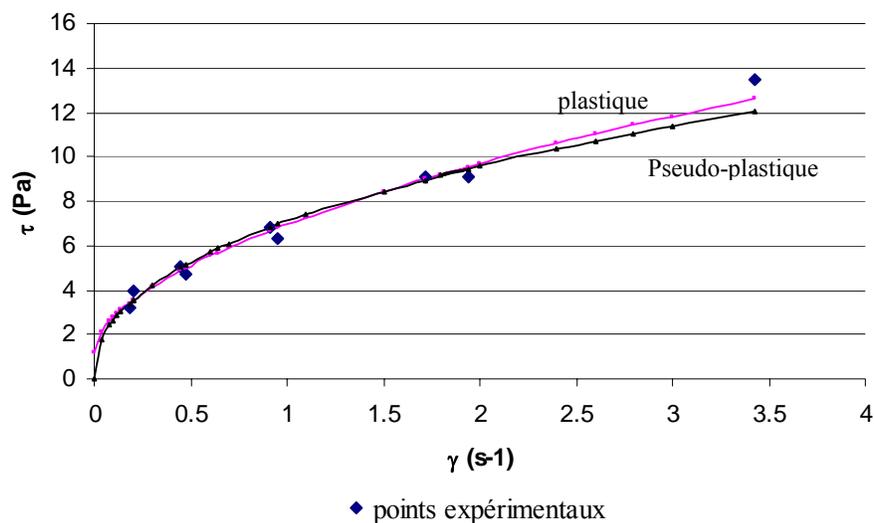
n : indice d'écoulement

$\dot{\gamma}$  : vitesse de cisaillement ( $s^{-1}$ ).

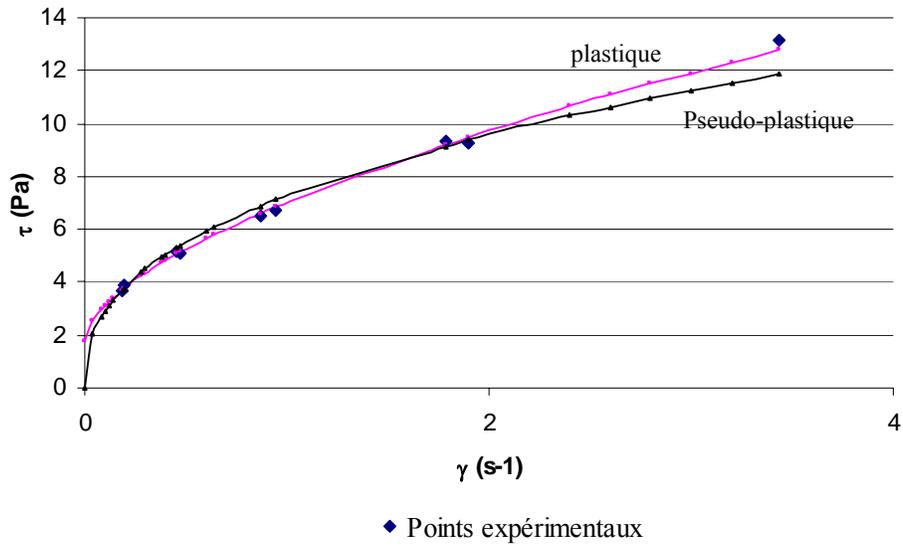
Notons que pour  $\tau_0 = 0$  le produit est dit pseudoplastique.

Nous avons représenté dans les figures ci-dessous la contrainte de cisaillement  $\tau$  (Pa) en fonction de la vitesse de cisaillement  $\dot{\gamma}$  ( $s^{-1}$ ) pour les points expérimentaux ainsi que pour 2 comportements du produit : plastique et pseudoplastique. Ceci dans le but de voir lequel de ces 2 comportements représente le mieux notre produit.

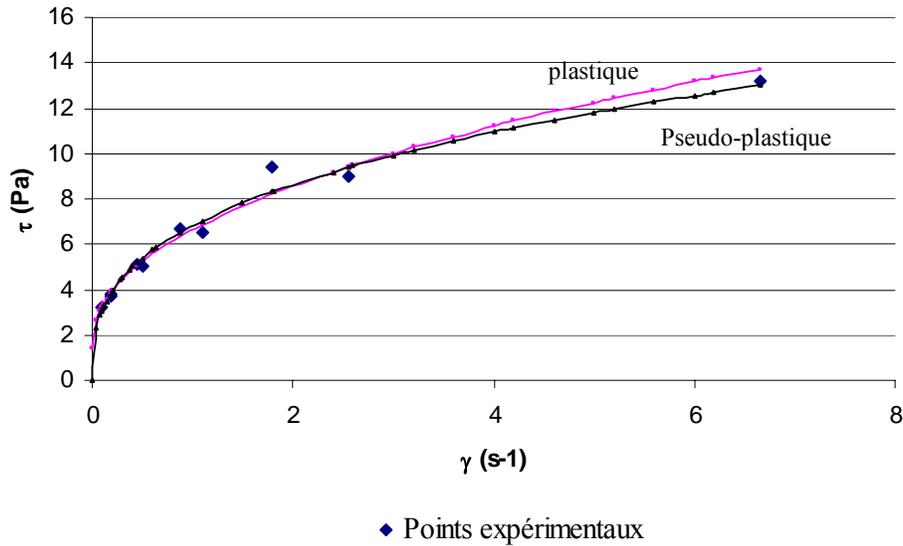
A titre d'exemple, nous avons choisi la température de 50°C pour différentes puissances spécifiques.



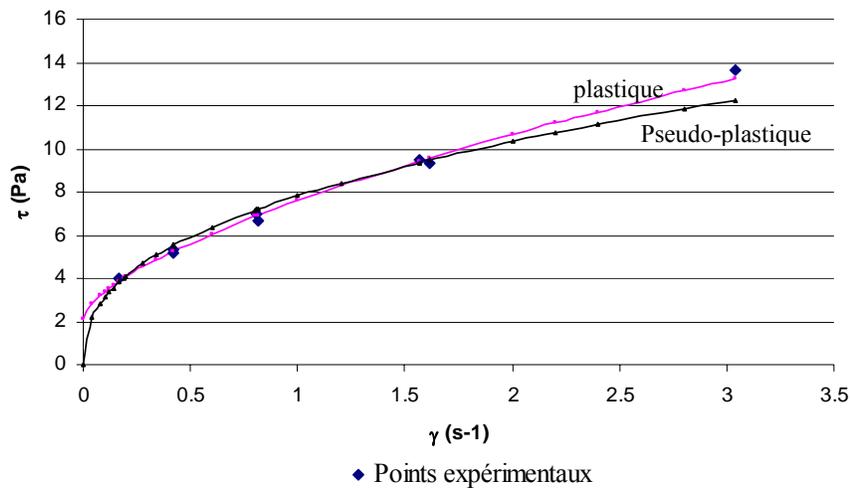
**Figure 28.** Courbe d'écoulement de la crème de sésame à  $P_s = 5$  W/g pour une température finale de 50°C montrant 2 comportements rhéologiques.



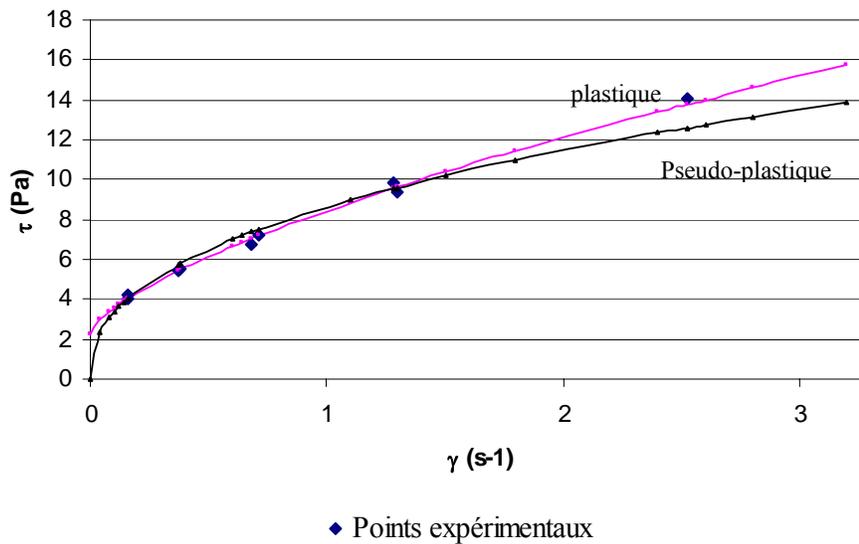
**Figure 29.** Courbe d'écoulement de la crème de sésame à  $P_s = 7,5$  W/g pour une température finale de 50°C montrant 2 comportements rhéologiques.



**Figure 30.** Courbe d'écoulement de la crème de sésame à  $P_s = 12$  W/g pour une température finale de 50°C montrant 2 comportements rhéologiques.



**Figure 31.** Courbe d'écoulement de la crème de sésame  $P_s = 15$  W/g pour une température finale de 50°C montrant 2 comportements rhéologiques.



**Figure 32.** Courbe d'écoulement de la crème de sésame  $P_s = 20$  W/g pour une température finale de 50°C montrant 2 comportements rhéologiques.

Les points expérimentaux sont bien ajustés par la loi de puissance ( $0,97 \leq r^2 \leq 0,99$ ). Ce qui nous amène à dire que le comportement rhéologique de la crème de sésame reste pseudoplastique suite aux traitements micro-ondes subis. Ces résultats sont proches de ceux obtenus par Abu-Jdayil *et al.* (2002) dans leurs expériences sur la crème de

sésame traitée sous différentes températures allant de 5 à 45°C. Ce comportement est caractérisé par une viscosité apparente qui diminue lorsque la vitesse relative d'écoulement augmente. Ce phénomène peut être expliqué par la destruction des structures tridimensionnelles des lipides à cause de la contrainte de cisaillement (Abu-Jdayil *et al.*, 2002).

Le tableau 15 montre les valeurs de  $\tau_0$ ,  $n$ ,  $k$  et  $r^2$  pour les deux modèles plastique et pseudoplastique.

**Tableau 15.** Valeurs des indices d'écoulement ( $n$ ) et de consistance ( $k$ ), du seuil d'écoulement ( $\tau_0$ ) et des valeurs du coefficient de corrélation ( $r^2$ ) pour les modèles plastiques et pseudoplastique.

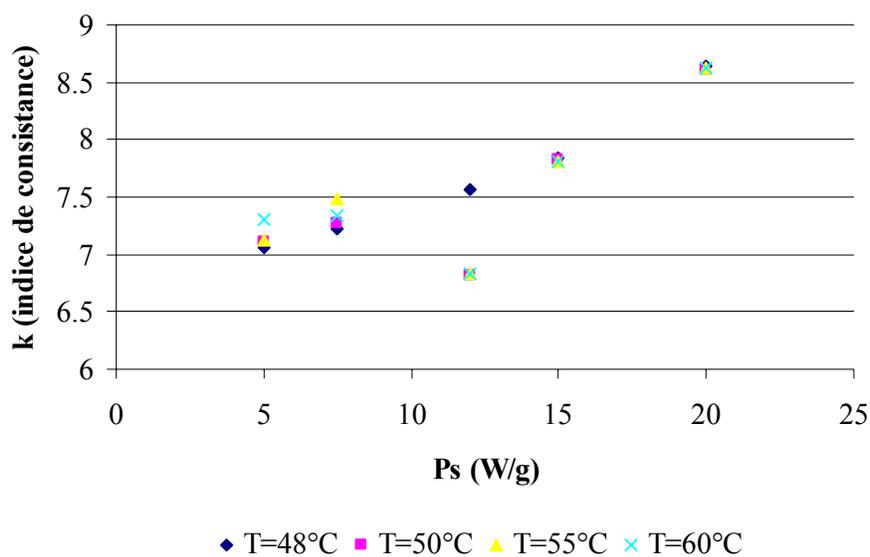
	Modèle plastique				Modèle pseudoplastique			
	$\tau_0$	$n$	$k$	$r^2$	$n$	$k$	$r^2$	
<b>Crème fraîche</b>	1,96	0,67	4,14	0,996	0,39	6,40	0,974	
T=48°C	1,13	0,57	5,72	0,994	0,43	7,08	0,991	
T=50°C	1,18	0,56	5,78	0,992	0,43	7,11	0,989	
<b>Ps=5W/g</b>	T=55°C	1,11	0,53	5,88	0,990	0,42	7,13	0,988
T=60°C	0,35	0,43	6,92	0,984	0,40	7,31	0,984	
T=48°C	1,79	0,62	5,21	0,999	0,41	7,23	0,992	
T=50°C	1,80	0,60	5,24	0,999	0,40	7,27	0,992	
<b>Ps=7,5W/g</b>	T=55°C	2,24	0,70	4,96	0,991	0,41	7,48	0,976
T=60°C	1,75	0,55	5,37	0,996	0,38	7,34	0,991	
T=48°C	2,00	0,64	5,33	0,999	0,40	7,57	0,991	
T=50°C	1,36	0,45	5,29	0,993	0,34	6,82	0,991	
<b>Ps=12W/g</b>	T=55°C	1,13	0,41	5,57	0,995	0,33	6,84	0,994
T=60°C	1,05	0,40	5,66	0,995	0,33	6,83	0,994	
T=48°C	2,08	0,65	5,53	0,999	0,41	7,84	0,991	
T=50°C	2,08	0,64	5,52	0,998	0,40	7,83	0,991	
<b>Ps=15W/g</b>	T=55°C	2,08	0,62	7,82	0,991	0,39	7,82	0,991
T=60°C	2,04	0,59	5,52	0,996	0,39	7,81	0,991	
T=48°C	2,25	0,70	6,23	0,999	0,42	8,63	0,991	
T=50°C	2,25	0,70	6,19	0,998	0,41	8,62	0,990	
<b>Ps=20W/g</b>	T=55°C	2,11	0,62	6,34	0,996	0,40	8,62	0,988
T=60°C	2,11	0,60	6,34	0,993	0,39	8,63	0,987	

Ces valeurs représentent la valeur moyenne de deux répétitions de la mesure.

Il est bien clair, d'après les figures présentées ci-dessus et le tableau 15, que les valeurs du coefficient de régression ( $r^2$ ) du modèle plastique sont supérieures que celles obtenues en modèle pseudoplastique. Toutefois, les valeurs de  $n$  et  $k$  sont beaucoup plus cohérentes avec le modèle pseudoplastique. Sans doute cela vient-il du fait qu'en ajoutant un paramètre  $\tau_0$  au modèle pseudoplastique nous aurions un ajustement meilleur au prix d'une perte de cohérence. Nous pouvons alors considérer que le modèle pseudoplastique représente mieux le comportement de la crème de sésame.

Dans le but de caractériser le comportement de la crème de sésame suite au traitement micro-ondes, nous avons étudié l'influence de la puissance spécifique sur l'indice de consistance (k). Nous avons choisi cet indice pour l'interprétation des résultats vu qu'il représente le mieux la consistance du produit.

La courbe ci-dessous illustre la variation de l'indice de consistance sous différentes températures en fonction des puissances spécifiques étudiées.



**Figure 33.** Variation de l'indice de consistance pour différentes températures finales de traitement en fonction des puissances spécifiques étudiées.

Les résultats obtenus montrent que l'indice de consistance (k) est significativement affecté par la puissance spécifique ( $P \leq 0,05$ ). Par contre, la température n'a pas d'influence significative ( $P \geq 0,05$ ) (voir annexes 2, 3, 4, 8 et 9). Cependant, l'interaction entre la puissance spécifique et la température montre une différence significative sur l'indice de consistance ( $P \leq 0,05$ ).

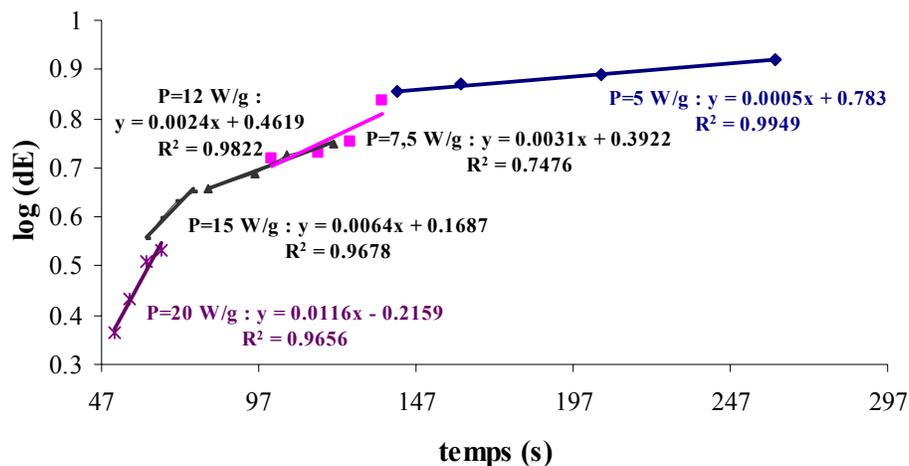
La figure 33 indique que l'indice de consistance augmente lorsque la puissance spécifique passe de 5 W/g à 20 W/g. Ceci montre que la crème de sésame devient plus consistante à la suite des traitements effectués.

Avec une valeur initiale de l'indice de consistance  $k_i$  de 6,4, l'écart  $\Delta k$  varie entre les valeurs 0,42 et 2,24. Toutefois il n'y a pas de références indiquant un seuil limite à partir duquel un produit alimentaire perd ses propriétés rhéologiques. Cet écart réduit nous laisse à dire que la crème de sésame a gardé ses propriétés rhéologiques initiales après les traitements effectués.

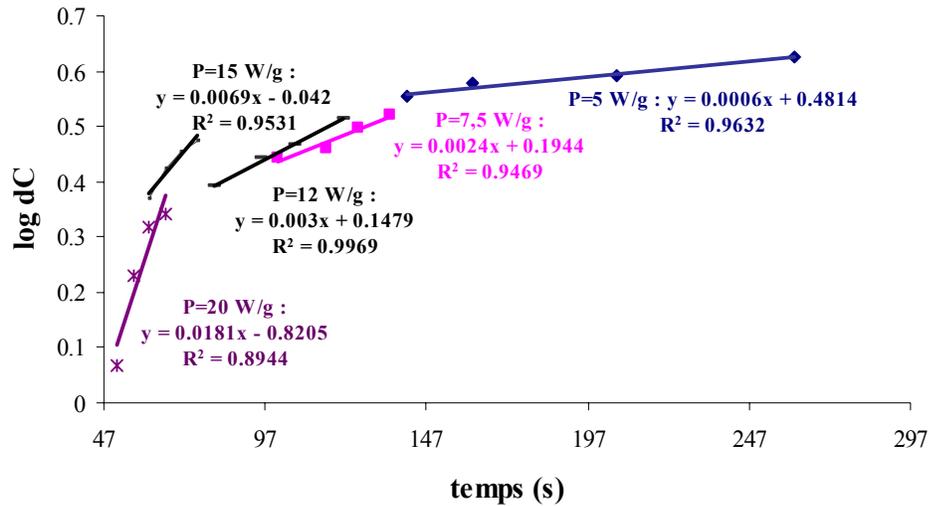
### III.2. COULEUR

La couleur de la crème de sésame fraîche et traitée aux micro-ondes est analysée selon la méthode L, a, b décrite à la partie 2. Ce critère est évalué par le paramètre global  $\Delta E$  du produit par rapport au produit frais ainsi que de l'écart de saturation  $\Delta C$  du produit final.

Puisque nous avons effectué les essais à des temps différents pour chaque puissance spécifique, nous n'avons pas pu utiliser le temps comme variable directe dans l'étude statistique, c'est pourquoi nous avons fait une modélisation en fonction du temps de l'influence du traitement sur les paramètres de la couleur ( $\Delta E$  et  $\Delta C$ ) en supposant que la cinétique des variations de ces paramètres est d'ordre un. Nous avons tracé les droites de  $\log \Delta E$ ,  $\log \Delta C$  en fonction du temps (figures 34 et 35).



**Figure 34.** Evaluation de  $\log \Delta E$  de la crème suite aux différentes puissances appliquées.

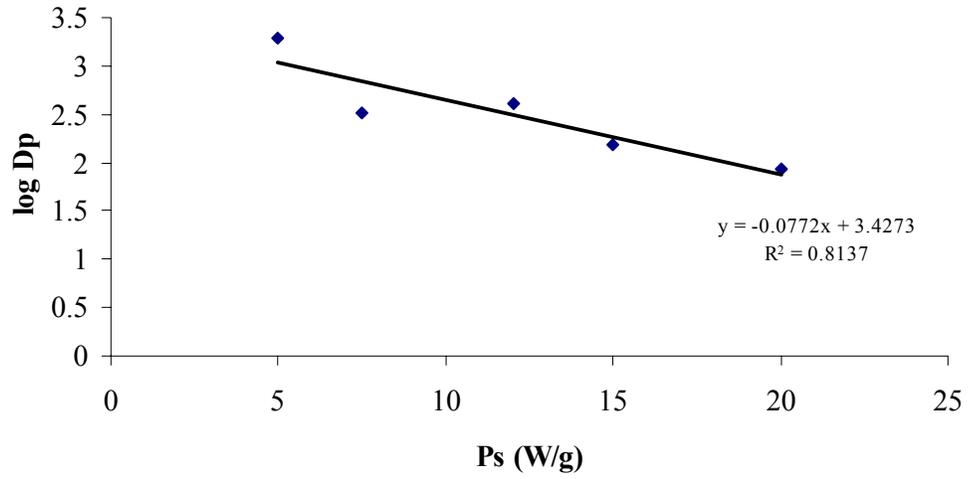


**Figure 35.** Evaluation de  $\log \Delta C$  de la crème suite aux différentes puissances appliquées.

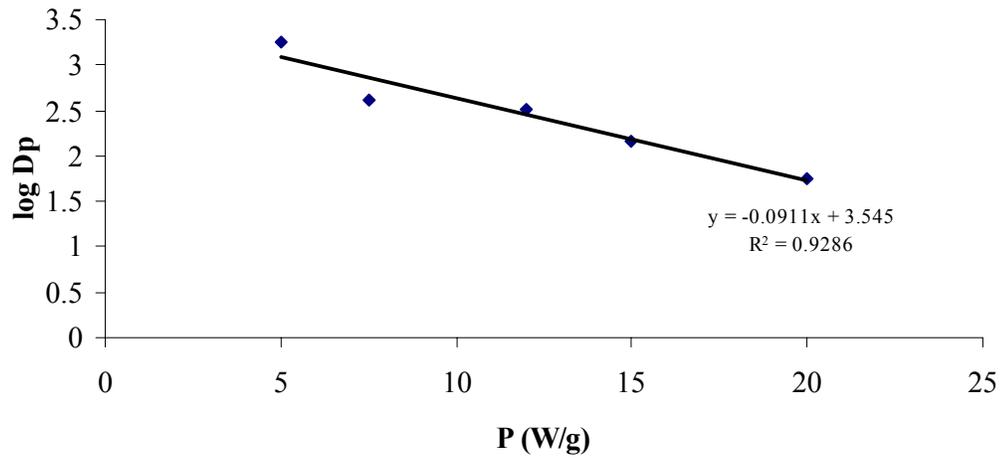
Il semble bien clair, d'après les figures 34 et 35, que pour une même puissance spécifique, les écarts  $\Delta E$  et  $\Delta C$  augmentent au cours du temps. Ceci est également prouvé par les analyses statistiques de la variance effectuées (ANOVA à 2 voies, statgraphics 1999). Ces analyses montrent que la puissance spécifique, la température et l'interaction entre ces deux paramètres ont une influence très significative ( $P = 0$ ) sur l'écart  $\Delta E$  (annexes 10, 12, 13, 14 et 15). L'analyse de la variance a montré que  $P_s$  contribue à 91,71 % de la variance totale contre 8,22 % pour la température.

Pour quantifier l'influence de la puissance spécifique, nous avons calculé des valeurs de  $z_P$  pour chacun des écarts  $\log \Delta E$  et  $\log \Delta C$ , ceci en traçant les droites de  $\log D_p$  en fonction de  $P_s$ . Notons que  $D_p$  est l'inverse de la pente de la droite de régression des courbes des figures 34 et 35.

Les courbes de  $\log D_p$  en fonction de la puissance spécifique pour les 2 écarts  $\log \Delta E$  et  $\log \Delta C$  sont illustrées dans les figures 36 et 37 ci-dessous.



**Figure 36.** Courbe de  $\log D_p$  en fonction de  $P_s$  pour l'écart  $\log \Delta E$ .

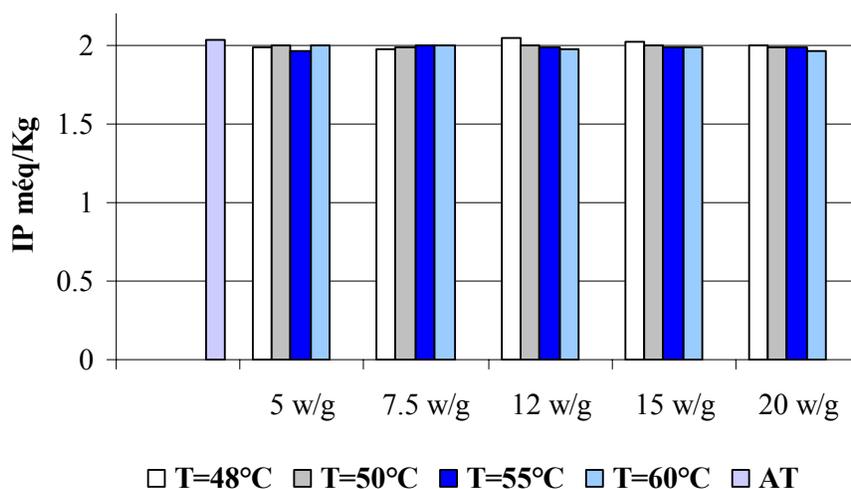


**Figure 37.** Courbe de  $\log D_p$  en fonction de  $P_s$  pour l'écart  $\log \Delta C$ .

Nous avons trouvé un  $z_P$  de 12,9 pour  $\log \Delta E$  et un  $z_P$  de 11,0 pour  $\log \Delta C$ . Ces valeurs de  $z$  trouvées vont nous servir comme outil dans la partie optimisation.

### III.3. INDICE DE PEROXYDES

L'indice de peroxydes est déterminé sur la crème de sésame non traitée et traitée sous 5 différentes puissances spécifiques : 5-7,5-12-15 et 20 W/g pour des températures finales du produit variant de 48 à 60°C, pour chaque puissance spécifique. Il paraît clair, d'après la figure 38, qu'il n'y a pas de différence significative entre le produit frais et les produits traités.



**Figure 38.** Variation de l'indice de peroxydes (IP) sous différentes puissances spécifiques et températures.

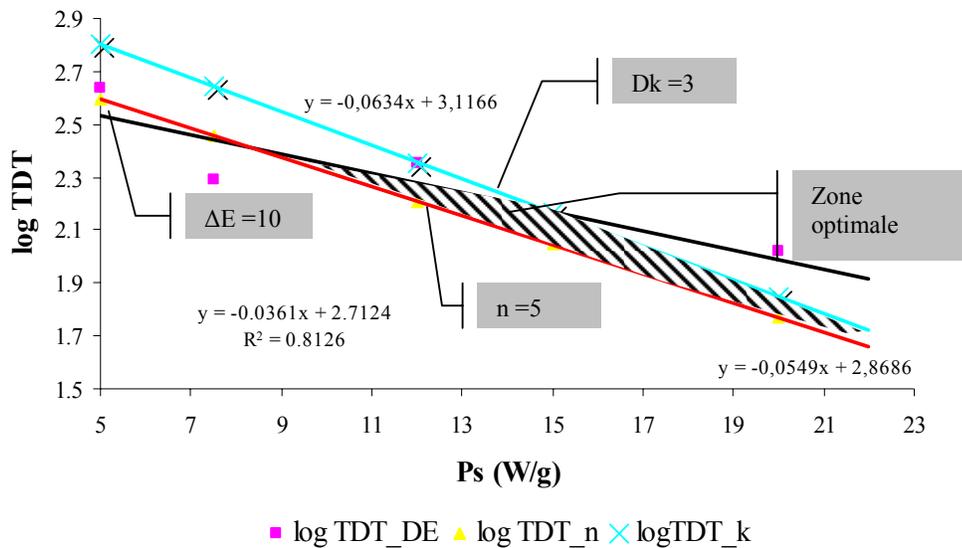
On peut alors affirmer que le traitement micro-onde n'a pas affecté la qualité de la crème de sésame en terme d'indice de peroxydes. La stabilité du produit après le traitement pourrait être expliqué par la présence d'antioxydants naturels tels que les lignines (sésamol, sésamine et sésamoline) et les tocophérols, particulièrement le  $\gamma$ -tocophérol (Abu-Gharbia *et al.*, 1996 ; Yen et Shyu, 1989 ; Yoshida *et al.*, 1995). Notons aussi que l'exposition de la crème de sésame à des températures élevées induit la formation du sésamol qui offre à la crème une stabilité oxydative élevée.

Signalons aussi qu'au fur et à mesure que l'oxydation progresse, les peroxydes, ou particulièrement les hydroperoxydes, se décomposent pour donner des alcools, des cétones, des aldéhydes et des acides carboxyliques comme produits secondaires de l'oxydation (Coppin et Pike, 2001). Avec la formation de ces produits secondaires, l'indice de peroxydes tend à diminuer. Par conséquent, c'est ce qui explique nos résultats.

### III.4. OPTIMISATION DE LA DECONTAMINATION DE LA CREME DE SESAME

Dans le but de trouver une zone optimale pour la décontamination de la crème de sésame tout en préservant au mieux la qualité du produit, nous avons tracé les droites représentant les 2 critères de qualité choisis ainsi que la courbe de survie du microorganisme. Signalons que le troisième critère de qualité étudié (le taux de peroxydes) n'a pas évolué au cours du traitement. C'est pour cela nous ne l'avons pas présenté dans la figure 39.

Nous avons calculé des temps de mortalités thermique TDT (thermal death time) pour chaque critère étudié (figure 39) et nous avons représenté le logarithme décimal de ces temps en fonction de la puissance spécifique.



**Figure 39.** Zone optimale pour la décontamination de la crème de sésame.

Pour le côté microbiologique, nous avons fixé le nombre de réduction décimale à la valeur 5. L'écart de concentration de couleur est fixé égale à 10. Quant à la viscosité, l'écart  $\Delta k$  est fixé égale à 3. L'intersection des 3 courbes représente la zone optimale du traitement de décontamination de la crème de sésame par micro-ondes. Ainsi, à partir d'une puissance spécifique supérieure à 9 W/g, nous pouvons assurer un niveau de sécurité microbiologique acceptable tout en préservant au mieux la qualité du produit.

En revanche, il sera plus intéressant de pouvoir valider cette optimisation par des essais expérimentaux. Pour des raisons de temps et de déplacement, nous n'avons pas pu réaliser ces expériences.

## CONCLUSIONS

Nous avons exploré dans ce projet l'influence d'un traitement micro-ondes et traditionnel sur la thermorésistance d'une *Salmonelle* traitée dans deux milieux à différentes activités d'eau.

Dans un premier temps, nous avons déterminé les paramètres de thermorésistance  $D_0$  et  $z_0$ , pour le traitement traditionnel, et  $D_p$  et  $z_p$  pour le traitement micro-ondes.

D'après nos travaux, et pour les traitements effectués, *Salmonella enterica arizonae* se montre plus thermorésistante dans la crème de sésame ( $a_w = 0,49$ ) que dans la solution de NaCl ( $a_w = 0,99$ ).

Ces deux milieux se distinguent à de nombreux points de vue :

- leurs activités d'eau qui est de 0,49 pour la crème de sésame et 0,99 pour la solution de NaCl,
- leurs pH qui sont respectivement, à 20°C, de 5,8 (crème) et 6,5 (NaCl),
- leurs teneurs en lipides.

Ces travaux nous ont alors conduits à confirmer pour *Salmonella enterica* ce qui a été mis en évidence pour de nombreuses autres souches dans la littérature, à savoir une augmentation de la thermorésistance des microorganismes avec l'activité de l'eau et la teneur en lipides (mais ces deux facteurs sont sans aucun doute interdépendants) et une diminution avec le pH. Aussi, si *Salmonella enterica* traitée dans la crème (pH = 5,8 à 20°C) est deux fois plus thermorésistante que celle traitée dans la solution de NaCl (pH = 6,5 à 20°C), on peut attribuer cet effet au trio pH - activité de l'eau – lipides sans pouvoir faire la part entre ces facteurs.

Concernant les traitements par micro-ondes, la survie de certaines bactéries, comme la *Salmonelle* et la *Listeria* inoculées dans des produits traités ainsi, semblent être largement influencée par le contenu en lipides. Cet effet protecteur des lipides a été

étudié par plusieurs auteurs dans leurs travaux sur le *Bacillus subtilis* et la *Pseudomonas fluorescens*. Ces auteurs ont conclu que l'effet protecteur des lipides a pour conséquence d'augmenter la résistance des bactéries. Ceci est confirmé par nos résultats obtenus sur *Salmonella enterica* inoculée dans la crème de sésame, comparativement au même inoculum dans la solution de NaCl.

Pour nos travaux sur l'effet des micro-ondes, nous avons voulu éviter des échauffements trop importants de la crème qui la rende impropre à la consommation, tout en appliquant des traitements suffisamment longs pour pouvoir constater l'effet du temps de traitement sur les populations microbiennes. Ceci nous a amené à utiliser des puissances micro-ondes relativement faibles mais constantes qui ont donné des rampes de montée en température régulières alors que nos traitements thermiques "classiques" étaient du type "créneau". Nous avons envisagé la possibilité que l'allure du traitement puisse influencer la mortalité de nos souches, aussi avons-nous réalisé des rampes en bain-marie. Les résultats que nous avons obtenus pour une même rampe de température selon les deux modes de traitement, chauffage par contact et micro-ondes, montrent clairement que le traitement micro-onde est plus efficace sur *Salmonella enterica* que le traitement en bain-marie.

Lors de ces derniers travaux nous avons aussi constaté un écart entre les cinétiques expérimentales de destruction des souches et les prédictions faites à l'aide des lois précédemment établies.

Concernant les traitements en bain-marie, ceci peut signifier que ces lois (basées sur D et z) ne sont pas valides dans le cas de rampes, tout au moins dans le cas de rampes "lentes" mais c'est pourtant cette situation que connaît le cœur d'un produit solide ou pâteux s'échauffant par conduction au début du traitement thermique. A notre avis cela ne remet pas en cause la façon classique d'évaluer l'effet d'un traitement (valeur pasteurisatrice ou stérilisatrice) pourvu que cet effet soit important, mais notre constat, s'il était confirmé, obligerait à envisager différemment la thermobactériologie des traitements thermiques "minimalistes".

Concernant les traitements par micro-ondes, nous avons, pour ces travaux sur rampes, utilisé une puissance micro-ondes nettement inférieure à celles sur lesquelles nous avons ajusté notre modèle (basé sur  $D_p$  et  $Z_p$ ). Il nous faut signaler qu'il s'agit de puissances appliquées et non de puissances absorbées, alors qu'il n'y a pas de proportionnalité entre ces deux termes. On peut donc envisager que l'écart constaté peut être lié en partie à ce paramètre non maîtrisé.

Dans une dernière partie, nous nous sommes intéressés à la qualité de la crème et aux changements qui pourraient résulter suite au traitement micro-ondes effectué. Nous avons retenu trois critères de qualités : viscosité, couleur et indice de peroxydes. Le traitement micro-ondes n'a pas affecté la crème de sésame en terme d'indice de peroxydes. Par contre, des variations assez notables au niveau de la couleur et de la viscosité ont été signalées. Ces variations n'ont pas d'influence du point de vue culinaire, mais il sera intéressant, pour la suite, de pouvoir évaluer la valeur nutritionnelle (protéines, vitamines...) de la crème traitée.

Ce travail nous a également permis de proposer une optimisation du traitement par micro-ondes qui réalise la décontamination de la crème de sésame tout en préservant au mieux la qualité du produit traité. Cette optimisation amène à définir, comme pour les traitements thermiques classiques, une zone optimale de traitement.

Nous pouvons conclure, d'après tous ces résultats que la *Salmonella enterica arizonae* est très difficile à détruire dans les produits choisis du fait du cumul de trois facteurs améliorant la (thermo)résistance des microorganismes : une basse activité d'eau et (ou?) une forte teneur en lipides, un pH un peu acide. Nous pouvons aussi affirmer que, pour la pasteurisation de ce produit, l'emploi de micro-ondes, dont nous avons supposé qu'elles ont un effet spécifique, quantifiable, sur les microorganismes, peut se révéler intéressant mais que la montée rapide de la température qui l'accompagne peut être utilisée pour compléter ce début de traitement pasteurisateur par un chambrage dont l'effet est également quantifiable par les modèles que nous avons ajustés. Il va toutefois de soi qu'un tel traitement devrait être réalisé dans des emballages transparents aux micro-ondes, hermétiquement fermés et dans des enceintes sans doute sous-pression. Une étude comparative d'un tel procédé avec un traitement en autoclave ou en tunnel à ruissellement d'eau devra être réalisée, si ce type de procédé se révélait intéressant (rapidité, qualité...). Notre travail donne les moyens d'ajuster les barèmes de pasteurisation qui devraient être mis en œuvre dans les 2 cas.

Pour le suivi du travail, il s'avère intéressant de compléter la recherche par les essais suivants :

- Prendre plusieurs échantillons de crème de sésame à teneur en eau différente et donc à activité d'eau différente et voir l'influence de cette variabilité sur la thermorésistance de la bactérie.

- Varier l' $a_w$  du produit (crème de sésame) par l'ajout de certains solutés (NaCl) et évaluer l'incidence de cet ajout sur la thermorésistance de la *Salmonelle* traitée au bain-marie et micro-ondes. Sachant que la thermorésistance augmente lorsque l' $a_w$  du milieu diminue.

Ces résultats peuvent être utiles à l'échelle industrielle, puisque le NaCl est un produit utilisé dans le procédé de fabrication de la crème de sésame et par suite la variation de la quantité de sel ajoutée, au cours du processus de fabrication, peut influencer l' $a_w$  du produit final.

- Traiter des solutions de NaCl à différentes concentrations et établir une étude comparative (en terme de paramètres de thermorésistance) permettant de confirmer l'influence de l' $a_w$ , dans un même milieu, sur la thermorésistance de la bactérie.

Nous pouvons également suggérer quelques analyses complémentaires pour évaluer la qualité du produit du point de vue culinaire :

- Mesurer la teneur en antioxydants naturels (sésamol, sésamoline...) suite aux traitements micro-ondes effectués.
- Etudier la viscoélasticité de la crème sur un viscosimètre plus sophistiqué qui peut nous donner une idée sur la thixotropie du produit (si sa viscosité évolue au cours du temps). De cette manière, nous pouvons interpréter de façon plus efficace le comportement du produit durant la phase de refroidissement (problème affronté lors de mes expériences).
- Réaliser des rampes en bain-marie et micro-ondes pour la solution de NaCl pour valider les résultats obtenus pour la crème de sésame. En effet, plusieurs auteurs ont signalé une adaptation (plus grande résistance) dans le cas d'un chauffage « rampe » comparativement au chauffage « palier ».

**NOUVEAU CHAPITRE DE LA  
THESE**

## **I. PLACE ET ENJEUX**

*«Effet d'un chauffage micro-ondes et conventionnel sur la thermorésistance d'une Salmonelle traitée dans un produit à basse activité d'eau. Conséquences sur la qualité du produit.»*

La pasteurisation et la stérilisation sont depuis très longtemps des techniques relativement bien maîtrisées dans le cas de produits liquides ou sous de forme de conserves. Néanmoins les technologies classiques ne permettent pas de traiter les produits pulvérulents ou sous forme de particules. Actuellement, l'ionisation est la technique qui s'impose pour la décontamination de ces produits. Compte tenu de la particularité de cette technologie, qui nécessite un dossier d'autorisation, les industriels s'intéressent de plus en plus à des techniques de substitution. Ainsi, le département Sciences et Techniques Agro-Industrielles (STAI) de l'Institut Polytechnique Lasalle de Beauvais a maintes fois été sollicité par des industriels pour des études de faisabilité sur la décontamination de produits alimentaires par micro-ondes. Ces études ont mis en évidence une efficacité notable des micro-ondes pour la débactérisation de plusieurs produits : gomme arabique et poudre de crevette.

Les micro-ondes appartiennent à la bande des radiofréquences (de 10 kHz à 300 GHz) qui sont une gamme de fréquences très largement utilisée et exploitées. Elles traversent l'air, le plastique, le verre, la porcelaine..., et sont réfléchies par les objets métalliques. Absorbées principalement par l'eau, les micro-ondes sont aussi absorbées par les protéines dont l'albumine, par le glucose, et par les molécules polaires en général.

L'objectif de mon travail de thèse est double. En effet, d'une part, il s'agit d'étudier l'impact de différents types de traitement micro-ondes sur la qualité microbiologique et organoleptique d'un produit à faible activité d'eau (crème de sésame) et, d'autre part, de concevoir et développer une méthode de décontamination de matières agricoles et agro-alimentaires à faible activité d'eau, tels que la crème des sésame, basée sur l'utilisation des micro-ondes comme alternative à l'ionisation.

Cette thèse a été réalisée au sein du département STAI sous l'encadrement du M. Jean-Claude LAGUERRE, et dans le laboratoire microbiologique de l'Institut Polytechnique Lasalle de Beauvais. Ces laboratoires ont débuté leurs activités de « décontamination par micro-ondes » suite à l'intégration du pilote micro-ondes de la

société MES, à partir de 1998. Les essais réalisés au département STAI à la demande d'industriels sur la gomme arabique et la poudre de crevette ont donné des résultats tout à fait probants en terme de débactérisation.

L'intérêt de mon sujet de thèse est à la fois de répondre, d'un point de vue technique, à la problématique des industriels quant à la question de l'ionisation de leurs produits et d'un point de vue scientifique à la question de l'impact d'un traitement micro-ondes sur la résistance des bactéries présentes dans des produits à faible activité d'eau.

Mon travail de thèse a été initialisé en collaboration avec l'Ecole Nationale Supérieure d'Industries Agricoles et Alimentaires (ENSIA) sous la direction du Professeur Albert DUQUENOY, puis a engendré une collaboration avec l'Institut de Recherches Agronomiques du Liban (IRAL) par l'encadrement du M. Ali BASSAL.

J'ai choisi de faire ma thèse dans ce département grâce au professeur libanais M. Farès CHARBEL, enseignant chercheur au sein de l'Institut Polytechnique Lasalle, qui m'a introduit à l'équipe du travail de STAI et à qui je dédie mes remerciements les plus dévouées.

## **II. GESTION DU PROJET ET MOYENS DE MIS EN OEUVRE**

L'évaluation des besoins ainsi que quelques essais ont été réalisés avant mon arrivée par mon encadreur de thèse et le technicien responsable. Ensuite, en fonction de mes premiers résultats, ces besoins ont évidemment évolué. Le financement qui m'a permis de mener à bien ce projet est une bourse de l'Agence Universitaire de la Francophonie (AUF) du Liban. Le matériel a été financé par le département STAI de l'Institut Polytechnique Lasalle de Beauvais.

La planification du projet a été réalisée de façon intuitive en fonction des résultats obtenus et des nouvelles données bibliographiques du domaine. En fonction de ces données et des résultats, des réunions provoquées avec mes dirigeants m'ont permis de tester de nouvelles voies et d'étudier des paramètres différents de ceux établis au départ du sujet. En effet, au fur et à mesure du déroulement du travail, mon autonomie, quant à la conduite du projet, a grandement évoluée. Ainsi, en plus de la provocation de réunion pour des idées de manipulations ou de nouvelles voies d'explorations, lors de la survenue

de problèmes, il m'appartenait de les résoudre et donc de chercher les informations auprès des personnes les plus aptes à me donner des solutions.

Trois personnes sont directement associées au projet : mon directeur de thèse, le Professeur Albert DUQUENOY et mon encadrant, le Docteur Jean-Claude LAGUERRE et moi-même. L'assistance du Docteur Ali BASSAL de l'IRAL (Liban) a été aussi bénéfique. De nombreux techniciens de laboratoire y sont plus au moins associés ainsi que quelques enseignants chercheurs de l'Institut Polytechnique Lasalle de Beauvais pour leurs orientations utiles. Enfin, sont associés le personnel de l'Institut et les enseignants et les responsables de l'Ecole Doctorale ABIES.

### **III. COMPETENCES DEVELOPPEES DANS LE CADRE DU SUJET**

Au cours de ces années de thèse, j'ai développé des connaissances scientifiques essentiellement dans le domaine des micro-ondes. Il a donc fallu que je me familiarise à la fois, avec les problématiques étudiées dans ce domaine, en particulier les effets des ondes sur l'aliment, mais aussi avec les outils et les méthodes de physique et de biologie nécessaires à ces études. La gestion de mon projet de thèse m'a permis d'acquérir une expérience dans le domaine du travail en équipe, en particulier, avec des personnes de domaines différents que la Génie des Procédés : biotechnologie végétale, chimie organique... En effet, ce travail associant deux sciences très différentes, la physique et la biologie, des problèmes de communication sont apparus. J'ai donc développé des compétences pour pallier à ces incompréhensions mutuelles. De plus, le sujet étant assez particulier, une capacité d'analyse, une grande curiosité, mais aussi de la persévérance ont été nécessaires pour mener à bien ce projet. La présentation de mes travaux lors des « loncinades » organisées par L'ENSIA et au sein même de l'Institut Polytechnique Lasalle de Beauvais m'a permis d'acquérir des facultés de synthèse de mes travaux. Mon travail de thèse m'a aussi permis de développer des compétences dans les domaines suivantes : capacités d'animation de réunion, sens de la négociation et de la persuasion, savoir-faire dans la recherche d'information.

Ma participation à des modules de formations proposées par mon école doctorale m'a permis d'acquérir des connaissances du monde de l'entreprise, de l'insertion professionnelle ainsi que de développer mes connaissances linguistiques.

De nationalité étrangère, ma vie sur le campus de l'Institut Polytechnique Lasalle de Beauvais m'a permis de faire la connaissance de plusieurs étudiants de différentes nationalités et donc de côtoyer de nouvelles cultures. Ce qui m'a offert la capacité d'appréhender les choses d'une façon différente.

#### **IV. EVALUATION DES RETOMBES DE LA THESE**

Les retombées de mes travaux de thèse sont à la fois scientifiques et personnelles. D'une façon générale, ce doctorat m'a donné la possibilité de travailler sur un sujet qui offre une solution pour beaucoup d'industriels travaillant dans le domaine de décontamination des produits alimentaires. D'un point de vue plus fondamental, il m'aura permis d'apporter des informations sur les interactions entre les ondes et les systèmes biologiques.

Sur un plan personnel, les compétences et les connaissances que j'ai acquises me serviront pour mon entrée dans le domaine de l'enseignement. En effet, je considère que mes années de doctorat constituent une expérience professionnelle qu'il faut valoriser aussi bien pour les connaissances scientifiques que j'ai pu acquérir, que pour les aptitudes que j'ai pu développer pour la réalisation de ce projet.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

**Abou-Gharbia H.A., Shehata A.A.Y. et Youssef M.** (1996). Oxidative stability of sesame paste (tehina). *J. Food lipids*, 3: 129-137.

**Abou-Jdayil B.** (2003). Modelling the time-dependant rheological behavior of semi-solid foodstuffs. *J. Food Engineering*, 57: 97-102.

**Abou-Jdayil B., Al-Malah K. et Asoud H.** (2002). Rheological characterization of milled sesame (tehineh). *J. Food Hydrocolloids*, 16: 55-61.

**Alvarez I., Mañas P, Sala F.J. et Condón S.** (2003). Inactivation of *Salmonella enterica* serovar *enteritidis* by ultrasonic waves under pressure at different water activities. *Appl. Envi. Microbiol.* 69 (1): 668-672.

**Anantheswaran R.S., Doores R., Heddleson R. et Kuhn G.** (1993). Destruction of *Salmonella* species heated in aqueous salt solutions by microwave energy. *J. Food Protection*, 56 (9): 763-768.

**Anellis A., Lubas J. et Rayman M.M.** (1954). Heat resistance in liquid eggs of some strains of the genus *Salmonella*. *Food Res.* 19, 377-395.

**AOAC** (1990). *Oils and Fats. Official methods of Analysis*, fifteenth edition, USA, 951-965.

**Atlas R.M.** (1984). *Microbiology. Fundamentals and Applications*, 807p. Macmillan Publishing Co. New York.

**Atmac S., Akdag Z., Dasdag S. et Celik S.** (1996). Effect of microwaves on survival of some bacterial strains. *Acta Microbiol Immunol Hung* , 43 (4): 371-378.

**Arvieux C.** (1998). Les toxi-infections alimentaires. *Digest*, 14 (6):4-16.

**Ayaz M., Sawaya W.N. et Sogair A.** (1986). Microbiological quality of Tehineh manufactured in Saudi Arabia. *J. Food Protection*, 49: 504-506.

**Baird-Parker A.C., Boothroyd M et Jones M.E.** (1970). The effect of the water activity on the heat resistance of heat-sensitive and heat resistant strains of Salmonellae. *J. Appl. Bacteriol.*, 33 : 215-522.

**Barbour E.K., Nabbut N.H. et El-Nakhli H.M.** (1986a). Reduction of bacterial contamination in sewage effluents and soils of Saudi Arabia: Impact of sewage treatment technology and natural self-purification. Arab Bureau of Education for the Gulf States, Nov. 12-15: 241-250.

**Barbour E.K., Nabbut N.H. et El-Nakhli H.M.** (1986b). Reduction of bacterial contamination in sewage effluents and soils of Saudi Arabia: Impact of sewage treatment technology and natural self-purification. In: *Biotechnology and Applied Microbiology*. D.I. Alani and M. Moo-Young, eds., Elsevier Applied Science Publishers, London and New York.

**Barbour E.K., Nabbut N.H. et El-Nakhli H.M.** (1984). Effect of improper sewage treatment on pollution of the environment with bacterial pathogens. Regional Agriculture and water Research Center, Ministry of Agriculture and Water, Riyadh, Saudi Arabia, 329-335.

**Barnes F.S. et Hu C.J.** (1977). Model for some nonthermal effects of radio and microwave fields on biological membranes. *IEEE Trans Microw Theor Tech.* 25 (9): 742-746.

**Bell C., Kyriakides A.** (2002). *Salmonella a practical approach to the organism and its control in foods*. Eds. Blackwell Science Ltd., 84-98, 141-144.

**Belyaev I., Alipoc Y.D., Shcheglov V.S. et Lystsov V.N.** (1992). Resonance effect of microwaves on the genome conformational state of *E. coli* cells. *Z Naturforsch [C]*. 47 (7-8): 621-327.

**Beuchat L.R.** (1974). Combined effects of water activity, solute, and temperature on the growth of *Vibrio parahaemolyticus*. *Appl. Microbiol.*, 27:1075-1079.

**Bigelow W., Bohart G., Richardson A. et Ball C. (1920).** Heat penetration in processing canned foods. Bull. 16-L. Res. Lab. Natl. Canner Ass. Washington, DC.

**Bimbenet J.J., Duquenoy A. et Trystram G. (2002).** Génie des procédés alimentaires. Des bases aux applications. Dunod, Paris, 553 pages.

**Blackburn C.W., Curtis L.M., Humpheson L, Billon C. et McClure P.J. (1997).** Development of thermal inactivation models for *Salmonella enteritidis* and *Escherichia coli* 157:H7 with temperature, pH and NaCl as controlling factors.

**Blackburn C.W. et McClure J. (2002).** Foodborne Pathogens: An Illustrated-test. Eds Wolf Publishing Ltd., 51-86, 101-128, 267-288.

**Booth I.R. (1985).** Regulation of cytoplasmic pH in bacteria. Microbiol. Rev. 49 (4): 359-78.

**Bourgeois C.M., Mescle J.-F. et Zuca J. (1996).** Microbiologie alimentaire, tome 1 : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments, Tec & Doc.

**Brockmann S.O., Pietchotowski I. et Kimmig P. (2004).** Salmonella in sesame seed products. J. of Food Protection, 67: 178-180.

**Brown A.D. (1976).** Microbial water stress. Bacteriol. Rev. 40 (4) : 46-803.

**Brunton N.P., Lyng J.G. et Zhang L. (2006).** The use of dielectric properties and other physical analyses for assessing protein denaturation in beef biceps femoris muscle during cooking from 5 to 85°C. Meat Science, 72: 236-244.

**Calhoun C.L. et Frazier W.C. (1966).** Effect of available water on thermal resistance of three nonsporforming species of bacteria. Appl. Microbiol., 14 : 416-420.

**Cheftel J.C., Cheftel H. et Besançon P. (1997).** Traitements de préservation par la chaleur. In : Introduction à la biochimie et la technologie des aliments. Tec et Doc, Lavoisier, Paris, 419 pages.

**Coffey W. T., Mcgoldrick S. G. et Quinn K. P.** (1988). Inertial effects in the theory of dielectric and Kerr effect relaxation of an assembly of non-interacting polar molecules in strong alternating fields. II: The effect of higher-order terms in the distribution function. *Chemical physics*, 125 (1): 99-118.

**Coppin E.A. et Pike O.A.** (2001). Oil stability index correlated with sensory determination of oxidative stability in light-catalyzed soybean oil. *J. American Oil Chemst. Society*, 78 (1): 13-18.

**Corry J.E.L. et Barnes E.M.** (1968). The heat resistance of *Salmonellae* in egg albumen. *Brit. Poultry Sci.* 9, 253-260.

**Cross G.A. et Fung D.Y.** (1982). The effect of microwaves on nutrient value of foods. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 16 (4): 355-381.

**Dagher S.M.** (1991). Traditional foods in the Near-East. In : *FAO Food and Nutrition paper 50*. FAO, Rome.

**Decareau R.V.** (1985). *Microwaves in the food processing industry*. Florida : Academic Press, Inc.

**Delmotte M., Pinto N. et Berteaud A.J.** (1998). *Mise en œuvre des micro-ondes. Propagation - Propriétés des matériaux - Constitution d'un équipement standard - Expériences types*. 62 pages. Novelect.

**Denis C., Protais J., Corbion B., Picoche B., Colin P. et Lahellec C.** (1995). Thermorésistance de *Salmonella enteritidis* inoculée dans des ovoproduits. Influence de l'activité de l'eau sur la thermorésistance. *Actualités Techniques et Industrielles*.

**Dergham L.** (2003). Influence du traitement thermique sur la destruction de *Salmonella agona* dans la tehineh (pâte de sésame). Thèse pour l'obtention du diplôme de DEA, AUF (France et Liban).

**Doyle J.G. et Mazzotta A.S.** (2000). D and z values of *Salmonella* in ground chicken breast meat. *Journal of Food Safety*, 20 (4):217-223.

**El Adawy T. et Mansour E.H.** (2000). Nutritional and physicochemical evaluations of Tahina (Sesame butter) prepared from heat-treated Sesame seeds. *J. of the Science of Food and Agriculture*, 80: 2005-2011.

**Finot P.A.** (1996). Effets du traitement par les micro-ondes sur la qualité nutritionnelle des aliments. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 31 (4), 239-246.

**Flores L.M.** (1994). Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in refrigerated and low fat ground beef and thermal inactivation in fresh low fat ground beef by microwave energy. Thesis: University of Nebraska. April, 1994.

**Fogel M., Lapoile A. et Mortreux S.** (2004). Optimisation de barèmes d'appertisation de cuisses de canard cuisinées. Polytech'Lille. Document présenté pour l'obtention d'un Master Pro Qualimapa (USTL-Lille).

**Fröhlich H.** (1980). The biological effects of microwaves and related questions. *In : Advances in Electronics and Electron Physics*, 85-152. New York, Academic Press.

**Garaj-Vrhovac V., Fucic A. et Horvat D.** (1992). The correlation between the frequency of micronuclei and specific chromosome aberrations in human lymphocytes exposed to microwave radiation in vitro. *Mutation Res.*, 281, 181-186.

**Germain L, Goulet F., Moulin V., Berthod F. et Auger F. A.** (2001). Engineering Human Tissues for *in Vivo* Applications, 961: 268-270.

**Goldblith S.A. et Wang D.I.C.** (1967). Effect of microwaves on *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. *Applied Microbiol.* 15 (6) 1371-1375.

**Gottschal J.C. et Prins R.A.** (1991). Thermophiles: A life at elevated temperatures. *Trends Ecol. & Evol.* 6 (5): 62-157.

**Gundavarapu S.** (1995). Evaluation of microbiological safety of shrimp cooked in a microwave oven. *Journal of Food Protection* 58 (7): 742-747.

**Guthrie R.K.** (1992). Salmonella. Eds. CRC. Press. Inc. 23-60.

**Hayakawa K.** (1970). Experimental formulas for accurate estimation of transient temperature of food and their application to thermal process evaluation. Food Technology, 24: 1047.

**Heddleson R.A., Doores S., Anantheswaran R.C., Kuhn G.D. et Mast M.G.** (1990). Survival of Salmonella species heated by microwave energy in a liquid menstruum containing food components. J. Food Prot., 54 (8): 637-642.

**Heddleson R.A., Doores S., Anantheswaran R.C. et Kuhn G.D.** (1996). Viability loss of Salmonella species, *Staphylococcus aureus*, and *Listeria monocytogenes* in complex foods heated by microwave energy. J. Food Protection. 59 (8), 813-818.

**Herbert R.A. et Codd G.A.** (1986). Microbes in Extreme Environements. Academic Press, London.

**International Commission on Microbial Specification of Food (ICMF)** (1996). Microorganisms in Foods: Microbial specifications of food pathogens, 5. Ed: Blackie Academic and Professional, 20-35, 126-140, 217-333.

**Johnson L.A., Suleiman T.M. et Lusas E.W.,** (1979). Sesame protein: A review and prospectus. J. Am. Oil Chem. Soc., 56, 463-468.

**Kawar S.H.** (1999). Tehineh and Halaweh-Tehineh processing and quality control. A seminar in Food Technology, dept. of Nutrition and Food Technology, Faculty of Agriculture, University of Jordan, Amman, Jordan.

**Khalil H. et Villota R.** (1989). The effect of microwave sublethal heating on the ribonucleic acids of *Staphilococcus aureus*. J. Food Prot. 52 (8): 181-186.

**Kindle G., BusseA., Kampa D., Meyer-konig U. et Daschner F.D.** (1996). Killing activity of microwaves in milk. J. Hosp. Infect. 33 (4): 273-278.

**Knuston K., Marth E. et Wagner M.** (1987). Microwave heating of food. *Lebensm. Wiss.u Technol.*, 20: 101-110.

**Kozempel M.F., Annous B.A., Cook R.D., Scullen O.J. et Whiting R.C.** (1998). Inactivation of microorganisms with microwaves at reduced temperatures. *J. Food Prot.* 61 (5): 582-585.

**Larousse J.** (1991). La conserve appertisée. Aspects scientifiques techniques et économiques, 868 p. Tec et Doc, Lavoisier.

**Latimer J.M. et Matsen J.M.** (1977). Microwave oven irradiation as a method for bacterial decontamination in a clinical microbiology laboratory. *J. Clin Microbiol.* 6 (4): 340-342.

**Launay B.** (1991). Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. *In* : « Techniques rhéologiques ». Coordinateur Linden G., vol. 2, pp. 183-215. Tec et Doc, Lavoisier, Paris.

**Lee A.C. et Goepfert J.M.** (1975). Influence of selected solutes on thermally induced death and injury of *Salmonella typhimurium*. *J. Milk Food Technol.* 38 : 195-200.

**Lennersten M. et Lingnert H.** (2000). Influence of wavelength and packaging material on lipid oxidation and color changes in low-fat mayonnaise. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 33: 253-260.

**Levêque P.** (1994). Diffraction d'ondes électromagnétiques transitoires par des obstacles en présence de milieux diélectriques à pertes. Thèse de doctorat "Electronique, électrotechnique, optique", Limoges (1994LIM00008).

**Levre E. et Valentini P.** (1998). Inactivation of *Salmonella* during microwave cooking. *Zentralbl Hyg Umweltmed.* 201 (4-5): 431-436.

**Lebanese Institute for Standards and Specifications (LIBNOR), Sin el Fil, GGF bldg.** (2002). Tahineh, 71:1-10.

**Le Meste M., Lorient D. et Simatos D.** (2002). Influence des conditions d'hydratation sur la physiologie des micro-organismes : croissance, survie. In : L'eau dans les aliments. Tec et Doc, Lavoisier, Paris. 315 pages.

**Linder P. et Kinsella J.E.** (1991). Study of the Hydratation Process in Tehina. J. Food Chemistry, 42: 301-319.

**MacLeod R.A.** (1985). Marine microbiology far from the sea. Annual Review of Microbiology 39: 1-20.

**Mafart P.** (1991). Génie Industriel Alimentaire. In : Les procédés physiques de conservation. Tome I. Tec et doc, Lavoisier, Paris, 295 pages.

**Mattick K.L., Jørgensen F., Wang P., Pound J., Vandeven L.R., Ward L.R., Legan J.D., Lappin-Scott et Humphrey T.J.** (2001). Effect of challenge temperature and solute type on heat tolerance of Salmonella serovars at low water activity. Appl. Environ. Microbiol., 67, (9), 4128-4136.

**Mañas P., Pagan R., Leguérinel I., Condon S., Mafart P. et Sala F.** (2001). Effect of sodium chloride concentration on the heat resistance and recovery of *Salmonella typhimurium*. International Journal of Food Microbiology, 63: 209-216.

**Metaxas A.c. et Meredith R.J.** (1983). Industrial microwave heating. Peter Peregrinus LTD, Londres, 514 pages.

**Michelson S.M. et Dodge C.H.** (1971). Soviet views on the biological effects of microwaves. An analysis. Health Physics, (21), 108-11.

**Mitschka P.** (1982). Simple conversion of Brookfield R.V.T. readings into viscosity functions. Rheol. Acta 21: 207-209.

**Mudgett, R.E.** (1986). Microwave properties and heating characteristics of foods. Food Technology 40 6, pp. 84-93

**Mudgett, R.E** (1989). Microwave food processing. Food Technol. 43(1):117.

**Murphy R.Y., Ducan L.K., Berrang M.E., Marcy J.A. et Wolfes R.E.** (2003). Thermal inactivation D-and z-values of Salmonella and Listeria innocua in fully cooked and vacuum packaged chicken breast meat during postcook heat treatment. Poultry Sc, 81:1578-1583.

**Nelson, S.O.** (1973). Electrical properties of agricultural products. A critical review. Transaction of the ASAE. 16(2): 384-400.

**Ng H., Bayne H.G. et Garibaldi J.A.** (1969). The heat resistance of Salmonella: the uniqueness of *Salmonella senftenberg* 775W. Appl. Microbiol., 17: 78-82.

**Osawa T.** (1994). Plant antioxidants: protective role against oxygen radical species. Cosmetics and Toiletries, 109: 77-81.

**Philips G.O., Wedlock D.J. et Williams P.A.** (1983). Gums and Stabilizers for the Food Industry, (2). Eds. Pergamon Press., 57-98, 137-162, 297-378.

**Rosen A. et Rosen H.D.** (1995). New frontiers in medical device technology. New York, John Wiley and sons.

**Rosen A., Stuchly M. et Vander Vorst A.** (2002). Applications of RF/microwaves in medicine. IEEE Trans. Microwave Theory Tech., 50 (3), 963-974.

**Rougier C.** (2003). Etude des interactions entre la bactérie *Escherichia coli* et les micro-ondes appliquées en mode discontinu dans des conditions faiblement thermiques. Thèse soutenue à la Faculté des Sciences et Techniques de l'Université de Limoges.

**Roux, J.-L.** (1994). Conserver les aliments. In : Comparaison des méthodes et des technologies. Tec et Doc, Lavoisier, Paris, 705 pages.

**Rosaspina S., Anzanel D. et Salvatorelli G.** (1993). Microwave sterilization of enterobacteria. Microbios., 76 (309): 263-270.

**Rosaspina S., Salvatorelli G. et Anzanel D.** (1994a). The bactericidal effect of microwaves on *Mycobacterium bovis* dried on scalpel blade. J. Hosp Infect. 26 (1) 45-50.

**Rosaspina S., Salvatorelli G., Anzanel D et Bovolenta R.** (1994 b). Effect of microwave radiation on *Candida albicans*. *Microbios*.78 (314): 55-59.

**Ryynanen S. et Ohlson T.** (1996). Microwave heating uniformity of ready meals as affected by placement, composition and geometry. *J. Food Science*. 61 (3): 620-624.

**Sahin A., Eiley D., Goldfiscger E.R., Stravodimos K.G., Zeren S., Isenberg H.D.et Smith A.D.**(1998). The *in vitro* bactericidal effect of microwave energy on bacteria and yeast. *Biochim. Biophys. Acta*. 148: 781-788.

**Salm-Surv G.** (2005). Un réseau de l'OMS pour la surveillance des maladies d'origine alimentaire. *INFOSAN*, 6. Programme global de l'OMS.

**Salvatorelli g., Marcegetti M.G., Betti V., Rosaspina S. et finzi G.** (1996). Comparison of the effects of microwave radiation and conventional heating on *Bacillus subtilis* spores. *Microbios*. 87: 169-174.

**Sastry S.K.et Palaniappan S.** (1991). The temperature difference between a microorganism and a liquid medium during microwave heating. *J. Food Processing and Preservation*. 15: 225-230.

**Sawaya W., Ayaz M., Khalil J. et Al-Shalhat A.F.** (1985). Chemical composition and nutritional quality of Tehineh (sesame butter). *Food Chemistry*, 18: 35-45.

**Schiffmann R.F.** (1993). Understanding microwave reactions and interactions. *Food Production*. Design April 1993.

**Schiffmann R.F.** (1995). Microwave and dielectric drying, *Handbook of industrial drying*, Mujumdar A.S., Marcel Decker Inc., (1), 345-369.

**Schuman J.D. et Sheldon B.W.** (1997). Thermal resistance of *Salmonella spp.* And *Listeria monocytogenus* in liquid egg yolk and egg white. *J. Food Protection*, 60 : 634, 638.

**Scott W.J.** (1957). Water relations of food spoilage microorganisms. *Adv. Food Res.*, 7:83-127.

**Senhaji A.F. et Loncin M.** (1997). The protective effect of fat on the heat resistance of bacteria. *Journal of Food Technology*, 12:203-216.

**Singh R.P. et Heldman D.R.** (1993). Heat transfer in food processing. In: *Introduction to Food Engineering*. Third edition. Academic Press., 306-314.

**Smith J.L., Benedict R.C. et Palumbo A.** (1982). Protection against heat-injury in *Staphylococcus aureus* by solutes. *J. Food Prot.* 45 : 54-58.

**Stetter K.O.** (1995). Microbial life in hyperthermal environments. *ASM News* 61 (6) : 90-285.

**Stumbo C.R.** (1973). *Thermobacteriology in food processing*, 320p. Academic Press, New York.

**Sumainah G.M., Sims C.A., Bates R.P. et O'keffe S.H.** (2000). Flavor and oxidative stability of peanut-sesame-soy blends. *J. Food Science*, 65: 901-905.

**Solowey M., Sutton R.R. et Calesnick E.J.** (1948). Heat resistance of *Salmonella* organisms isolated from spray-dried whole-egg powder. *Food Technology*, 2:9-14.

**Tajchakavit S. et Ramaswamy H.S.** (1995). Continuous-flow microwave heating of orange juice: Evidence of non-thermal effects. *Journal of Microwave Power*, 30 (3): 141-148.

**Tajchakavit S., Ramaswamy H.S. et Fustier P.** (1998). Enhanced destruction of spoilage microorganisms in apple juice during continuous flow microwave heating. *Food Research International*. 31 (10): 713-722.

**Tamplin M.** (1997). *Salmonella*. *Food and Environmental sanitation*, 17 (5):2-18.

- Taylor L.S.** (1981). The mechanisms of athermal microwave biological effects. *Bioelectromagnetics*. 2 (3): 259-267.
- Terrones A.** (1990). Sesame, safflower seek new impetus in Mexico. *Inform.*, 1: 701-704.
- Thuery J.** (1989a). Effets biologiques et applications médicales, technique et documentation *Dans : Les micro-ondes et leurs effets sur la matière*, pp. 337-338, 2ème édition, Lavoisier - France.
- Thuery J.** (1989 b). Effets biologiques et applications médicales, technique et documentation *Dans : Les micro-ondes et leurs effets sur la matière*, pp. 4-6, 2ème édition, Lavoisier - France.
- Vander Vorst A.** (1993). Microwave bioelectromagnetics in Europe. *Proc. MTT Symp.* Atlanta, 1137-1140.
- Vander Vorst A.** (1997). Biological effects. *Proc. Workshop II, Eur. Microwave Conf.*, Jerusalem, pp. 1-13, Septembre 1997.
- Vander Vorst A.** (2003). La protection contre les rayonnements des radiofréquences et des micro-ondes. *BTS Newsletter*, (21), 12-17.
- Varnam A.H. et Evans M.G.** (1991). *Foodborne Pathogens: An Illustrated-text*. Eds. Wolf Publishing Ltd., 51-86, 101-128, 267-288.
- Veisseyre R.** (1975). *Technologie du lait. Constitution, récolte, traitement et transformation du lait*.
- Vela G.R. et Wu J.F.** (1979). Mechanism of lethal action of 2.450-MHz radiation on microorganism. *Appl. Environ. Microbiol.* 37 (3): 550-553.
- Villamiel M., Lopez-Fandino R., Corzo N. Martinez-Castro I. et Olano A.** (1996). Effects of continuous flow microwave treatment on chemical and microbiological characteristics of milk. *Z. Lebensm Unters. Forch.* 202 (1):15-18.

**Winter A.R., Stewart G.F., McFarlane V.H. et Solowey M.** (1946). Pasteurization of liquid egg products III. Destruction of Salmonella in liquid whole egg. *Am. J. Public Health*, 36:451-460.

**Witter L.D. et Anderson C.B.** (1987). Osmoregulation by microorganisms at reduced water activity. In : Montvill TJ. *Food Microbiol.*, CRC Press, Boca Raton, 1:2-34.

**Woo I.S., Rhee I.K. et Park H.D.** (2000). Differential damage in bacteria cells by microwave radiation on the basis of cell wall structure. *Appl. Environ. Microbiol.* 66 (5): 2243-1147.

**Wu Q.** (1996) effect of high-power microwave on indicator bacteria for sterilization. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 43 (7): 752-754.

**Yen G.C.** (1991). Thermal stability of Sesame/Soybean oil blends. *Food Chemistry*, 41: 355-360.

**Yen G.C. et Shyu S.L.** (1989). Oxidative stability of Sesame oil prepared from Sesame seed with different roasting temperatures. *Food Chemistry*, 31: 215-224.

**Yoshida H., Shigezaki J., Takagi S. et Kajimoto G.** (1995). Variation in the composition of various acyl lipids, tocopherols and lignans in sesame seed oils roasted in a microwave oven. *J. Food Agriculture*, 68: 407-415.

**Yoshida H. et Kajimoto G.** (1994). Microwave heating affects composition and oxidative stability of Sesame (*Sesamum indicum*) oil. *J. Food Science*, 59: 613-616.

**Zakkour W.** (2004). Thèse: "Adulteration and microbial contamination of Tehineh". Présenté à l'Université Américaine de Beyrouth pour l'obtention du diplôme de « Master of Science ».

**Zhang H., Datta A.K., Taub I. et Doona C.** (1999). Experimental and numerical investigation of microwave sterilization of solid foods. Accepted pending version in *AIChE Journal*.

# **ANNEXES**

**Annexe 1:** Table de Mitschka: Simple conversion of Brookfield R.V.T. readings into viscosity functions

## Simple conversion of Brookfield R.V.T. readings into viscosity functions

P. Mitschka

Institute of Chemical Process Fundamentals, Czechoslovak Academy of Sciences, Prague

**Key words:** Viscosity function, conversion procedure, Brookfield R.V.T. viscometer

In the introduction to his book on industrial applications of rheometry, Walters [1] states, that "the Brookfield device is very easy to use, but the interpretation of the experimental results in terms of  $(\tau, \dot{\gamma})$  data (viscosity functions) is far from straightforward". Despite recent research in this field the conversion procedure remains difficult as the treatment of the primary torque-speed data to obtain viscometric shear stress - shear rate relations, requires sophisticated computations [2, 3]. The approximate approach, mentioned in [3], suffers from the absence of concrete numerical values for use in the conversion of the primary readings into their viscometric counterparts.

The aim of this note is to draw attention to our results in this field, which have led to a relatively simple procedure enabling one to realize the above mentioned conversion with an accuracy sufficient for engineering applications of the viscosity functions. This procedure is based on theoretical studies of rotational flow of rheologically complex materials around bodies with simple geometry in basic viscometric configurations [4-8]. The rheometrical applications of these studies rely on a few empirical rules [9], which make it possible to obtain concrete results [9-11] for realistic axisymmetrical systems of the "rotating spindle - sample container" type, such as the configurations of the measuring sections used in the immersional Brookfield R.V.T. viscometer.

Our treatment of the primary readings from Brookfield viscometers is as follows:

- 1) As many pairs of values as possible of the scale deflection  $a_i$  on the torque dial (in scale units of the 0-100 scale) are taken with one, or preferably several, spindles for fixed values of the rotational speed  $N_i$  (in rpm).
- 2) Values of  $a_i$  are converted to the (average) shear stresses  $\tau_i$  (in Pa) on each of the spindles used by

$$\tau_i = k_{av} a_i \quad (1)$$

- 3) Pairs of  $\tau_i - N_i$  valid for each particular spindle are plotted in the log-log form.
- 4a) When this dependence is sufficiently close to a linear one, the fluid under test is of the power-law type. The slope of the  $\log \tau_i - \log N_i$  dependence in this case is simply equal to the flow index of the fluid,  $n$ .

Using values of  $k_{av}(n)$  for this flow index and the particular spindle, the corresponding (average) values of the shear rates  $\dot{\gamma}_i$  (in  $s^{-1}$ ) are then calculated as

$$\dot{\gamma}_i = k_{av}(n) N_i \quad (2a)$$

- 4b) When it is not possible to approximate the  $\log \tau_i - \log N_i$  dependence with sufficient accuracy by a straight line, a smooth curve is drawn through the individual points. From the slopes of this curve at the points, corresponding to the rotational speeds used for the particular spindle, the local values of the apparent flow index  $n_i^* = n_i^*(N_i)$  are determined by

$$n_i^* = d(\log \tau) / d(\log N) |_{N=N_i} \quad (3)$$

The rotational speeds used in the measurements are then converted to the shear rates using

$$\dot{\gamma}_i = k_{av}(n_i^*) N_i \quad (2b)$$

- 5) The relevant pairs  $\tau_i - \dot{\gamma}_i$  are now assumed to be the points of the viscosity function of the fluid sample tested.
- 6) It is advisable to check that the experiments were carried out within the creeping flow regime, where the relations given above hold and where secondary (elastic or time-dependent) effects on the measured torque are usually negligible. For measurements with several spindles, a simple check of the model adequacy is also recommended. Details of both these tests can be found in [7, 11].

The conversion factors  $k_{av}$  and  $k_{av}(n)$ , occurring in eqs. (1), (2a) and (2b) are summarized in table 1, for spindles of the Brookfield R.V.T. model. The methods used to obtain these numerical values are described elsewhere; namely in the monograph [8] and the manual [12].

A verification of the proposed conversion procedure has been undertaken in this Laboratory by comparing the viscosity functions evaluated from measurements on viscometers of the Brookfield type with results, determined on a commercial Couette-type viscometer (Rheotest II, Prüfgerätekwerk Medingen, GDR). Comparison of results of such

Table 1. Conversion factors for the spindles of the Brookfield R.V.T. viscometer (under standard measuring conditions)

Spindle number	1	2	3	4	5	6	7
$k_{sp}$	0.611	0.119	0.279	0.139	1.05	2.15	0.4
$n = 0.1$	1.728	1.475	1.457	1.482	1.346	1.366	1.936
0.2	0.907	0.870	0.882	0.892	0.907	0.831	1.007
0.3	0.705	0.676	0.676	0.678	0.663	0.629	0.691
0.4	0.576	0.551	0.530	0.528	0.528	0.518	0.513
0.5	0.499	0.458	0.449	0.445	0.442	0.421	0.413
$k_{sp}$	0.4	0.449	0.408	0.392	0.382	0.343	0.346
0.7	0.404	0.365	0.350	0.343	0.338	0.331	0.297
0.8	0.387	0.354	0.317	0.310	0.304	0.286	0.289
0.9	0.367	0.330	0.291	0.283	0.276	0.260	0.232
1.0	0.350	0.291	0.250	0.262	0.254	0.234	0.209

measurements made with CNC solutions of different concentration, with some emulsions from styrene polymerization and with synthetic rubber latexes has proved [20] that the accuracy of the proposed procedure for converting data from immersional viscometers of the Brookfield type into viscosity functions is comparable with usual viscometric techniques. The same conclusion has also been reached on the basis of experiments with an extremely pseudoplastic 20% aqueous latex suspension and with a concentrated 3% aqueous solution of Polysar, known to be a strongly elastic liquid [21].

The applicability of this method can further be demonstrated by the results of the evaluation of two recently published data sets of other authors, obtained on a Brookfield R.V.T. viscometer. The first set are the data from the Waves Spring Laboratory (WSL) research report [13], the author of which was not able to arrange the data into the form of a viscosity function, primarily because of the lack of a suitable conversion procedure. The comparison of the Brookfield data [13] with those obtained by the use of other classical viscometers tested has remained open. As can be

seen from Figure 1, Cheng's data [13], evaluated using our procedure, agree reasonable well with his viscosity function of the model fluid used.

In Figure 2 some results of the complex computations made by Williams [2] are compared with the results of our considerably simpler conversion method. Satisfactory agreement of the results from both these methods can also be observed here.

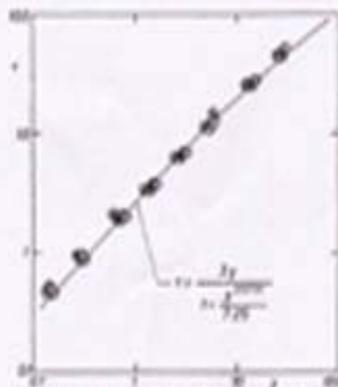


Fig. 1. Comparison of the WSL data [13] evaluated by the procedure proposed in this work (filled circles, with different sizes, for each spindle) with the flow curve (bold line) given by Cheng

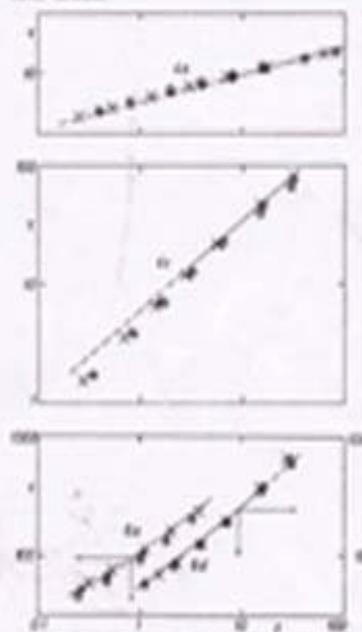


Fig. 2. Comparison of some data sets from [2] evaluated by the proposed conversion procedure (filled circles) with Williams' computer results (crosses) and with his flow curves (bold lines). The numbering of the liquids is identical with that in figure 4 and 6 in [2]

## References

1. Walters, K. (ed.), *Rheometry: Industrial Applications* (Research Studies Press, Chichester 1980).
2. Williams, R. W., *Rheol. Acta* **18**, 345 (1979).
3. Cizmek, Y., R. W. Williams, *Rheol. Acta* **19**, 488 (1980).
4. Wein, O., *Coll. Czech. Chem. Commun.* **41**, 978 (1976).
5. Wein, O., *J. Non-Newtonian Fluid Mech.* **1**, 357 (1976).
6. Wein, O., *Rheol. Acta* **16**, 248 (1977).
7. Mitschka, P., O. Wein, K. Wichterle, in: C. Klason, J. Kubat (eds.), *Proc. VII<sup>th</sup> Intern. Congress Rheology*, p. 266 (Gothenburg, Sweden 1976).
8. Wein, O., P. Mitschka, K. Wichterle, *Rotational Flows of Non-Newtonian Liquids*. Published (in Czech) as Studie No. 5 by Academia, Publishing House of the Czechoslovak Academy of Sciences (Prague 1981).
9. Wichterle, K., P. Mitschka, *Chem. průmysl* **26**, 342 (1976).
10. Wichterle, K., L. Prokepec, *Chem. průmysl* **27**, 462 (1977).
11. Wein, O., *Chem. průmysl* **30**, 110 (1980).
12. Wein, O., P. Mitschka, K. Wichterle, *Inversion of rotational viscometry. A course manual*, published (in Czech) in Edice MACRON-1 by the Institute of Macromolecular Chemistry, Czechoslovak Academy of Sciences (Prague 1977).
13. Cheng, D. C.-H., *Warren Sperry Lab. Research Rep.*, No. LR 282 (M.H.), (Stevenson 1978).

(Received January 8, 1982)

## Author's address:

Dr. Pavel Mitschka  
Institute of Chemical Process Fundamentals  
Czechoslovak Academy of Sciences  
CS-16502 Praha 6-Suchbát  
(Czechoslovakia)

**Annexe 2 : Analyse de variance de l'indice  
d'écoulement de la crème de sésame selon la loi  
plastique.**

Analysis of Variance for indice d'écoulement pour loi plastique- Type III Sums of Squares

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
-----					
MAIN EFFECTS					
A:PW	0.185505	4	0.0463761	45.21	0.0000
B:Temp	0.0748009	3	0.0249336	24.31	0.0000
INTERACTIONS					
AB	0.0639654	12	0.00533045	5.20	0.0006
RESIDUAL	0.0205153	20	0.00102576		
-----					
TOTAL (CORRECTED)	0.344786	39			
-----					

All F-ratios are based on the residual mean square error.

The StatAdvisor

-----  
 The ANOVA table decomposes the variability of plastecoul into contributions due to various factors. Since Type III sums of squares (the default) have been chosen, the contribution of each factor is measured having removed the effects of all other factors. The P-values test the statistical significance of each of the factors. Since 3 P-values are less than 0.05, these factors have a statistically significant effect on plastecoul at the 95.0% confidence level.

**Interprétation**

La table ANOVA décompose la variabilité de l'écoulement plastique en des contributions à raison de plusieurs facteurs. Comme la somme des carrés type III est choisie, la contribution de chaque facteur (Ps et T) est mesurée comme s'il agit seul et qu'on a enlevé l'effet d'autres facteurs.

Avec 3 valeurs de P inférieures à 0,05 ces facteurs présentent alors un effet significatif sur l'écoulement plastique avec 95% de seuil de confiance.

**Annexe 3 : Gamme multiple de tests de l'indice d'écoulement en fonction de la puissance spécifique.**

Multiple Range Tests for indice d'écoulement en fonction de la puissance PW

```

-----
Method: 95.0 percent LSD
PW          Count      LS Mean      Homogeneous Groups
-----
12          8          0.47305      X
5           8          0.521179     X
7.5        8          0.619872     X
15         8          0.625066     X
20         8          0.648551     X
-----
Contrast                Difference      +/- Limits
-----
5 - 7.5                  *-0.0986933    0.0334042
5 - 12                   *0.0481285    0.0334042
5 - 15                   *-0.103888    0.0334042
5 - 20                   *-0.127373    0.0334042
7.5 - 12                 *0.146822    0.0334042
7.5 - 15                 -0.00519463   0.0334042
7.5 - 20                 -0.0286793    0.0334042
12 - 15                  *-0.152016    0.0334042
12 - 20                  *-0.175501    0.0334042
15 - 20                  -0.0234846    0.0334042
-----
* denotes a statistically significant difference.

```

The StatAdvisor

-----

This table applies a multiple comparison procedure to determine which means are significantly different from which others. The bottom half of the output shows the estimated difference between each pair of means. An asterisk has been placed next to 7 pairs, indicating that these pairs show statistically significant differences at the 95.0% confidence level. At the top of the page, 3 homogenous groups are identified using columns of X's. Within each column, the levels containing X's form a group of means within which there are no statistically significant differences. The method currently being used to discriminate among the means is Fisher's least significant difference (LSD) procedure. With this method, there is a 5.0% risk of calling each pair of means significantly different when the actual difference equals 0.

**Interpétation**

Ce tableau montre une procédure de comparaison multiple afin de déterminer quelle moyenne (moyenne des indices d'écoulement) est différente de l'autre. La deuxième partie du tableau illustre la différence estimée entre chaque paire de moyenne. Un astérisque est placé à côté de 7 paires indiquant que ces paires montrent des différences significatives avec 95,0 % de seuil de confiance.

Dans la première partie du tableau, on remarque la présence de 3 groupes homogènes qui ne présentent pas de différences significatives.

La méthode est utilisée pour discriminer entre les moyennes est le test de Fisher (à moins de différences significatives). Selon cette méthode, il y a un risque de 5,0% de dire que chaque paire de moyenne est significativement différente de l'autre lorsque la différence actuelle est de 0.

**Annexe 4 : Gamme multiple de tests de l'indice  
d'écoulement en fonction de la température.**

Multiple Range Tests pour indice d'écoulement du modèle plastique  
 en fonction de la température Temp

```

-----
Method: 95.0 percent LSD
Temp          Count      LS Mean      Homogeneous Groups
-----
T5            10         0.513668      X
T4            10         0.579622      X
T3            10         0.581182      X
T2            10         0.635703      X
-----
Contrast                                Difference      +/- Limits
-----
T2 - T3                                *0.0545209     0.0298776
T2 - T4                                *0.0560809     0.0298776
T2 - T5                                *0.122034      0.0298776
T3 - T4                                0.00156        0.0298776
T3 - T5                                *0.0675135     0.0298776
T4 - T5                                *0.0659535     0.0298776
-----
  
```

\* denotes a statistically significant difference.

The StatAdvisor

```

-----
This table applies a multiple comparison procedure to determine
which means are significantly different from which others. The bottom
half of the output shows the estimated difference between each pair of
means. An asterisk has been placed next to 5 pairs, indicating that
these pairs show statistically significant differences at the 95.0%
confidence level. At the top of the page, 3 homogenous groups are
identified using columns of X's. Within each column, the levels
containing X's form a group of means within which there are no
statistically significant differences. The method currently being
used to discriminate among the means is Fisher's least significant
difference (LSD) procedure. With this method, there is a 5.0% risk of
calling each pair of means significantly different when the actual
difference equals 0.
  
```

### **Interprétation**

Ce tableau montre une procédure de comparaison multiple afin de déterminer quelle moyenne (moyenne des indices d'écoulement) est différente de l'autre. La deuxième partie du tableau illustre la différence estimée entre chaque paire de moyenne. Un astérisque est placé à côté de 5 paires indiquant que ces paires montrent des différences significatives avec 95,0 % de seuil de confiance.

Dans la première partie du tableau, on remarque la présence de 3 groupes homogènes qui ne présentent pas de différences significatives.

La méthode est utilisée pour discriminer entre les moyennes est le test de Fisher (à moins de différences significatives). Selon cette méthode, il y a un risque de 5,0% de dire que chaque paire de moyenne est significativement différente de l'autre lorsque la différence actuelle est de 0.

**Annexe 5 : Analyse de variance du seuil  $\tau_0$ .**

Analysis of Variance for t0seuil				- Type III Sums	
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:PW	8.77222	4	2.19305	49.53	0.0001
B:Temp	0.853041	3	0.284347	6.42	0.0012
INTERACTIONS					
AB	1.63293	12	0.136078	3.07	0.0012
RESIDUAL	0.885587	20	0.0442793		
-----					
TOTAL (CORRECTED)	12.1438	39			
-----					

All F-ratios are based on the residual mean square error.

The StatAdvisor

The ANOVA table decomposes the variability of t0seuil into contributions due to various factors. Since Type III sums of squares (the default) have been chosen, the contribution of each factor is measured having removed the effects of all other factors. The P-values test the statistical significance of each of the factors. Since 3 P-values are less than 0.05, these factors have a statistically significant effect on t0seuil at the 95.0% confidence level.

### **Interprétation**

Le tableau ANOVA décompose la variabilité du seuil  $\tau_0$  en des contributions à raison de plusieurs facteurs. Comme la somme des carrés type III est choisie, la contribution de chaque facteur (Ps et T) est mesurée comme si chaque facteur est seul et qu'on a enlevé l'effet d'autres facteurs.

Les valeurs de P étudient la signification statistique de chaque facteur. Comme les 3 valeurs de P sont inférieures à 0,05 ces facteurs présentent donc un effet significatif sur  $\tau_0$  avec 95,0 % de seuil de confiance.

**Annexe 6 : Gamme multiple de tests du seuil  $\tau_0$  en fonction de la puissance spécifique.**

Multiple Range Tests for t0seuil by PW

```

-----
Method: 95.0 percent LSD
PW          Count    LS Mean    Homogeneous Groups
-----
5           8         0.936307    X
12          8         1.36736    X
7.5         8         1.88916    X
15          8         2.05692    XX
20          8         2.19011    X
-----
Contrast                Difference    +/- Limits
-----
5 - 7.5                *-0.952848    0.219472
5 - 12                 *-0.431054    0.219472
5 - 15                 *-1.12061     0.219472
5 - 20                 *-1.2538      0.219472
7.5 - 12              *0.521794     0.219472
7.5 - 15              -0.167763     0.219472
7.5 - 20              *-0.300952     0.219472
12 - 15               *-0.689557     0.219472
12 - 20               *-0.822746     0.219472
15 - 20               -0.133189     0.219472
-----

```

\* denotes a statistically significant difference.

The StatAdvisor

```

-----
This table applies a multiple comparison procedure to determine
which means are significantly different from which others. The bottom
half of the output shows the estimated difference between each pair of
means. An asterisk has been placed next to 8 pairs, indicating that
these pairs show statistically significant differences at the 95.0%
confidence level. At the top of the page, 4 homogenous groups are
identified using columns of X's. Within each column, the levels
containing X's form a group of means within which there are no
statistically significant differences. The method currently being
used to discriminate among the means is Fisher's least significant
difference (LSD) procedure. With this method, there is a 5.0% risk of
calling each pair of means significantly different when the actual
difference equals 0.

```

**Interprétation**

Ce tableau montre une procédure de comparaison multiple afin de déterminer quelle moyenne (moyenne du seuil d'écoulement) est différente de l'autre. La deuxième partie du tableau illustre la différence estimée entre chaque paire de moyenne. Un astérisque est placé à côté de 8 paires indiquant que ces paires montrent des différences significatives avec 95,0 % de seuil de confiance.

Dans la première partie du tableau, on remarque la présence de 4 groupes homogènes qui ne présentent pas de différences significatives.

La méthode est utilisée pour discriminer entre les moyennes est le test de Fisher (à moins de différences significatives). Selon cette méthode, il y a un risque de 5,0% de dire que chaque paire de moyenne est significativement différente de l'autre lorsque la différence actuelle est de 0.

**Annexe 7 : Gamme multiple de tests du seuil  $\tau_0$  en fonction de la température.**

Multiple Range Tests for t0seuil by Temp

```

-----
Method: 95.0 percent LSD
Temp          Count      LS Mean      Homogeneous Groups
-----
T5             10         1.44629      X
T3             10         1.7247       X
T4             10         1.74277      X
T2             10         1.83812      X
-----
Contrast                Difference      +/- Limits
-----
T2 - T3                  0.113417      0.196301
T2 - T4                  0.0953467     0.196301
T2 - T5                  *0.391824     0.196301
T3 - T4                 -0.0180704    0.196301
T3 - T5                  *0.278407     0.196301
T4 - T5                  *0.296477     0.196301
-----

```

\* denotes a statistically significant difference.

The StatAdvisor

```

-----
This table applies a multiple comparison procedure to determine
which means are significantly different from which others. The bottom
half of the output shows the estimated difference between each pair of
means. An asterisk has been placed next to 3 pairs, indicating that
these pairs show statistically significant differences at the 95.0%
confidence level. At the top of the page, 2 homogenous groups are
identified using columns of X's. Within each column, the levels
containing X's form a group of means within which there are no
statistically significant differences. The method currently being
used to discriminate among the means is Fisher's least significant
difference (LSD) procedure. With this method, there is a 5.0% risk of
calling each pair of means significantly different when the actual
difference equals 0.

```

**Interprétation**

Ce tableau montre une procédure de comparaison multiple afin de déterminer quelle moyenne (moyenne du seuil d'écoulement) est différente de l'autre. La deuxième partie du tableau illustre la différence estimée entre chaque paire de moyenne. Un astérisque est placé à côté de 3 paires indiquant que ces paires montrent des différences significatives avec 95,0 % de seuil de confiance.

Dans la première partie du tableau, on remarque la présence de 2 groupes homogènes qui ne présentent pas de différences significatives.

La méthode est utilisée pour discriminer entre les moyennes est le test de Fisher (à moins de différences significatives). Selon cette méthode, il y a un risque de 5,0% de dire que chaque paire de moyenne est significativement différente de l'autre lorsque la différence actuelle est de 0.

**Annexe 8.** Gamme multiple de tests de l'indice de consistance en fonction de la température selon le modèle plastique

Multiple Range Tests for indice de consistance model plastique fonct. de la Temp

Method: 95.0 percent LSD

Temp	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
T3	10	5.6141	X
T2	10	5.63832	X
T4	10	5.63838	X
T5	10	5.97586	X

Contrast	Difference	+/- Limits
T2 - T3	0.0242178	0.235795
T2 - T4	-0.0000651	0.235795
T2 - T5	*-0.33754	0.235795
T3 - T4	-0.0242829	0.235795
T3 - T5	*-0.361758	0.235795
T4 - T5	*-0.337475	0.235795

\* denotes a statistically significant difference.

The StatAdvisor

This table applies a multiple comparison procedure to determine which means are significantly different from which others. The bottom half of the output shows the estimated difference between each pair of means. An asterisk has been placed next to 3 pairs, indicating that these pairs show statistically significant differences at the 95.0% confidence level. At the top of the page, 2 homogenous groups are identified using columns of X's. Within each column, the levels containing X's form a group of means within which there are no statistically significant differences. The method currently being used to discriminate among the means is Fisher's least significant difference (LSD) procedure. With this method, there is a 5.0% risk of calling each pair of means significantly different when the actual difference equals 0.

## **Interprétation**

Ce tableau montre une procédure de comparaison multiple afin de déterminer quelle moyenne (moyenne des indices de consistance) est différente de l'autre. La deuxième partie du tableau illustre la différence estimée entre chaque paire de moyenne. Un astérisque est placé à côté de 3 paires indiquant que ces paires montrent des différences significatives avec 95,0 % de seuil de confiance.

Dans la première partie du tableau, on remarque la présence de 2 groupes homogènes qui ne présentent pas de différences significatives.

La méthode est utilisée pour discriminer entre les moyennes est le test de Fisher (à moins de différences significatives). Selon cette méthode, il y a un risque de 5,0% de dire que chaque paire de moyenne est significativement différente de l'autre lorsque la différence actuelle est de 0.

**Annexe 9.** Gamme multiple de tests de l'indice de consistance en fonction de la puissance spécifique selon le modèle plastique

Method: 95.0 percent LSD

PW	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
7.5	8	5.19712	X
12	8	5.48325	X
15	8	5.53141	X
5	8	6.1051	X
20	8	6.26644	X

Contrast	Difference	+/- Limits
5 - 7.5	*0.907976	0.263627
5 - 12	*0.621847	0.263627
5 - 15	*0.573689	0.263627
5 - 20	-0.161346	0.263627
7.5 - 12	*-0.28613	0.263627
7.5 - 15	*-0.334287	0.263627
7.5 - 20	*-1.06932	0.263627
12 - 15	-0.0481573	0.263627
12 - 20	*-0.783193	0.263627
15 - 20	*-0.735035	0.263627

\* denotes a statistically significant difference.

The StatAdvisor

This table applies a multiple comparison procedure to determine which means are significantly different from which others. The bottom half of the output shows the estimated difference between each pair of means. An asterisk has been placed next to 8 pairs, indicating that these pairs show statistically significant differences at the 95.0% confidence level. At the top of the page, 3 homogenous groups are identified using columns of X's. Within each column, the levels containing X's form a group of means within which there are no statistically significant differences. The method currently being used to discriminate among the means is Fisher's least significant difference (LSD) procedure. With this method, there is a 5.0% risk of calling each pair of means significantly different when the actual difference equals 0.

### **Interprétation**

Ce tableau montre une procédure de comparaison multiple afin de déterminer quelle moyenne (moyenne des indices de consistance) est différente de l'autre. La deuxième partie du tableau illustre la différence estimée entre chaque paire de moyenne. Un astérisque est placé à côté de 8 paires indiquant que ces paires montrent des différences significatives avec 95,0 % de seuil de confiance.

Dans la première partie du tableau, on remarque la présence de 3 groupes homogènes qui ne présentent pas de différences significatives.

La méthode est utilisée pour discriminer entre les moyennes est le test de Fisher (à moins de différences significatives). Selon cette méthode, il y a un risque de 5,0% de dire que chaque paire de moyenne est significativement différente de l'autre lorsque la différence actuelle est de 0.

**Annexes 10 : Analyse de variance de l'écart  $\Delta E$ .**

## Variance Components Analysis

Dependent variable: DE

Factors:

P

T

Number of complete cases: 60

Analysis of Variance for DE

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	Var. Comp.	Percent
TOTAL (CORRECTED)	166.038	59			
P	153.304	4	38.3259	3.12362	91.71
T	12.6363	15	0.842419	0.279987	8.22
ERROR	0.0983255	40	0.00245814	0.00245814	0.07

The StatAdvisor

The analysis of variance table shown here divides the variance of DE into 2 components, one for each factor. Each factor after the first is nested in the one above. The goal of such an analysis is usually to estimate the amount of variability contributed by each of the factors, called the variance components. In this case, the factor contributing the most variance is P. Its contribution represents 91.7076% of the total variation in DE.

### **Interprétation**

L'analyse de variance montre que la variance de  $\Delta E$  est divisée en 2 composantes, un pour chaque facteur (Ps et T). Le but de cette analyse est d'estimer le pourcentage de variabilité contribué par chaque facteur. On l'appelle composantes de la variance.

Dans notre cas, le facteur Puissance (P) contribue le plus : 91,7076 % de la totale variation de  $\Delta E$ .

**Annexes 11:** Analyse de la Somme des carrés sur  
l'écart  $\Delta E$ .

Analysis of Variance for DE - Type III Sums of Squares

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:P	153.304	4	38.3259	15591.44	0.0000
B:T	11.2681	3	3.75603	1528.00	0.0000
INTERACTIONS					
AB	1.36821	12	0.114017	46.38	0.0000
RESIDUAL	0.0983255	40	0.00245814		
TOTAL (CORRECTED)	166.038	59			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

The StatAdvisor

The ANOVA table decomposes the variability of DE into contributions due to various factors. Since Type III sums of squares (the default) have been chosen, the contribution of each factor is measured having removed the effects of all other factors. The P-values test the statistical significance of each of the factors. Since 3 P-values are less than 0.05, these factors have a statistically significant effect on DE at the 95.0% confidence level.

**Interprétation**

Le test ANOVA décompose la variabilité de  $\Delta E$  en des contributions à raison de plusieurs facteurs (Ps et T). Comme la somme des carrés est choisie, la contribution de chaque facteur est mesurée comme si chaque facteur est seul et qu'on a enlevé l'effet d'autres facteurs.

Les valeurs de P testent la signification statistique de chaque facteur. Comme 3 valeurs de P sont inférieures à 0,05 ces facteurs présentent donc un effet significatif sur  $\Delta E$  avec 95,0 % de seuil de confiance.

**Annexes 12:** Gamme multiple de tests de  $\Delta E$  en fonction de la température.

Multiple Range Tests for DE by T

-----  
 Method: 95.0 percent LSD

T	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
48	15	4.57347	X
50	15	4.86465	X
55	15	5.24266	X
60	15	5.73108	X

Contrast	Difference	+/- Limits
48 - 50	*-0.291185	0.0365895
48 - 55	*-0.669188	0.0365895
48 - 60	*-1.15762	0.0365895
50 - 55	*-0.378003	0.0365895
50 - 60	*-0.86643	0.0365895
55 - 60	*-0.488427	0.0365895

-----  
 \* denotes a statistically significant difference.

The StatAdvisor

-----  
 This table applies a multiple comparison procedure to determine which means are significantly different from which others. The bottom half of the output shows the estimated difference between each pair of means. An asterisk has been placed next to 6 pairs, indicating that these pairs show statistically significant differences at the 95.0% confidence level. At the top of the page, 4 homogenous groups are identified using columns of X's. Within each column, the levels containing X's form a group of means within which there are no statistically significant differences. The method currently being used to discriminate among the means is Fisher's least significant difference (LSD) procedure. With this method, there is a 5.0% risk of calling each pair of means significantly different when the actual difference equals 0.

**Interprétation**

Ce tableau montre une procédure de comparaison multiple afin de déterminer quelle moyenne (moyenne des écarts  $\Delta E$ ) est différente de l'autre. La deuxième partie du tableau illustre la différence estimée entre chaque paire de moyenne. Un astérisque est placé à côté de 6 paires indiquant que ces paires montrent des différences significatives avec 95,0 % de seuil de confiance.

Dans la première partie du tableau, on remarque la présence de 4 groupes homogènes qui ne présentent pas de différences significatives.

La méthode est utilisée pour discriminer entre les moyennes est le test de Fisher (à moins de différences significatives). Selon cette méthode, il y a un risque de 5,0% de dire que chaque paire de moyenne est significativement différente de l'autre lorsque la différence actuelle est de 0.

**Annexes 13:** Gamme multiple de tests de  $\Delta E$  en fonction de la puissance spécifique.

Multiple Range Tests for DE by P

```

-----
Method: 95.0 percent LSD
P          Count      LS Mean      Homogeneous Groups
-----
20         12         2.91667      X
15         12         4.07219      X
12         12         5.0989       X
7.5        12         5.77943      X
5          12         7.64763      X
-----
Contrast          Difference          +/- Limits
-----
5 - 7.5           *1.8682           0.0409082
5 - 12            *2.54873          0.0409082
5 - 15            *3.57544          0.0409082
5 - 20            *4.73095          0.0409082
7.5 - 12          *0.680529         0.0409082
7.5 - 15          *1.70724          0.0409082
7.5 - 20          *2.86276          0.0409082
12 - 15           *1.02672          0.0409082
12 - 20           *2.18223          0.0409082
15 - 20           *1.15551          0.0409082
-----

```

\* denotes a statistically significant difference.

The StatAdvisor

```

-----
This table applies a multiple comparison procedure to determine
which means are significantly different from which others. The bottom
half of the output shows the estimated difference between each pair of
means. An asterisk has been placed next to 10 pairs, indicating that
these pairs show statistically significant differences at the 95.0%
confidence level. At the top of the page, 5 homogenous groups are
identified using columns of X's. Within each column, the levels
containing X's form a group of means within which there are no
statistically significant differences. The method currently being
used to discriminate among the means is Fisher's least significant
difference (LSD) procedure. With this method, there is a 5.0% risk of
calling each pair of means significantly different when the actual
difference equals 0.

```

**Interprétation**

Ce tableau montre une procédure de comparaison multiple afin de déterminer quelle moyenne (moyenne des écarts  $\Delta E$ ) est différente de l'autre. La deuxième partie du tableau illustre la différence estimée entre chaque paire de moyenne. Un astérisque est placé à côté de 10 paires indiquant que ces paires montrent des différences significatives avec 95,0 % de seuil de confiance.

Dans la première partie du tableau, on remarque la présence de 5 groupes homogènes qui ne présentent pas de différences significatives.

La méthode est utilisée pour discriminer entre les moyennes est le test de Fisher (à moins de différences significatives). Selon cette méthode, il y a un risque de 5,0% de dire que chaque paire de moyenne est significativement différente de l'autre lorsque la différence actuelle est de 0.

**Annexes 14:** Gamme multiple de tests de  $\Delta C$  en fonction de la puissance spécifique.

Multiple Range Tests for DC by P

```

-----
Method: 95.0 percent LSD
P          Count    LS Mean          Homogeneous Groups
-----
20          12        1.78689           X
15          12        2.70664           X
12          12        2.85748           X
7.5         12        3.02823           X
5           12        3.87503           X
-----
Contrast          Difference          +/- Limits
-----
5 - 7.5           *0.846805          0.0488985
5 - 12            *1.01755           0.0488985
5 - 15            *1.16839           0.0488985
5 - 20            *2.08814           0.0488985
7.5 - 12          *0.170745          0.0488985
7.5 - 15          *0.321587          0.0488985
7.5 - 20          *1.24134           0.0488985
12 - 15           *0.150842          0.0488985
12 - 20           *1.07059           0.0488985
15 - 20           *0.919751          0.0488985
-----

```

\* denotes a statistically significant difference.

The StatAdvisor

-----

This table applies a multiple comparison procedure to determine which means are significantly different from which others. The bottom half of the output shows the estimated difference between each pair of means. An asterisk has been placed next to 10 pairs, indicating that these pairs show statistically significant differences at the 95.0% confidence level. At the top of the page, 5 homogenous groups are identified using columns of X's. Within each column, the levels containing X's form a group of means within which there are no statistically significant differences. The method currently being used to discriminate among the means is Fisher's least significant difference (LSD) procedure. With this method, there is a 5.0% risk of calling each pair of means significantly different when the actual difference equals 0.

**Interprétation**

Ce tableau montre une procédure de comparaison multiple afin de déterminer quelle moyenne (moyenne des écarts  $\Delta C$ ) est différente de l'autre. La deuxième partie du tableau illustre la différence estimée entre chaque paire de moyenne. Un astérisque est placé à côté de 10 paires indiquant que ces paires montrent des différences significatives avec 95,0 % de seuil de confiance.

Dans la première partie du tableau, on remarque la présence de 5 groupes homogènes qui ne présentent pas de différences significatives.

La méthode est utilisée pour discriminer entre les moyennes est le test de Fisher (à moins de différences significatives). Selon cette méthode, il y a un risque de 5,0% de dire que chaque paire de moyenne est significativement différente de l'autre lorsque la différence actuelle est de 0.

**Annexes 15:** Gamme multiple de tests de  $\Delta C$  en fonction de la température.

Multiple Range Tests for DC by T

-----  
 Method: 95.0 percent LSD

T	Count	LS Mean	Homogeneous Groups
48	15	2.46472	X
50	15	2.75617	X
55	15	2.98468	X
60	15	3.19786	X

Contrast	Difference	+/- Limits
48 - 50	*-0.291454	0.0437362
48 - 55	*-0.519959	0.0437362
48 - 60	*-0.733141	0.0437362
50 - 55	*-0.228504	0.0437362
50 - 60	*-0.441687	0.0437362
55 - 60	*-0.213183	0.0437362

-----  
 \* denotes a statistically significant difference.

The StatAdvisor

-----  
 This table applies a multiple comparison procedure to determine which means are significantly different from which others. The bottom half of the output shows the estimated difference between each pair of means. An asterisk has been placed next to 6 pairs, indicating that these pairs show statistically significant differences at the 95.0% confidence level. At the top of the page, 4 homogenous groups are identified using columns of X's. Within each column, the levels containing X's form a group of means within which there are no statistically significant differences. The method currently being used to discriminate among the means is Fisher's least significant difference (LSD) procedure. With this method, there is a 5.0% risk of calling each pair of means significantly different when the actual difference equals 0.

**Interprétation**

Ce tableau montre une procédure de comparaison multiple afin de déterminer quelle moyenne (moyenne des écarts ΔC) est différente de l'autre. La deuxième partie du tableau illustre la différence estimée entre chaque paire de moyenne. Un astérisque est placé à côté de 6 paires indiquant que ces paires montrent des différences significatives avec 95,0 % de seuil de confiance.

Dans la première partie du tableau, on remarque la présence de 4 groupes homogènes qui ne présentent pas de différences significatives.

La méthode est utilisée pour discriminer entre les moyennes est le test de Fisher (à moins de différences significatives). Selon cette méthode, il y a un risque de 5,0% de dire que chaque paire de moyenne est significativement différente de l'autre lorsque la différence actuelle est de 0.

## **Annexes 16:** Analyse de la somme des carrés sur $\Delta C$

Analysis of Variance for DC - Type III Sums of Squares

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
-----					
MAIN EFFECTS					
A:P	26.7992	4	6.69979	1907.59	0.0000
B:T	4.4458	3	1.48193	421.94	0.0000
INTERACTIONS					
AB	0.41421	12	0.0345175	9.83	0.0000
RESIDUAL	0.140487	40	0.00351217		
-----					
TOTAL (CORRECTED)	31.7997	59			
-----					

All F-ratios are based on the residual mean square error.

The StatAdvisor

-----

The ANOVA table decomposes the variability of DC into contributions due to various factors. Since Type III sums of squares (the default) have been chosen, the contribution of each factor is measured having removed the effects of all other factors. The P-values test the statistical significance of each of the factors. Since 3 P-values are less than 0.05, these factors have a statistically significant effect on DC at the 95.0% confidence level.

### **Interprétation**

Le test ANOVA décompose la variabilité de  $\Delta C$  en des contributions à raison de plusieurs facteurs (Ps et T). Comme la somme des carrés est choisie, la contribution de chaque facteur est mesurée comme si chaque facteur est seul et qu'on a enlevé l'effet d'autres facteurs. Les valeurs de P testent la signification statistique de chaque facteur. Comme 3 valeurs de P sont inférieures à 0,05 ces facteurs présentent donc un effet significatif sur  $\Delta C$  avec 95,0 % de seuil de confiance.

**Annexe 17 :** “Determination and comparison of D and z values for  
*Salmonella enterica* in the sesame cream and NaCl solution.”

## Determination and comparison of D and z values for *Salmonella enterica* in the sesame cream and NaCl solution.

L.Hanna<sup>a\*</sup>, J.C. Laguerre<sup>b\*</sup>, A. Bassal<sup>c</sup>, A. Duquenoy<sup>d</sup>.

<sup>a</sup> Department of Food Technology, Faculty of Agricultural Sciences, The Holy Spirit University (USEK), Jounieh, Lebanon, B.P. 446; Tel: 0096170121070; E-mail:laraehanna@hotmail.com

<sup>b</sup> Department of Agro-industrial Sciences and Technology (STAI), Institut Supérieur d'Agriculture de Beauvais (ISAB), 19 rue Pierre Waguët, 60026 Beauvais Cedex, France; Tel: 0033344067597; E-mail:jclaudelaguerre@lasalle-beauvais.fr

<sup>c</sup> Department of Food Technology, Lebanese Agriculture Research Institute (LARI), Fanar, Lebanon, B.P 90-1965; Tel: 009613849076; E-mail:abassal@thisiscyberia.com

<sup>d</sup> Department of Food Engineering (GLA), Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaires (ENSLA), 1 Av. Des Olympiades, 91744 Massy Cedex, France; Tel: 0033169935074; E-mail:albert.duquenoy@agroparistech.fr.

Received (in Kingston, CANADA) 20th January 2008, Accepted 14th February 2008

### Abstract

The thermal inactivation of *Salmonella enterica* in media of different water activities (Sodium chloride solution at  $a_w = 0.99$  and sesame cream at  $a_w = 0.49$ ) has been investigated. Cultures were heated in 2ml screw cap vials in a water bath at 55, 57, 59, and 61°C. Temperatures, measured by a thermocouple centrally installed in a pilot vial, were monitored every 5s. Over the temperature range studied (55 to 61°C) the survival curves follow a first order kinetic. The adjusted D-values ranged from 4.84 to 0.46 min for *S. enterica* in sodium chloride at 55 and 61°C, respectively and from 7.28min to 0.87 min for the same specie in the sesame cream at 55 and 61°C respectively. As for the z-values, they were 5.87 and 6.51°C for NaCl solution and sesame cream respectively. Within the range of temperatures, at the  $a_w$  used and the composition of products used in this study, we showed that the *Salmonella* specie has a strong heat tolerance against several heat treatment and that the  $a_w$  has an influence on the heat treatment of food.

### Introduction

*Salmonella enterica* is a human pathogen responsible for one of the most frequent food borne diseases. In France, it represented, in 1989, about 61% of food-poisoning outbreaks and during the last decades, the number of food poisoning outbreaks in which different *Salmonella enterica* serotypes were involved has increased in industrialized countries (Tauxe, 1991).

Salmonellosis can be fatal and the cost associated with infection can be very high (Mattick *et al.*, 2001). It has been estimated that each case of salmonellosis in the United Kingdom costs approximately £ 600 (\$ 1.000) on average, through costs to the health service, direct costs to patients, and lost employment (Wheeler, Cowden, Sethi, Wall, Rodrigues, & Tompkins, 1991).

A variety of foods have been implicated as vehicles of *Salmonella* infection including meat, poultry, milk, ice cream, cheese, eggs and egg products, chocolate and spices (D'Aoust, 1989). Heat treatment is a critical control point in the safe preparation of many foods in order to avoid such contamination from insufficient processing. Cooking or reheating is often contributing factors in food-poisoning outbreaks (Blackburn, Curtis, Humpheson, Bilton & McClure, 1997; D'Aoust, 1989). There have been many studies on the heat resistance of *Salmonella* in

foods and laboratory media. In some cases the relationship between the physicochemical properties of the heating medium, such as water activity  $a_w$  and pH (Baird-Parker, Boothroyd & Jones, 1970) and the heat resistance of *Salmonella* has been investigated. In addition, some large international outbreaks have been associated with foods that have a low water activity (Killalea *et al.*, 1996; Shohat *et al.*, 1996; Mattick, Jorgensen, F., Legan, J.D., Lappin-Scott, H.M. & Humphrey, 2000). It has been shown that heat resistance of *Salmonella*, as that of other bacterial species, can be increased if cells are heated in low- $a_w$  media (Manas, Leguérinel, Condon, Mafart & Sala, 2001) by adding chloride (Cotterill & Glauert, 1969; Palumbo, Beers, Bhaduri & Palumbo, 1995) or in other products like sausages, ham and sesame cream. The presence of *Salmonella* cells in low- $a_w$  foods raises specific issues for food safety.

Outbreak investigations indicate that only a very few *Salmonella* cells may be required to cause disease when consumed in low- $a_w$  foods (Greenwood & Hooper, 1983; Rowe *et al.*, 1987). In addition, it is well known that cells in a medium at low  $a_w$  are more heat tolerant than those in a higher  $a_w$  one (Kirby & Davis, 1990; Sumner, Sandros, Harmon, Scott & Bernard, 1991).

The purpose of this work is to evaluate the destruction of *Salmonella enterica* by conventional heat

treatment in a low  $a_w$  product, such as sesame cream to that of its destruction in a higher  $a_w$  one, such as NaCl solution (0.9% v/v).

### Materials and methods

#### Raw materials

##### Sesame cream

The sesame cream ("El Wadi el Akhdar" trade mark) used in our experimentation was bought on the Lebanese market. It is the result of the milling of dehulled and roasted sesame seeds. Briefly, the dehulled sesame seeds are cleaned, sieved, washed in hot water (approximately 50°C), dried and roasted (80 to 90°C) by hot air. They are then ground to a viscous oily paste: sesame cream (Kotzekidou, 1998; Abu-Jdayil, Al Malah & Asoud, 2002). This cream has a high nutritive value, for it is rich in lipids, proteins and carbohydrates (Table1).

**Table1. Physicochemical properties of sesame cream**

Parameters	Values
Lipids	57-65 wt. (%)
Proteins	23-27 wt. (%)
Carbohydrates	6.4-9 wt. (%)
Niacin	4.5 mg/100g
Thiamin	1.08 mg/100g
Phosphorous	807-840 mg/100g
Iron	9 mg/100g
Water content	1.56 % *
Water activity ( $a_w$ )	0.49 *

(Pellet & Shadavevian, 1970; Sawaya, Ayaz, Khalil, & Shalhat, 1985; Kawar, 1990).

\*Tested by the author at the laboratory of the Superior Institute of Agriculture, Beauvais. The water content is determined by using an oven (at 105°C for 24h) and the  $a_w$  is tested using the  $a_w$ -meter (GBX, Scientific Instruments).

##### NaCl solution

NaCl solution at 0.9 % (v/v) was prepared in order to test the viability of Salmonella in a different  $a_w$  media than sesame cream.

#### Bacterial culture

The *Salmonella enterica arizonae* used in this study was supplied by the Pasteur Institute (culture

Collection CIP: 82.30, Lille). The freeze-dried bacteria were hydrated in 2 ml of sterile water, 1 ml of which was added to 9 ml of Trypticase Soya Broth (TSB) (Scharlau Microbiology S.A., Barcelona, Spain). One millilitre of this subculture was plated in a Petri dish and incubated at 30°C for 18 hours for enumeration.

Erlenmeyer flasks (250 ml) with 100 ml of TSB were each inoculated with one single colony from the Petri dish. The flasks were then incubated for 18 h at 30 ± 1°C.

The enumeration was performed by serial 1/10 dilutions of the cultures with NaCl (0.9%, Sigma –Aldrich, Steinheim, Germany) and by plating 1 ml of the solutions on Plated Count Agar (PCA, Dickinson and Company Sparks, Le Pont de Claix, France). Colonies were counted only from plates the counts of which were in the range of 30-300 CFU/ml. Then, using the dilution factors, the microbial concentrations were computed. The microbial population of these cultures was enumerated by counting colony-forming units (CFU) using the surface spread-plate technique.

#### Sample inoculation

##### NaCl and Sesame cream inoculation

After 18 h the cells were harvested by centrifugation (Eppendorf 5810 R, Germany) at 10°C (4000 rpm) and pellets were resuspended in 5 ml of NaCl (0.9 % (v/v) and then added to 150 ml of the products (NaCl and sesame cream) for a final concentration in the range of 10<sup>8</sup>CFU/ml.

##### Conventional batch thermal treatment

Two millilitre aliquots of contaminated products, NaCl or sesame cream, were dispensed into vials using a 1 ml syringe (Codan Medical Aps., DK-4970, CE). These screw cap vials (Supelco, 2 ml; 32 x 11.5 mm clear glass) and the syringe were previously sterilized by autoclaving.

The vials were manually submerged, first, in a water bath (Polystat 22, Bioblock Scientific, France) at 90°C for about 5s then transposed to another water bath (Salvis AG, CH-6015 Reussbühl) regulated at the desired holding temperature (55, 57, 59 and 61°C). We were limited by the use of this range of temperatures because the sesame cream was burned beyond 61°C. In fact, the use of these two water bathes aimed at assuring a fast rise in temperature of the product before it reached the holding phase at stable temperature. By this treatment we intended to compute D values directly from the holding phase duration. The application of this temperatures intended to a post-process decontamination because the contamination of sesame cream appears to be a result of a cross-contamination during the manufacturing process (Brockmann, Piechotowski and Kimming, 2004).

For the treated cell suspension, at each challenge temperature, vials were removed at several moments of treatment (Table 2 and 3).

**Table 2. Sampling of inoculates from the water bath as a function of temperature in NaCl solution (0.9 %).**

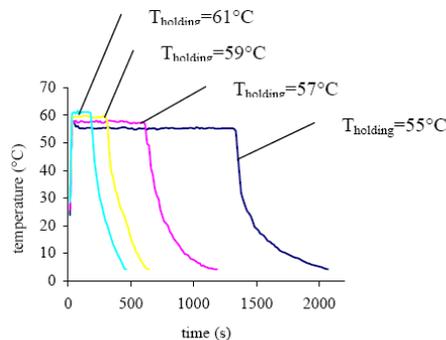
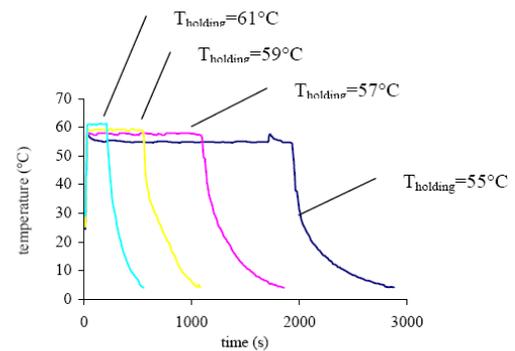
T(°C)	moments of removal (s)							
55	180	360	540	720	900	1080	1220	1320
57	45	90	135	180	225	270	360	480
59	30	60	90	120	150	180	240	300
61	10	20	30	40	50	120	180	

**Table 3. Sampling of inoculates from the water bath as a function of temperature in the sesame cream.**

T(°C)	moments of removal (s)									
55	180	360	540	720	900	1080	1320	1620	1920	
57	45	90	135	180	225	270	360	600	900	1080
59	30	60	90	120	150	180	300	420	540	
61	10	20	30	40	50	90	150	210		

As soon as removed from the hot bath, vials were cooled in an ice-water (0°C) until their temperature reached 4°C. This operation lasted about 10s. Serial dilutions were then made with sterile 0.9 % (v/v) of NaCl. Viable-cell populations were enumerated by duplicate plating of 1 ml of appropriate dilutions on PCA. Plates were incubated at  $30 \pm 1^\circ\text{C}$  for 48 h before CFU counts.

The temperatures (Figs. 1 and 2) were collected every 5s throughout the thermal destruction phase using a T-type thermocouple 0.4 mm in diameter (FISO Technology Inc.) pinned through the middle of the cap, with its end located at the center of the pilot vial and attached to a data-logger.

**Figure 1.** Temperature profile of the inoculated NaCl solution treated in water baths at the four holding temperatures.**Figure 2.** Temperature profile of the inoculated sesame cream treated in water baths at the four holding temperatures.

### Data analysis

#### Experimental values

Thermal destruction experiments were performed in triplicate. During each trial measurements were done three times and samples were removed and analyzed at each sampling time. Surviving Salmonella populations (number of CFU per millilitre) were expressed in decimal logarithm numbers of CFU per millilitre for data analyses. The decimal reduction time at each temperature (*D value*) was given by the slope of the decimal logarithm of survivor versus time curve. Then  $\text{Log}_{10} D$  values were plotted versus the corresponding temperatures, and *z* value was obtained from its slope.

#### Corrected values

For the above computations, the come-up time (CUT) and the come-down time (CDT) were considered parts of the holding time. Even though these times were very short compared to the holding time, we chose to take into account the temperature evolution measured at the centre of the pilot vial (see figures 1 and 2). For this purpose, we modified the Tajchakavit and Ramaswamy (1997) method to calculate more accurate *D* and *z* values by using the following equation:

$$\log_{10} \frac{N_0}{N} = \frac{\int_0^t 10^{\frac{T-T_{ref}}{z}} dt}{D_{T_{ref}}}$$

where T = effective temperature of the pilot vial (°C);  
 T<sub>ref</sub> = reference temperature (°C) (bath temperature);  
 N = number of CFU/ml at the required temperature  
 N<sub>0</sub> = number of CFU/ml before treatment  
 D<sub>T<sub>ref</sub></sub> = time to destroy 90% of the population at the reference temperature (s)  
 z = temperature sensitivity value (°C).

In our study, we have chosen 61°C as the reference temperature in order to adjust D and z-values. D<sub>61</sub> and z were chosen so as to minimize the sum of the squared difference between the experimental and computed N<sub>0</sub>/N values.

**Results and Discussions**

Over the temperature range studied (55 to 61°C) the shapes of the survival curves follow a first order kinetic (Figs. 3 and 4).

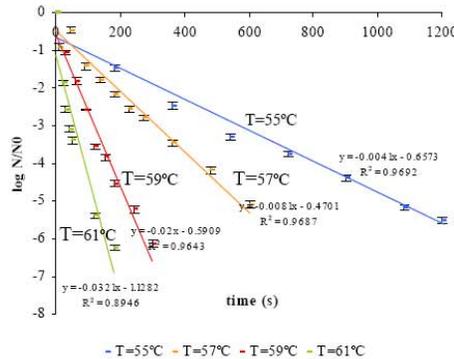


Figure 3. Survival curves of *S. enterica arizonae* treated in the NaCl solution at different temperatures.

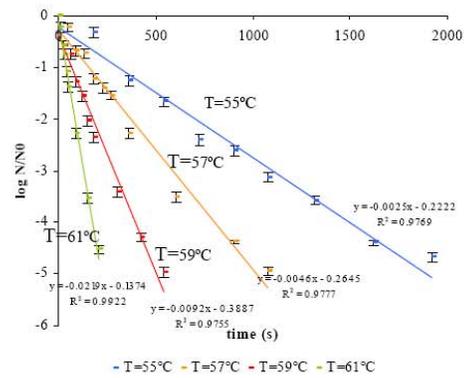


Figure 4. Survival curves of *S. enterica arizonae* treated in the sesame cream at different temperatures.

As can be observed, we used N/N<sub>0</sub> instead of N alone because the N<sub>0</sub> values were not the same for each treatment.

D and z values neglecting the temperature fluctuations during the water bath

Notwithstanding the above comment, we have fitted straight lines to the survival curves to obtain D values. The decimal reduction times decreased as the challenged temperature increased from 55 to 61°C for Salmonella grown in NaCl solution and sesame cream (Table 4).

Table 4. Decimal reduction time and z values for Salmonella grown in different a<sub>w</sub> media.

Media treated	D values (min) at challenge temperature (°C)				z value (°C)
	55	57	59	61	
Sesame cream	6.67 (0.98)*	3.62 (0.98)	1.81 (0.98)	0.76 (0.99)	6.39 (0.99)
NaCl	4.07 (0.97)	2.06 (0.97)	0.83 (0.96)	0.52 (0.89)	6.51 (0.99)

\* The values in parentheses are the coefficients of determination r<sup>2</sup> of the straight lines.

Temperature sensitivity of D-values of *Salmonella enterica* in NaCl solution and sesame cream are shown in Figure 5 and 6.

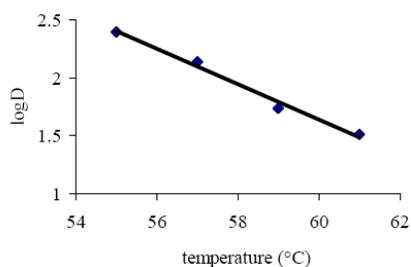


Figure 5. Temperature sensitivity curve of *S. enterica* in NaCl solution.

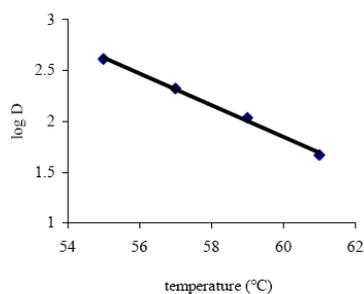


Figure 6. Temperature sensitivity curve of *S. enterica* in sesame cream.

As shown on Table 4, the  $a_w$  of the heating medium seems to have a strong influence on the heat resistance of the *Salmonella enterica*. The D values at  $a_w = 0.99$  (NaCl) were lower than those observed at  $a_w = 0.49$  (sesame cream).

The *S. enterica arizonae* grown in the sesame cream ( $a_w = 0.49$ ), rich in lipids, showed an increase in heat resistance than this *Salmonella* grown in NaCl solution ( $a_w = 0.99$ ). This effect of lipids on bacterial thermo tolerance has previously been reported by Senhaji and Loncin (1977) for *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens*. They suggested that the protective effect of oil is attributable to lowered water activity in the oil. Moreover, Baird-Parker, Boothroyd and Jones (1970) reported a decrease in heat resistance for certain *Salmonella* strains from  $a_w = 1$  to  $a_w = 0.94$ . Most published reports indicate that the heat tolerance of *Salmonella* increases as the  $a_w$  decreases (Mattick et al., 2001; Kirby & Davis, 1990; Sumner, Sandros, Harmon, Scott & Bernard, 1991).

Corrected results

Table 5 shows the difference between D and z values obtained using our method.

Table 5. D and z values of *Salmonella enterica* grown in two media and treated in a water bath.

T (°C)	D values (min)			
	NaCl (0.9%)		sesame cream	
	Uncorrected	Corrected	Uncorrected	Corrected
55	4.07	4.84	6.67	7.28
57	2.09	2.21	3.62	3.59
59	0.83	1.01	1.81	1.77
61	0.52	0.46	0.76	0.87
z (°C)	6.51	5.87	6.39	6.51

There are some noticeable differences between the corrected and the uncorrected results (Figs. 7 and 8), while the holding time was often large.

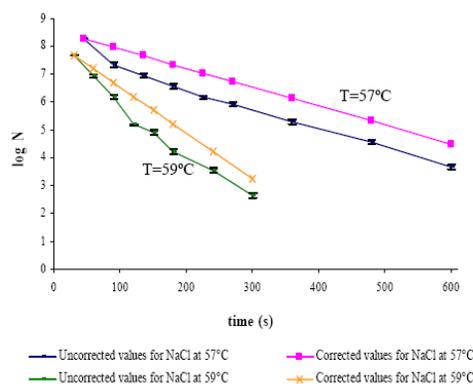
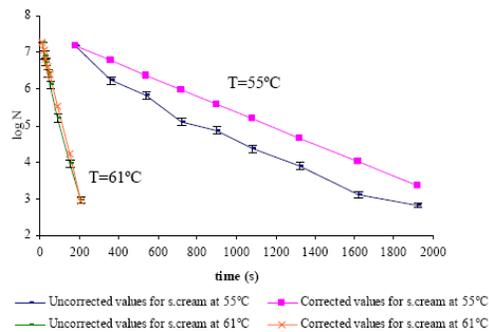


Figure 7. Survival curves of *S. enterica* in NaCl solution at 57 and 59°C showing uncorrected and corrected N values.



**Figure 8.** Survival curves of *S. enterica* in sesame cream at 55 and 61°C showing uncorrected and corrected N values.

On the other hand, the low value of  $z$  means that the thermal death time is strongly affected by variations in the water-bath temperature around the challenge value. The results, all together, lead to the same conclusion as above concerning the influence of  $a_w$  on  $D$  values.

Other factors, such as strain variability and differences in cell physiology and biochemistry, may also influence heat resistance, but up to now their effects have not been quantified. They were mainly constant during our experiments.

## Conclusions

The application of a water bath treatment for the destruction of *Salmonella enterica* in NaCl solution (0.9%) and in the sesame cream of  $a_w$  on the destruction kinetics of *S. enterica* was explored. A typical first-order reaction, showing the linear destruction rate on a logarithmic plot of survivors versus times, was obtained in both cases. *Salmonella enterica* appeared to be more heat tolerant in the sesame cream with a lower  $a_w$  than in the NaCl solution because of the protective effect of lipids present in this product.

Within the range of temperatures and the  $a_w$  used in this study, the water activity showed an influence on the heat treatment of food.

## Acknowledgement

The authors wish to thank the departments of Sciences and Food Technology (STAI) and Microbiology of the Superior Institute of Agriculture of Beauvais, the Lebanese Agriculture Research Institute (LARI) and the Food technology laboratories of the Holy Spirit University of Kaslik (USEK).

## Notes and references

- 1 Abu Jdayil, B., Al Malah, K. & Asoud, H., Rheological characterization of milled sesame (tehneh). *Food Hydrocolloids*, 2002, **16**, 55-61.
- 2 Baird-Parker, A.C., Boothroyd, M. & Jones, E, The effect of water activity on the heat resistance of heat sensitive and heat resistant strains of *Salmonellae*. *Journal of Applied Bacteriology*, 1970, **33**, 515-522.
- 3 Blackburn, C.W., Curtis, L.M., Humpheson, L., Bildon, C. & McClure, P.J., Development of thermal inactivation models for *Salmonella enteritidis* and *Escherichia coli* O157:H7 with temperature, pH and NaCl as controlling factors. *International Journal of Food Microbiology*, 1997, **38**, 31-44.
- 4 Brockmann, S.O., Piechotowski, I. and Kimmig, P., *Salmonella* in sesame seed products. *Journal of Food Protection*, 2004, **67** (1), 178-180.
- 5 Cotterill, O.J. & Glauert, J., Thermal resistance of *Salmonella* in egg yolk products containing sugar or salt. *Poultry Science*, 1969, **48**: 1156-1166.
- 6 D'Aoust, J.Y., *Salmonella*. In: *Foodborne Bacterial Pathogens*, (M.P. Doyle ed.), Marcel Dekker, New York. 1989, 327-445
- 7 Greenwood, M.H. & Hooper, W.L., Chocolate bars contaminated with *Salmonella napoli*: infectivity study. *British Medical Journal*, 1983, 286:1394.
- 8 Kawar, S.H., Tehneh and Halaweh-Tehneh processing and quality control. *A seminar in Food Technology, dept. of Nutrition and Food Technology*, Faculty of Agriculture, University of Jordan, Amman, Jordan, 1999.
- 9 Killalea, D., Ward, L.R., Roberts, D., De Louvois, J., Sufi, F., Stuart, J.M., Wall, P.G., Susman, M., Schweiger, M., Sanderson, P.J., Fisher, I.S.T., Mead, P.S., Gill, O.N., Barlett, C.L.R. & Rowe, B., International epidemiological and microbiological study of outbreak of *Salmonella agona* infection from a ready to eat savoury snack. I. England and Wales and the United States. *British Medical Journal*, 1996, **313**:1105-1107.
- 10 Kirby, R.M. & Davis, R., Survival of dehydrated cells of *Salmonella typhimurium* LT2 at high temperatures. *Journal of Applied Bacteriology*, 1990, **68**: 241-246.
- 11 Kotzekidou, P., Microbial stability and fate of *Salmonella Enteritidis* in Halwa, a low-moisture confection. *Journal of Food Protection*, 1998, **61**, (2): 181-185.

- 12 Manas, P., Pagan, R., Leguérinel, I., Condon, S., Mafart, P. & Sala, F., Effect of sodium chloride concentration on the heat resistance and recovery of *Salmonella typhimurium*. *International Journal of Food Microbiology*, 2001, **63**, 209-216.
- 13 Mattick, K.L., Jorgensen, F., Legan, J.D., Lappin-Scott, H.M. & Humphrey, T.J., Habituation of *Salmonella* spp. At reduced water activity and its effect on the heat tolerance. *Applied Environmental Microbiology*, 2000, **66** (11), 4921-4925.
- 14 Mattick, K.L., Jorgensen, F., Wang, P., Pound, T., Vandeven, M.H., Ward, L.R., Legan, J.D., Lappin-Scott, H.M. & Humphrey, T.J., Effect of challenge temperature and solute type on the heat tolerance of *Salmonella* Serovars at low water activity. *Applied Environmental Microbiology*, 2001, **67** (9), 4128-4136.
- 15 Palumbo, M.S., Beers, S.M., Bhaduri, S. & Palumbo, S.A. Thermal resistance of *Salmonella* spp and *Listeria monocytogenes* in liquid egg yolk and yolk products. *Journal of Food Protection*, 1995, **58** (9), 960-966.
- 16 Pellet, P.L. & Shadarevian, S. Food composition tables for use in the Middle East (2<sup>nd</sup> edition). Beirut, Lebanon: American University of Beirut, Heidelberg Press., 1970.
- 17 Rowe, B., Bergg, N.T., Hutchinson, D.N., Dawkins, H.C., Gilbert, R.J., Jacob, M., Hales, B.H., Rae, F.A. & Jepson, M., *Salmonella* ealing infections associated with consumption of infant dried milk. *Lancet ii*, 1987, 900-903.
- 18 Sawaya, W.N., Ayaz, M., Khalil, J.K. & Shalhat, A.F., Chemical composition and nutritional quality of tehineh (sesame butter). *Food Chemistry*, 1985, **18**, 35-45.
- 19 Senhaji, A.F. & Loncin, M., The protective effect of fat on the heat resistance of bacteria. *Journal of Food Technology*, 1997, **12**, 203-216.
- 20 Shohat, T., Green, M.S., Meron, D., Gill, O.N., Reisfeld, A., Matas, A., Blau, D., Gal, 226N. & Slater, P.E., International epidemiological and microbiological study of outbreak of *Salmonella agona* infection from ready to eat savoury snack. II. Israel. *British Medical Journal*, 1996, **313**, 1107-1109.
- 21 Sumner, S.S., Sandros, T.M., Harmon, M.C., Scott, V.N. & Bernard, D.T., Heat resistance of *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes* in sucrose solutions of various water activities. *Journal of Food Science*, 1991, **56**, 1741-1743.
- 22 Tajchakavit, S. & Ramaswamy, H.S., Continuous-flow microwave inactivation kinetics of pectin methylesterase in orange juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 1997, **21**, 365-378.
- 23 Tauxe, R.V., *Salmonella*: a postmodern pathogen. *Journal of Food Protection*, 1991, **57** (7), 563- 568.
- 24 Wheeler, J.G., Cowden, J.M., Sethi, D., Wall, P.G., Rodrigues, L.C. & Tompkins, D.S., Study of infectious intestinal disease in England: rates in the community, presenting to GPs, and reported to national surveillance. *British Medical Journal*, 1999, **318**, 104-1050.