

### République Algérienne Démocratique et Populaire



#### Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université des Sciences et de la Technologie

D'Oran Mohamed Boudiaf

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biotechnologies

Polycopié du cours

# METHODES D'ANALYSES BIOLOGIQUES

## DESTINE AUX ETUDIANTS (LICENCE MASTER DOCTORAT) EN NUTRITION ALIMENTAIRES ET PATHOLOGIES

Réalisé par :

Dr BENYAHIA-MOSTEFAOUI AICHA

**Année: 2021** 

#### **PREAMBULE**

Toutes les méthodes d'analyse donnent des résultats présentant un certain degré d'incertitude, qui doit être pris en compte lorsqu'on choisit la méthode à utiliser à une fin particulière. Cette incertitude peut avoir des incidences importantes lorsqu'une concentration donnée d'une substance constitue un niveau d'intervention.

Les méthodes de caractérisation et d'analyse sont indispensables pour vérifier la composition des produits (chimique, pharmaceutique, agro-alimentaire, eau, etc.) et des matériaux. «Techniques d'analyse» permet de connaître les possibilités et les limites de chacune, les instruments utilisés et de faire un choix judicieux face à un problème donné.

On doit connaître les caractéristiques de performance "interne" d'une méthode analytique pendant la période considérée lorsqu'on l'utilise sur des substances à analyser. Toute méthode analytique utilisée sur des substances à analyser doit être appliquée de manière cohérente et accompagnée de procédures de contrôle de la qualité.

Une analyse utilisant une méthode sur des substances à analyser doit avoir fait la preuve de sa compétence en la matière pendant la période considérée. Il doit y avoir des preuves documentaires que chacun de ces principes est observé.

Le client et l'analyste doivent être bien d'accord sur la manière dont les données doivent être utilisées si l'analyste doit produire des résultats de "qualité" (c'est-à-dire aptes à leur emploi). Le choix de la méthode d'analyse doit tenir compte de la nature des résultats recherchés.

Ce polycopié représente le programme qui est destiné aux étudiants licence-master-doctorat (LMD) en nutrition alimentaire et pathologique en unité d'enseignement découverte selon le nouveau CANEVAS. Il a été conçu dans le souci d'en faire un document assez riche pour donner à l'étudiant les notions de base lui permettant de comprendre les Méthodes et Techniques d'Analyses Biologiques 1 (MTAB1) et vise à former des professionnels capables de mettre en œuvre les techniques d'analyses courantes et récentes, de participer à des développements analytiques nouveaux et de s'adapter à l'évolution des métiers de l'analyse.

### Table des matières

### **Chapitre I : Méthodes de fractionnement**

II- Propriétés induisant le fractionnement	1
III- Espèces à fractionner	1
A- La Filtration	1
I- Principe	1
II- Équipement: Les filtres	2
II-1- Filtre nutsche	2
II-2- Filtre presse	2
II-3-Filtre à manches	3
II-4-Filtre en profondeur	3
II-5-Efficacité absolue	3
II-6- Le papier filtre	4
III-Méthodes de filtration	5
III-1- La filtration Classique	5
III-2- La filtration Sous vide	6
III-3- La filtration sous pression	6
III-4- La filtration gravidique	7
IV- Ultrafiltration	7
IV-1- En médecine	8
IV-2- Dans l'industrie agroalimentaire	8
B- La dialyse	9
I- Introduction	9
II- Les mécanismes impliqués dans la dialyse : la diffusion et l'ultra-filtration	10
II-1 La diffusion	10
II-2- L'ultra filtration	11
II-3- Eau pour hémodialyse	11
II-3-1- Principe de fonctionnement du traitement d'eau	11
II-3-1-1- Méthode de filtration	11
II-3-1-2- Méthode d'échange d'ions (adoucisseur) (Fig.14)	11
II-3-1-3- les dés ionisateur ou l'osmoseur	12
III- Electrodialyse	12
III-1- Membranes électrodialyse	13

III-2- Electrodialyse	14
IV- RESULTATS	16
IV-1- Dessalement des eaux saumâtres	16
IV-2- Traitement des sous-produits de l'industrie laitière	16
C- La centrifugation	17
I- Définition	17
II-Principe de Base	18
III- MÉTHODES ET APPAREILLAGE	20
III-1- Rotors	20
III-1-1- Les rotors à angle fixe ("fixed angle")	21
III-1-2- Les rotors à godets mobiles ("swinging buckets")	21
III-1-3- Les rotors à godets verticaux	22
III-2- Les types de centrifugeuses	22
III-2-1- Centrifugeuses de table	23
III-2-2- Centrifugeuses au sol	23
III-2-3- Ultracentrifugeuses	23
III-2-4- Microcentrifugeuses	23
III-2-5- Ultracentrifugeuses analytiques	23
III-3- Types de séparation par force centrifuge	24
III-3-1- Centrifugation différentielle	24
III-3-2- Centrifugation par gradient de densité	25
IV- Différences entre la centrifugation différentielle et à gradient de densité	25
Chapitre II : Techniques de conservation	
I- INTRODUCTION	27
I-1- Conservation des matières agricoles, des produits alimentaires intermédiaires et c	des aliments
	28
I-2- Procédés traditionnels	28
I-3- Coup de projecteur sur les altérations des aliments	29
I-4- Généralités sur les modes de conservation	30
I-4-1- Physiques	
I-4-2- Chimiques	30
II- LA CONSERVATION PAR SECHAGE	30
III- LA CONSERVATION PAR LA DESHYDRATATION	30
III-1- Les avantages de la déshydratation	31

III-2- Les inconvénients de la déshydratation	31
IV-LA CONSERVATION PAR LA LYOPHILISATION	32
IV-1- Les avantages de la lyophilisation	32
IV-2- Les inconvénients de la lyophilisation	32
IV-3- La nature des collections	32
V- La conservations par le sel, la fumée, le sucre, l'alcool et l'acide, mais aussi le gras	33
V-1- Le sel, le salpêtre, les nitrites	33
V-2- La fumée	34
V-3- La conservation par le sucre	34
V-4- La conservation par l'alcool	34
V-5- La conservation par le gras	34
VI- La conservation par la chaleur	35
VI-1- La stérilisation	35
VI-2- La pasteurisation	35
VI-3- L'appertisation	36
VII- La conservation par le froid	36
VII-1- La réfrigération	36
VII-2- La congélation	37
VII-3- La surgélation	38
VII-4- Conservation de quelques denrées	38
VII-4-1-Viande	38
VII-4-2-Poisson	39
VII-4-3-Fruits	39
VII-4-4-Les légumes	39
VIII- Les agents de conservation chimiques	40
IX- Les autres méthodes de conservation	41
IX-1- La fermentation	41
IX-2- La conservation sous-vide	41
IX-3- La ionisation ou irradiation	42
Chapitre III : Techniques de dosage	
I-Dosage enzymatique	44
I-1- Unités enzymatiques et vitesse initiales	44
I-2- Calculs	45
I-3- Méthodes de dosage et mesure de l'activité enzymatique	45

I-4- Enzyme Conversion angiotensine	7
I-4-1- Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC)	3
II- Dosage biologique des hormones	€
II-1 Dosage du cortisol plasmatique: utilité et pièges diagnostiques49	€
II-1-1- Dosage du cortisol total50	)
II-1-2- Dosage du cortisol libre	)
II-2- Dosage des hormones thyroïdiennes T3 et T4	)
III- Dosage des β-hcg sanguine (test de grossesse)51	1
III-1-Le diagnostic de grossesse	2
IV- Dosage des anticorps anti-thyroglobuline	2
IV-1- Dosage des anticorps anti-thyroglobuline et anti-thyroperoxydase (TPO)53	3
IV-2- Traitement (à titre indicatif)54	1
Référence Bibliographique	

#### Liste des Figures

- Fig. 1: Montage d'une filtration
- Fig. 2: Filtre à manches verticales
- Fig. 3: Ernst Wilhelm Büchner
- Fig. 4: Schéma d'un papier filtre
- Fig. 5: Utilisation d'un papier filtre
- Fig. 6: Schéma d'une filtration classique
- Fig. 7: Schéma d'une filtration sous vide
- Fig. 8: Filtration sous pression
- **Fig. 9:** Montage pour mesurer le carbone et l'hydrogène contenus dans un composé organique.
- Fig. 10: La membrane semie perméable
- Fig. 11: La dialyse dans le dialyseur
- Fig. 12: La dialyse péritonéale
- Fig. 13: L'ultra filtration
- Fig. 14: Méthode d'échange d'ions
- Fig. 15: Membranes électrodialyse
- Fig. 16: Electrodialyseur
- Fig. 17: Echangeuses d'ions
- Fig. 18: Electrodialyseur dans l'industrie
- Fig. 19: La centrifugation
- Fig. 20: Principe de la centrifugation
- Fig. 21: La force centrifuge
- Fig. 22: La décantation
- Fig. 23: Sédimentation des particules (cercle noir) dans divers types de rotor
- Fig. 24: Les rotors à godets verticaux
- Fig. 25: La centrifugation différentielle à rotors à godets verticaux

- Fig. 26: La centrifugation par gradient de densité.
- **Fig. 27:** Les différents types de conservations
- Fig. 28: Une des conservations
- Fig. 29: Conservation par déshydratation
- Fig. 30: Quelques exemples de spécimens lyophilisés
- Fig. 31: La stérilisation
- Fig. 32: La réfrigération
- Fig. 33: Les différentes températures de congélation
- Fig. 34: La conservation de quelques denrées
- Fig. 35: La conservation sous-vide
- Fig. 36: L'activité enzymatique
- Fig. 37: La cinétique
- Fig. 38: La longueur d'onde en nm
- Fig. 39: Réaction enzymatique
- Fig. 40: La thyroïde

#### Liste des Tableaux

**Tableau I :** Valeurs cibles du dosage des hormones thyroïdiennes

## Chapitre I:

Méthodes de fractionnement

#### I- Méthode de fractionnement

Le fractionnement est un procédé de séparation d'un mélange en plusieurs fractions successives de propriétés différentes.

#### II- Propriétés induisant le fractionnement

Les techniques de fractionnement sont fondées sur les différences de propriété des espèces constitutives du mélange d'origine. Ces propriétés peuvent être1 :

#### **Physiques:**

- la solubilité qui peut être modifiée en jouant sur la température et sur le type de solvant utilisé.
- la température de changement de phase :
  - ✓ vaporisation condensation liquide : distillation fractionnée ;
  - ✓ solidification.
  - ✓ sublimation.
- la dimension moléculaire : chromatographie d'exclusion stérique (SEC) ;
- la différence de charge électrique : électrophorèse.

#### **Chimiques:**

- liaison chimique ;
- réactivité chimique...

#### III- Espèces à fractionner

- Les espèces à fractionner peuvent être : des isotopes, des molécules, des polymères
- Purification des protéines ;
- Fractionnement des protéines plasmatiques (voir Edwin Cohn) ; des cellules.

#### A- La Filtration

#### **I- Principe**

La filtration est un procédé de séparation permettant de séparer les constituants d'un mélange qui possède une phase liquide et une phase solide au travers d'un milieu poreux.

L'utilisation d'un filtre permet de retenir les particules du mélange hétérogène qui sont plus grosses que les trous du filtre (porosité). Le liquide ayant subi la filtration est nommée filtrat ou Permët, tandis que la fraction retenue par le filtre est nommé résidu, retentât ou gâteau (**Fig.1**).

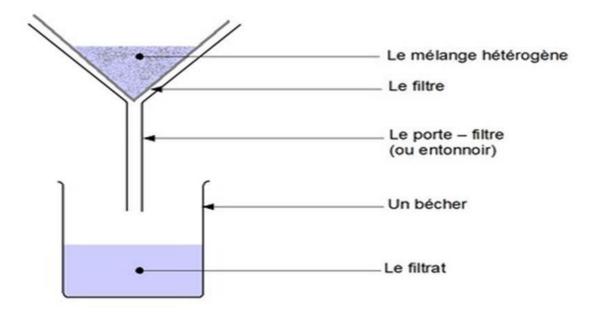


Figure 1: le montage d'une filtration

La filtration est une technique très utilisée dans le domaine de l'agroalimentaire, de la chimie, de la pharmacie et par de nombreuses espèces animales, principalement aquatiques. Chez les animaux filtreurs (éponges, bivalves...), c'est un mode actif d'alimentation. Le rein assure également une fonction de filtration.

#### II- Équipement: Les filtres

Au niveau industriel, la filtration est largement utilisée notamment dans l'industrie chimique où la filtration est une méthode de séparation de choix après une cristallisation. Différents systèmes sont disponibles en fonction des conditions de la filtration.

Dans d'autres domaines industriels (cimenterie, fonderie, etc.) la filtration est généralement effectuée par criblage / tamisage et les filtres sont, dans la grande majorité du temps, des filtres à manches.

#### II-1- Filtre nutsche

Il s'agit de la version industrielle du filtre Büchner utilisé au laboratoire. Cet équipement est très utilisé, car toutes les étapes de la filtration jusqu'au séchage peuvent être effectuées dans la même unité.

#### II-2- Filtre presse

Le filtre presse est une machine permettant de séparer un mélange solide-liquide. La pression appliquée au pressage est de quelques dizaines de bars. Une réduction de la teneur en liquide permet d'accélérer le séchage de cristaux ou de poudres; de gagner du volume au stockage des matières sèches ; de limiter la migration des « MES » (matières en suspension).

Ces machines interviennent dans de multiples secteurs d'activité : extraction minière, métallurgie, génie chimique, agro-alimentaire, épuration des eaux etc.

#### II-3-Filtre à manches

Les plus performants de séparer les poussières transportées par une veine d'air, collectée dans un conduit. L'aspirateur est équipé d'un sac filtrant en tissu. Les filtres à manches sont des filtres employés dans la filtration industrielle (**Fig.2**).

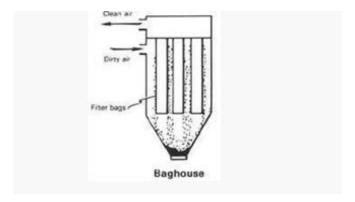


Fig. 2: Le filtre à manches

#### II-4-Filtre en profondeur

Les filtres en profondeur sont la variété de filtres qui utilisent un milieu de filtration poreux pour retenir les particules dans tout le milieu. La filtration en profondeur caractérisée par de multiples couches poreuses avec profondeur est utilisée pour capturer les contaminants solides de la phase liquide. Les filtres en profondeur sont généralement caractérisés par le filtre à sable.

Lorsque le mélange s'écoule à travers le filtre, les particules en suspension restent piégées dans le filtre: soit à cause de leurs dimensions, soit par effet de paroi sur la surfaces des grains. Le filtre sera d'autant plus efficace que le diamètre des grains sera plus faible et que le temps de séjour des particules dans le filtre sera long (vitesse lente ou hauteur de filtre grande).

#### II-5-Efficacité absolue

Elle correspond au diamètre de la plus grande particule sphérique et indéformable qui traverse le filtre dans les conditions de test spécifiées. L'entonnoir Büchner est un appareil utilisé pour la filtration assistée par pression. L'entonnoir Buchner est un entonnoir cylindrique filtrant en porcelaine (des entonnoirs en verre et en plastique sont également disponibles) qui a une plaque perforée sur laquelle le papier filtre plat est placé. Un vide dans le ballon sous le filter permet à la pression atmosphérique sur l'échantillon de forcer le liquide à travers le papier filtre. Il porte le nom du chimiste allemand Ernst Wilhelm Büchner (1850-1925) qui a conçu cet entonnoir en 1885 (**Fig.3**).



Fig. 3: Ernst Wilhelm Büchner

#### II-6- Le papier filtre

Le papier filtre est un papier quantitatif utilisé pour la filtration et fait de cellulose pure traitée avec de l'acide chlorhydrique et fluorhydrique. Selon le caractère du précipité, différents types de papier filtre sont utilisés:

- Bande noire (589 1 ) 100 ml de fluide y circulent en 20 s à 30 s. Il est utilisé pour la filtration des précipités gélatineux.
- Bande blanche (589 2 ) 100 ml de fluide y circulent en 40 s à 60 s. Il est utilisé pour la filtration des précipités cristallins grossiers.
- Bande bleue (589 3) 100 ml de fluide y circulent en 200 s à 400 s. Il est utilisé pour les précipités cristallins fins (Fig. 4, 5).

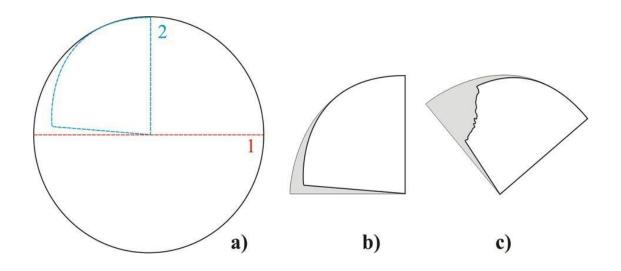


Fig. 4: Schéma d'un papier filtre

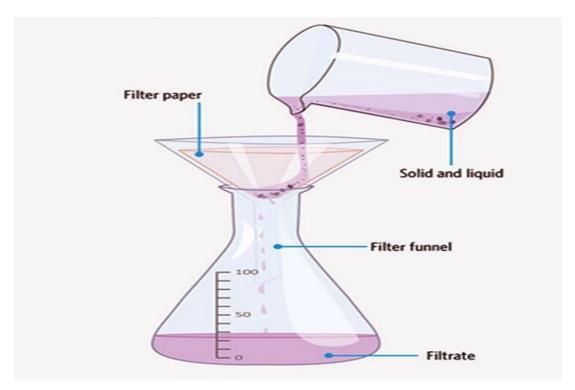


Fig.5: Utilisation d'un papier filtre

#### III-Méthodes de filtration

#### III-1- La filtration Classique

Une filtration classique est plus facile à mettre en place et demande moins de matériel. Elle est très longue comparée à une filtration sous vide (**Fig.6**).

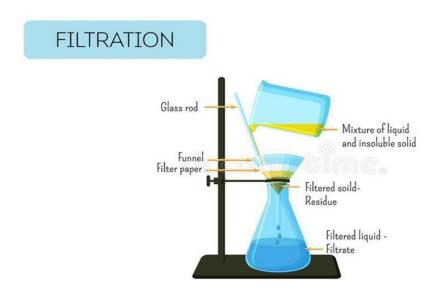


Fig.6 : Schéma d'une filtration classique

#### III-2- La filtration Sous vide

Une filtration sous vide est plus efficace mais nécessite un dispositif d'aspiration moins aisé à mettre en place. La filtration sous vide est une technique permettant de séparer un produit solide d'un liquide. .

Le mélange de solide et de liquide est versé à travers un papier filtre dans un entonnoir Büchner. Le solide est piégé par le filtre et le liquide est aspiré à travers l'entonnoir dans le ballon en dessous, sous vide (**Fig.7**).

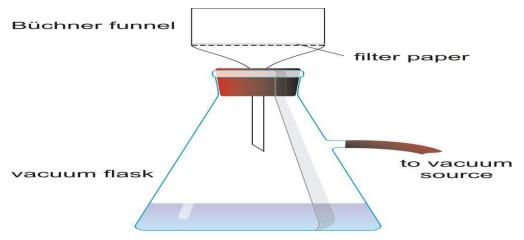


Fig.7: Schéma d'une filtration sous vide

#### III-3- La filtration sous pression

Ces filtres sont construits avec des revêtements adaptés aux conditions d'utilisation. Les dispositifs d'évacuation des eaux de lavage doivent être particulièrement soignés, de façon à en assurer une collecte uniforme (**Fig.8**).



Fig.8: Filtration sous pression 16510

#### III-4- La filtration gravidique

La mesure des émissions est une procédure essentielle pour mesurer et contrôler la pollution atmosphérique provenant de sources comme les moteurs à combustion, les centrales électriques et autres installations motorisées produisant des gaz d'échappement et des émissions par évaporation (**Fig.9**).

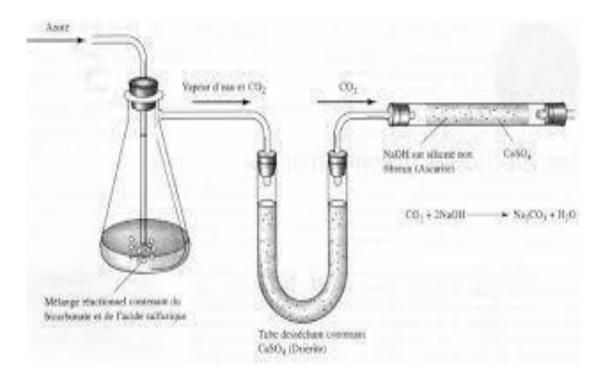


Fig.9: Montage pour mesurer le carbone et l'hydrogène contenus dans un composé organique.

Les analyses gravimétriques des particules collectées par filtration sont la méthode la plus fréquemment utilisée pour déterminer la concentration de particules dans l'air ambiant et dans les émissions.

#### **IV-Ultrafiltration**

L'ultrafiltration (UF) est une méthode de séparation membranaire, qui ne se distingue de la microfiltration ou de la nanofiltration que par la taille des particules en suspension ou en solution qui peuvent passer à travers. Pour l'ultrafiltration cette taille est entre 1 et 100 nanomètre (nm) ; cette taille est trop petite pour les bactéries, levures et la plupart des virus. En pratique, l'ultrafiltration est majoritairement utilisée pour séparer des matières dissoutes alors que la microfiltration est majoritairement utilisée pour séparer des particules en suspension1.

Le mécanisme de séparation est un tamisage : il résulte de la différence taille entre les composants et celle des pores de la membrane, typiquement entre 2 et 50 nm (mésopores3).

#### IV-1- En médecine

L'hémofiltration est une ultrafiltration du sang à travers la membrane d'un hémofiltre : le produit recueilli (l'ultrafiltrat) est rejeté avec les déchets qu'il contient, le volume perdu est compensé avec du plasma.

#### IV-2- Dans l'industrie agroalimentaire

L'ultrafiltration est utilisée dans l'industrie agroalimentaire pour purifier ou concentrer des solutions de macromolécules (103 - 106 Da) :

Cette technique est donc utilisée pour le traitement des eaux et des effluents pollués, mais aussi pour la filtration du sang, la clarification des liquides alimentaires (jus de fruit) et la concentration du lait pour produire du fromage. L''ultrafiltration clarifie et désinfecte l'eau en une seule étape en utilisant un seuil de filtration de l'ordre de 10 nm, tous les pollens, algues, parasites, bactéries, virus, germes et grosses molécules organiques sont stoppés. On obtient une eau clarifiée et désinfectée sans utilisation de produits chimiques.ou en plusieurs étapes préalables: dégraissage, dégrillage, décantation, etc.

#### **B- La dialyse**

#### **I-Introduction**

La dialyse est un principe d'épuration sanguine. C'est une méthode d'échanges entre deux solutions, le sang et un liquide appelé « dialysat », au travers d'une membrane semi-perméable. Cette membrane possède de multiples trous ou pores permettant le passage des molécules d'eau et de solutés de petit poids moléculaire (les solutés de poids moléculaire élevé comme les protéines plasmatiques, ne peuvent pas traverser cette membrane) (**Fig.10**, 11).

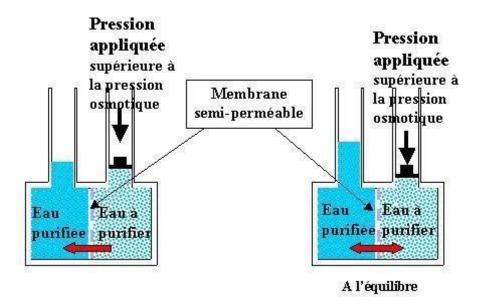
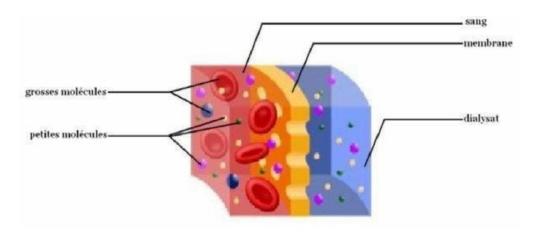


Fig.10 : La membrane semi-perméable



**Fig.11:** La dialyse dans le dialyseur

Le principe consiste à séparer deux solutions par une membrane. On distingue différents types de membranes, les membranes hémiperméables (qui ne laissent passer que le solvant) et dialysâtes (pores de diamètre de l'ordre du nanomètre (nm), identiques et connus) qui laissent passer le solvant et les solutés en dessous d'une certaine taille. Par effet de diffusion (due à l'agitation moléculaire) les petites molécules traverseront la membrane, tandis

que les grosses molécules (souvent macromolécules) seront retenues d'un côté. La principale application de la dialyse dans le domaine médical concerne les personnes dont les reins ont cessé de fonctionner, temporairement (insuffisance rénale aiguë) ou définitivement (insuffisance rénale chronique au stade terminal).

Le produit d'une dialyse (solution de recueil des petites molécules) s'appelle un dialysat.

#### II- Les mécanismes impliqués dans la dialyse : la diffusion et l'ultra-filtration.

#### II-1 La diffusion

Le transfert des solutés par diffusion au travers de la membrane de dialyse relève d'un mouvement des molécules contenues dans la solution. Si la molécule rencontre un pore dont la taille correspond à la sienne, elle traversera la membrane.

Le «gradient de concentration» du soluté de part et d'autre de la membrane est le déterminant principal de la diffusion des molécules : plus la solution a une concentration élevée plus les molécules traversent la membrane en direction de la solution dont la concentration en solutés est la plus basse. Les déchets de bas poids moléculaire (urée, créatinine, potassium, etc.) qui s'accumulent dans le sang du malade entre deux séances, sont éliminés avec le dialysat en fin de séance. Le transfert des solutés du sang vers le dialysat est rapide, la concentration en calcium dans le dialysat étant plus élevée que celle du calcium ionisé dans le sang, la séance permet un transfert de calcium vers le sang du malade (le calcium lié aux protéines ne diffuse pas). Il en est de même pour le bicarbonate (**Fig.12**).

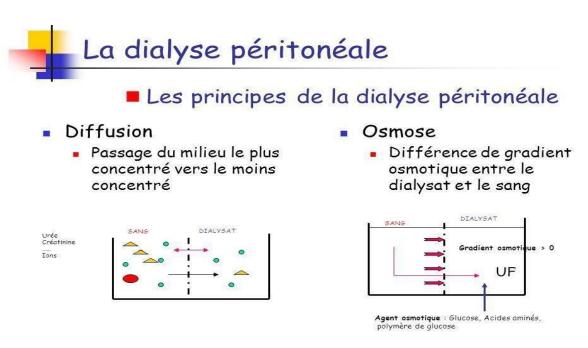


Fig.12: La dialyse péritonéale

#### II-2- L'ultra filtration

Il s'agit du transfert des molécules d'eau à travers la membrane sous l'effet d'une pression hydrostatique (dans le cas de l'hémodialyse) ou osmotique (dans le cas de la dialyse péritonéale). Cette technique permet d'éliminer l'eau (constituant une charge hydrosodée), accumulée par le patient oligurique ou anurique entre deux dialyses (**Fig.13**).

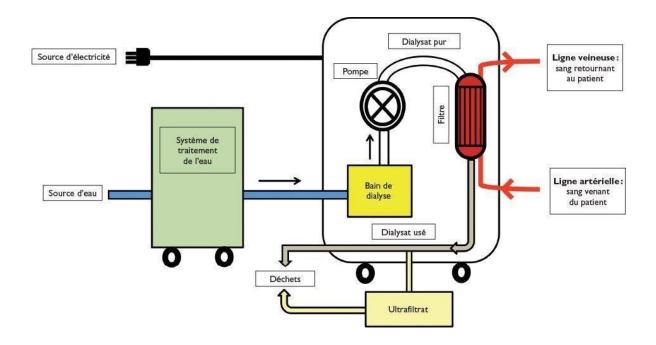


Fig.13: L'ultra filtration

#### II-3- Eau pour hémodialyse

- Constituant majeur du dialysat produit par le générateur de dialyse.
- Est mis au contact du sang du patient au travers une membrane du dialyseur et de ce fait nécessite des qualités physicochimiques et microbiologiques irréprochables.
- Élément produit en continu à partir du réseau public grâce à un traitement d'eau mobil ou centralisé.

#### II-3-1- Principe de fonctionnement du traitement d'eau

#### II-3-1-1- Méthode de filtration

- Elimination de particules en suspension (par filtre à sable et filtre à particules)
- Elimination de certains toxiques (chloramine, pesticides) par cartouche de charbon actif.

#### II-3-1-2- Méthode d'échange d'ions (adoucisseur) (Fig.14)

- Transforme une eau dure (riche en calcaire) par une eau douce
- Échange les ions Calcium et magnésium par du sodium

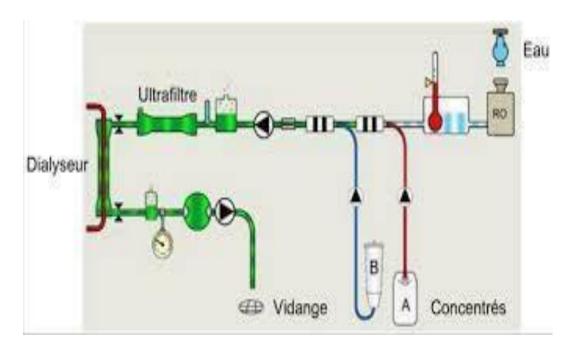


Fig.14: Méthode d'échange d'ions

#### II-3-1-3- les dés ionisateur ou l'osmoseur

Principe cellulaire d'une dialyse : Pour un patient recevant une dialyse.

Rouge = sang

**Jaune** = membrane semi-perméable

**Bleu** = liquide de dialyse

#### **III- Electrodialyse**

C'est pour faire face à des besoins en eau potable au Japon, en particulier, que l'électrodialyse a été développée en tant que procédé de dessalement de l'eau de mer à l'échelle industrielle. Au-delà du domaine du traitement de l'eau, de nouvelles applications ont ensuite été développées, comme la déminéralisation du lactosérum, qui représente une part importante de la surface installée. Les problèmes liés à la réduction de l'impact environnemental des procédés de production offrent des perspectives encore plus vastes pour des procédés physiques comme l'électrodialyse, vis-à-vis de procédés physico- chimiques, comme l'extraction liquide- liquide, la précipitation ou l'échange d'ions sur résine, plus polluants.

En outre, la possibilité de réaliser une déminéralisation sélective, c'est-à-dire accompagnée d'une purification, devrait également ouvrir des perspectives de marché.

L'électrodialyse est un procédé de nature électrochimique. Il permet d'extraire en partie ou en totalité les ions contenus dans une solution, en conservant des substances pas ou très peu ionisées.

#### III-1- Membranes électrodialyse

Le transfert sélectif des espèces chargées s'effectue suivant un mécanisme d'échange d'ions de site en site entre les ions de la solution et les contre-ions de la membrane. On distingue deux types de membranes : les membranes échangeuses d'ions (MEI) et les membranes bipolaires (MB).

Ces deux types de membranes sont utilisés pour effectuer différentes transformations, selon la configuration des empilements mis en jeu. Les MEI sont parfois qualifiées de membranes homopolaires, par opposition aux membranes bipolaires MB.

Les membranes échangeuses d'ions permettent le transfert sélectif d'espèces chargées selon leur signe de charge, transfert de cations dans le cas des membranes échangeuses de cations (MEC), transfert d'anions très proches de ceux des résines échangeuses d'ions (**Fig.15**).

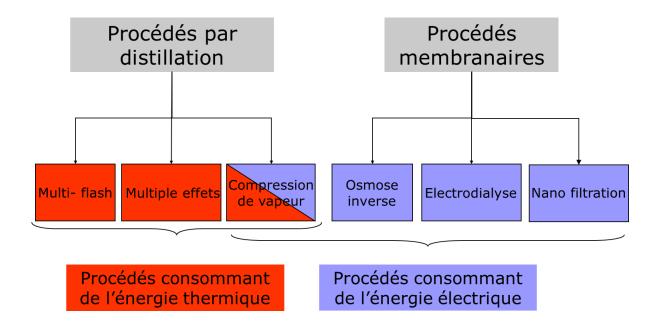


Fig.15: Membranes électrodialyse

La technologie requise pour ce procédé réside essentiellement dans l'emploi de membranes on en distingue 3 types:

- Les membranes anioniques : elles contiennent des résines à groupes cationiques fixes.
   Ces groupes sont neutralisés par des anions situés dans les interstices de la résine.
   Quand cette membrane est mise dans une solution d'électrolyte, les anions en solution peuvent pénétrer dans la membrane et remplacer les anions présents initialement, alors que les cations sont repoussés par les cations fixés sur la résine.
- Les membranes cationiques : le principe est identique; elles contiennent des groupes anioniques fixes qui permettent la pénétration des cations et repoussent les anions.
   Les membranes industrielles possèdent des groupements fonctionnels qui sont en général un groupement sulfonique pour les membranes cationiques et un regroupement ammonium quaternaire pour les membranes anioniques.

 Les membranes bipolaires : elles consistent en la juxtaposition d'une cationique et d'une anionique. Elles permettent de régénérer l'acide et la base à partir du sel et de les séparer simultanément. (les membranes monopolaires réalisent une concentration/dilution).

#### III-2- Electrodialyse

Il fonctionne de la manière suivante (voir schéma ci-dessous): deux compartiments

(1) et (2) sont séparés par des membranes alternativement anioniques et cationiques. Comme leur nom l'indique, sous l'action d'un champ électrique, les premières ne se laissent franchir que par des anions, les secondes par des cations.

Les cations migrent dans le sens du courant électrique. Ils peuvent sortir du compartiment en traversant la membrane cationique, mais ils ne peuvent pas sortir du compartiment (2), car ils trouvent sur leur chemin une membrane anionique.

Les anions migrent dans le sens inverse du courant électrique. Ils peuvent eux aussi sortir du compartiment (1) en traversant la membrane anionique, mais ils ne peuvent pas sortir du compartiment (2) car la membrane cationique les en empêche (**Fig.16**).

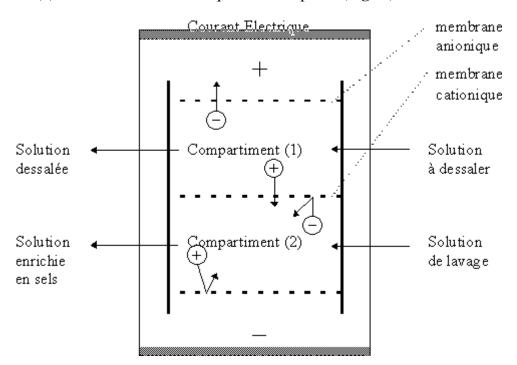


Fig.16: Electrodialyseur

En conséquence, le compartiment (1) s'appauvrit en sel dissous: on l'appelle compartiment de dilution. le compartiment (2) s'enrichit en sels dissous: on l'appelle compartiment de concentration. La concentration des substances dissoutes non ionisées n'est pas modifiée.

Un électrodialyseur est constitué d'un grand nombre de compartiments alimentés en série du point de vue électrique, et en série ou en parallèle du point de vue hydraulique. Un compartiment sur deux est en dilution, un sur deux en concentration.

Aux deux extrémités de l'appareil, se trouvent les électrodes, qui permettent le passage du courant électrique. Les membranes délimitant les compartiments sont alternativement anioniques et cationiques. L'électrodialyse est employée soit en déminéralisation (dessalement), soit en concentration ionique de solutions ionisées. En galvanoplastie, elle sert au traitement d'effluents (eau de rinçage) afin d'enrichir, en les concentrant, les bains de dépôt et de les recycler.

L'électrodialyse ne doit être appliquée qu'aux composants ioniques entre les deux seuils de concentration minimum et maximum, pour éviter la cristallisation ou un trop grand résistance ohmique. Il ne faut pas essayer de dépasser la valeur des courants limites : des phénomènes secondaires peuvent créer des évolutions irréversibles sur les membranes et dans la solution (création de composés parasites par électrolyse). Les rendements d'élimination des sels étant au mieux de 44 à 46 % par passe (Degrémont), une utilisation en plusieurs passes est souvent nécessaire (**Fig.17**)

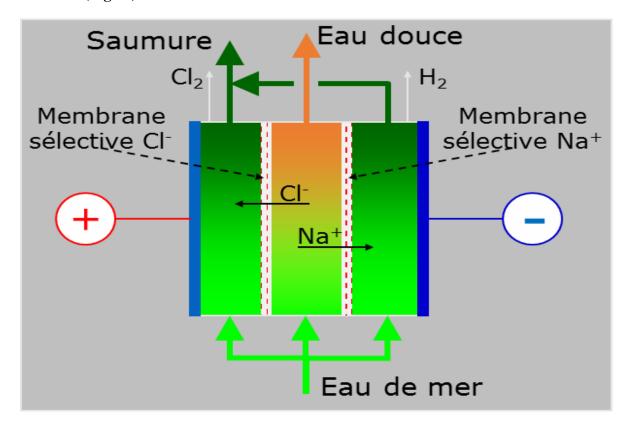


Fig.17: Echangeuses d'ions

L'emploi de cette technique avoisine celui des résines échangeuses d'ions avec en particulier une sensibilité aux oxydants et des risques d'empoisonnement irréversible.

L'intérêt économique de l'électrodialyse dépend de ses besoins en énergie. De plus de l'énergie nécessaire à l'écoulement des solutions dans les modules, il faut fournir:

L'énergie du transport des espèces ioniques, l'énergie dissipée par effet joule.

L'investissement est de l'ordre de 7500 F par m² de membrane installée.

#### **IV- RESULTATS**

Cette technique a deux types d'applications principales :

#### IV-1- Dessalement des eaux saumâtres

Dont le taux de salinité est inférieur à 500 mg/l (au-dessous de ce taux, l'osmose inverse est plus intéressant). De nombreux gisements d'eaux saumâtres de ce type existent précisément dans le monde (Moyen-Orient, Afrique du Nord, Sud des Etats-Unis) et l'électrodialyse y a trouvé un vaste champs d'application. Les ions les plus fréquemment extraits sont les cations Na+ et Ca++, les anions Cl-, SO4-- et HCO3-. Côté dépenses d'énergie, il faut 1,8 kWh/m³ pour amener une solution de 1,5 à 0,5 g/l, 2,6 à 4 kWh/m³ pour amener une solution de 2,5 à 0,5 g/l, 3,2 à 4,5 kWh/m³ pour amener une solution de 1,5 à 0,5 g/l.

#### IV-2- Traitement des sous-produits de l'industrie laitière

Les principaux produits concernés sont les lactosérums, résultant de la production de fromage et de caséine. Les lactosérums ont une forte DCO ce qui en fait un important polluant potentiel. Contenant des constituants de haute valeur nutritive, ceux-ci peuvent être traités grâce à l'électrodialyse pour donner des produits consommables, débarrassés de produits gênants (sels minéraux, acides lactique, hydrique, sulfurique). Pour la déminéralisation de lactosérum, on note une consommation spécifique de 0,056 kW par kg de poudre déminéralisé à 50% et 0,215 kW par kg de poudre déminéralisé à 90%.

Dans l'industrie chimique, de nombreuses applications innovantes sont à l'épreuve. L'électrodialyse est bien placée pour purifier des composés non ionisés par élimination d'électrolytes (Fig.18).

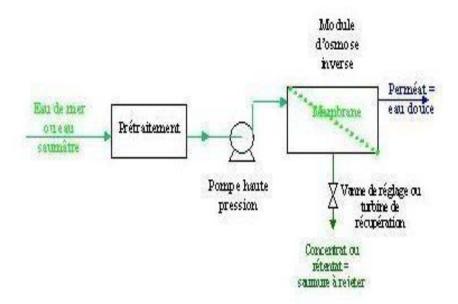


Fig.18: Electrodialyseur dans l'industrie

#### C- La centrifugation

#### **I- Définition**

La centrifugation est un procédé de séparation mécanique des composés d'un mélange en fonction de leur différence de densité en les soumettant à une force centrifuge. Le mélange à séparer peut être constitué soit de deux phases liquides, soit de particules solides en suspension dans un fluide entraînées dans un mouvement de rotation (Fig.19).



Avant la centrifugation

Après la centrifugation

Fig.19: La centrifugation avant et après

Beaucoup d'expériences en biochimie exigent une ou plusieurs étapes de centrifugation. Cette technique permet d'exposer des échantillons à de fortes accélérations qui permettent la séparation des constituants. On peut ainsi fractionner une préparation en un sédiment (ou "culot"), constitué de matériel plus ou moins solidement entassé dans le fond du tube à centrifuger, et en un surnageant qui sera le liquide résiduel au-dessus du sédiment (**Fig.20**).

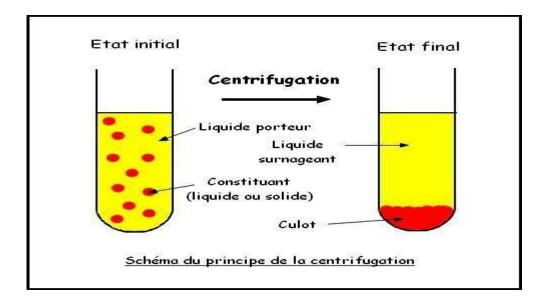


Fig.20: Principe de la centrifugation

#### II-Principe de Base

Une particule soumise à un champ gravitationnel tend à se déplacer dans ce champ jusqu'à ce qu'elle rencontre une résistance capable de l'arrêter complètement. Ce principe fondamental de physique est très utilisé en biochimie pour séparer des précipités, des cellules, des organites et même des macromolécules. En mettant une préparation biochimique dans le rotor d'une centrifugeuse et en faisant tourner celui-ci, on génère une accélération qui va pousser les particules qui la composent vers l'extérieur du rotor, c'est-à-dire le fond du tube à centrifuger. La vitesse avec laquelle se déplaceront ces particules est proportionnelle à:

- La force gravitationnelle à laquelle la particule est soumise
- La masse de la particule
- La différence entre la densité de la particule et celle du solvant et inversement proportionnelle
- La friction avec le milieu, en fonction de la taille et à la géométrie des particules.

Une particule donnée a donc une vitesse spécifique de sédimentation lors d'une centrifugation parce qu'elle a une combinaison donnée de masse, de densité et de morphologie. On exprime souvent cette caractéristique en coefficient de sédimentation, généralement exprimée en unités Svedberg (S). Plus une particule est massive ou dense ou ne génère qu'une faible friction (due à sa forme), plus son S sera élevé. Cette unité de "taille" est particulièrement employée pour caractériser les particules ribosomiques. C'est pourquoi on parle encore de ribosomes 70 S chez les procaryotes et 90 S chez les eucaryotes (**Fig.21**).

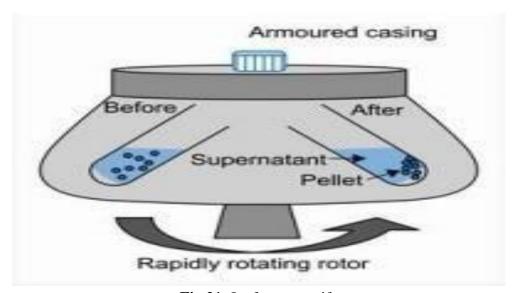


Fig.21: La force centrifuge

On peut facilement générer une force centrifuge en faisant tourner à haute vitesse un rotor pouvant contenir des tubes à centrifuger. Une force gravitationnelle se forme alors perpendiculairement à l'axe de rotation du rotor.

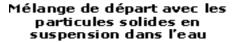
Si on laisse reposer une suspension solide dans une phase liquide, on observe que les particules, sous l'action de la pesanteur et de la poussée d'Archimède, tendent à tomber vers le fond ou à remonter vers la surface selon leur densité et leur taille. Ce procédé, la décantation, est cependant relativement lent pour les très fines particules (sensibles à l'agitation thermique) et les liquides particulièrement visqueux.

On a donc eu l'idée de décupler le pouvoir séparateur du champ de pesanteur vertical en lui substituant un champ centrifuge radial. Il s'agit donc d'entraîner un appareil (le "bol") à grande vitesse, en rotation autour d'un axe. Son accélération, proportionnelle à la distance à l'axe de rotation, varie comme le carré de la vitesse. À 10 000 tr/mn, on obtient, à 10 cm de l'axe, une accélération mille fois plus grande que celle de la pesanteur. Dans le cadre du traitement des effluents, le coefficient de centrifugation se situe en général autour de 10 000 g. On peut agir sur plusieurs paramètres pour augmenter l'efficacité de la centrifugation :

- le diamètre des particules, en utilisant des floculants.
- la différence de densité.
- la viscosité du fluide, qui diminue avec l'élévation de la température.
- la surface de base du bol.
- la vitesse de rotation, qui laisse la plus grande latitude de réglage.

On distingue deux domaines de centrifugation : la décantation (par séparateur) et la filtration (par essoreuse) centrifuges (Fig.22).







Après décantation, un liquide plus clair se trouve en haut du récipient alors que les particules lourdes sont tombées au fond.

Fig. 22: La décantation

#### III- MÉTHODES ET APPAREILLAGE

La principale limite qui détermine la vitesse de rotation du rotor est évidemment la force du moteur qui le fait tourner. Plus le rotor est lourd et volumineux, plus l'effort que doit fournir le moteur est grand.

On a développé une gamme d'appareils en fonction des besoins expérimentaux, particulièrement au niveau des accélérations requises, des volumes de matériel à centrifuger, de la température de travail, etc.

#### III-1- Rotors

La fabrication et la conception des rotors doivent tenir compte de nombreuses contraintes. Ils doivent être évidemment suffisamment résistants pour supporter les accélérations voulues mais suffisamment légers pour que le moteur de la centrifugeuse puisse les faire tourner à la vitesse requise.

Pour les centrifugations à faible vitesse peuvent se faire avec des rotors en acier. Cependant, pour les fortes accélérations, on utilise des alliages à base de métaux à la fois légers et résistants comme l'aluminium et le titane. Les rotors faits de matériaux composites (à base de fibres de carbone), extrêmement résistants et légers, ont même fait leur apparition depuis quelques années.

C'est pourquoi chaque rotor a une vitesse maximale à laquelle on peut les faire tourner. Il est essentiel de respecter scrupuleusement cette limite pour éviter le bris du rotor ou celui du moteur.

Une autre contrainte est la dimension du rotor. Pour maximiser la vitesse de rotation il faut minimiser le rayon du rotor, donc sa taille. Pour centrifuger de gros volumes, il faut évidemment de plus gros rotors, ce qui explique que les rotors de grande capacité ne peuvent tourner qu'à des vitesses réduites.

Il existe trois grands types de rotor: à angle fixe, à godets mobiles et verticaux.

#### III-1-1- Les rotors à angle fixe ("fixed angle")

Sont faits de blocs de métal (aluminium, titane) avec des puits creusés à l'intérieur et inclinés avec un certain angle par rapport à l'horizontale, généralement de l'ordre de 15° à 35° selon les modèles. Les tubes à centrifuger sont déposés dans ces puits. Comme ces rotors sont relativement compacts. Ils sont plus faciles de les faire tourner rapidement à cause de leur rayon relativement court.

Les particules sédimenteront surtout le long de la paroi du tube. De plus, elles s'accumulent plutôt sur des côtés du fond du tube à centrifuger. Pour certains types de particules cela engendre une friction qu'elles ne peuvent pas supporter et se brisent. Cependant, la plupart des centrifugations à vitesses moyennes et élevées se font avec ce type de rotor.

#### III-1-2- Les rotors à godets mobiles ("swinging buckets")

Se réorientent lors de la centrifugation. En effet, les godets sont disposés sur des crochets ou un système à bascule. Quand la rotation du rotor débute les godets (et les tubes qu'ils contiennent), sous l'effet de la force centrifuge, se réorientent et passent en position horizontale. Les particules peuvent donc sédimenter directement dans le fond du tube sans jamais heurter les parois du tube. Elles s'accumulent dans le fond du tube à centrifuger. Le principal inconvénient de ce type de rotor est qu'il ne peut pas atteindre des vitesses très élevées comparé à l'autre. En effet, les godets en position horizontale allongent énormément le rayon du rotor, ce qui rend plus difficile de lui imprimer des vitesses de rotations élevées. Ce genre de rotor est utilisé principalement dans les centrifugations en gradients discontinus ou continus (**Fig.23**)

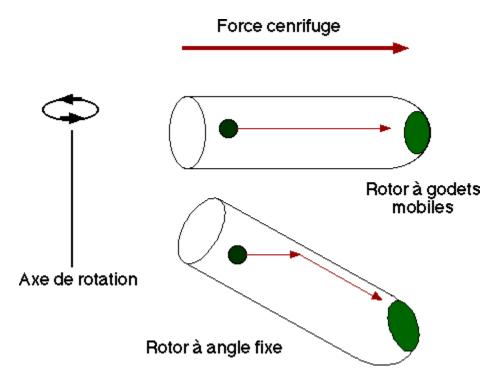
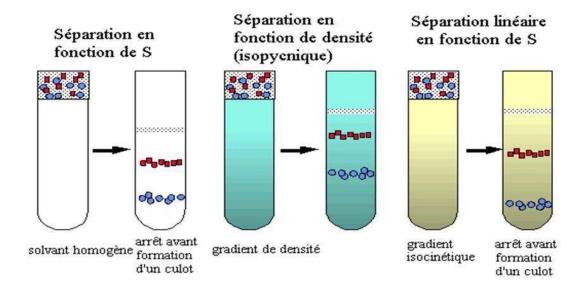


Fig. 23: Sédimentation des particules (cercle noir) dans divers types de rotor

La migration d'une particule dans les deux principaux types de rotor. La plus grande partie du déplacement des particules dans un rotor à angle fixe se fait le long de la paroi distale du tube, ce qui n'est pas le cas dans le rotor à godets mobiles. La position du sédiment est aussi différente: bien centrée dans le fond du tube dans le rotor à godets mobiles, décalée vers le coté distal de la paroi du tube dans le rotor à godets mobiles.

#### III-1-3- Les rotors à godets verticaux

Les rotors verticaux sont beaucoup moins répandus et sont essentiellement utilisés pour les gradients de type iso pycniques ou zonaux (**Fig.24**)



#### Rotor à godets oscillants

Le terme "isopycnique" uniquement aux gradients auto-générés. Cependant ce terme s'applique à tous les cas où on centrifuge à équilibre dans un gradient continu.

Séparation zonale en gradient continu : selon leur taille (Le gradient, dont la concentration maximale est moins dense que les particules, ne sert qu'à ralentir la sédimentation).

Fig. 24: Les rotors à godets verticaux

#### III-2- Les types de centrifugeuses

Il existe deux catégories principales de centrifugeuses :

Les centrifugeuses à axe vertical, appelées communément clarificateurs ou séparateurs centrifuges (avec un bol à assiettes ou à chambres qui tourne sur un axe vertical) ;

Les centrifugeuses à axe horizontal, appelées communément décanteurs centrifuges (avec un bol cylindroconique qui tourne sur un axe horizontal et une vis disposée à l'intérieur du bol permettant l'évacuation des sédiments).

Ces dispositions de construction déterminent en partie les domaines d'utilisation de ces équipements.

#### III-2-1- Centrifugeuses de table

Les modèles les plus simples, souvent appelées centrifugeuses cliniques, permettent d'atteindre de faibles accélérations (1000 à 3000 xg) à des vitesses de rotation relativement basses (moins de 3000 RPM). Certains modèles sont réfrigérés, certains autres non.

#### III-2-2- Centrifugeuses au sol

Ces appareils sont un peu plus complexes. Elles permettent d'obtenir des vitesses de rotation de l'ordre de 30 000 RPM, donnant pour les plus petits rotors des accélérations d'environ 20 000 xg. Tous les modèles sont réfrigérés. Ces centrifugeuses permettent de centrifuger relativement de gros volumes. Certains rotors peuvent même contenir quatre ou six bouteilles de 250 mL.

#### III-2-3- Ultracentrifugeuses

Ce sont des appareils complexes et coûteux qui permettent d'atteindre des accélérations très élevées (jusqu'à 300 000 xg) en faisant tourner des rotors très rapidement (50-85 000 RPM). De telles vitesses de rotation ne peuvent s'obtenir que sous pression très réduite. Les faibles pressions permettent aussi d'éviter la surchauffe du rotor et de l'échantillon. Tous les modèles sont réfrigérés. Ces appareils doivent donc être munis de pompe à vide et de systèmes de réfrigération. Les volumes sont quelques peu limités, généralement on ne trouve pas de rotors pouvant contenir plus d'une dizaine de tubes de 40 mL. Récemment, la compagnie Beckman a fabriqué un modèle d'ultracentrifugeuse tournant à 130,000 rpm générant des accélérations de plus d'un million de g!

#### **III-2-4- Microcentrifugeuses**

On a aussi développé des centrifugeuses spécialement conçues pour les micro- volumes très souvent employés en biochimie moderne. Les microtubes à centrifuger sont des petits tubes coniques généralement de 1.5 mL fait de polypropylène et assez peu dispendieux. Les centrifugeuses de ce type peuvent être réfrigérées et atteindre des accélérations de l'ordre de 12-15 000 x g. Les modèles les moins couteux n'ont pas de contrôle de vitesse et ne sont pas réfrigérés.

#### III-2-5- Ultracentrifugeuses analytiques

Ce sont des appareils de moins en moins utilisés. Ces centrifugeuses servent surtout à analyser la taille et la masse des particules et des protéines. D'autres techniques beaucoup moins coûteuses sont utilisées de nos jours: électrophorèse, filtration sur gel... On peut déterminer avec une grande précision la masse et le coefficient de sédimentation des protéines et autres particules par ultracentrifugation analytique (UCA). Les méthodes à équilibre d'UCA permettent aussi de déterminer la masse.

Cette technique exige un appareillage (centrifugeuse, rotor, etc.) spécialisé à cette fin.

#### III-3- Types de séparation par force centrifuge

#### III-3-1- Centrifugation différentielle

La centrifugation différentielle (également connue sous le nom de centrifugation à vitesse différentielle) est une procédure courante en biochimie et en biologie cellulaire, qui est utilisée pour séparer les organites et autres particules sous- cellulaires en fonction de leur vitesse de sédimentation . Bien que souvent appliquée en analyse biologique, la centrifugation différentielle est une technique générale également adaptée à la purification brute de particules non vivantes en suspension (par exemple, nanoparticules , particules colloïdales , virus ). Dans un cas typique où la centrifugation différentielle est utilisée pour analyser des phénomènes biologiques cellulaires (par exemple la distribution des organites), un échantillon de tissu est d'abord lysé pour briser les membranes cellulaires et libérer les organites et le cytosol (**Fig.25**)

## Centrifugation différentielle

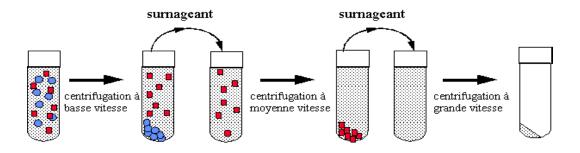


Fig. 25: La centrifugation différentielle à rotors à godets verticaux

Le lysat est ensuite soumis à des centrifugations répétées , où les particules qui se sédimentent suffisamment rapidement à une force centrifuge donnée pendant un temps donné forment un «culot» compact au fond du tube de centrifugation. Après chaque centrifugation, le surnageant (solution sans culot) est retiré du tube et recentrifugé à une force et / ou un temps centrifuge accrus . La centrifugation différentielle convient aux séparations brutes sur la base de la vitesse de sédimentation, mais des purifications plus fines peuvent être effectuées sur la base de la densité par centrifugation à gradient de densité à l' équilibre . Ainsi, la méthode de centrifugation différentielle est la granulation successive des particules du surnageant précédent, en utilisant des forces de centrifugation de plus en plus élevées. Les organites cellulaires séparés par centrifugation différentielle maintiennent un degré de fonctionnement normal relativement élevé, tant qu'ils ne sont pas soumis à des conditions dénaturantes pendant l'isolement.

#### III-3-2- Centrifugation par gradient de densité

La centrifugation par gradient de densité est la méthode indiquée pour la purification d'organelles sub-cellulaires et de macromolécules. Les gradients de densité peuvent être réalisés en superposant des couches de milieu à gradient, du sucrose par exemple, dans un tube de façon à ce que la couche la plus lourde se trouve au fond et la plus légère sur le dessus, en continu ou non. La fraction cellulaire que l'on cherche à séparer est ensuite placée sur la couche supérieure et centrifugée. La séparation par gradient de densité peut être classée en deux catégories : 2a. La séparation zonale (taille). et 2b. La séparation isopycnique (densité) (Fig.26).

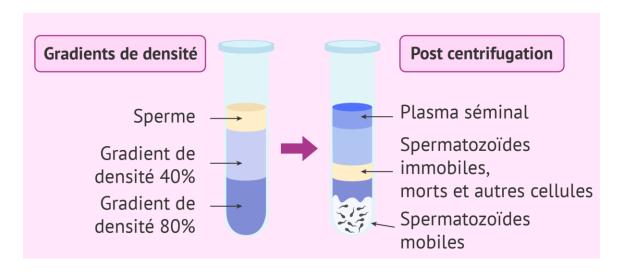


Fig. 26: La centrifugation par gradient de densité.

#### IV- Différences entre la centrifugation différentielle et à gradient de densité

La différence entre les techniques de centrifugation différentielle et à gradient de densité est que cette dernière méthode utilise des solutions de différentes densités (par exemple, saccharose, ficoll) ou des gels à travers lesquels l'échantillon passe. Cela sépare l'échantillon en couches par densité relative, basé sur le principe que les molécules se déposent sous une force centrifuge jusqu'à ce qu'elles atteignent un milieu avec la même densité que la leur. Le degré de séparation ou le nombre de couches dépend de la solution ou du gel. La centrifugation différentielle, par contre, n'utilise pas de gradient de densité, et la centrifugation s'effectue à des vitesses de plus en plus rapides. Les différentes vitesses de centrifugation créent souvent une séparation en pas plus de deux fractions, de sorte que le surnageant peut être séparé davantage dans des étapes de centrifugation supplémentaires. Pour cela, à chaque étape, la vitesse de centrifugation doit être augmentée jusqu'à ce que les particules souhaitées soient séparées. En revanche, la centrifugation en gradient de densité est généralement effectuée avec une seule vitesse de centrifugation.

## Chapitre II:

Techniques de conservation

#### I- INTRODUCTION

La conservation est généralement définie comme une méthode utilisée pour préserver un état existant ou pour empêcher une altération susceptible d'être provoquée par des facteurs chimiques (oxydation et se base sur la modification des caractéristiques et intrinsèque de l'aliment comme le pH, l'activité de l'eau ou l'incorporation d'additifs dans l'aliment en vue de sa conservation), physiques (température, lumière, la pression, l'irradiation ionisante et le champ électrique) ou biologiques (repose sur l'utilisation des microorganismes pour la modification des caractéristiques physico- chimiques de l'aliment ; la technique la plus connue est la fermentation). La vitesse d'altération dépend des caractéristiques « intrinsèques » liées à l'aliment et aux conditions « extrinsèques » qui sont liées à l'environnement.

Les conditions intrinsèques et extrinsèques constituent des barrières (ou des obstacles) au développement des microorganismes ou aux mécanismes d'altération non microbienne. Les techniques de conservation des aliments reposent sur l'exploitation de ce principe des barrières pour préserver la qualité et la sécurité des denrées alimentaires (**Fig.27**).



Fig. 27: Les différents types de conservations

La conservation des aliments sert à préserver leur comestibilité ainsi que leurs qualités organoleptiques et nutritives. En effet, elle empêche le développement de bactéries ; de champignons ; de micro-organismes qui pourraient entraîner une intoxication alimentaire.

L'Homme, depuis son origine, a toujours eu besoin de stocker et conserver son alimentation afin d'assurer sa subsistance et faire face aux famines. Il a vite compris qu'il fallait mettre ses denrées alimentaires à l'abri de la lumière, de la chaleur, de l'humidité et des prédateurs. Séchage ; salage; saumurage ; fumage ; conservation dans de l'huile, du miel, du sable. Nombreuses ont été les techniques utilisées.

### I-1- Conservation des matières agricoles, des produits alimentaires intermédiaires et des aliments

Les technologies de conservation sont applicables indistinctement à des matières premières agricoles, des P.A.I. et des aliments. Elles permettent une fourniture alimentaire stable, compensant ainsi la saisonnalité des productions, et un approvisionnement des métropoles urbaines à partir des zones de production et de transformation, échanges accentués par l'internationalisation du marché alimentaire. À partir d'un objectif simple — maintenir le maximum de valeur nutritionnelle et apporter le moins possible de modifications induites (texture, couleur, goût) —, les questions à résoudre sont la diminution, voire l'arrêt, des réactions enzymatiques et chimiques : les transferts d'eau et de soluté entre les différents compartiments d'un aliment (responsable des pertes de texture), les changements de phase (séparation de phases, cristallisation des matières grasses ou de l'amidon, responsable du rassissement du pain).

Les solutions technologiques sont multiples et reposent sur deux variables majeures : la disponibilité de l'eau, mesurée par l'activité de l'eau, et la température. Les micro- organismes ainsi que les tissus vivants (fruits et légumes) présentent deux variables complémentaires : le pH et la disponibilité de l'oxygène. Plusieurs technologies combinent ces différentes variables pour tirer parti des synergies.

#### I-2- Procédés traditionnels

Les procédés les plus traditionnels sont le séchage au soleil, le salage, la fumaison ou boucanage, le saumurage, les fermentations – éthanolique (vins, cidres) et lactique (fromages, choucroute, levains de panification) – et la conservation par le sucre et l'acide acétique (vinaigre).

La clé de l'inhibition du développement des micro-organismes est de s'attaquer aux éléments nécessaires à leur croissance : l'eau, l'oxygène, la température. Le séchage est de loin le procédé le plus ancien et le plus répandu. L'addition de sel ou de sucres (saccharose, lactose, glucose).

A partir de la révolution industrielle, les techniques évoluent en même temps que se développe l'industrie agro-alimentaire. Le point sur quelques-unes des techniques existantes :

La combinaison de plusieurs techniques de conservation peut être également envisagée afin d'augmenter la durée de vie d'un aliment sans provoquer une modification significative de ses caractéristiques sensorielles et nutritives (**Fig.28**).



Fig. 28: Une des conservations

Conserver les denrées alimentaires restent une nécessité pour les individus afin d'avoir des apports nutritionnels qualitatifs et quantitatifs répondant à leurs besoins journaliers tout en offrant une souplesse au niveau « logistique » alimentaire.

Au début, il y a eu le séchage, puis les conservations par le sel, le sucre (comme les confitures de nos grand-mères !), la fermentation (vin, fromage,...). Puis sont apparues les procédés de conservation par la chaleur puis par le froid très connu au domicile de chacun d'entre nous.

Bien que ces deux derniers processus interviennent comme agents de conservation dans les technologies actuelles et industrielles, en association, il est intéressant de coupler une « couverture protectrice » (salaison, boucanage, fumage, sucrage, confisage, acidification) afin de maintenir les aliments à l'abri de l'air. L'association de plusieurs technologies préserve au mieux les qualités d'origine des aliments et sécurise le consommateur. Il est ainsi possible de pasteuriser et réfrigérer, mettre sous-vide et surgeler, saler et fumer.

#### I-3- Coup de projecteur sur les altérations des aliments

Elles peuvent provenir de d'altérations physiques et/ou chimiques, enzymatiques (hydrolyse par exemple de l'amidon de la banane en glucides simples), de dégradations dues aux réactions chimiques (réaction de Maillard ou encore brunissement non enzymatique, oxydations des acides gras insaturés, des vitamines...).

Les facteurs influençant positivement ou négativement l'altération, et donc la conservation, sont la durée, l'humidité (activité de l'eau), la température, le pH, la lumière, ainsi que la composition de l'atmosphère (oxygène, CO2, N2).

#### I-4- Généralités sur les modes de conservation

#### I-4-1- Physiques

Diminution de l'activité de l'eau : on élimine l'eau par les procédés de déshydratation, lyophilisation, concentration, salage, séchage, confisage. Elimination de micro-organismes : ionisation, champs électriques pulsés et hautes pressions (pasteurisation).

Inhibition ou destruction des enzymes et micro-organismes : le froid par la réfrigération/congélation/ surgélation, la chaleur par la la pasteurisation, la stérilisation (appertisation, ultra-haute-température UHT, conservation des plats chauds préparés et consommés le jour même à une température  $\geq +63$ °C.

#### I-4-2- Chimiques

Les additifs pour la conservation comme les antifongiques, antibactériens, anti-oxygènes..., le fumage (couplage salage/déshydratation/conservation de la fumée).

Atmosphériques

Atmosphère modifiée. Thermiques

Par le froid, associé aux autres méthodes afin d'améliorer la conservation en qualité et sur le temps.

#### II- LA CONSERVATION PAR SECHAGE

Aux premières et simples méthodes de conservation (le séchage), ont succédé les techniques de salaison, la conservation par le sucre (les confitures) etc...

Consiste à enlever l'excès d'humidité par évaporation de l'eau. On aboutit à des produits alimentaires dits secs, tels que les haricots, saucissons, etc..

Le séchage est une méthode de conservation des aliments par déshydratation ou dessiccation. Il permet de ralentir la progression des bactéries, des levures et des moisissures en réduisant la quantité d'eau libre. Le séchage est une technique de conservation ancienne remontant au moins à 12 000 avant Jésus christ

#### III- LA CONSERVATION PAR LA DESHYDRATATION

La déshydratation est une technique physique de conservation des aliments. L'objectif de cette technique est de provoquer l'élimination d'eau de l'aliment (poisson, viande, légume, fruit, lait, céréale, purée de pomme de terre...) par une source de chaleur (four, soleil, séchoir à air chaud ventilé, à rayons infrarouges...) afin de diminuer l'humidité du produit, et ainsi ralentir les réactions enzymatiques et empêcher la prolifération microbienne. Les produits séchés sont avides d'eau! La conservation à température ambiante est tout à fait possible, si l'aliment est bien emballé, à l'abri de l'humidité environnante.

Ce procédé présente deux intérêts principaux : l'activité de l'eau du produit ainsi traité atteint des valeurs suffisamment basses pour inhiber le développement des microorganismes et stopper les réactions enzymatiques ; la diminution du poids et du volume est une économie importante pour le conditionnement, le transport et le stockage. Suivant l'intensité de déshydratation, on distingue:

#### III-1- Les avantages de la déshydratation

Une réduction de poids et de volume, entraînant de ce fait une économie pour le stockage, le transport et en course au niveau densité énergétique (rapport énergie/poids/volume maximal).

#### III-2- Les inconvénients de la déshydratation

- ✓ Un coût élevé au niveau industriel ;
- ✓ Une perte en certaines vitamines ;
- ✓ Une altération du goût des aliments ;
- ✓ Une réhydratation non optimale.

Dès les origines de l'humanité, les denrées alimentaires ont été séchées au soleil, dans des « séchoirs », puis dans des fours. Aujourd'hui, on déshydrate les denrées avec des déshydrateurs, des rampes infrarouges (**Fig.29**).



Fig.29: Conservation par déshydratation

La finalité étant d'ôter suffisamment d'eau du produit pour bloquer le développement de micro-organismes.

D'autres méthodes permettent de freiner ou bloquer le développement microbien en réduisant l'activité de l'eau tout en conférant du goût à l'aliment comme le fumage, le salage ou la conservation par le sucre. Techniques utilisées pour les viandes, poissons, fromages, confitures, fruits confits

Le lait en poudre, les céréales, les fruits secs se conservent à température ambiante. Ce, quand ils sont conditionnés dans des emballages les protégeant de l'humidité tout en conservant les qualités nutritionnelles. Cependant, cette méthode de conservation peut détruire partiellement les vitamines.

#### IV-LA CONSERVATION PAR LA LYOPHILISATION

Ce processus consiste en une congélation, puis une mise sous vide suivi d'une

sublimation de la glace (l'abaissement de la pression entraîne une sublimation de la glace qui passe à l'état de vapeur) et une désorption de l'eau pour obtenir un produit sec tout en conservant les qualités organoleptiques du produit de départ (cas de soupes, lait, lait diététique infantile, cacao, café, thé, fruits, légumes, champignon, sauce, herbes aromatiques, ...). C'est une déshydratation après congélation.

Cette technique est intéressante lorsque le sportif recherche un gain de poids et une densité énergétique importante, c'est le cas de courses en ultra, randonnées extrêmes par exemple où l'athlète doit s'auto-suffire et gérer ses rations quotidiennes.

Attention, ces aliments solides ont l'aspect poreux et sont très friables. Ils sont avides d'eau comme les produits déshydratés et donc, doivent être conservés à l'abri de l'humidité.

Cette technique qui donne des produits de qualité se réhydratant bien, reste d'un prix de revient élevé. Elle est réservée à certaines applications comme le café soluble, certains potages instantanés et à l'alimentation de personnes en conditions extrêmes (astronautes, alpinistes ...).

#### IV-1- Les avantages de la lyophilisation

La durée de stockage à température normale (jusqu'à plusieurs années);

La conservation des vitamines, surtout si emballage sous vide (abri de l'air) et opaque (abri de la lumière);

La conservation des qualités organoleptiques (texture, couleur, saveur...) et physiques (à l'inverse de la déshydratation);

Le poids et le volume des aliments sont fortement diminués : praticité d'utilisation dans les sports en autonomie complète.

#### IV-2- Les inconvénients de la lyophilisation

Technique très coûteuse (consommatrice d'énergie +) : prix de revient élevé. Ce procédé est limité aux aliments en poudre ou en petits morceaux car la lyophilisation d'aliments plus importants est trop énergivore !

#### IV-3- La nature des collections

Les collections du Musée comptent de très nombreux spécimens naturalisés, c'est-à- dire conservés grâce à des méthodes de taxidermie, le plus souvent dans une posture qui rappelle l'animal en action. Aujourd'hui, les taxidermistes utilisent divers matériaux pour donner forme à l'animal, alors qu'ils utilisaient autrefois la paille de bois, d'où l'expression « animal empaillé ».

De nombreuses autres méthodes permettent également de conserver les plantes et les animaux des collections : le simple séchage à l'air libre des plantes et des insectes, la conservation dans des liquides tels que l'éthanol, ou même, la lyophilisation, un service offert au Musée.

La lyophilisation consiste à retirer l'eau contenue dans les objets et les organismes congelés grâce à un équipement spécialisé. Cette technique largement reconnue est utilisée dans le secteur de l'alimentation, de l'industrie pharmaceutique, mais également pour la restauration d'objets archéologiques, d'archives, de vanneries et de textiles gorgés d'eau, par exemple.

L'eau est éliminée par sublimation de la glace, un processus où les cristaux de glace passent directement de l'état solide à l'état gazeux, sans passer par l'état liquide. Le résultat final permet d'obtenir un objet ou un spécimen complètement déshydraté, sans déformation.

Cette technique contribue ainsi à conserver l'intégrité des spécimens, tout en préservant leur forme et, dans bien des cas, leurs couleurs : des caractéristique bien appréciées en muséologie! L'absence de produits chimiques est aussi un avantage considérable lorsqu'on veut les manipuler (**Fig.30**).



Fig. 30: Quelques exemples de spécimens lyophilisés :

## V- La conservations par le sel, la fumée, le sucre, l'alcool et l'acide, mais aussi le gras

Ces différents composés sont des antiseptiques dont l'objectif est d'arrêter la prolifération bactérienne.

#### V-1- Le sel, le salpêtre, les nitrites

Ce sont des antibactériens, et agissent sur les réactions enzymatiques. Le salage se réalise à sec ou à l'aide de saumures avec plus ou moins d'aromates. Ce procédé est utilisé pour les poissons (morue, hareng, anchois,...) mais aussi les viandes (par injection dans les masses musculaires comme le porc).

Ces dernières, les charcuteries, les viandes (jambonneau, échine de porc...) changent de couleur pour passer de la couleur rouge à brune avec en parallèle une modification du goût. Ce procédé est aussi utilisé pour les poissons (morue, hareng, anchois, etc.).

#### V-2- La fumée

Quant à elle, très odoriférante, est produite par la combustion de bois (hêtre, frêne...), et reste un procédé naturel (assez lent). Cette fumée naturelle est remplacée progressivement par des moyens industriels (solutions phénoliques, acides organiques aux vertus antiseptiques) donnant l'impression du « goût de fumée ».

Tous les produits fumés sont salés au préalable, alors que les produits salés ne sont pas tous fumés. Par ce procédé, l'humidité du produit alimentaire est abaissée, ce qui a pour conséquence une diminution de l'activité bactériologique et donc du développement microbien. Les différentes charcuteries type saucisson, jambon se conservent à température ambiante, alors que les aliments comme le saumon fumé, hareng fumé, maquereau fumé, jambon cuit sont conservés à une température plus basse au réfrigérateur. La durée de conservation peut être de plusieurs semaines, voir plusieurs mois.

#### V-3- La conservation par le sucre

Utilisée pour stopper la prolifération bactérienne en favorisant l'action de certains microorganismes qui entrent en concurrence avec ces premiers, la conservation par le sucre est souvent associée à la conservation par la chaleur (ci-après). Les sucres, contenus dans les aliments, se combinent avec les bactéries pour donner des acides (lactiques, propioniques) aux caractéristiques antibactériennes. C'est le cas de la choucroute, des cornichons (fermentation lactique), le raisin, la pomme (fermentation alcoolique donnant le vin, et le cidre), le fromage pour ce qui est de fermentations multiples..

Aussi, le confisage dans le sucre (cuisson associée à la concentration du sirop de sucre qui pénètre dans les fruits par effet osmotique) possède des propriétés antibactériennes. Cette technique est utilisée pour les confitures, les conserves de fruits, les fruits confits.

#### V-4- La conservation par l'alcool

Elle concerne plus les fruits (cerises, prunes, poires, pommes...) et celle par l'acide, représentée par le vinaigre, va être intéressante pour les petits légumes (cornichons, carottes, tomates cerises...).

#### V-5- La conservation par le gras

Enfin, pour ce qui est de la conservation par le gras, l'aliment (morceaux d'oie, canard,...) est cuit dans la graisse puis conservé au froid, entouré par une couche de gras opaque abritant de l'air et de la lumière.

L'avantage de l'ensemble de ces techniques est de pouvoir réaliser celles-ci chez soi, de moduler de manière plus ou moins volontaire le goût des aliments (le goût et la texture ne sont plus identiques à ceux du produit d'origine, ce qui peut être un inconvénient) et d'enrichir la gamme des saveurs.

#### VI- La conservation par la chaleur

Cette méthode de conservation consiste à détruire totalement ou partielllement par la chaleur des micro-organismes et enzymes contenus dans les denrées alimentaires, et à conditionner ces dernières dans un emballage étanche pour éviter les recontaminations microbiennes ultérieures.

Le traitement thermique peut être effectué soit sur le produit conditionné soit sur le produit en vrac, suivi alors d'un conditionnement aseptique. On distingue l'appertisation et pasteurisation, qui diffèrent par la température maximale appliquée et la durée du traitement.

#### VI-1- La stérilisation

La stérilisation consiste à amener une préparation (le plus souvent en bocaux) à plus de 100°C. Une température de 120°C pendant 20 mn permet de détruire la plupart des bactéries, la durée étant variable en fonction de la contenance des bocaux. C'est un procédé qui peut se faire à la maison sans gros investissement. De plus, les préparations peuvent se conserver ainsi pendant environ 5 ans (**Fig.31**)



Fig. 31: La stérilisation

#### VI-2- La pasteurisation

Elle soumet les aliments à des températures entre +60 et  $+100^{\circ}$ C dans le but de faire disparaître toute la flore bactérienne thermosensible. La durée de chauffage dépend de la température (plus c'est chaud, plus c'est court !). La deuxième étape consiste en un refroidissement rapide à  $+4^{\circ}$ C. Les qualités organoleptiques ainsi que les vitamines sont bien conservées. Etant donné la présence de germes résiduels, les aliments se conservent quelques jours à quelques semaines et au froid positif (+3 à  $6^{\circ}$ C). Ce traitement est peu coûteux.

La pasteurisation a pour but la destruction des micro-organismes pathogènes. La technique utilisée consiste à soumettre les aliments à une température légèrement inférieure à 100°C et de les refroidir brutalement. Elle permet de préserver les caractéristiques des denrées

alimentaires, notamment au plan organoleptique. Elle nécessite plus de matériel. De fait, ce sont plutôt les industriels qui l'utilisent pour les jus de fruits ou le lait.

#### VI-3- L'appertisation

Les aliments (viandes, poissons, légumes, fruits, plats cuisinés...) sont chauffés à des températures plus élevées que la pasteurisation (115°C- 140°C). Les produits appertisés peuvent être conditionnés en boîtes métalliques (conserves), en bocaux de verre, en barquettes ou encore en briques (soupes par exemple).

L'objectif est de détruire toutes les flores bactériennes, pour une conservation de longue durée, à température ambiante, à l'abri de l'air et de la lumière.

Remarque : les traitements thermiques à haute température et sur un temps court favorisent une bonne préservation des fibres, des nutriments et plus particulièrement des vitamines thermosensibles (exemple des vitamines A, B1, C).

Pour les liquides alimentaires comme le lait, le chauffage peut être réalisé par passage de quelques secondes dans un courant de vapeur surchauffée (+140-150°C) pendant quelques secondes (2 à 5 secondes), suivi d'un refroidissement immédiat (+3°C) sous vide. Ces produits ont l'appellation UHT car ayant subi une stérilisation à Ultra Haute Température ou Upérisation. Tous les germes sont détruits, les pertes en vitamines sont diminuées. La conservation est assez longue (plusieurs mois), la stérilisation sans le goût de cuit. Cependant, ce procédé nécessite beaucoup d'énergie et la saveur du produit est modifiée par rapport au produit frais.

#### VII- La conservation par le froid

La conservation au froid s'est vite développée au début du 20ème siècle avec le développement des techniques de production du froid artificiel. Il s'agit de la réfrigération, la congélation et surgélation.

Les techniques de conservation par abaissement de la température des produits et des aliments permet de prolonger leurs durées de vie, et suivant les températures l'activité cellulaire et la prolifération des micro-organismes sont soit ralenties, soit stoppées.

Le froid permet de conserver des aliments suivant les températures de quelques jours à plusieurs mois, tout en gardant leurs propriétés gustatives et nutritives.

Néanmoins, soustraire de la chaleur est un procédé gourmand en énergie, le froid industriel représente pour la France près de 7 % de la consommation totale d'énergie électrique.

#### VII-1- La réfrigération

Les aliments se conservent quelques jours, entreposés à des températures comprises entre 2 et 8°C. En maintenant des aliments à une température proche ou supérieure à 0°C, on réduit considérablement l'évolution microbienne et les métabolismes biochimiques. Le développement des bactéries pathogènes est ralenti à cette température. L'évolution des denrées périssables dans une enceinte où la température et l'hygrométrie sont constantes est

alors possible à court et moyen terme, elle est augmentée de quelques jours, les cycles de distribution des produits frais sont allongés. Cela concerne l'ensemble des denrées alimentaires.

Bien évidemment, plus le produit réfrigéré est sain au départ, plus long est sa conservation.

Par exemple pour les fruits et légumes la réfrigération doit être faite le plus rapidement possible après la collecte (Fig.32).



Fig.32: La réfrigération

On abaisse la température entre 0°C et 4°C pour allonger la durée de conservation des aliments. A l'état réfrigéré, les métabolismes cellulaires sont ralentis. Dans les pays dit industrialisés, nous connaissons tous cette méthode depuis que le réfrigérateur est entré dans nos cuisines.

Par l'utilisation d'atmosphère modifiée (azote, CO2 notamment), il est possible d'améliorer la conservation en ralentissant la respiration des végétaux crus, les phénomènes oxydatifs. Sont concernés les aliments suivants : fruits, légumes, viandes fraîches ou transformées, poissons, crustacés, fromages...

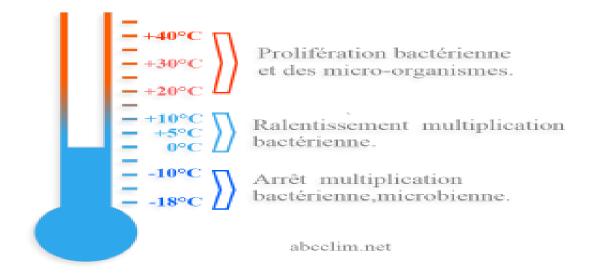
#### VII-2- La congélation

Ce procédé permet de maintenir une température de -18°C au cœur des aliments, elle permet une stabilisation en l'état des produits alimentaires. Les produits congelés peuvent être de la viande, des volailles, du poisson, des coquillages, du pain, du fromage et des plats cuisinés.

Bien entendu, ils ne doivent pas avoir été congelés et décongelés au préalable. Une congélation rapide est une garantie de qualité, ce procédé provoque une cristallisation de l'eau contenue dans les aliments, si la congélation est trop lente les cristaux sont plutôt gros, ce qui après décongélation altère en grande partie la qualité du produit.

Les températures des enceintes de congélations doivent être comprises entre - 18°C et -25°C.

La congélation est une technique consistant à abaisser la température d'une denrée alimentaire de façon à faire passer à l'état solide l'eau qu'il contient. Cette cristallisation de l'eau contenue dans l'aliment permet de réduire l'eau disponible. Ce faisant, l'activité microbienne et enzymatique ralentit, voire s'arrête (**Fig.33**).



**Fig.33:** La congélation à différentes températures

#### VII-3- La surgélation

La surgélation ou la congélation rapide consiste à exposer des produits à un froid intense provoquant l'abaissement rapide de la température des aliments jusqu'à - 30°C à -40°C pendant un temps déterminé, cette pratique permet de garder la structure cellulaire originelle des produits et de bloquer l'activité microbienne au maximum. Il n'y a pas de modifications de la teneur en nutriments globalement, mais avec le temps, bien sûr, des modifications sensibles ont lieu (une activité enzymatique résiduelle persiste). Ce mode est très pratique et permet la conservation d'une gamme très étendue d'aliments.

Ici contrairement à une congélation simple la proportion d'eau non congelée contenue dans le produit est très faible, L'eau contenue dans les cellules se cristallise finement réduisant ainsi la destruction cellulaire. Les produits conservent leur texture, leur goût. Cette méthode est difficilement réalisable à la maison, car elle nécessite un matériel onéreux. les produits surgelés sont ensuite conservés à -18°C.

#### VII-4- Conservation de quelques denrées

#### VII-4-1-Viande

La température de conservation de la viande varie de 0°C à 4°C avec une hygrométrie comprise entre 75 et 85 %, une viande trop humide sera poisseuse tandis qu'une viande trop sèche perdra de son poids.

Elle se conserve de plusieurs jours à quatre semaines au-delà il faudra congeler la viande, cette congélation doit être la plus rapide possible.

#### VII-4-2-Poisson

La qualité de la viande de poisson se dégrade dès sa capture, celle-ci se conserve sur un lit de glace 1°C. Le poisson se conserve aux alentours d'une semaine entre 0°C et 3°C, au-delà il doit être mis en surgélation à -25°C. En ce qui concerne les coquillages vivants leur conservation se situe entre 6°C et 15°C, une fois cuits ils peuvent être congelés (**Fig.34**).

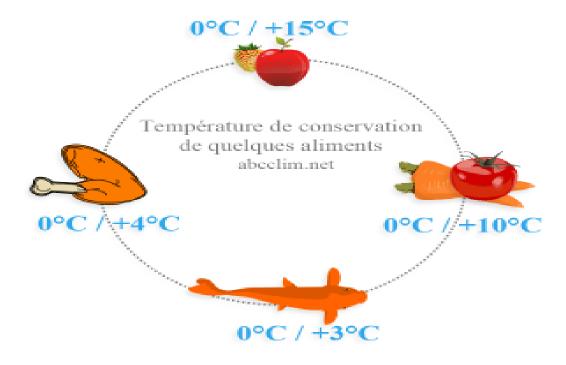


Fig.34 : La conservation de quelques denrées

#### VII-4-3-Fruits

La conservation des fruits en chambre froide permet un entreposage prolongé, allant de trois à quatre mois. Les fruits une fois cueillis continuait d'absorber de l'oxygène et à dégager de l'anhydride carbonique, donc les chambres froides doivent être en mesure de contrôler non seulement la température, mais la teneur anhydride carbonique. La température de conservation et les fruits se situent de moins 0°C à +15°C avec une hygrométrie comprise entre 80% 90 %.

En ce qui concerne la conservation des produits congelés, la température se situe entre -20°C à 25°C.

#### VII-4-4-Les légumes

La température de conservation des légumes varie 0°C à + 10°C avec une teneur en humidité relative de 70 à 90 %. La plupart des légumes peuvent être congelés, mais par exemple les pommes de terre, les artichauts, les aubergines, la laitue ne sont pas des aliments à congeler tels quels, ils doivent avoir été cuisinés au préalable.

Il s'agit d'un rapide survol des principales méthodes qui permet au lecteur et sportif de se faire une idée sur le devenir des différents aliments selon leur conservation tant au niveau nutritionnel qu'organoleptique. Ces techniques permettent de diversifier l'offre pour la complémentation solide en général mais aussi liquide.

#### VIII- Les agents de conservation chimiques

Les agents de conservation sont des substances chimiques ajoutées aux aliments pour obtenir les effets suivants : empêcher leur dégradation; améliorer leur apparence; conserver leurs qualités nutritives.

Certains agents de conservation proviennent de sources naturelles comme le sel, le sucre, le vinaigre et le jus de citron. D'autres sont fabriqués ou artificiels.

Liste des agents de conservation autorisés (Listes des additifs alimentaires autorisés)

Cette liste des agents de conservation autorisés énonce les additifs alimentaires utilisés pour le contrôle des micro-organismes ou de l'oxydation des aliments. Elle est incorporée par renvoi dans l'Autorisation de mise en marché d'additifs alimentaires comme agents de conservation.

#### - Acide acétique

Marinade; poisson de salaison; saumure et mélange de salaison à sec, employés dans l'apprêt des viandes de salaison ou des sous-produits de viande de salaison;

#### - Acide ascorbique

Ale; bière; bière légère; champignons en conserve; cidre; (nom du fruit) congelés; glaçure pour poisson congelé; liant à viande pour viandes conservées et sous-produits de viande conservés.

#### - Nitrate de potassium

Viande conservée et sous-produits de viande conservés, préparés selon des méthodes de salaison lente. Saucisse séchée; Fromage mûri,

#### - Ascorbate de sodium

Ale; asperges blanches en conserve; bière; bière légère; champignons en conserve;

#### - Acide benzoïque

Confiture de pommes; cornichons; gelée; jus concentré sauf le jus d'orange concentré congelé; marmelade d'ananas avec pectine; marmelade de figues avec pectine; pâte de tomates; produits de poisson ou de chair emballés, marinés ou conditionnés à froid par une autre méthode; pulpe de tomates; purée de tomates.

#### - Carnobacterium divergens M35

Saumon tranché fumé à froid prêt à consommer; truite tranchée fumée à froid prête à consommer

#### - Arginate d'éthyle laurique

Boissons à base d'eau non alcoolisées non normalisée. Catsup de tomates; fromage cheddar; fromage de petit-lait; fromage de petit-lait (indication de la variété); fromage (indication de la variété); fromage fondu.

#### - Nisine

Mélange liquide d'œufs entiers; mélanges pour pâtisseries contenant des œufs; œuf entier liquide; saumure pour des œufs cuits dur.

#### IX- Les autres méthodes de conservation

#### IX-1- La fermentation

La fermentation permet de conserver par acidification. C'est la transformation naturelle d'une ou de plusieurs denrées alimentaires sous l'action de levures, ou de bactéries. Le vin est une fermentation alcoolique, la choucroute est une fermentation lactique et le vinaigre une fermentation acétique.

On utilise la lactofermentation, par exemple, depuis fort longtemps. Elle consiste à laisser macérer les aliments avec du sel ou de les plonger en saumure, coupés de l'oxygène. Ce mode de préparation préserve les éléments nutritifs et les vitamines. La fermentation améliore l'assimilation et la digestibilité des aliments par notre organisme.

#### IX-2- La conservation sous-vide

On réduit la quantité d'air autour de la denrée alimentaire et donc l'action de l'oxygène sur celle-ci. La durée de conservation de l'aliment est multipliée par 5. Idéalement, on la couple avec la déshydratation et la congélation. Il y a encore quelques années, ce procédé était réservé aux industriels. Toutefois, aujourd'hui, on trouve des machines à des prix abordables (Fig.35).



Fig.35: La conservation sous-vide

#### IX-3- La ionisation ou irradiation

Les aliments sont exposés à des rayonnements ionisants afin de réduire le nombre de microorganismes de bactéries et de virus qu'ils contiennent. Or, ce procédé est très controversé car les aliments sont exposés aux radiations. Pourtant, on l'utilise depuis les années 40. Il est encore très répandu pour les farines ; légumes et fruits secs ; les oignons ; les céréales ; les épices... Heureusement, l'agriculture biologique interdit cette méthode de conservation.

## Chapitre III: Techniques de dosage

#### I-Dosage enzymatique

Il est très fréquent qu'on veuille doser une ou plusieurs d'enzymes dans une préparation donnée. Cette mesure peut simplement servir à mesurer la quantité d'enzymes ou encore à en étudier les paramètres physico-chimiques (KM, Ki, inhibition, effet du pH, température optimale, etc.).

#### I-1- Unités enzymatiques et vitesse initiales

L'activité enzymatique est une mesure de la quantité d'enzymes active dans une préparation. L'unité d'activité enzymatique (U) est définie en terme de quantité de substrat disparaissant par unité de temps ou de quantité de produit apparaissant par unité de temps. Le katal (kat), ou ses dérivés (mkat, nkat, etc.) est l'unité suggérée par l'Union internationale de biochimie, elle s'exprime en termes de mol/sec. Cette unité est cependant peu employée. On voit beaucoup plus souvent des U exprimées en mol/min ou mmol/min. Les autres unités de quantité de matière (g, mg, etc.) ou de temps (heures, jour) ne sont habituellement pas utilisées.

Pour des solutions contenant des enzymes, on peut également exprimer des activités volumiques en terme d'U/mL. L'activité spécifique des préparations plus ou moins purifiées s'exprime souvent en U/g de protéines. Si on veut comparer la quantité d'activité entre deux tissus, on utilise généralement les U/g de tissu.

Pour faire des courbes de Michaelis-Menten, de KM, Ki, etc., il faut mesurer la vitesse initiale de la réaction (V0), aussi appelée activité, à diverses concentrations initiales de substrat (S0). Les vitesses sont des variations de concentrations en fonction du temps. Elles s'expriment donc en  $\Box$ M/min ou en  $\Box$ mol/L- min. On en tient compte que de l'activité initiale par ce qu'au début de la réaction il n'y pas eu accumulation de produits de la réaction qui pourrait ralentir le processus et que le substrat est en concentration assez grande (**Fig.36**)

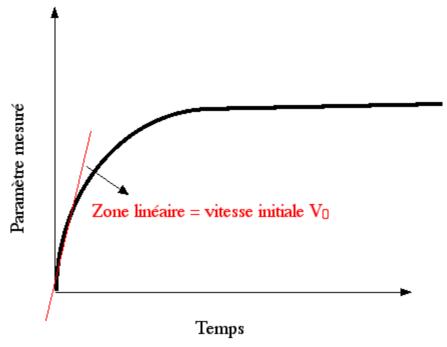


Fig.36: L'activité enzymatique

#### **I-2- Calculs**

Les calculs sont relativement faciles à faire. Tout d'abord on calcule la quantité de substrat disparaissant ou de produit disparaissant par unité de temps, généralement cette valeur est exprimée en  $\Box$ mol/min ou umol/min. Pour déterminer la quantité de  $\Box$ mol, on se sert simplement de l'absorbtion, ou plus précisément de la variation d'absorption par minute ( $\Delta$ A/min). Cette  $\Delta$ A/min peut ensuite être ensuite en variation de quantité de matériel (en  $\mu$ mol) simplement en se servant de la loi de Beer-Lambert. Cette valeur, les unités enzymatiques, est ensuite utilisable pour dériver les activités enzymatiques volumiques, les vitesses initiales, les activités enzymatiques spécifiques, etc.

Il ne faut pas oublier ensuite de tenir compte de toutes les dilutions que le mélange contenant l'enzyme a subi pour aboutir à une activité volumique (**Fig.37**).

Ces données permettent d'obtenir la cinétique suivante S0 vs V0:

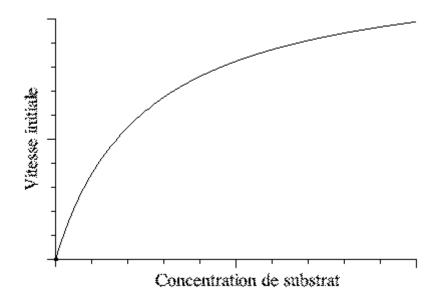


Fig.37: La cinétique

Cette activité enzymatique correspond au calcul de l'effet catalytique d'une enzyme, reposant sur la quantité de substrat transformée par unité de temps. Un photomètre ou spectrophotomètre est à la base nécessaire pour ce type d'analyse. Dosages protéase, amylase (alpha/beta), xylanase, glucanase, cellulase, fructanase, protéase, dextrinase, pullulanase, dextranase, mannanase.

#### I-3- Méthodes de dosage et mesure de l'activité enzymatique

Beaucoup de dosages, notamment biologiques, reposent sur des techniques enzymatiques. Deux cas de figure peuvent se présenter :

- Dosage d'une molécule qui est utilisée en tant que substrat.
- Détermination de l'activité d'une enzyme.

#### I-3-1- Détermination de la concentration d'un substrat

Il existe deux cas de figure;

Méthode point final ; transformation du substrat en un produit P qui lui va être quantifiable.

Dans ce cas-là, la réaction doit se dérouler le plus rapidement possible, doit être totale et en général la concentration en substrat doit préférablement être faible.

- Méthode cinétique : travail en vitesse de réaction. Il est préférable que la vitesse de réaction soit lente et la concentration en substrat élevée.

#### I-3-2- Méthode point final:

Le but de cette méthode est de transformer la totalité du substrat en produit. Le problème est que toute réaction possède un équilibre  $S_1 + S_2 = P_1 + P_2$ .

La constante d'équilibre des réactions est :  $Ke = [P_1][P_2] / [S_1][S_2]$ .

Pour que la concentration en produit finale soit égale à la concentration en substrat initial, il faut que la réaction soit la plus complète possible. Pour rendre une réaction totale, on peut :

- Piéger un des produits pour inciter la consommation du substrat.
- Augmenter la concentration de S2 pour les mêmes raisons.
- Coupler la réaction avec une réaction secondaire qui va permettre de consommer un des produits.

#### I-3-3- Dosage en mesure directe :

La première réaction donne un produit coloré.

Exemple:  $CH3-CH_2OH + NAD^+ \Rightarrow CH_3-CH = O + NADH.H_+$ 

L'acétaldéhyde peut être piégé par semi-carbozène. NAD et NADH n'ont pas du tout les mêmes propriétés spectrales, ce qui permet le dosage (Fig.38).

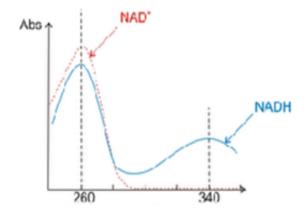


Fig. 38:Longueur d'onde en nm

#### I-4- Enzyme Conversion angiotensine

L'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) est une protéine impliquée dans le contrôle de la tension artérielle. Elle est localisée sur la face interne de tous les vaisseaux sanguins et est particulièrement concentrée dans les vaisseaux du poumon. L'ECA est également produite par des cellules inflammatoires impliquées dans les mécanismes de défense de l'organisme. Les taux d'ECA sont utiles dans le diagnostic et le suivi de la sarcoïdose, une maladie d'origine inconnue caractérisée par la formation de granulomes, petites masses de cellules immunes et inflammatoires et de tissu fibreux. Ces granulomes se développent sous la peau et dans plusieurs organes. Les cellules externes du granulome sécrètent de grandes quantités d'ECA. La sarcoïdose est suspectée en présence d'un ensemble de symptômes, dont la présence de granulomes sous la peau, de rhume chronique et de souffle court, d'yeux rouges et larmoyants et de douleurs articulaires.

Un taux élevé d'ECA (enzyme de conversion de l'angiotensine) en présence des signes et symptômes cliniques pertinents est compatible avec une sarcoïdose. L'ECA est élevée chez 50 à 80 % des personnes atteintes de sarcoïdose active et un taux normal de l'enzyme ne permet donc pas d'éliminer complètement la sarcoïdose, en particulier la forme chronique. Une diminution du taux de l'enzyme peut indiquer une rémission spontanée ou due au traitement et permet un pronostic favorable.

Le dosage sérique de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) sert à déterminer la teneur de cette enzyme dans le sang.

L'ECA est un enzyme qui convertit l'angiotensine I en angiotensine II, un processus naturel du métabolisme servant à réguler la tension artérielle. L'angiotensine I est inactive en soi, mais une fois convertie en angiotensine II, elle entraîne un rétrécissement des vaisseaux sanguins, d'où une augmentation de la tension artérielle dans le corps tout entier.

Il n'y a pas d'indicateur prédéterminé d'un ECA sain, ce taux étant susceptible de varier en fonction de l'âge et du mode de test utilisé par divers laboratoires. À titre de référence empirique, les adultes de plus de 20 ans présentent des taux d'ECA inférieurs à 40 microgrammes/L. Les personnes de moins de 20 ans présentent des taux d'ECA plus élevés.

La principale raison pour laquelle les médecins prescrivent un dosage de l'ECA est de détecter une éventuelle sarcoïdose et d'en effectuer un suivi. La sarcoïdose implique le développement de petits amas de cellules enflammées, affectant le plus souvent les yeux, les poumons, les ganglions lymphatiques, ainsi que la peau. Cette condition disparaît fréquemment de soi, mais dans certains cas, elle reste chronique.

Le dosage de l'ECA peut également servir à détecter (ou exclure) la présence éventuelle d'une maladie de Gaucher (pathologie génétique dans laquelle les lipides s'accumulent dans les cellules). Autres conditions affectant les niveaux d'ECA :

-anorexie ; hépatite alcoolique ; asbestose ; asthme ; maladie chronique du foie ; diabète ; emphysème ; maladie de Hodgkin ; hyperthyroïdie ; hypothyroïdie ; cancer du poumon ; sclérose en plaques ; thérapie à base de stéroïdes et tuberculose.

Les risques impliqués par le dosage de l'ECA sont minimes et généralement identiques à ceux de tout autre type de dosage sanguin. Il peut s'agir notamment :

- d'évanouissement ;
- d'étourdissement ;
- d'un hématome (collection sanguine enkystée)
- saignement léger au niveau du point de ponction

#### I-4-1- Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC)

Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC) sont des médicaments, qui sont utilisés notamment dans le traitement de l'hypertension artérielle, de la maladie coronarienne et de l'insuffisance cardiaque chronique. Ce sont des inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA souvent abrégée ACE du fait de l'acronyme anglophone Angiotensin Converting Enzyme), qui est un élément d'une cascade régulant la pression artérielle (système Rénine-Angiotensine-Aldostérone). Les composants inhibant l'ECA ont été trouvés initialement dans le venin de serpent.I-4- Dosage de l'activité enzymatique (Fig.39).

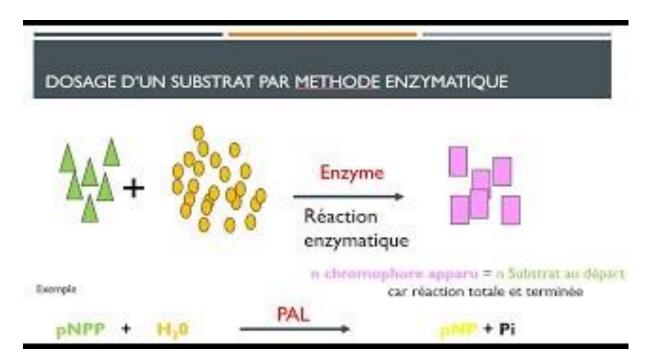


Fig.39: Réaction enzymatique

La proportionnalité entre la vitesse initiale de la réaction enzymatique et la concentration en enzyme est très importante, car elle permet le dosage une enzyme dans un milieu biologique quelconque. En pratique, on utilise les conditions expérimentales pour lesquelles l'enzyme présente l'activité catalytique la plus courte(conditions optimales de T° et de pH) et surtout une concentration initiale en substrat très élevée par rapport à laconcentration enzymatique présumée.

- La détermination des substrats par voie enzymatique a donné un grande pousse en matière de sensibilité et de spécificité, mais aussi une facilité d'usage et automatisation des tests.
- La technologie des enzymes immobilisées a donné un champs prometteuren matière thérapeutique;
  - ✓ correction des déficits enzymatiques,
  - ✓ détoxification par enzymes microsomales.

#### II- Dosage biologique des hormones

Une dysfonction endocrinienne provient d'un excès ou d'un déficit hormonal confirmé par un dosage quantitatif, ou encore résulte d'une sensibilité excessive ou insuffisante à l'action d'une hormone dont le diagnostic se fera par des tests dynamiques de stimulation ou de suppression.

Ces déséquilibres hormonaux peuvent être primitifs ou secondaires, intermittents ou constants. Ils se traduisent le plus souvent par des signes cliniques révélateurs (anomalie de l'installation de la puberté, excès ou défaut de pilosité, irrégularité des cycles, aménorrhée, stérilité, absence de glaire cervicale, galactorrhée...) associés à des anomalies biologiques. Les éléments anamnestiques et cliniques peuvent avoir une valeur d'orientation parfois bien supérieure à celle des dosages hormonaux.

Les dosages hormonaux ne se limitent pas au seul intérêt diagnostique, ils sont aussi largement utilisés dans le monitorage des inducteurs de l'ovulation ou encore dans la surveillance des thérapeutiques de suppression hormonale. Examens les plus courants : HCG, FSH, LH, Œstradiol, AMH, Testostérone.

#### II-1 Dosage du cortisol plasmatique: utilité et pièges diagnostiques

Le dosage du cortisol est recommandé en cas de suspicion d'hyper- comme d'hypocorticisme. Le dosage du cortisol est donc un outil majeur pour les cliniciens en particulier pour les endocrinologues. Le cortisol, synthétisé à partir du cholestérol au niveau des glandes surrénales, est la principale et la plus abondante hormone glucocorticoïde. La sécrétion du cortisol est soumise à un rythme nycthéméral, la concentration sanguine étant maximale le matin entre 7 et 10 heures et minimale à minuit pour un cycle classique de sommeil. Cette sécrétion est régulée par l'ACTH d'origine hypophysaire et le CRH d'origine hypothalamique.

Mentionnons aussi que la détermination cortisol sanguin peut être complétée par d'autres dosages comme les dosages cortisol urinaire et salivaire qui eux aussi ont connus une évolution importante ces dernières années. Le cortisol est important pour la réponse au stress, le contrôle du métabolisme des protéines, des lipides et des glucides, le maintien des fonctions musculaire et myocardique et la régulation des activités inflammatoires et allergiques.

Dans le sang, le cortisol circule majoritairement sous forme liée à une protéine spécifique, la transcortine ou Cortisol Binding Globulin (CBG) et de manière minoritaire, sous forme libre. La CBG est une glycoprotéine monomérique d'environ 52 kDa essentiellement synthétisée par le foie et qui lie avec une haute affinité le cortisol, ce qui lui confère un rôle déterminant

dans l'activité biologique de cette hormone. Le dosage du cortisol est recommandé en cas de suspicion d'hypercorticisme, comme par exemple syndrome de Cushing, et d'hypocorticisme, comme par exemple en cas d'insuffisance surrénalienne.

#### II-1-1 Dosage du cortisol total

Le dosage du cortisol total correspond à la détermination du cortisol non liée aux protéines (libre), du cortisol lié aux protéines de faible affinité comme l'albumine et du cortisol lié à la Sex CBG. Cette détermination des concentrations de cortisol total peut s'effectuer par plusieurs méthodes différentes. L'immunodosage reste la méthode la plus employée pour ce dosage et après les premières générations de dosages par radioimmunodosage (RIA détection isotopique), les laboratoires utilisent maintenant des méthodes automatisées. Le rythme de base du cortisol étant modulé par le stress, l'activité physique, et l'alimentation.

- L'exactitude (ou justesse) : le dosage doit pouvoir être corrélé à une technique de référence. La méthode de référence, comme la plupart des autres structures stéroïdiennes est la chromatographie liquide couplée à une détection par spectrométrie de masse.
- Les valeurs de références : elles sont méthodes dépendantes et doivent être confirmées par les laboratoires. Des différences importantes peuvent être observées en fonction du sexe et lors de la grossesse. L'important biais lié au sexe pourrait être venir des variations de CBG (et surtout pendant la grossesse).

#### II-1-2- Dosage du cortisol libre

Le dosage du cortisol libre consiste en la quantification de la fraction de cortisol non liée aux protéines. Moins de 10% du cortisol n'est en effet pas lié aux protéines plasmatiques et représentent la fraction libre de l'hormone. La mesure du cortisol libre peut être intéressante pour des situations connues de variation de la CBG.

Certaines situations s'accompagnent en effet de modifications de la concentration plasmatique de la CBG, fluctuations aux répercussions immédiates sur la cortisolémie totale : la grossesse, les estrogènes à doses fortes (contraception oestroprogestative) stimulent la synthèse hépatique de la CBG. La concentration de celle-ci est diminuée au cours des hypothyroïdies, des néphropathies avec fuite protéique urinaire, de l'insuffisance hépato-cellulaire, des chocs septiques et en cas d'excès de glucocorticoïdes endogènes (syndrome de Cushing) ou exogène.

Les méthodes de dosages basées sur l'ultrafiltration ou dialyse à l'équilibre restent considérées comme les méthodes de référence.

#### II-2- Dosage des hormones thyroïdiennes T3 et T4

Plus de 80% de la production des hormones thyroïdiennes se fait sous la forme de thyroxine, encore appelée T4. Cette hormone passe dans le sang où elle se lie en grande partie à des protéines.

Pour apprécier le fonctionnement de la thyroïde, on ne mesure que le taux de T4 non lié à des protéines : T4 libre.

L'hormone tri-iodothyronine (T3) représente les 20 % de sécrétion hormonale restant de la thyroïde. Une partie de cette hormone est aussi produite au sein des muscles, du foie et du rein par dégradation de l'hormone T4.

La TSH (thyréostimuline hypophysaire) est sécrétée par l'hypophyse située dans le cerveau pour contrôler la production des hormones thyroïdiennes. À l'état normal, son taux baisse quand celui des hormones augmente et inversement. Cette équation n'est plus vraie lorsqu'il existe une maladie de la thyroïde ou de l'hypophyse. Les dosages sont actuellement réalisés avec une méthode dite ultrasensible qui permet d'observer des différences minimes de concentration (**Tableau I**).

Tableau I : Valeurs cibles du dosage des hormones thyroïdiennes

Pourquoi fait-on ce test ?	Le dosage des hormones thyroïdiennes est effectué afin de diagnostiquer ou de faire le suivi de problèmes à la glande thyroïde.
Préparation :	Il n'y a pas de restrictions alimentaires avant le test.
Valeurs cibles:	<ul> <li>T4 (libre) chez l'adulte : 7.5 à 19.4 ng/L</li> <li>T4 (totale) chez l'adulte : 4 à 12,5 mcg/dL</li> <li>T3 (totale) chez l'adulte : 1,2 à 3,0 nmol/L</li> </ul>
Tests associés:	Les dosages destinés à explorer la fonction thyroïdienne comprennent, en plus de celui des hormones thyroïdiennes, le dosage de la TSH (hormone thyréostimulante), de la thyroglobuline et des anticorps antithyroïdiens.

Il est à noter qu'elles peuvent différer d'un laboratoire à un autre.

Lorsqu'on parle d'hormones thyroïdiennes, on réfère aux hormones T4 (thyroxine) et T3 (triiodothyronine). Ces deux hormones existent sous deux formes dans le sang, la forme libre (celle qui est active) et celle liée à une protéine (constituant les réserves). Les quantités d'hormones produites par la glande thyroïde sont étroitement régies par la TSH (hormone thyréostimulante) et par la quantité d'iode disponible. Les hormones thyroïdiennes jouent de nombreux rôles dans l'organisme, entre autres sur le métabolisme des sucres et des gras et le développement du squelette et du système nerveux.

#### III- Dosage des β-hcg sanguine (test de grossesse)

La béta-hCG, ou hormone chorionique gonadotrope humaine, est une hormone de grossesse très largement sécrétée au moment de la nidation de l'œuf fécondé au sein de la muqueuse utérine. Elle est produite par le placenta, plus précisément par des cellules appelées cellules trophoblastiques, dès le 6e jour après la conception. Son taux augmente régulièrement au cours du 1er trimestre de grossesse. Elle est constituée d'une chaîne alpha qui est commune à de nombreuses hormones et d'une chaîne béta spécifique de l'hormone de grossesse.

La concentration des béta-hCG va alors s'accroître jusqu'à la 8e semaine de grossesse avant d'entamer une lente descente vers un taux normalisé après l'accouchement. Son dosage

constitue, de fait, un marqueur fiable du début de grossesse, et contribue également à sa datation.

L'hCG est sécrétée par les cellules syncytio-trophoblastiques de l'embryon. La béta-hCG peut en principe être détectée une dizaine de jours après la fécondation, mais en pratique et en l'absence de caractère d'urgence ou de situation particulière, il est préférable d'attendre un retard de règles pour effectuer le dosage. Un taux inférieur à 3 U/L dans le sérum (pour la technique utilisée à CBM25) correspond à un test négatif. Un taux supérieur ou égal à 3 U/L dans le sérum indique que l'hCG a été détectée (test positif). Néanmoins, il est considéré que des valeurs inférieures à 15 U/l sont insuffisantes pour affirmer avec certitude une grossesse.

En cas de grossesse évolutive, la concentration de l'hCG dans le sang augmente progressivement jusqu'à la 8ème semaine d'aménorrhée. Dans les semaines suivantes, son taux se stabilise puis elle diminue progressivement jusqu'à la fin de la grossesse pour disparaître après l'accouchement. En cas de suspicion d'arrêt de développement de la grossesse, la diminution de l'hCG est un signe précoce. Les dosages d'hCG répétés permettent de s'assurer que tout le placenta a été éliminé, que ce soit après une fausse couche ou une interruption de grossesse. Ils sont pratiqués jusqu'à la négativation du test.

En dehors de la grossesse, la concentration de l'hormone est inférieure à 8 unités internationales (UI)/l. Son taux fluctue ensuite en fonction de l'avancement de la grossesse :

```
✓ 1re semaine : de 15 à 100 UI /l;
✓ 2e semaine : de 45 à 1 600 UI /l;
✓ 3e semaine : de 400 à 15 000 UI /l;
✓ 4e semaine : de 3 300 à 80 000 UI /l;
✓ 6e semaine : 25 000 à 170 000 UI /l...
```

#### III-1-Le diagnostic de grossesse

Le taux est positif à partir du 1er jour de retard des règles (environ 3 semaines après la date de vos dernières règles), puis augmente régulièrement au cours du 1er trimestre de grossesse. Il double ainsi environ toutes les 36 à 48 heures jusqu'à la 10e semaine d'aménorrhée, mais une augmentation moindre peut être observée. Le taux diminue ensuite au cours des 2e et 3e trimestres de grossesse.

#### IV- Dosage des anticorps anti-thyroglobuline

Les anticorps anti-thyroglobuline (Ac anti-TG) sont des auto-anticorps du groupe des anticorps anti-thyroïdiens (en majorité des Ig G), de rôle inconnu, dirigés contre la thyroglobuline, protéine synthétisée par la glande thyroïde.

Ils sont principalement demandés avec la thyroglobuline pour le suivi des cancers différentiés de la thyroïde. Le taux d'anticorps n'est pas corrélé à l'activité clinique de la maladie. Mais la réapparition de l'Ac anti-Tg est généralement un indicateur de récidive.

La thyroglobuline (Tg) est produite dans la glande thyroïde et constitue le composant principal de la colloïde folliculaire. Elle joue, avec la thyro peroxydase (TPO), un rôle essentiel dans l'iodation de la L-tyrosine, permettant la synthèse des hormones thyroïdiennes

T4 et T3. Comme la TPO, la Tg est un autoantigène potentiel. Lors de thyroïdite avec participation auto-immunitaire, le taux sérique d'auto-anticorps anti-Tg augmente. Des concentrations élevées en anticorps anti-Tg et anti-TPO sont un indicateur de thyroïdite avec infiltration lymphocytaire (thyroïdite d'Hashimoto). La fréquence d'autoanticorps anti-Tg est d'env. 70 à 80% lors d'auto-immunité thyroïdienne (thyroïdite d'Hashimoto inclue) et d'env. 30% lors de maladie de Basedow. Le dosage des anticorps anti-Tg est une aide importante dans le suivi de thyroïdites d'Hashimoto et le diagnostic différentiel (suspicion de maladie thyroïdienne auto-immune à anti-TPO négatifs, maladie de Basedow sans infiltration lymphocytaire, exclusion de l'interférence des autoanticorps anti-Tg lors de dosages de Tg). Même si la sensibilité de la méthode peut être augmentée par le dosage en parallèle d'autres anticorps thyroïdiens (anti-TPO, anti-récepteur de la TSH), un résultat négatif ne permet pas d'exclure la présence d'une maladie auto-immune. Le taux d'anticorps ne corrèle pas avec l'activité clinique de l'affection. Des titres d'anticorps initialement élevés, peuvent redescendre à la normale après une période prolongée de la maladie tout comme lors de rémission. La réapparition d'anticorps après rémission est un indicateur probable de récidive.

#### IV-1- Dosage des anticorps anti-thyroglobuline et anti-thyroperoxydase (TPO).

Les anticorps anti-thyroglobuline (anti-T) sont des auto-anticorps dirigés contre la thyroglobuline, protéine associée à la plus grande part de l'iode organique stocké dans la colloïde des vésicules thyroïdiennes. Les anticorps anti-microsomes sont en fait dirigés contre la thyroperoxydase (anti-TPO) Les dosages peuvent être réalisés par immunofluorescence au départ de coupes du tissus thyroïdien, ou mieux, par technique radio-immunologique ou immuno-enzymatique

L'intégrité de la fonction thyroïdienne se vérifie sous l'aspect fonctionnel et autoimmunitaire. Un nombre non négligeable de pathologies auto-immunitaires se caractérise par la positivité d'un seul des deux anticorps anti-T ou anti-TPO. Il semble donc important de réaliser simultanément les deux dosages.

Hypothyroïdie: La thyroïdite chronique de Hashimoto ne présente pas de caractéristique clinique nette. De plus, les tests endocriniens ne sont généralement que modérément perturbés. Dans ce contexte l'existence d'auto-anticorps anti-T et/ou TPO révèle toute son importance.

Hyperthyroïdie: La présence d'auto-anticorps anti-T et TPO simultanés oriente, dans le contexte d'une hyperthyroïdie, oriente vers la maladie de Basedow.

Euthyroïdie: La mise en évidence des anticorps anti-T et/ou TPO au cours de dépistages peut conduire au diagnostic d'une pathologie thyroïdienne infraclinique (Fig.40).

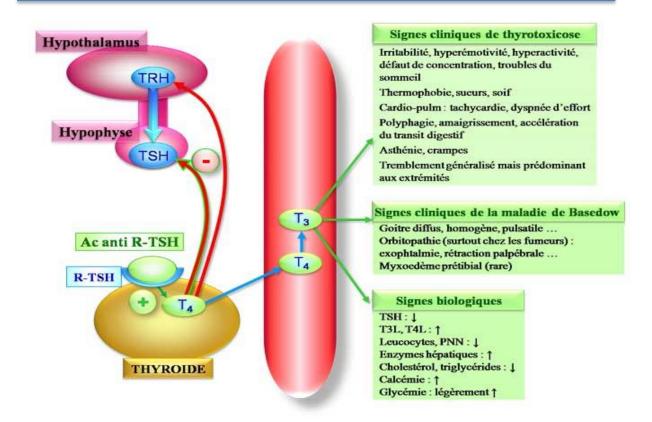


Fig.40: La thyroïde

#### IV-2- Traitement (à titre indicatif)

- Traitements médicamenteux
- Traitement chirurgical
- Traitement isotopique : 131I

# Références Bibliographiques

- ADU (J.K.), OADES (J.M.), 1978. Physical factors influencing decomposition of organic materials in soi1 aggregates. Soif Biol. Biochem., 10: 109-115.) (Cah. ORSTOM, se+.
- Pkdol., vol. XVII, no 4, 1979: 339-346).
- Bornstein SR, Allolio B, Arlt W, Barthel A, Don-Wauchope A, Hammer GD et al., 2016.
- Diagnosis and Treatment of Primary Adrenal Insufficiency: An Endocrine Society Clinical Practice
- Guideline. J. Clin Endocrinol Metab 101:364-89.
- Boyer RF., (1993) Modern experimental biochemistry, Addison-Wesley Publishing Company, Reading (USA).
- BRIAND Y., Philippe BRION, René LAFONT, Jean-Claude MEUNIER, Pierre VIGNAIS, 2015. « PROTÉINES », Encyclopædia Universalis [en ligne], consulté le 15 novembre . URL : http://www.universalis.fr/encyclopedie/proteines/
- Briegel J, Sprung CL, Annane D, Singer M, Keh D, Moreno R et al., 2009.
   Multicenter
- comparison of cortisol as measured by different methods in samples of patients with septic shock.
- Intensive Care. Med;35:2151-6.
- Caillé Y., Frank Martinez, D'autres reins que les miens, Cherche Midi, 2015, p. 31.
- Centrifugation différentielle https://fr.qaz.wiki/wiki/Differential\_centrifugation
- Centrifugation-et-/decantation-f2730 ;https://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/procedes-chimie-bio-agro-th2/operations-unitaires-du-genie-industriel-alimentaire-42430210/ .
- Chaker L, Bainco A.C, Jonklaas J, Peeters R. P. 2017. « Hypothyroidism » Lancet;390(10101):
- 1550-1562.Consulté le 13.02.2020 sur le site : https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28336049
- COLONNA P., 2021. « ALIMENTATION (Aliments) Technologies de production et de conservation », Encyclopædia Universalis [en ligne].
- Dawson RMC., DC Elliot, WH Elliot, KM Jones 1986. Data for biochemical research, Clarendon Press, Oxford, p.545-9. [données physico-chimiques et techniques sur le matériel utilisé dans la fabrication de gradient de densité]
- Dolomie-Fagour L, Corcuff JB. 2008. Is free plasmatic cortisol measurement useful in intensive care unit?
- Biol Clin (Paris);66:31-41.
- Dodd AJ, Ducroq DH, Neale SM, Wise MP, Mitchem KL, Armston A et al., 2014.
   The effect of serum matrix
- and gender on cortisol measurement by commonly used immunoassays. Ann Clin Biochem; 51: 379-85. Scope (ISO 17025)
  - De Leo Si, Lee S Y, Braverman L E. 2016. « Hyperthyroidism » Lancet ; 388(10047) : 906-918. Consulté le 13.02.2020 sur le site
  - :https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2703849

- Dieusaert P. 2015. «Thyroid stimulating hormone » et « Anticorps antithyroïdiens », dans Guide pratique des analyses médicales , 6ème édition 2015. Maloine. ISBN : 978-2-224-034030.
- Dryer RL., GF Lata 1989. experimental biochemistry, Oxford University Press, Oxford
- El-Farhan N, Pickett A, Ducroq D, Bailey C, Mitchem K, Morgan N et al., 2013.
   Method-specific serum cortisol responses to the adrenocorticotrophin test:
   comparison of gas chromatography-mass spectrometry and five automated immunoassays. Clin Endocrinol (Oxf);78:673-80.
- Fractionation http://iupac.org/publications/pac/pdf/2004/pdf/7605x1033.pdf
- Filtre de profondeur https://fr.qaz.wiki/wiki/Depth\_filter
- Filtrate, pages 200-201, GCSE Biology; Livre de l'étudiant, Collins, AQA
- Filtrats / filtration, page 8, Chimie GCSE; Troisième édition, Oxford University Press, AQA
- Filtration (dans les reins), page 215, GCSE Biologie, CGP, AQA
- Filtration (Reins), page 75, GCSE Biology; Le guide de révision, CGP, AQA
- FELLER (c.), CHEVAL (M.), GANRY (F.), 1980. Décomposition et humidification des résidus végétaux dans un agro-système tropical. 1 - Influence d'une fertilisation azotée (urée) et d'un amendement organique (compost) sur la répartition du carbone et de l'azote dans différents compartiments d'un sol sableux.
- Garmendia Madariaga A, Santos Palacios S, Guillen-Grima F, Galofre JC. 2014. «
   The incidence and prevalence of thyroid dysfunction in Europe: a meta-analysis. ».
   Journal of Clinical Endocrinology Metab. 2014; 99(3):923-931.
- Gatti R, Antonelli G, Prearo M, Spinella P, Cappellin E, De Palo EF. Eààç; Cortisol assays and diagnostic laboratory procedures in human biological fluids. Clin Biochem;42:1205-17.
- Gérald Pourcelly 2004. Membranes polymères en milieu aqueux. Procédés membranaires: état de l'art et perspectives, Actualités G.F.P, Bulletin N°99.
- Hawley JM, Owen LJ, Lockhart SJ, Monaghan PJ, Armston A, Chadwick CA et al,.
   2016. Serum Cortisol: An Up-To-Date Assessment of Routine Assay Performance.
   Clin Chem;62:1220-9.
- Hawley JM, Owen LJ, MacKenzie F, Mussell C, Cowen S, Keevil BG. 2016.
   Candidate
- Reference Measurement Procedure for the Quantification of Total Serum Cortisol with LC-MS/MS.
- Clin Chem; 62:262-9.
- https://www.lenntech.fr/bibliotheque/ultrafiltration/ultrafiltration-fr.htm#ixzz6lMAqUZz7
- https://www.lenntech.fr/bibliotheque/ultrafiltration/ultrafiltration-fr.htm#ixzz6lMBa50hg
- Kamoun P. 1977. Appareils et méthodes en biochimie, Flammarion, Médecine-Sciences, Paris.

- Kirchhoff F, Briegel J, Vogeser M. 2011. Quantification of free serum cortisol based on equilibrium dialysis and isotope dilution-liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Clin Biochem;44:894-9.
- Klee GG. 2004. Interferences in hormone immunoassays. Clin Lab Med;24:1-18.
- Kolff W., Doctor. 2009. Who Invented Kidney and Heart Machines, Dies at 97 [archive], New York Times,
- Maier B, Vogeser M. 2013. Target analyte quantification by isotope dilution LC-MS/MS directly referring to internal standard concentrations--validation for serum cortisol measurement. Clin Chem Lab Med;51:833-7.
- Nicolas AUBINEAU. 2018. Diététicien Nutritionniste du sport et en clinique Scientecal.com - © Liens : https://serbisse.ma
- Nieman LK, Biller BM, Findling JW, Newell-Price J, Savage MO, Stewart PM,
   Montori VM. 2008. The diagnosis of Cushing's syndrome: an Endocrine Society
   Clinical Practice Guideline. J Clin Endocrinol Metab;93:1526-40.
- Owen LJ, Adaway JE, Davies S, Neale S, El-Farhan N, Ducroq D et al.,2013.
   Development of a rapid assay for the analysis of serum cortisol and its implementation into a routine service laboratory. Ann Clin. Biochem;50:345-52.
- Plummer DT., 1987. An introduction to practical biochemistry (3e édition), McGraw Hill Book Co., London.
- Perkel, 2004. Un diagramme et une description du fonctionnement d'une ultracentrifugeuse J.M. https://fr.qaz.wiki/wiki/Differential centrifugation
- Rouquerol J. et al., 1994. « Recommendations for the characterization of porous solids (Technical Report) », Pure & Appl. Chem, vol. 66, p. 1739–1758 (DOI 10.1351/pac 199466081739, lire en ligne [archive] [free download pdf]).
- ROUX de BALMANN H., Ernest CASADEMONT, Électrodialyse. Date de publication: 10 sept 20.
- RUMEAU M., 2015. « MEMBRANES, transferts », Encyclopædia Universalis [en ligne], URL: http://www.universalis.fr/encyclopedie/membranes- transferts/ [archive].
- Tweets by @UnlockFoodCA
- URL: https://www.universalis.fr/encyclopedie/alimentation aliments- technologies-de-production-et-de-conservation/
- Vogeser M, Kratzsch J, Ju BY, Bruegel M, Ceglarek U, Fiers T et al., 2016.
   Multicenter
- performance evaluation of a second generation cortisol assay. Clin Chem Lab Med;
   j/cclm-
- print/cclm