

Etude expérimentale et modélisation des cycles de lyophilisation d'une souche probiotique modèle de type *L. Casei*

Directeur de thèse : Séverine VESSOT – severine.vessot-crastes@univ-lyon1.fr

Coencadrants : Adem GHARSALLAOUI et Emilie DUMAS

Laboratoire : LAGEPP, UMR CNRS 5007, Université de Lyon 1

Objectifs scientifiques et technologiques :

Ce projet de recherche portera sur l'optimisation rationnelle des cycles de lyophilisation des probiotiques, bactéries alimentaires de plus en plus utilisées dans les produits alimentaires pour leurs multiples bienfaits sur la santé humaine. Il sera réalisé en utilisant une approche pluridisciplinaire au sein du laboratoire LAGEPP (Université de Lyon 1- UMR 5007) sur les sites de Lyon et de Bourg-en-Bresse. Même si la lyophilisation est reconnue comme la technique la plus intéressante pour la conservation des produits biologiques, au cours de ce processus de séchage doux, de nombreux phénomènes complexes interdépendants ne sont pas encore clairement compris et maîtrisés. Parmi les nombreuses propriétés recherchées au niveau des produits lyophilisés, le maintien de l'activité des bactéries à un niveau élevé représente actuellement de nombreux défis scientifiques et industriels. Ainsi, le but de ce projet de thèse est de déterminer et d'analyser les relations complexes entre la composition (formulation), les paramètres opératoires (principalement la vitesse de congélation, les conditions de sublimation...), les propriétés morphologiques et biologiques des lyophilisats obtenus... Nous concentrerons nos études expérimentales sur la caractérisation de la localisation des bactéries à l'intérieur de la phase solide de la matrice lyophilisée afin d'essayer d'expliquer les différents défauts observés comme la perte de l'activité bactérienne, la baisse de la viabilité et certaines propriétés morphologiques des lyophilisats obtenus.

Programme prévisionnel de travail :

Relations entre la composition de la formulation et les pertes de viabilité des bactéries après sublimation

1) Étude de la composition de la formulation, notamment de la nature et de la concentration en sucres (maltodextrines, par exemple) sur la morphologie du congelat (cristaux de glace) :

- influence de cette composition sur les diagrammes de phase, notamment sur les températures de transition vitreuse et de collapse, paramètres clefs de sublimation (T_g et T_g').
- influence du protocole de congélation (vitesse de refroidissement, température de nucléation, recuit).

2) Étude des différents stress subis au cours du processus de congélation :

- observation de la structure des cristaux de glace en solution congelée (observation directe au microscope optique)
- observation de *Lactobacillus casei* après congélation (analyse au microscope électronique)
- élucidation des corrélations entre les conditions de gel, la structure des cristaux de glace, les dommages causés par *Lactobacillus casei*, le taux de survie, etc.

2) Étude liminaire des conditions opératoires optimales de sublimation (température étagère ; pression chambre) en termes de taux de survie pour une formulation standard sélectionnée :

- distribution locale de l'humidité résiduelle (analyse de Karl Fischer, micro IR)
- caractéristiques de survie de *Lactobacillus Casei* lors du stockage des lyophilisats

3) Étude des isothermes de sorption de l'eau des différents lyophilisats.

4) Caractérisation de la position et de l'insertion des bactéries au sein de la phase solide du lyophilisat final par MEB pour différentes formulations à base de sucres, tels que les maltodextrines, le mannitol, etc. dans des conditions opératoires (T et P) standard et constantes.

5) Analyse et tentative d'explication des différents taux de survie observés soit après l'étape de congélation, soit après l'étape de sublimation -en fonction de la morphologie des congelats puis des lyophilisats, notamment des types et modes d'insertion des bactéries au sein du lyophilisat.

L'objectif final de cette étude est la mise au point d'une méthodologie rationnelle d'optimisation des cycles de lyophilisation qui maximise les taux de survie des bactéries, principalement en fonction des principaux paramètres tels que la composition de la formulation bactérienne à base de différents types de sucres et pour différents protocoles de congélation, ces deux types de paramètres semblant être les paramètres clefs de ces procédés.

Références :

Verlhac, P., Cogné, C., Vessot, S., Degobert, G., Andrieu, J., 2018. Thermodynamic Properties and Water States in Ternary PVP/Lactose/Water Frozen Systems. J. Chem. Eng. Data 63, 4166–4175. <https://doi.org/10.1021/acs.jced.8b00613>

Verlhac, P., Vessot-Crastes, S., Degobert, G., Cogné, C., Andrieu, J., Beney, L., Gervais, P., Moundanga, S., 2020. Experimental study and optimization of freeze-drying cycles of a model Casei type probiotic bacteria. null 38, 2120–2133. <https://doi.org/10.1080/07373937.2019.1683859>