

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

Experimental study and optimization of freeze-drying cycles of a model Casei type probiotic bacteria

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

Adem GHARSALLAOUI, Eyad ALMOUAZEN, Emilie DUMAS - Laboratoire LAGEPP, UMR CNRS 5007, Université de Lyon 1

Laboratoire associé : Laurent BENEY - directeur du Laboratoire de Génie des Procédés Alimentaires et Biotechnologiques. AgroSup Dijon, UMR CNRS A 02 102. Université de Bourgogne.

Objectifs scientifique et technologique :

This research project will concern the rational optimization of the freeze-drying cycles of probiotics, which are food-functional bacteria more and more used with food products (dairy, etc.) to promote human health. It will be realized, in a multidisciplinary approach, by two complementary laboratories, namely the LAGEPP (University of Lyon 1- UMR 5007) and the laboratory of Food and Microbiological engineering (University of Dijon-UMR. A 02 102). Even if freeze-drying is recognized as the most interesting technique, for the preservation and the storage of these biological products, during this soft drying process many complex interdependent phenomena are not clearly still understood and controlled. Among the numerous end-used properties of the lyophilisates, the maintain of the biological stability and activity of the bacteria at high level represents presently many scientific and industrial challenges. Thus, the purpose of this thesis project is to determine and to analyze the complex relationships between the composition of the formulation, the operating parameters - principally the freezing protocol (freezing rate, annealing) and the sublimation conditions - and the morphological and biological properties of the final lyophilisates. We will focus our experimental studies on the characterisation of the position and insertion of bacteria inside the solid phase of the freeze-dried matrix in order to try to explain the different defects observed like the bacteria activity and viability losses and some morphological properties of the final lyophilisates.

Programme 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).

a) 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' .

b) influence du protocole de congélation (vitesse de refroidissement, température de nucléation, recuit).

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)
- Éluclidation 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. pour 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.

- en fonction des teneurs finales en eau des lyophilisats.

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 (Cf. thèse P. Verlhac).

P.VERLHAC, C. COGNE, S. VESSOT, G. DEGOBERT, J. ANDRIEU. Thermodynamical properties and water states in ternary PVP/Lactose/Water frozen systems. *Jl of Chemical Engineering Data*, 2018, 63, 4166-4175

P.VERLHAC, S. VESSOT-CRATES, G. DEGOBERT, C.COGNE, J. ANDRIEU, L. BENEY, P. GERVAIS , S. MOUNDANGA. Study and optimization of freeze-drying cycles of a model probiotic strain. *Drying Technology*, 2019, November 2019, (on line)