

SOMMAIRE

RÉSUMÉ.....	i
ABSTRACT.....	ii
SOMMAIRE.....	iii
LISTE DES TABLEAUX	vii
LISTE DES FIGURES	viii
NOMENCLATURE	xii
INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
1 ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE.....	3
1.1 Le fruit dattier	3
1.1.1 Description générale	3
1.1.2 La maturation	4
1.1.2.1 La datte, un fruit climactérique ?	4
1.1.2.2 Les stades de maturité	4
1.1.3 Caractéristiques biochimiques et physicochimiques	5
1.1.4 <i>Deglet-nour</i> , état de récolte et de commercialisation	6
1.1.5 Conditionnement et stockage	7
1.1.6 Dépréciation de la qualité	8
1.1.7 Brunissement.....	8
1.1.8 L'infestation	9
1.2 Altération microbiologique.....	9
1.2.1 La microflore fongique	9
1.2.2 Sensibilité thermique	11
1.2.3 Effet des facteurs environnementaux	11
1.2.3.1 Effet des basses températures	11
1.2.3.2 Effet de l' a_w	12
1.2.3.3 Effet du CO_2	13
1.3 Microbiologie prévisionnelle.....	13
1.3.1 Modélisation de l'inactivation thermique des spores.....	14
1.3.1.1 Modélisation primaire	14
1.3.1.2 Modélisation secondaire	16
1.3.2 Modélisation de la croissance microbienne	17

1.3.2.1	Modélisation primaire	17
1.3.2.2	Modélisation secondaire	20
1.4	Les procédés pour la maîtrise des développements fongiques	22
1.4.1	Les procédés thermiques en post-récolte	22
1.4.1.1	Traitement par immersion dans l'eau chaude	23
1.4.1.2	Air chaud pulsé et vapeur.....	24
1.4.1.3	Rinçage à l'eau chaude et brossage.....	24
1.4.2	Procédés de stabilisation des fruits	25
1.4.2.1	Contrôle de la température, le froid	25
1.4.2.2	Contrôle de l'activité de l'eau, le séchage	25
1.4.2.3	Contrôle de l'atmosphère, conditionnement sous atmosphère modifiée	27
1.5	Conclusions et objectifs	27
2	MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	29
2.1	Matériel végétal	29
2.1.1	Approvisionnement et échantillonnage.....	29
2.1.2	Préparation de la pâte de datte	29
2.1.3	Reconstitution de la pâte de dattes	30
2.2	Équipements et protocoles de traitement.....	30
2.2.1	Traitement thermique des spores en suspension	30
2.2.2	Traitement thermique des suspensions de spores à la surface des dattes.....	31
2.2.3	Traitement thermique de la pâte de dattes	33
2.2.4	Croissance sous atmosphère modifiée et à température et a_w contrôlées	33
2.2.4.1	Maîtrise de la concentration de CO ₂ , de la température et de l' a_w	33
2.2.4.2	Deux dispositifs pour l'étude	33
2.2.4.3	Croissance sur de la pâte de datte	36
2.2.4.4	Planification expérimentale	36
2.3	Méthodes analytiques	36
2.3.1	Analyses physicochimiques	36
2.3.1.1	Mesure de la teneur en eau.....	36
2.3.1.2	Mesure de l'activité de l'eau	37
2.3.1.3	Mesure du pH.....	37
2.3.2	Analyses microbiologiques	37
2.3.2.1	Dénombrement et isolement	37

2.3.2.2	Préparation des suspensions de spores.....	38
2.3.2.3	Identification des souches isolées	38
2.3.3	Mesure de l'activité PPO	41
2.4	Expression et analyse des résultats	42
2.4.1	Modélisation des cinétiques d'inactivation thermique	42
2.4.2	Modélisation de la croissance	42
2.4.3	Calcul des limites de croissances/non-croissance	44
2.4.4	Évaluation de la performance des modèles.....	45
2.4.5	Évaluation de l'inactivation thermique de la PPO	45
2.4.6	Estimation des paramètres	46
2.5	Modélisation du couplage transfert thermique et inactivation	47
2.5.1	Le modèle de transfert de chaleur en régime instationnaire	48
2.5.2	Propriétés thermophysiques et paramètres d'entrées	49
2.5.3	Cinétiques d'inactivation thermique des souches fongiques.....	50
2.5.4	Cinétiques de dégradation de la qualité du produit.....	50
2.5.5	Résolution numérique	51
3	RÉSULTATS ET DISCUSSIONS.....	52
3.1	Les souches cibles d'altération de la <i>Deglet-Nour</i> fraîche	52
3.1.1	La charge totale fongique et les levures osmophiles.....	52
3.1.2	Isolement et identification moléculaire.....	52
3.1.3	Identification morphologique et microscopique	53
3.1.4	Caractéristiques et spécificité des souches cibles isolées	55
3.1.5	Conclusions partielles	55
3.2	Thermosensibilité des spores de <i>C. apicola</i> et d' <i>Asp niger</i>	56
3.2.1	Analyse du traitement thermique des spores en suspension (isotherme).....	56
3.2.2	Analyse du traitement thermique en surface des dattes (non-isotherme)	57
3.2.3	Cinétique d'inactivation thermique des spores en suspension.....	57
3.2.4	Thermosensibilité des spores	59
3.2.5	Cinétique d'inactivation thermique des spores en surface de la datte	60
3.2.6	Conclusions partielles	62
3.3	Impact du traitement thermique sur l'activité de la polyphénoloxydase PPO de la datte <i>Deglet-Nour</i>	63
3.3.1	Analyse cinétique de l'inactivation thermique de la PPO	63
3.3.2	La thermostabilité de la PPO	64

3.3.3	Conclusions partielles	65
3.4	Modélisation de l'effet du transfert thermique sur VP et QI	65
3.4.1	Identification des points critiques	65
3.4.2	Cinétique d'un traitement thermique	66
3.4.3	Barème de pasteurisation	68
3.4.4	Quelle vitesse d'air ?	69
3.4.5	Conclusion partielle	70
3.5	Modélisation de l'effet de la température, de l'activité de l'eau et du dioxyde de carbone sur la croissance d' <i>Asp. niger</i> et <i>Alt. alternata</i>	71
3.5.1	Description et intérêt du système contrôlé	71
3.5.2	Modélisation primaire : croissance en fonction du temps	73
3.5.3	Modélisation secondaire : effet de T , a_w et du CO_2 sur les vitesses de croissance d' <i>Asp. niger</i> et de <i>Alt. alternata</i>	77
3.5.4	L'interface de croissance/non-croissance	82
3.5.5	Évaluation de la performance des modèles sur pâte de dattes	83
3.5.6	Conclusions partielles	86
4	DISCUSSION GÉNÉRALE	87
4.1	Quelle est la qualité de dattes visée pour la conservation ?	87
4.2	Quelles sont les microorganismes d'altération caractéristiques de la <i>Deglet-Nour</i> ?	89
4.3	Les composantes définissant le traitement thermique	90
4.3.1	<i>Asp. niger</i> comme souche de référence	90
4.3.2	Quelle réduction des populations lors du traitement thermique ?	91
4.3.3	Quel impact sur la couleur ?	92
4.4	Inhibition du développement d' <i>Asp. niger</i> et d' <i>Alt. alternata</i>	94
4.4.1	Deux dispositifs pour l'étude	94
4.4.2	Pourquoi <i>Asp. niger</i> et <i>Alt. alternata</i> ?	95
4.4.3	Intérêt de la combinaison des effets de l' a_w et du CO_2	95
4.5	Les voies technologiques de conservation	98
4.5.1	Un conditionnement de type MAP enrichi en CO_2	98
4.5.2	Autres voies de conservation	99
4.6	Durée de vie, « <i>shelf life</i> »	99
	CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES	101
	RÉFÉRENCES	104

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Caractéristiques du film plastique utilisé pour le conditionnement des boîtes de Pétriensemencées.	34
Tableau 2. Séquence des amorces universelles utilisées pour les levures et les moisissures.	40
Tableau 3. Composition des solutions de préparation des gels de DGGE ayant un gradient de dénaturant de 30 à 60% (ADN levuriens) et de 40 à 70% (ADN de moisissures).....	41
Tableau 4. Valeurs des paramètres d'entrées utilisées pour les simulations.....	49
Tableau 5. Microflore fongique totale et population en levures osmophiles déterminée sur des dattes <i>Deglet-Nour</i> provenant de trois régions en Algérie (Biskra, Tolga et Doucen).	52
Tableau 6. Estimation du paramètre cinétique D_T de l'inactivation thermique des spores (42 à 60°C) pour <i>C. apicola</i> et <i>Asp. niger</i> par la méthode classique.....	59
Tableau 7. Vitesses de croissance (μ) et temps de latence (λ) estimés pour <i>Asp. niger</i> et <i>Alt. alternata</i> à différentes températures, activités de l'eau et concentrations en CO_2	76
Tableau 8. Paramètres cardinaux estimés pour la croissance d' <i>Asp. niger</i> et <i>Alt. alternata</i> sur milieu synthétique PDA.	80
Tableau 9. Vitesses de croissance μ estimées pour <i>Asp. niger</i> et <i>Alt. alternata</i> sur pâte de dattes.....	84

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Caractéristiques morphologiques des organes de fructification de la variété <i>Deglet-Nour</i> Algérienne.....	3
Figure 2. Évolution biochimique (Zaid et Arias Jiménez, 1999) et physiologique de la datte au cours de la maturation.	5
Figure 3. Simulation décrivant l'inactivation microbienne en utilisant le modèle de Mafart <i>et al.</i> (2002) pour le paramètre de forme $\beta < 1$, $\beta > 1$ et $\beta = 1$	15
Figure 4. Principales phases d'une courbe de croissance microbienne et les paramètres du modèle qui la caractérise.	18
Figure 5. Isotherme de désorption (noir) et d'adsorption (bleu) à 25°C de la datte <i>Deglet-Nour</i> . Les symboles sont les points expérimentaux (\diamond) et la ligne continue (—) est le modèle de BET : $X = \frac{X_m C a_w}{(1 - a_w)(1 - a_w + C a_w)}$; X est la teneur en eau à l'équilibre du produit (g.100 g ⁻¹ bs) ; X_m est la teneur en eau de la couche monomoléculaire (g.100 g ⁻¹ bs) ; C est le paramètre thermodynamique qui est en relation avec l'écart entre la chaleur de sorption de la monocouche et la chaleur latente de condensation de la vapeur (Belarbi <i>et al.</i> , 2000).	26
Figure 6. Schéma explicatif de la position d'échantillonnage par rapport aux stades de maturation.....	29
Figure 7. Schéma décrivant le protocole de traitement thermique en situation isotherme des spores.....	31
Figure 8. Description schématique du protocole de traitement thermique des spores en surface des dattes (situation non-isotherme). Etapes décrivant l'avant (a, b, c, d) et l'après (f, g, h) traitement thermique (e).	32
Figure 9. Dispositif expérimental du système contrôlé : (a) gaz purs (l'oxygène O ₂ , le dioxyde de carbone CO ₂ et l'azote N ₂) ; (b) débitmètre à flotteur multi-gaz ; (c) solutions saturées de sel (K ₂ SO ₄ ou K ₂ Cr ₂ O ₇) et des diffuseurs immergés pour générer de fines bulles; (d) Genbox-jar 7,0 litre ; (e) étuve thermostatée ; (f) ventilateur 12V ; (g) capteur d'humidité et de température ; (h) septum en silicone et une aiguille de seringue pour vérifier la composition de l'atmosphère dans l'espace de tête ; (i) boîte de Petri inoculée; (j) régulateur de débit ; (k) appareil photo numérique ; (l) analyseur de gaz ; (m) ordinateur connecté au capteur pour convertir le signal du capteur en humidité relative et en température ; (n) minuterie électrique commandant le fonctionnement du ventilateur.	35
Figure 10. Schéma décrivant la méthode du prélèvement sur les échantillons de dattes utilisé pour l'analyse microbiologique.....	38

- Figure 11.** Représentation schématique (non à l'échelle) en 10^{-3} m, d'une datte en 2D axisymétrique. Ω_1 : pulpe ; Ω_2 : lame d'air ; Ω_3 : noyau ; Ω_4 : Γ_i : limite entre deux sous-domaines ; Γ_5 est l'axe de symétrie. 48
- Figure 12.** Photo du gel DGGE d'ADN des moisissures (A) et des levures (B) isolées à partir des dattes *Deglet-nour* provenant des trois régions (Biskra, Tolga et Doucen). M1, M2, M3 et M4 sont les souches de références. 54
- Figure 13.** Cinétiques de diminution des populations survivantes d'*Asp. niger* (A) et *C. apicola* (B) à différentes températures (42°C \triangle , 45°C \circ , 47°C \square , 50°C \diamond , 55°C \bullet , 57°C \blacksquare , 60°C \blacktriangle). Les valeurs expérimentales sont représentées par les symboles, celles simulées par les lignes continues..... 58
- Figure 14.** Temps de réductions décimales en fonction de la température de chauffage (T) pour *Asp. niger* (\circ) et *C. apicola* (\square). Les lignes continues représentent l'ajustement du modèle de Bigelow et les lignes discontinues représentent les intervalles de confiance à $\pm 95\%$ 60
- Figure 15.** Les profils de temps-températures enregistrés au voisinage de la surface de la datte sont présentés (a). Les populations survivantes $N^{(t)}$ (log CFU) déterminées en surface de la datte au cours du traitement thermique à 70°C (symbole) et les populations survivantes simulées (lignes continues) (b)..... 62
- Figure 16.** Les cinétiques de réduction des ARR de la PPO de la datte *Deglet-Nour* à 70°C . A : l'ajustement du modèle biexponentiel (lignes continues) aux ARR expérimentaux (symboles). B : les résidus ($\text{ARR}_{\text{expérimental}} - \text{ARR}_{\text{simulé}}$). 63
- Figure 17.** Profils *a*) : de température, *b*) de réduction décimale de la population des levures *C. apicola* et *c*) indice qualité le long de l'arc de la surface de la datte, durant le chauffage à l'air chaud (70°C et $h = 30 \text{ W m}^{-2} \text{ K}^{-1}$) à différents temps de traitement (t)..... 66
- Figure 18.** Simulations des cinétiques *a*) : de températures de l'air (T_∞), du point froid ($T_{s \text{ min}}$) et chaud ($T_{s \text{ max}}$), *b*) : de réduction décimale ($n \log N = 9$) de la population des levures *C. apicola* et *c*) : d'indice qualité (QI) durant 682 s de chauffage à l'air chaud (70°C et $h = 30 \text{ W m}^{-2} \text{ K}^{-1}$) et de refroidissement (20°C et $h = 42 \text{ W m}^{-2} \text{ K}^{-1}$) d'une datte. 67
- Figure 19.** Barème de pasteurisation (temps, température) pour obtenir 11 réductions décimales des levures (*C. apicola*) avec $D_{50^\circ\text{C}} = 2,3 \pm 0,4 \text{ min}$ et $z = 9,4 \pm 2,6 \text{ min}$. Simulations réalisées pour différentes valeurs de coefficient d'échange convectif (h). 68
- Figure 20.** Relation entre la vitesse de l'air à 70°C et le coefficient d'échange convectif (h) autour d'une datte supposée sphérique (diamètre = 0,04 m), d'après la corrélation de Whitaker (1976). 70

- Figure 21.** Diamètres de croissance $d^{(t)}$ expérimentaux (symboles) et simulés (lignes en pointillé) dans le système fermé (symboles pleins) et le système contrôlé (symboles vides). Les concentrations en CO₂ (% V/V) sont : 10,0/9,5 (● et ○), 18,2/18,4 (◆ et ◇) et 26,3/27,3 (■ et □) pour *Asp. niger*/*Alt. alternata*. Les barres d'erreur représentent les écarts-types ($n = 5$). 72
- Figure 22.** Évolution de la concentration de CO₂ et d'O₂ dans l'espace de tête des sacs en polyéthylène (système fermé). Les pourcentages initiaux de CO₂/O₂ (% V/V) pour *Asp. niger* : □ 9,5/20,6, ◇ 18,0/18,4, ★ 26,0/20,65, ○ 37,6/19,1, ▽ 45,8/19,6 et ▲ 55,1/20,4. Pour *Alt. Alternata* : □ 9,7/20,8, ◇ 18,2/19,3, ★ 27,9/20,2, ○ 37,2/19,2, ▽ 47,3/19,6 et ▲ 56,5/20,5. Les barres d'erreur représentent les écarts-types ($n = 3$). 733
- Figure 23.** Cinétique de croissance des diamètres $d^{(t)}$ expérimentaux (symboles) et simulés (lignes continues) pour *Asp. niger* et *Alt. alternata* à différentes températures (a: + 10, ▲ 15, ▼ 20, ◆ 25, ■ 30, ● 35, et ★ 37°C), activités de l'eau (b: ● 0,993, ■ 0,979, ★ 0,952, ◆ 0,928, ▲ 0,908, ▼ 0,871, × 0,852, + 0,828 et * 0,818) et concentrations en CO₂ (c: ■ 9,4, ★ 18,1, ◆ 26,3, ▲ 36,4, ▼ 45,7 et + 55,1 %). Les barres d'erreur représentent les écarts types ($n = 3$). 744
- Figure 24.** Relation entre le temps de latence λ et la vitesse de croissance μ d'*Asp. niger* et d'*Alt. alternata* : effet de la température (a), de l' a_w (b) et du CO₂ (c). Valeurs moyennes des pentes \pm intervalle de confiance à 95%. 77
- Figure 25.** Les vitesses de croissance (μ) d'*Asp. niger* et d'*Alt. alternata* en fonction de la température, de l'activité de l'eau et de la concentration en CO₂. Les lignes continues sont les vitesses simulées en utilisant le modèle cardinal avec inflexion pour décrire l'effet de l'activité de l'eau et de la température, et le modèle cardinal simple pour décrire l'effet de la concentration en CO₂. Les barres d'erreur représentent les intervalles de confiance à 95% des valeurs de μ estimées. 79
- Figure 26.** Interface de croissance/non-croissance d'*Asp. niger* et d'*Alt. alternata* en fonction de l' a_w et de la concentration en CO₂. La comparaison des données observées de croissance (●) et de non-croissance (○) et la limite prédite par l'équation 32 (ligne continue). Les symboles en carré présentent les données observées en condition de croissance (■) et non-croissance (□) sur pate de datte. 833
- Figure 27.** La comparaison des vitesses de croissances d'*Asp. niger* et d'*Alt. alternata* calculées avec l'équation 33 et celles observées sur pâte de dattes à différentes conditions de T , d' a_w et de concentrations en CO₂. 855
- Figure 28.** Essais de conditionnement sous atmosphère modifiée pour des datte *Deglet-Nour* en fin de stade *Khalal*. 888
- Figure 29.** Altération fongique des dattes *Deglet-Nour*, photos prises dans une chambre froide de stockage dans une entreprise de conditionnement des dattes (Biskara, Algérie). 888

- Figure 30.** Impact du couple temps-température sur la réduction des populations (+ 1 log, \diamond 2 log et \circ 3 log) d'*Asp. niger* (—) et de *C. apicola* (- - -)..... 911
- Figure 31.** Fonction de répartition de la loi normale pour une valeur moyenne $N_{\text{mean}} = 5,8 \times 10^2$ UFC/g et un écart type $\sigma = 1,9 \times 10^2$ UFC/g. Cas de la flore fongique totale. 92
- Figure 32.** Impact du couple temps-température (—) sur la réduction des populations d'*Asp. niger* (\triangle 1 log, \square 2 log et \circ 3 log) et sur la dégradation de l'indice de couleur (- - -) IQ (\blacktriangle 95%, \blacksquare 97% et \bullet 99%). 944
- Figure 33.** Comparaison des effets simulés de température (- - -) d' a_w (— - —) et de concentration en CO_2 (—) sur la vitesse de croissance d'*Asp. niger* (A) et d'*Alt. Alternata* (B). X représente la température, l' a_w ou la concentration en CO_2 transformés : $X_{\text{std}} = (X - X_{\text{min}})/(X_{\text{opt}} - X_{\text{min}})$. Pour le CO_2 , $X_{\text{std}} = 1 - (X - X_{\text{max}})/(X_{\text{min}} - X_{\text{max}})$ 966
- Figure 34.** Comparaison des limites de croissance et non croissance pour *Alt. alternata* définies par une démarche déterministe (A) et celles définies par une démarche modulaire (B). 977

NOMENCLATURE

<i>A</i>	Facteur pré-exponentiel (constante empirique)
<i>a</i>	Fonction d'ajustement croissante
ADN	Acide désoxyribonucléique
ADNr	Acide désoxyribonucléique ribosomique
ADNr 26S	ADN codant pour la sous unité 26S de l'ARN ribosomal
ADNr 28S	ADN codant pour la sous unité 28S de l'ARN ribosomal
<i>A_f</i>	Facteur d'exactitude (Accuracy factors)
ARN	Acide ribonucléique
ARNr	Acide ribonucléique ribosomale
ARR	Activité résiduelle relative
<i>a_w</i>	Activité de l'eau
<i>b</i>	Fonction de freinage (décroissante)
BET	Bromure d'éthidium
bh	Base humide
<i>B_f</i>	Facteur de biais (Bias factors)
bs	Base sèche
<i>c</i>	Capacité thermique massique ($\text{J kg}^{-1} \text{K}^{-1}$)
CE	Communauté Européenne
<i>CM</i>	Modèle cardinal
<i>cte</i>	Constante
<i>D</i>	Temps dit de réduction décimale (min.)
DGGE	Denaturing gradient gel electrophoresis
<i>E_a</i>	Énergie d'activation (J mol^{-1})
GAE	Équivalent d'acide gallique (Gallic Acid Equivalent)
<i>h</i>	Coefficient d'échange convectif ($\text{W m}^{-2} \text{K}^{-1}$)
HR	Humidité relative
<i>IC</i>	Indice couleur
<i>IQ</i>	Indice qualité
<i>k</i>	Constante de réaction (s^{-1})
Kb	Kilo paires de bases
MAP	Emballage sous atmosphère modifiée (Modified Atmosphere Packaging)
MSE	Mean square error

N	Population microbienne
ND	Non déterminé
OGYA	Oxytetracycline glucose yeast agar
p	Nombre de paramètres du modèle
pb	Paires de bases
PCR	Polymerase chain reaction
PDA	Potato dextrose agar
PPO	Polyphénoloxydase
R	Constante des gaz parfaits ($8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$)
RMSE	Racine de la moyenne des carrés des écarts (Root Mean Squared Error)
MSE	Moyenne des carrés des écarts (Mean Square Error)
TAE	Tris/ Ammonium/ EDTA (tampon)
UFC	Unité Formant Colonie
V/V	Volume sur Volume
VP	Valeur Pasteurisatrice
w	Fraction massique d'un constituant
X	Facteur environnemental (T , a_w ou CO_2)
y	Valeurs mesurées (expérimentales)
\hat{y}	Valeurs prédites
z	Augmentation de température pour réduire d'un facteur dix la valeur de D ($^{\circ}\text{C}$)

Symboles grecs

α	Paramètre d'échelle du modèle de Weibull
β	Paramètre de forme du modèle de Weibull
ρ	Masse volumique (kg m^{-3})
δ	Temps de la première réduction décimale
μ	Vitesse de croissance (mm jour^{-1})
λ	Temps de latence (jours)
γ	Fonction décrivant l'effet des facteurs environnementaux (Gamma-concept)
ξ	Terme d'interactions des effets des facteurs environnementaux
ψ	Niveau des interactions des facteurs environnementaux
ϕ	Contribution des interactions des facteurs environnementaux
Ω	Domaine numérique décrivant les compartiments d'une datte
Γ	Limite entre deux sous-domaines des compartiments d'une datte

Exposants et indices

<i>f</i>	Facteur
matrice	Relatif à la pâte de datte
max	Maximum
min	Minimum
observé	Valeurs observées (expérimentales)
prédit	Valeurs prédites
ref	Référence
<i>s</i>	Surface
<i>t</i>	Mesures ou calculs à différents temps
<i>T</i>	Mesures ou calculs à différentes températures
∞	Milieu ambiant
0	État initial

INTRODUCTION GÉNÉRALE

La *Deglet-Nour* est la variété commerciale qui occupe la majeure partie du commerce international des dattes (Ashraf et Hamidi-Esfahani, 2011 ; Elleuch *et al.*, 2008 ; Yahia et Kader, 2011 ; Zaid et Arias Jiménez, 1999). Pour l'Algérie, elle représente 60 % des dattes produites c'est à dire 40% de la recette totale des exportations agricoles (Anonyme, 2015). L'importance économique et commerciale de ce fruit est primordiale. Sur le plan marketing actuel, la *Deglet-Nour* est cantonnée à une seule catégorie de fruits secs. Selon les normes CODEX (CODEX-STAN, 1985) et celles de la commission économique des Nations Unies pour l'Europe (CEE-ONU-DDP-08, 2010), la datte est un fruit cueilli à maturité complète avec des teneurs en eau inférieures à 30% bh ($a_w < 0,76$). Ce type de dattes est appelé « dattes standards » et se conserve dans des conditions ambiantes. Le marché d'exportation des dattes standards de l'Algérie et de la Tunisie dont l'exportation est exclusivement réservée à la variété *Deglet-Nour*, s'inscrit dans une tendance de stagnation (Chebbi et Gil, 2002). En revanche, l'exportation des dattes *premium* (dattes fraîches avec des teneurs en eau $> 30\%$ bh, souvent récoltées avant la pleine maturité) par les USA et Israël, principaux metteurs en marché de dattes *premium Medjool*, est en forte croissance. Finkelshtain *et al.* (2011) relèvent que le potentiel du marché des dattes *premium* s'est confirmé : il se développe fortement et la valeur marchande des dattes est supérieure au double de celle des dattes standards.

La *Deglet-Nour* appréciée par les producteurs et les habitants locaux est une datte *premium*. Cette datte est souvent récoltée avant le stade final de maturité (*Routab*). En effet, les dattes d'une manière générale sont très appréciées à ce stade pour leur fraîcheur. Ces dattes fraîches généralement immatures sont disponibles uniquement pendant la saison de récolte et exclusivement sur le marché local. Leur texture tendre, leur peau fragile et leur richesse en sucres dans une pulpe à teneur en eau élevée (0,80-0,85 a_w), constituent un environnement très favorable au développement des microflores microbiennes en particulier fongiques d'altération. C'est le risque majeur lors du conditionnement et du stockage de ces dattes à humidité intermédiaire.

De nombreuses espèces fongiques sont capables de produire diverses enzymes extracellulaires (pectinase, hémicellulase...) qui leur permettent de franchir la peau des dattes et d'accéder aux nutriments présents dans la pulpe (Barth *et al.*, 2010). Les levures et moisissures communément isolées à partir du fruit dattier sont : *Aspergillus* sp., *Alternaria* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp., *Saccharomyces* sp. (Sidhu, 2006). Les

moisissures sont les plus dominantes comparées aux levures ; les espèces les plus fréquentes appartiennent au genre *Aspergillus* et au genre *Alternaria* (Al-Sheikh, 2009 ; Colman *et al.*, 2012 ; Giridhar et Reddy, 2001). Toute solution technologique envisageable pour limiter l'impact de cette microflore d'altération, exige une connaissance du comportement de ces microorganismes cibles, vis-à-vis des facteurs physiques ou chimiques utilisés dans l'objectif de les inhiber et/ou de les inactiver.

Les moyens de conditionnement actuels (boîtes en cartons, caisses...) ont plus un rôle de contenance et de protection mécanique, qu'un moyen de préservation de ces dattes riches en eau. Le traitement chimique des dattes (phosphine, fongicides...) est un moyen très efficace, mais il n'est pas sans conséquence ; il altère la qualité de la datte *premium*, mais surtout, il présente un danger pour la santé du consommateur (Mohsen, 2012). Le traitement thermique est une bonne alternative et une solution technologique compatible avec un label biologique. La définition d'un traitement thermique permettant de réduire la charge fongique sans affecter la qualité des dattes est le premier défi de notre étude. Le couplage de ce traitement à un conditionnement sous atmosphère modifiée (MAP) enrichi en CO₂, constitue un procédé prometteur pour préserver la qualité *premium* de la *Deglet-Nour*, telle est notre hypothèse. En effet, il a été démontré que les concentrations élevées en CO₂ dans l'atmosphère des emballages de fruits ont prouvé leur efficacité dans la prévention du développement des moisissures d'altération (Cairns-Fuller *et al.*, 2005 ; Giorni *et al.*, 2008 ; Taniwaki *et al.*, 2009, 2010). La réfrigération serait aussi un moyen efficace pour conserver ces dattes. Une quantification et une modélisation de l'effet seul ou combiné de la température, de l' a_w et du CO₂ sur la croissance de cette microflore d'altération, constituent une base très précise pour le choix du type de conditionnement et les conditions de stockage des dattes. Ceci est le deuxième défi de notre étude.

L'objectif principal de notre étude est de définir un traitement thermique capable d'éliminer la microflore fongique d'altération sans affecter la qualité des dattes, et d'étudier l'effet de trois facteurs environnementaux (température, a_w et CO₂) sur la croissance de cette microflore, afin de définir le type de conditionnement et les conditions de stockage destinés à ces dattes *premium*.

1 ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1 Le fruit dattier

1.1.1 Description générale

La datte est un fruit du palmier dattier *Phoenix dactylifera* L (*Phœnix* = dattier ; *dactulos* = doigt). En fonction des cultivars et du stade de maturité, le fruit dattier présente une grande variation en terme de forme, de taille et de couleur (Sidhu, 2006). Un exemple de la variété *Deglet-Nour* Algérienne est présenté dans la Figure 1. La proportion du noyau par rapport à la datte entière constitue une caractéristique qui dépend non seulement de la variété mais aussi des facteurs climatiques et des conditions de culture. Cette proportion constitue une caractéristique d'appréciation de ses qualités commerciales.

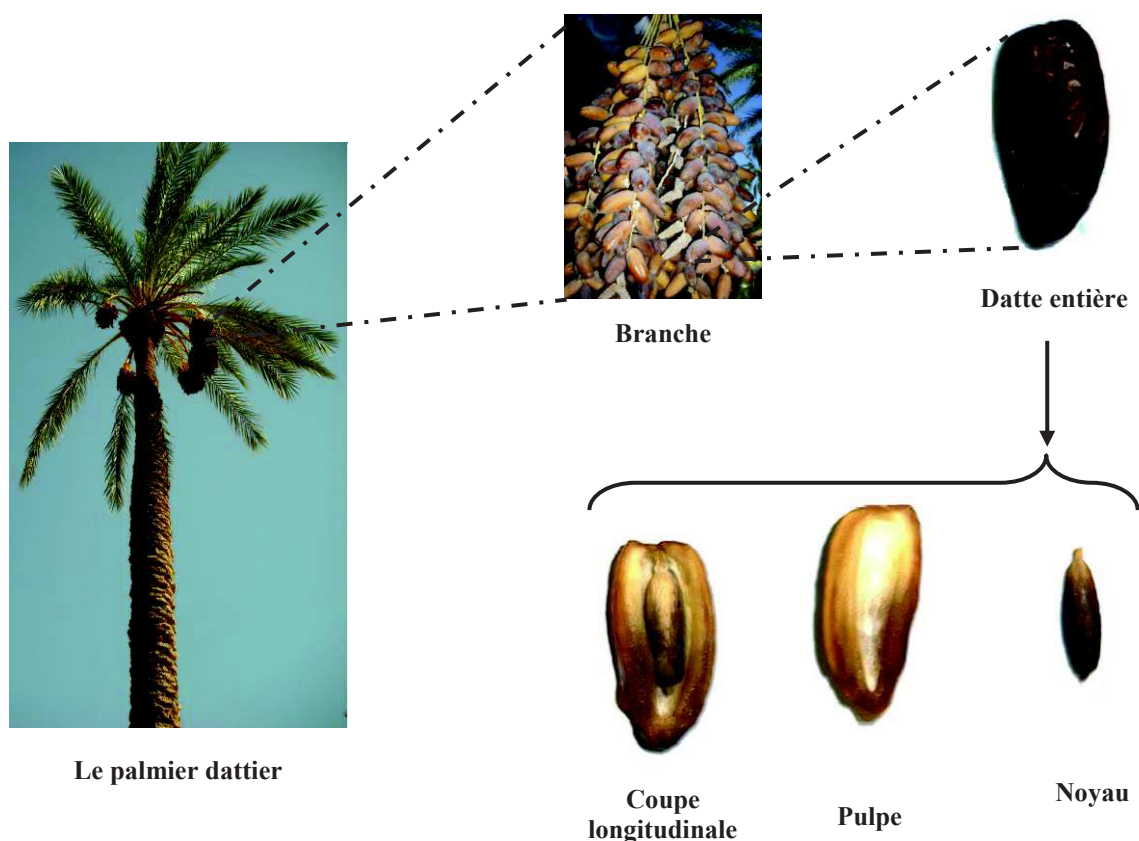


Figure 1. Caractéristiques morphologiques des organes de fructification de la variété *Deglet-Nour* Algérienne.

1.1.2 La maturation

1.1.2.1 La datte, un fruit climactérique ?

Le caractère climactérique ou non de la datte n'est pas tranché dans la littérature. En effet, certains auteurs (Afshari-Jouybari *et al.*, 2013 ; Farahnaky et Afshari-Jouybari, 2011 ; Saleem *et al.*, 2005) ont confirmé que la datte est un fruit climactérique par l'observation d'une production d'éthylène. Au contraire d'autres auteurs considèrent que la datte est non climactérique (Yahia et Kader, 2011). Néanmoins, la datte possède une faible respiration qui décroît avec la diminution de sa teneur en eau au cours de la maturation. Pour des dattes stockées à 20°C, la production de CO₂ est inférieure à 25 ml.kg⁻¹.h⁻¹ au stade *Khalal*, et inférieure à 5 ml.kg⁻¹.h⁻¹ aux stades *Routab* et *Tamar* (Kader et Hussein, 2009). Les mêmes auteurs ont trouvé dans les mêmes conditions de stockage des valeurs de production d'éthylène inférieures à 0,5 µl.kg⁻¹.h⁻¹ au stade *Khalal*, et inférieures à 0,1 µl.kg⁻¹.h⁻¹ aux stades *Routab* et *Tamar*.

1.1.2.2 Les stades de maturité

Les qualités sensorielles (sucrosité, couleur et texture...) et nutritionnelles (sucres et micronutriments...) du fruit dattier sont étroitement liées à son degré de maturité (Baliga *et al.*, 2011), d'où l'importance de connaître les caractéristiques biochimiques et physiologiques des différentes étapes de maturation. Les stades de maturité des dattes sont désignés par une terminologie irakienne (Al-shahib et Marshall, 2003 ; Baliga *et al.*, 2011 ; Booij *et al.*, 1992 ; Saafi *et al.*, 2009) : *Hababouk* (stade I), *Khimri* (stade II), *Khalal* (stade III), *Routab* (stade IV) et *Tamar* (stade V). Au cours de la croissance et du développement du fruit dattier, plusieurs changements externes et internes se produisent. Ils sont observés par des changements de couleur et de compositions biochimiques, résumés dans la Figure 2.

Pour la variété *Deglet-nour*, d'une part la teneur en eau diminue d'environ 80% bh au stade *Khalal*, de 35% bh au stade *Routab* et il ne reste que 20% bh au stade *Tamar*. D'autre part les teneurs en sucres totaux et du saccharose, respectivement, passent de 13 et 8% bs au stade *Kimri* à 60 et 40% au stade *Khalal*, et jusqu'à 77% et 53% au stade *Routab* (Ait-Oubahou et Yahia, 1999).

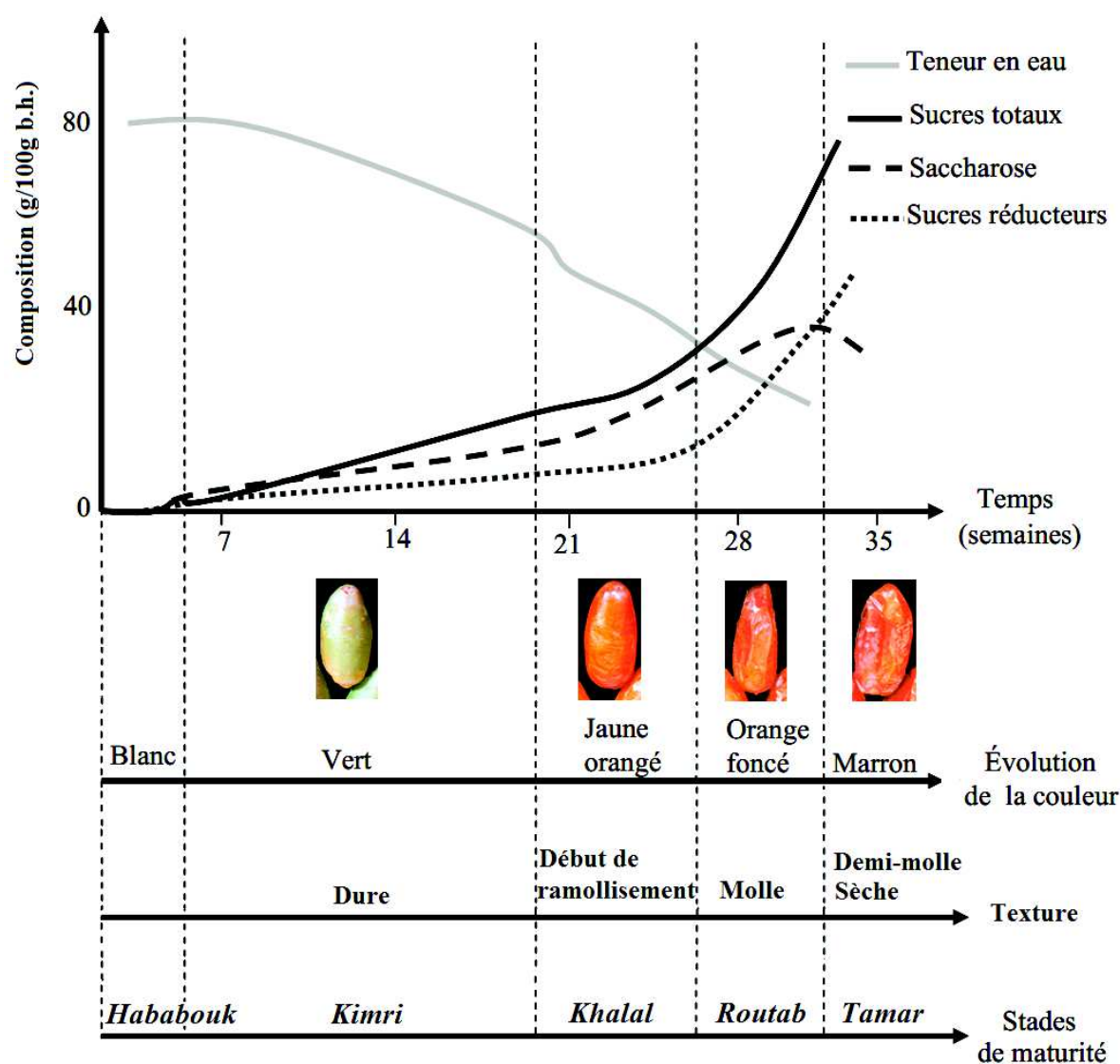


Figure 2. Évolution biochimique (Zaid et Arias Jiménez, 1999) et physiologique de la datte au cours de la maturation.

1.1.3 Caractéristiques biochimiques et physicochimiques

L'eau, les sucres (saccharose, glucose et fructose) et les fibres sont les constituants majeurs du fruit dattier. La teneur en eau varie en fonction des variétés, du stade de maturité et des conditions de culture (climat, irrigation). Au stade final de maturité, la teneur en eau de la pulpe varie de 7,2% à 50,4% bh (Al-Farsi et Lee, 2008). Avec une teneur en eau inférieure à 30 % bh (à maturation complète), la *Deglet-Nour* contient 79,1% bs de sucre totaux, dont 52,7% de saccharose, 13,7 % de glucose et 12,6 % de fructose (Elleuch *et al.*, 2008). Le fruit dattier est une bonne source de fibres alimentaire (Ahmed *et al.*, 2013 ; Elleuch *et al.*, 2008),

de l'ordre de 6,4-14,4 % (bs), selon les variétés et le stade de maturité. La *Deglet-Nour* contient 7,9 % (bs) de fibres totales (Besbes *et al.*, 2009).

En constituants mineurs, les dattes sont considérées comme une source riche en composés phénoliques (Biglari *et al.*, 2008, 2009 ; Chaira *et al.*, 2009 ; Saafi *et al.*, 2009). La variété *Deglet-nour* contient la plus forte teneur en composés phénoliques totaux d'environ 493,5 mg de GAE/100 g (Besbes *et al.*, 2009). La pulpe des dattes est peu riche en protéines (1-3% bh) (Besbes *et al.*, 2009 ; Elleuch *et al.*, 2008).

1.1.4 *Deglet-nour*, état de récolte et de commercialisation

Les dattes d'une manière générale peuvent être récoltées et commercialisées aux trois stades de maturité que sont : *Khalal*, *Routab* et le stade *Tamar* (Awad, 2007). Le choix de la récolte à un stade ou un autre dépend des caractéristiques variétales, des conditions climatiques et du marché visé (Glasner *et al.*, 1999). La variété *Deglet-nour* est traditionnellement récoltée et consommée au stade de maturité complète (*Tamar*) car les dattes sont stables ($a_w < 0,76$) pour un stockage dans des conditions ambiantes (Sidhu, 2006). Ces dattes sont considérées comme de qualité inférieure, et commercialisées sur le marché d'exportation sous le nom de « dattes standards ». Cette qualité est caractérisée par une couleur sombre, une texture peu fondante et sinon « dure », avec une pulpe fibreuse. Au stade *Tamar*, la pulpe est rétractée, la peau est décollée par endroit formant des repliements (Baliga *et al.*, 2011). À ce stade de maturité, le fruit a perdu beaucoup de son eau, mais le rapport sucre/eau reste assez élevé ; ceci lui confère certes une meilleure conservation durant son stockage et sa commercialisation (Yahia et Kader, 2011), mais le produit est très éloigné d'une datte fraîche.

La *Deglet-nour* peut être récoltée à des stades plus précoces (stade *Khalal* et *Routab*). Au stade *Khalal*, la *Deglet-nour* acquiert sa couleur caractéristique de fruit mûr (jaune orangé), mais elle est marquée par une texture dure et une astringence prononcée (Baliga *et al.*, 2011). Ces caractéristiques s'effacent graduellement pendant ce stade. D'autres variétés, telles que Bahri, Samani et Zaghlol peuvent être comestibles au stade *Khalal*, car le changement de la couleur est accompagné d'une disparition de l'astringence (Farag et Kassem, 1998 ; Yahia et Kader, 2011).

Au début du stade *Routab*, le fruit est mou, l'astringence est presque totalement perdue, la couleur brun clair translucide (couleur caractéristique de la variété). Il est sucré sans excès du fait de la teneur en eau élevée. Cet état de maturité avancée appelé « dattes *premium* » est très

intéressant sur le plan gustatif. Cette datte est disponible sur une période très courte lors de la saison de récolte et consommée comme une datte fraîche. La teneur en eau élevée rend ce fruit susceptible à la détérioration microbienne (Hamad, 2008). Les dattes récoltées à ce stade sont destinées à une commercialisation immédiate et sur des filières à rotation rapide.

1.1.5 Conditionnement et stockage

Les dattes naturelles (qui ne subissent aucun traitement) ou les dattes traitées sont emballées dans plusieurs types et tailles d'emballages : barquette en plastique, boîte en carton, caisse, ravier, bouquet couvert en plastique, etc. La majorité de ces emballages a surtout des fonctions de marketing et de protection mécanique. Par ailleurs, des travaux de recherche ont montré l'efficacité des emballages sous atmosphère modifiée, enrichie en CO₂ ou appauvrie en O₂, sur la conservation de la qualité des dattes et la prévention du développement des insectes (Achour et Bagga, 2005 ; Baloch *et al.*, 2006 ; Dehghan-Shoar *et al.*, 2010). Achour *et al.* (2003) ont rapporté que l'utilisation du conditionnement sous vide pour des dattes *Deglet-Nour* standards (teneur en eau à 18% bh) est le mode le mieux adapté pour une meilleure protection du produit contre la prolifération des microflores fongiques.

La réfrigération réduit significativement l'infestation par les insectes. Un stockage à 5°C ou à une température inférieure est efficace pour la conservation de ce type de dattes, et empêche le développement de toute sorte d'insectes (Yahia et Kader, 2011). Selon Kader et Hussein (2009), pour une longue durée de stockage, des températures inférieures à la température de congélation allant jusqu'à -15,7°C peuvent être utilisées pour conserver des dattes au stade *Tamar*. Les dattes à une teneur en eau de 20 % ou inférieure, peuvent être conservées à -18°C pendant plus d'une année. Avec une teneur en eau <20 %, ces dattes peuvent être conservées à 0°C pendant un an, ou à 4°C pendant 8 mois, et à 20°C pendant seulement un mois (avec une HR qui doit être maintenue entre 65 et 75 % dans tous les cas). Au stade *Khalal*, les dattes doivent être conservées à 0°C et 85 à 95 % HR pour réduire la perte d'eau, retarder la maturation et maintenir leur qualité en texture et en saveur.

En Algérie, la *Deglet-Nour* qui arrive des palmeraies est stockée dans des chambres réfrigérées pour certains producteurs, mais l'essentiel de la récolte est stocké dans des entrepôts à température ambiante avant d'être orienté vers des unités de conditionnement à proximité des palmeraies.

1.1.6 Dépréciation de la qualité

Une datte *premium* possède des arômes de fruit frais (Elleuch *et al.*, 2008). Le stockage plus ou moins long dégrade cet arôme fruité jusqu'à sa disparition. La perte de saveur peut avoir une origine microbiologique (le masquage par des produits de fermentation). La *Deglet-Nour* est appréciée pour sa couleur translucide et sa réflexion à la lumière (Achour et Bagga, 2005) ; une teinte brune est considérée comme un défaut, caractéristique d'un fruit âgé ou ayant subi un brunissement partiel lors du séchage. Un séchage excessif sur le palmier aboutit à des dattes de type standard (Hazbavi *et al.*, 2013 ; Kader et Hussein, 2009). En raison de la fragilité de leur peau et de la mollesse de leur pulpe, les dattes se blessent facilement (Oubahou et Yahia, 1999). Cette altération physique se produit au cours des différentes opérations de manipulation que ce soit dans les palmeraies ou bien dans les unités de conditionnement. Cette dépréciation de la qualité n'exclut pas la commercialisation de ces dattes, mais elle conduit à leur déclassification en dattes de qualité standard.

1.1.7 Brunissement

Le brunissement enzymatique chez les végétaux, dont les dattes, est essentiellement attribué à l'oxydation de composés phénoliques. Les enzymes intervenant sont les polyphénoloxydases (PPO) et les peroxydases (POD). Les PPO sont les plus étudiées. Le brunissement se déroule en deux étapes : une étape enzymatique catalyse la formation de quinones ; ensuite, une étape non enzymatique aboutit à la formation des mélanines (polymères bruns insolubles) par polymérisation et condensation des quinones (Rivas et Whitaker, 1973). Ces enzymes sont situées principalement dans les membranes des organites cellulaires (mitochondries et chloroplastes), et leurs substrats phénoliques sont situés dans les vacuoles. Lors d'endommagement de la cellule, l'enzyme et les substrats peuvent entrer en contact, conduisant à l'oxydation rapide des phénols (Chazarra *et al.*, 2001 ; Chisari *et al.*, 2007). Les dattes sont riches en composés phénoliques totaux (Al-Farsi *et al.*, 2007 ; Mansouri *et al.*, 2005). La variété *Deglet-Nour* est la plus riche avec environ 493,5 mg de GAE/100 g (Besbes *et al.*, 2009). Elle est donc riche en substrat pour la PPO, responsable du brunissement chez les dattes. L'activité de la PPO de la datte est optimale à un pH compris entre 4,5 et 6,5 (Hasegawa et Maier, 1980). L'activité de brunissement est intensifiée avec l'augmentation de la teneur en eau et de la température (Yahia et Kader, 2011). La PPO est relativement résistante au traitement thermique, pour des températures inférieures à 63°C (Reynes, 1997). Selon Belarbi *et al.* (2003), l'activité de cette enzyme est réduite de plus de 50% après un traitement thermique de 70°C pendant 10 min.

Le brunissement non-enzymatique connu sous le nom de la réaction de « Maillard » est un ensemble de réactions ayant pour substrat des acides aminés et des sucres réducteurs, conduisant à des composés bruns, les mélanodines. Autant ces composés sont recherchés dans certains aliments afin de faire apparaître des goûts et des apparences désirables, autant ils sont considérés comme un facteur de dépréciation pour d'autres aliments tels que les fruits et légumes (Machiels et Istasse, 2002). La réaction de Maillard n'affecte pas seulement la couleur de la datte, mais sa saveur, son goût et sa qualité nutritionnelle (van Boekel, 2001). Par ailleurs la réaction de Maillard peut se produire à des températures basses de 5-45°C (Bulut et Kilic, 2009 ; Özhan *et al.*, 2010). Maier et Schiller (1961) cités par Hazbavi *et al.* (2013) ont signalé que la dégradation de la couleur des dattes *Deglet-Nour* est causée par les deux voies, enzymatique et non-enzymatique à 28 et 40°C.

1.1.8 L'infestation

L'infestation des dattes par les insectes et les dommages qui en découlent est l'une des principales causes de pertes post-récolte en qualité et en quantité (Kader et Hussein, 2009). Parmi les ravageurs les plus couramment rencontrés on peut citer (Ben-Lalli, 2010) : *Esctomyelois ceratoniae* Zaller, *Ectomyelois decolor* Zaller, *Ephestia calidella* Guenée, qui sont des lépidoptères et *Oryzaephilus surinamensis* L. (Coléoptères) ainsi qu'*Olygonychus afrasiaticus* (une araignée). Les observations de Ben-Lalli (2010), réalisées dans les palmeraies de Socobio-Sud dans la région de Biskra (Sud-est d'Algérie), montrent que plus de 30% des dattes biologique de variété *Deglet-nour* sont infestées par des ravageurs en particulier les lépidoptères. Les dattes molles et demi-molles sont plus infestées que les dattes sèches (Bouka *et al.*, 2001 ; Idder *et al.*, 2009).

1.2 Altération microbiologique

1.2.1 La microflore fongique

Les agents d'altération microbiologique de la datte sont principalement les levures et les moisissures, mais les bactéries peuvent être impliquées. Les moisissures les plus couramment rencontrées chez le fruit dattier appartiennent aux genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Cladosporium* (Ahmed *et al.*, 1997 ; Gherbawy, 2001 ; Ragab *et al.*, 2001 ; Shenasi *et al.*, 2002b). *Asp. niger*, *Asp. flavus* et *Asp. fumigatus* sont les espèces d'*Aspergillus* souvent rapportées dans les dattes stockées (Atia, 2011 ; Shenasi *et al.*, 2002b). Elles sont présentes en grande fréquence 39%-83%, 40%-49% et 26%-40%, respectivement (Al-Sheikh, 2009 ; Colman *et al.*, 2012 ; Giridhar et Reddy, 2001). D'autres espèces d'altération du genre

Alternaria peuvent être présentes sur le fruit dattier : *Alt. alternata* (22%-62%) et *Alt. clamydospora* 24% (Al-Sheikh, 2009 ; Giridhar et Reddy, 2001). Toutes ces espèces sont capables de produire des mycotoxines, présentant ainsi un danger pour la santé des consommateurs (González, 1998 ; Logrieco *et al.*, 2003 ; Patriarca *et al.*, 2007 ; Schrader *et al.*, 2006). Les levures qui affectent les dattes sont les plus tolérantes aux fortes teneurs en sucre telles que *Zygosaccharomyces* sp. et *Hansenula* sp. (Ait-Oubahou et Yahia, 1999). La formation de poches de gaz sous la peau, d'agrégats blancs de cellules, de pulpe décolorée et d'odeur alcoolique sont les caractéristiques des dattes infectées par les levures (Yahia et Kader, 2011). L'acidification des dattes peut être due à l'accumulation de l'acide acétique. Il a été rapporté que les bactéries acétiques (Kader et Hussein, 2009) ainsi que les bactéries lactiques (Shenasi *et al.*, 2002a) peuvent être responsables de cette acidification. L'acidification est amplifiée chez les dattes récoltées au stade *Routab*, en particulier chez les variétés molles.

Le développement de la microflore fongique d'altération dépend de la température, de l'humidité de l'air de stockage, de l'activité en eau du fruit, ainsi que de la charge microbienne initiale lors de la récolte. À part les contaminations issues du non-respect des bonnes pratiques de la récolte, la charge initiale fongique de la datte dépend du stade et de l'état physiologique de la récolte. En effet, certains stades du développement de la datte sont en mesure de soutenir la croissance fongique et la production de mycotoxines. Shenasi *et al.* (2002a) ont rapporté pour la variété *Fard*, une charge fongique relativement élevée au premier stade de maturité *Kimri* ($1,7 \log_{10}\text{CFU/g}$) qui augmente fortement au deuxième stade *Routab* ($5,7 \log_{10}\text{CFU/g}$), puis diminue de manière significative au stade final de maturité *Tamar* ($1,9 \log_{10}\text{CFU/g}$).

Le risque d'altération microbiologique est l'ennemi principal de la conservation et du conditionnement des dattes en particulier celles avec des activités en eau élevée (dattes *premium* et variétés de dattes molles). L'importance du risque engendré par cette altération nécessite de plus amples informations sur la microflore fongique d'altération lors du conditionnement et le stockage des dattes. Ceci englobe leur sensibilité aux traitements thermiques de décontamination, et leur inhibition sous influence de facteurs environnementaux tels que la température, l' a_w , l'atmosphère modifiée (enrichie en CO_2).

1.2.2 Sensibilité thermique

La sensibilité des levures et des moisissures à la chaleur se situe dans une large gamme de température. La forme sporulée des levures et des moisissures est plus résistante à la chaleur que la forme végétative (Raso *et al.*, 1998), et la sensibilité thermique des spores peut aller de $D_{45} = 0,9$ min pour *Monilinia fructigena* (Marquenie *et al.*, 2002) à $D_{90} = 6,2$ min pour *Talaromyces flavus* (King, 1997). En traitement thermique post-récolte des fruits, les deux formes (végétative et sporulée) des levures et des moisissures d'altération sont inactivées généralement par une exposition à 60°C pendant 5 à 10 min (Civello *et al.*, 1997 ; Fallik et Lurie, 2007). D'autres souches sont plus résistantes, on peut citer par exemple, les spores de *Neosartorya fischeri* isolées dans plusieurs jus de fruits ($D_{85} = 13,2-30,1$ min) (Salomão *et al.*, 2007), ainsi que celles de *Byssoschlamys nivea* isolées dans le jus de tomate ($D_{90} = 1,5$ min) (Kotzekidou, 1997). Ces souches fongiques résistantes sont isolées à partir des produits transformés en industrie ; elles subissent généralement des traitements thermiques intenses.

Deux hypothèses ont été rapportées dans la littérature pouvant expliquer le mécanisme d'inactivation des spores par la chaleur (Gervais et de Marañon, 1995 ; Gervais et Maréchal, 1994) : 1) l'effet de la température induisant des changements physiologiques et biochimiques dans le cortex et la membrane des spores, favorisant un transfert d'eau important qui génère un gradient de pression osmotique entre les milieux intra et extracellulaire ; 2) l'inactivation des spores peut également être due à une inactivation thermique des enzymes de germination.

1.2.3 Effet des facteurs environnementaux

1.2.3.1 Effet des basses températures

Les basses températures ont démontré leur efficacité sur le développement des levures et moisissures responsables de l'altération de la datte (Yahia et Kader, 2011). Pour maintenir la qualité microbiologique et physico-chimique de dattes *Barhee* immatures, Kader et Hussein (2009) ont suggéré un stockage et un transport réfrigéré (0-2°C) avec une humidité relative de l'air comprise entre 90 et 95%. La température joue aussi un rôle déterminant dans la dégradation de la couleur des dattes *Deglet-nour* durant l'entreposage (Achour et Bagga, 2005). Selon Oubahou et Yahia (1999), les dattes séchées peuvent être conservées pendant un an à une température de 0°C.

La réfrigération permet de ralentir le développement des microflores d'altération thermophiles et mésophiles. Celles-ci sont inhibées totalement lorsque la température de réfrigération est au-dessous de la température minimale de leur croissance (Fellows, 2000). Une diversité de

valeurs de ces températures limites a été rapportée dans la littérature pour la croissance des moisissures. Gougouli et Koutsoumanis (2010) ont observé un écart significatif des températures limites pour l'inhibition de deux souches fongiques. Pour *Penicillium expansum*, une croissance a été observée à $-1,3^{\circ}\text{C}$ avec une valeur minimale d'inhibition de la croissance estimée à $-5,7^{\circ}\text{C}$. En revanche, pour *Aspergillus niger*, aucune croissance n'a été observée à 10°C , avec une valeur minimale d'inhibition estimée à $-10,1^{\circ}\text{C}$. Une inhibition totale de la croissance de *Fusarium graminearum* a été observée à 5°C (Ramirez *et al.*, 2006). De leur côté Garcia *et al.* (2011) ont rapporté des températures minimales de croissance $<10^{\circ}\text{C}$ et $<15^{\circ}\text{C}$ pour *Aspergillus ochraceus* et *Aspergillus parasiticus*, respectivement.

1.2.3.2 Effet de l' a_w

L'activité de l'eau (a_w) renseigne sur l'eau libre dans un aliment disponible pour les microorganismes. Les levures et les moisissures sont les principaux agents de détérioration des fruits à faible activité en eau ; des souches dites *xérophiles* peuvent tolérer des a_w inférieures à 0,85 (Pitt et Hocking, 2009). L'activité de l'eau limite pour la croissance des moisissures (a_w minimales pour la croissance) varie d'une souche à une autre, sachant que celle-ci varie en additionnant d'autres facteurs inhibiteurs de la croissance. L'efficacité de ces a_w minimales peut être augmentée en les couplant à d'autres facteurs inhibiteurs des microorganismes d'altération tels que le pH, la température de stockage, les sels, l'acidité, les agents antimicrobiens (Rahman et Labuza, 2007 ; Tapia *et al.*, 2008). Pour la plupart des aliments, cette a_w limite se situe dans la plage de 0,6 à 0,7. En effet, les bactéries pathogènes sont inhibées en dessous des valeurs de 0,90, contrairement aux levures et aux moisissures qui peuvent tolérer des a_w plus basses ($<0,85$). Mais généralement aucune croissance n'est observée en-dessous de 0,62 (Chirifé et Buera, 1994).

Pour des souches d'*Alternaria alternata* isolées à partir des tomates, aucune croissance ou germination n'a été observée à une $a_w <0,904$, après 100 jours d'incubation sur un milieu synthétique de tomate à 6°C et 15°C (Pose *et al.*, 2009). Cette a_w limite de croissance a été observée à 0,84 et 0,82 a_w à 25°C pour une incubation de deux souches *Aspergillus niger* L11 et B1, respectivement (Parra et Magan, 2004). De leur côté Garcia *et al.* (2011) n'ont observé aucune croissance d'*Aspergillus ochraceus* et d'*Aspergillus parasiticus* en dessous d'une a_w de 0,85. Des valeurs nettement inférieures ont été observées pour des souches plus tolérantes à la diminution de l'activité de l'eau (*Xeromyces bisporus*, *Chrysosporium fastidium* et *Basipetospora halophila*...). En effet, Leong *et al.* (2011) ont rapporté une croissance de *Xeromyces bisporus* à 0,62 d' a_w à des températures 20-37 $^{\circ}\text{C}$.

1.2.3.3 Effet du CO₂

Les concentrations élevées en CO₂ dans les emballages des fruits ont montré leur efficacité contre le développement des moisissures d'altération (*Aspergillus flavus*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium verrucosum*...) et la production de mycotoxines (Cairns-Fuller *et al.*, 2005 ; Giorni *et al.*, 2008 ; Taniwaki *et al.*, 2009, 2010). Taniwaki (1995) a démontré que la croissance des levures et des moisissures dans des atmosphères à niveaux élevés en CO₂ réduit significativement la teneur en ergostérol des hyphes ; l'ergostérol est un composé synthétisé par les levures et des moisissures et utilisé pour mesurer leur croissance, les hyphes étant leur appareil végétatif. Dans une atmosphère contenant 60% de CO₂, la concentration en ergostérol par unité de longueur des hyphes était six fois inférieure à celle sous air. Différents emballages sous atmosphère modifiée ont été testés seuls ou couplés à d'autres techniques pour préserver la qualité des dattes (Al-Redhaiman, 2005 ; Baloch *et al.*, 2006 ; El-Rayes, 2009 ; Khali *et al.*, 2007). La tolérance des dattes au CO₂ constitue un avantage pour la conception des MAP à hautes concentrations en CO₂ (Navarro *et al.*, 2001). En revanche, les levures ne sont pas affectées par la modification de l'atmosphère (enrichie en CO₂ et/ou faible en O₂), car celles-ci peuvent être anaérobies facultatives ; par conséquent, en l'absence d'O₂, les levures peuvent convertir les sucres en CO₂ et éthanol (fermentation) et entraîner une altération de la qualité des fruits et légumes (Barth *et al.*, 2010). Babic *et al.* (1992) ont rapporté qu'aucune différence significative n'a été observée sur la charge levurienne (*Candida sake*, *C. lambica*...) des carottes râpées stockées à 10°C sous atmosphère modifiée (20-50% CO₂ et 10-2% O₂) et celle du témoin.

1.3 Microbiologie prévisionnelle

La connaissance quantitative générée par la microbiologie prévisionnelle fournit une base pour le développement de dispositifs permettant de contrôler la durée de vie d'un produit pendant le stockage, la distribution et la vente au détail. Les modèles prévisionnels peuvent prédire le comportement probable de microorganismes d'altérations dans les aliments, en prenant en compte des conditions environnementales intrinsèques et extrinsèques présentées par cet aliment (McMeekin et Ross, 1996). La modélisation en microbiologie prévisionnelle se décompose généralement en deux étapes : une modélisation primaire et une modélisation secondaire. La modélisation primaire correspond à la description des cinétiques d'inactivation ou de croissance microbiennes. Les paramètres issus des modèles primaires permettent ensuite de procéder à la modélisation secondaire, qui correspond à la description de l'effet des

facteurs environnementaux (température, pH, acides, a_w , CO₂, etc.) sur les paramètres du modèle primaire.

1.3.1 Modélisation de l'inactivation thermique des spores

1.3.1.1 Modélisation primaire

Cinétique d'inactivation de premier ordre. Classiquement, les modèles les plus utilisés sont conçus sur la base de l'hypothèse d'une cinétique de premier ordre. L'évolution du taux de survie en fonction du temps est décrite par l'équation intégrée :

$$\frac{N^{(t)}}{N^{(0)}} = \exp(-kt) \quad (1)$$

Avec $N^{(0)}$ la population microbienne initiale, $N^{(t)}$ la population microbienne survivante après une durée de traitement t et k le taux d'inactivation. L'équation (1) est généralement transformée en faisant apparaître le \log_{10} eu égard au nombre élevé de N . Elle devient ainsi :

$$\log_{10}\left(\frac{N^{(t)}}{N^{(0)}}\right) = -\frac{t}{D_T} \quad (2)$$

D_T est le temps dit de réduction décimale à température T , qui correspond à la durée de traitement nécessaire pour réduire la population survivante d'un facteur dix. Il est exprimé en minute. Cette formulation permet de linéariser le $\log_{10}(N^{(t)}/N^{(0)})$ en fonction du temps et facilite l'identification de D .

D'autres formulations non linéaires ont été recensées : courbes avec épaulement et avec ou sans traînée, concave, convexe, sigmoïdale ainsi que des courbes diphasiques (Cerf, 1977 ; Hills et Mackey, 1995 ; Le Jean *et al.*, 1994 ; Linton *et al.*, 1995). Ainsi plusieurs auteurs se sont intéressés à ces courbes de survie non linéaires et quelques modèles ont été proposés. Le modèle le plus simple est celui de Shull *et al.* (1963). Il est basé sur un raisonnement mécanistique. L'auteur suppose qu'un traitement thermique appliqué sur une population de spores peut activer les spores dormantes dans un premier temps avant de les détruire. Ensuite, Sapru *et al.* (1993) supposent que les spores dormantes possèdent un taux d'inactivation différent de celles activées, et propose ainsi un autre modèle plus général. D'autres modèles se basent sur le fait que les populations traitées sont hétérogènes, c'est-à-dire la présence de sous population avec une thermosensibilité différente. Considérant la distribution asymétrique

des valeurs de thermosensibilité au sein d'une population de spores, Fernandez *et al.* (1999) proposent un modèle inspiré de la fonction de distribution statistique de Weibull :

$$\frac{N^{(t)}}{N^{(0)}} = \exp \left[- \left(\frac{t}{\alpha} \right)^\beta \right] \quad (3)$$

α et β sont les deux paramètres de la distribution des thermorésistances. α est appelé paramètre d'échelle (caractérisé par le temps) et β est le paramètre de forme. Mafart *et al.* (2002) ont reparamétré ce modèle sous une forme plus intéressante dont les paramètres ont une signification pratique pour l'inactivation des microorganismes :

$$\log_{10} \left(\frac{N^{(t)}}{N^{(0)}} \right) = - \left(\frac{t}{\delta} \right)^\beta \quad (4)$$

Où δ est appelé le temps de la première réduction décimale. Les formes des courbes sont décrites par le paramètre β (Figure 3) : lorsque $\beta < 1$ la courbe est concave, lorsque $\beta > 1$ la courbe est convexe et lorsque la courbe est log-linéaire $\beta = 1$.

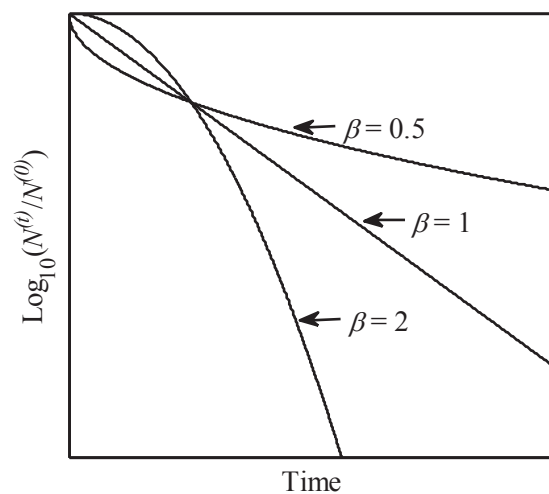


Figure 3. Simulation décrivant l'inactivation microbienne en utilisant le modèle de Mafart *et al.* (2002) pour le paramètre de forme $\beta < 1$, $\beta > 1$ et $\beta = 1$.

L'hypothèse classique, selon laquelle l'inactivation des spores microbiens suit une cinétique d'ordre 1 a été remise en cause par plusieurs auteurs (Geeraerd *et al.*, 2000 ; Peleg, 2000 ; van Boekel, 2010). Mais celle-ci reste incontestablement la plus utilisée pour les calculs de barèmes de pasteurisation/stérilisation en industrie ; elle figure comme une référence dans les manuels de microbiologie.

1.3.1.2 Modélisation secondaire

Le modèle d'Arrhenius décrit l'effet de la température sur la vitesse d'une réaction chimique. Celui-ci est aussi utilisé en microbiologie pour décrire l'effet de la température sur la constante d'inactivation k (s^{-1}) :

$$k = A \exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right) \quad (5)$$

Où E_a est l'énergie d'activation ($J.mol^{-1}$), T est la température absolue de traitement, R la constante des gaz parfaits, et A est un facteur pré-exponentiel (constante empirique). L'inconvénient de ce modèle est que A n'a aucun sens physique, et d'un point de vue statistique il existe une forte corrélation entre A et E_a qui rend difficile la convergence lors de la procédure d'identification des paramètres (van Boekel, 2010). C'est pourquoi la forme reparamétrée est souhaitée, et s'écrit sous la forme (Agarwal et Brisk, 1985 ; Pritchard et Bacon, 1975 ; Schwaab et Pinto, 2007) :

$$k = k_{ref} \exp\left[-\frac{E_a}{R}\left(\frac{1}{T^{(t)}} - \frac{1}{T_{ref}}\right)\right] \quad (6)$$

Où k_{ref} est le taux d'inactivation à la température de référence T_{ref} . La température de référence doit être choisie de préférence comme la médiane de la gamme de température étudiée. $T^{(t)}$ est la température de traitement à temps t .

Le modèle de Bigelow. Ce modèle reprend le paramètre D de l'équation (2) qui évolue avec un facteur de 10 par rapport à la température de traitement. Il s'écrit sous la forme suivante :

$$D = D_{ref} 10^{\left(-\frac{T^{(t)} - T_{ref}}{z}\right)} \quad (7)$$

D_{ref} est le temps de réduction décimal à la température de référence T_{ref} . z représente l'augmentation de température pour réduire d'un facteur dix la valeur de D . Ce modèle de Bigelow est aussi le modèle le plus utilisé dans le domaine de l'agroalimentaire, compte tenu de la signification aisée de ses deux paramètres. En effet, le modèle d'Arrhenius est très contesté pour décrire l'effet de la température sur l'inactivation des spores microbiennes, car ce modèle a été conçu pour des réactions élémentaires simples, et non pour des phénomènes complexes tels que l'inactivation microbienne (van Boekel, 2010). En terme de qualité

d'ajustement les deux modèles sont très proches, et la transition entre E_a/k_{ref} et z/D_{ref} est bien connue (Tang *et al.*, 2000 ; van Boekel, 2002, 2008) :

$$D_{ref} = \frac{\ln(10)}{60 k_{ref}} \quad (8)$$

Et

$$z = \frac{\ln(10) R T_{min} T_{max}}{E_a} \quad (9)$$

T_{min} et T_{max} sont respectivement la température minimale et maximale de la gamme de température de traitement utilisée.

1.3.2 Modélisation de la croissance microbienne

1.3.2.1 Modélisation primaire

Un modèle primaire de croissance a pour but de décrire l'évolution au cours du temps d'un microorganisme bien défini dans un environnement donné. Il découle de ce modèle une courbe de croissance classiquement divisée en 5 phases (Figure 4) :

- a. Phases de latence (λ) où la population initiale ($N^{(0)}$) est constante et la vitesse de croissance (μ) est nulle ;
- b. Phase d'accélération où $\mu > 0$;
- c. Phase exponentielle où la vitesse de croissance atteint son niveau maximum (μ_{max}) ;
- d. Phase de décélération où la vitesse de croissance maximale diminue ($\mu < \mu_{max}$) ;
- e. Phase stationnaire où la population atteint ($N^{(t)}$) sa concentration maximale (N_{max}).

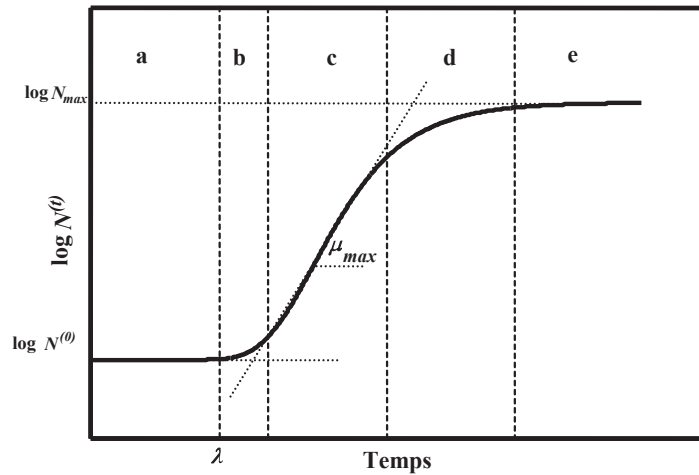


Figure 4. Principales phases d'une courbe de croissance microbienne et paramètres du modèle qui la caractérise.

Zwietering *et al.* (1990) ont adapté le modèle Gompertz en faisant apparaître les paramètres classiques d'une courbe de croissance avec une signification microbiologique :

$$\log_{10}(N^{(t)}) = \log_{10}(N^{(0)}) + A \exp \left\{ - \exp \left[\frac{\mu_{\max} e}{A} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (10)$$

Avec $A = \log_{10}(N_{\max}) - \log_{10}(N^{(0)})$ et $e = \exp(1)$.

Ce modèle qui génère des courbes sigmoïdales a été couramment utilisé en raison de sa qualité d'ajustement sur les données expérimentales de croissance. Néanmoins, des inconvénients ont été signalés. Rosso (1995) a mentionné que l'ajustement du modèle de Gompertz reparamétré induit une surestimation du taux de croissance μ_{\max} par rapport à sa définition classique (phase c de la figure 4). Rosso (1995) a donc développé un modèle dit logistique avec délai et rupture, limitant les problèmes évoqués ci-dessus :

$$\log_{10}(N^{(t)}) = \begin{cases} \log_{10}(N^{(0)}) & , t \leq \lambda \\ \log_{10}(N_{\max}) - \log \left[1 + \left(\frac{N_{\max}}{N^{(0)}} - 1 \right) \exp(-\mu_{\max}(t-\lambda)) \right] & , t > \lambda \end{cases} \quad (11)$$

Le modèle de Baranyi et Roberts. Le modèle de Baranyi et Roberts (1994) est l'un des modèles les plus utilisés actuellement pour représenter les courbes de croissance, il est basé sur l'équation différentielle suivante :

$$\frac{dN^{(t)}}{dt} = \mu_{\max} N^{(t)} a(t) b(t) \quad (12)$$

$$a(t) = \frac{q_0}{q_0 + \exp(-\mu_{\max} t)} \quad (13)$$

$$b(t) = 1 - \frac{N^{(t)}}{N_{\max}} \quad (14)$$

Où $a(t)$ est la fonction d'ajustement croissante en fonction de t , qui converge vers 1 (varie entre 0 et 1), et permet la transition de la phase de latence à la phase exponentielle. $b(t)$ est la fonction de freinage décroissante en fonction de $N^{(t)}$, qui converge vers 0 (varie aussi entre 0 et 1), et permet la transition de la phase exponentielle à la phase stationnaire. Le paramètre q_0 est donné par h_0 qui caractérise l'état physiologique de l'inoculum ($N^{(0)}$):

$$h_0 = \mu_{\max} \lambda = \log \left(1 + \frac{1}{q_0} \right) \quad (15)$$

La forme intégrée du model de Baranyi et Roberts (1994) est donnée par l'équation suivante :

$$N^{(t)} = N^{(0)} + \mu_{\max} A^{(t)} - \log \left\{ \frac{\exp [\mu_{\max} A^{(t)} - 1]}{\exp [N_{\max} - A^{(0)}]} \right\} \quad (16)$$

Avec :

$$A^{(t)} = t + \frac{1}{\mu_{\max}} \log \left\{ 1 + \frac{\exp [-\mu_{\max} t] + q_0}{1 + q_0} \right\} \quad (17)$$

Le modèle Baranyi et Roberts (1994) s'ajuste très bien aux données expérimentales de croissance (bonne qualité d'ajustement) et possède des paramètres avec des significations mécanistiques.

1.3.2.2 Modélisation secondaire

La relation linéaire entre la racine carrée de la vitesse de croissance (μ_{\max}) et de la température (T) dans la zone suboptimale de croissance, a été proposée par Ratkowsky *et al.* (1982) comme modèle pour décrire l'effet de la température sur la vitesse de croissance microbienne :

$$\sqrt{\mu_{\max}} = b (T - T_{\min}) \quad (18)$$

b est un coefficient sans signification biologique, T_{\min} est la température minimale qui permet la croissance du microorganisme. Ce modèle a été étendu pour intégrer l'effet du pH (Adams *et al.*, 1991) et de l' a_w (Wijtes *et al.*, 1993) :

$$\sqrt{\mu_{\max}} = b(T - T_{\min}) \sqrt{(pH - pH_{\min})} \sqrt{(a_w - a_{w\min})} \quad (19)$$

Avec pH_{\min} et $a_{w\min}$ les valeurs minimales extrapolées de pH et a_w qui permettent la croissance du microorganisme. La transformation «racine carrée» est appliquée pour stabiliser les variances des μ_{\max} . Ce type de modèle ainsi que tous les modèles en découlant seront appelés des modèles de type «racine carrée» (Delhalle *et al.*, 2012). Le gamma concept a été introduit en microbiologie prévisionnelle par Zwietering *et al.* (1992). Il se base sur le principe que tous les facteurs environnementaux agissent sur le taux de croissance microbien d'une manière indépendante et multiplicative, et que l'effet de chaque facteur sur la vitesse de croissance peut être exprimé par une fraction du taux de croissance maximum (Adams *et al.*, 1991 ; Delhalle *et al.*, 2012 ; McMeekin *et al.*, 1987) :

$$\square = \frac{\square_{\max}}{\square_{\text{opt}}} \quad (20)$$

Où γ est représenté par une fonction décrivant l'effet des facteurs environnementaux. Il varie entre 0 et 1 :

$$\mu_{\max} = \mu_{\text{opt}} \gamma(T) \gamma(pH) \gamma(a_w) \quad (21)$$

Avec :

$$\gamma(T) = \left(\frac{T - T_{\min}}{T_{\text{opt}} - T_{\min}} \right)^2 \quad (22)$$

$$\gamma(pH) = \left(\frac{(pH - pH_{\min})(pH_{\max} - pH)}{(pH_{\text{opt}} - pH_{\min})(pH_{\max} - pH_{\min})} \right)^2 \quad (23)$$

$$\gamma(a_w) = \frac{a_w - a_{w\min}}{1 - a_{w\min}} \quad (24)$$

D'autres facteurs peuvent être ajoutés, par exemple l'effet du dioxyde de carbone $\gamma(CO_2)$ (Ross et Dalgaard, 2004b) :

$$\gamma(CO_2) = \left(\frac{CO_{2\max} - CO_2}{CO_{2\text{opt}} - CO_{2\max}} \right)^2 \quad (25)$$

L'inhibition de la croissance, produite par chaque facteur, à des conditions sous-optimales, est représentée par le facteur de croissance « gamma » (γ). L'effet combiné de l'ensemble des facteurs est décrit par la multiplication des contributions de chaque facteur (Équation 21).

Les modèles cardinaux sont des modèles avec des paramètres qui ont une signification biologique. Basé sur le même principe que celui du Gamma-concept, le modèle cardinal possède autant de termes (CM) que de paramètres (k), et ils sont multiplicatifs. Ils varient entre 0 et 1. Ces termes $CM_n(X)$ peuvent décrire l'effet de la température $CM_2(T)$ (Rosso *et*

al., 1993), l'effet du pH CM_1 (pH) (Rosso, 1995) et l'effet de l'activité de l'eau CM_2 (a_w) (Rosso, 1998) :

$$\mu_{\max} = \mu_{\text{opt}} \prod_{i=1}^k CM_n(X_i) \quad (26)$$

Avec

$$CM_n(X) = 0 \quad \text{si } X \leq X_{\min} \quad \text{ou } X \geq X_{\max}$$

Et

$$CM_n(X) = \frac{(X - X_{\min})^n (X - X_{\max})}{(X_{\text{opt}} - X_{\min}) [(X_{\text{opt}} - X_{\min})(X - X_{\text{opt}}) - (X_{\text{opt}} - X_{\max})(X_{\text{opt}} + X_{\min} - 2X)]}$$

$$\text{Si } X_{\min} > X > X_{\max}$$

Avec X_{\min} et X_{\max} , les valeurs cardinales minimales et maximales de croissance respectivement, X_{opt} est la valeur cardinale optimale de croissance pour laquelle μ_{\max} est égale à sa valeur optimale μ_{opt} .

1.4 Les procédés pour la maîtrise des développements fongiques

1.4.1 Les procédés thermiques en post-récolte

La contamination des fruits et légumes frais par des agents pathogènes ou d'altération peut survenir au cours de la production, la récolte, l'emballage, la transformation, la distribution ou la commercialisation (Fallik et Lurie, 2007). La contamination par la microflore fongique d'altération post-récolte est le principal facteur limitant la prolongation de la durée de conservation de nombreux fruits et légumes frais (Fallik, 2004). Les traitements thermiques peuvent être utilisés pour lutter contre les levures et les moisissures d'altération (Barkai-Golan, 2001 ; Vicente *et al.*, 2002). Ce traitement physique a été efficace également pour

lutter contre les insectes et les ravageurs en post-récolte (Ben-Lalli *et al.*, 2011 ; Hallman, 2000). Ce processus physique traditionnel de décontamination est encore d'usage aujourd'hui, car il est efficace, sain et peu coûteux par rapport à d'autres technologies telles que les procédés chimiques et l'irradiation (rayon Gamma) (Da Silva et Gibbs, 2009). La chaleur peut être appliquée aux fruits et légumes de plusieurs façons : par immersion dans de l'eau chaude, par air chaud pulsé ou par vapeur (Ben-Lalli *et al.*, 2011 ; Lurie, 1998), ou bien par un rinçage à l'eau chaude avec brossage (Fallik, 2004).

1.4.1.1 Traitement par immersion dans l'eau chaude.

Le bain d'eau chaude est un milieu de transfert de chaleur efficace qui établit un profil de température homogène en surface. Ce procédé existe en batch et continu (Fallik et Lurie, 2007). Dans le système en batch, les produits (fruits ou légumes) sont chargés sur une plate-forme, qui est ensuite plongée durant un temps donné dans l'eau chaude. Dans le système continu, les fruits sont plongés à l'aide d'un panier sur un tapis transporteur qui se déplace d'une extrémité à l'autre du bain. La vitesse du tapis est réglée de façon à assurer la durée de traitement préconisée.

Un traitement thermique par immersion dans un bain d'eau chaude est efficace pour la maîtrise de la microflore fongique d'altération des fruits, car les spores infectent la surface ou les premières couches sous la peau des fruits ou des légumes (Lurie, 1998). Plusieurs études ont montré l'efficacité de ce type de traitement pour diminuer la microflore fongique des fruits ayant une aptitude à supporter l'excès de l'eau, généralement des fruits avec une peau épaisse et rigide (pommes, oranges...). L'utilisation de bain d'eau à 38-60°C pendant 2 à 60 min a montré son efficacité pour contrôler la germination des spores et le développement des levures et des moisissures d'altération post-récolte pour les melons, la papaye, les fraises et les tomates (Klein et Lurie, 1992). Des pêches et des nectarines infectées par *Monilinia fructicola* sont traitées par immersion dans un bain d'eau à 46 ou 50°C pendant 2,5 min, réduisant la pourriture de 82,8 à 59,3 et 38%, respectivement (Margosan *et al.*, 1997). Karabulut *et al.* (2004) ont rapporté qu'un traitement post-récolte de fraises biologiques à 55 et 60°C pendant 30s réduit significativement l'altération à 3,4 et 2,7%, respectivement, en référence aux échantillons témoins avec une altération de 28,5%. D'un autre côté, le traitement thermique par immersion n'est pas recommandé pour les pamplemousses, les fruits à noyau (prunes, nectarines et pêches), ou les caramboles, car ce type de traitement peut endommager la qualité de ces fruits spécifiques (U.S.EPA, 1996).

1.4.1.2 Air chaud pulsé et vapeur

Le traitement à la vapeur des fruits et légumes a été développé principalement pour le contrôle des insectes, tandis que l'air chaud a été utilisé à la fois pour la microflore fongique d'altération et la lutte contre les insectes (Ben-Lalli, 2010 ; Lurie, 1998). Le traitement à l'air chaud consiste à exposer de l'air chaud sur la surface du fruit pour élever la température de celui-ci à un niveau létal pour des espèces microbiennes et des insectes nuisibles. L'air chaud peut être appliqué dans une chambre chauffée à l'air circulant à l'aide d'un ventilateur (Fallik et Lurie, 2007). Le contrôle précis de la température, la vitesse et l'humidité relative de l'air chauffé est très avantageux, car cela évite le séchage du fruit et son altération par la chaleur. De plus, cela évite la condensation dans la zone de traitement (chambre de traitement par exemple) et sur la surface des fruits (Gaffney et Armstrong, 1990 ; Miller *et al.*, 1991).

Le traitement par air chaud a montré son efficacité sur la préservation de la qualité des fruits en post-récolte. McGuire (1991) a démontré la capacité à préserver la qualité du pamplemousse après traitement par air pulsé à 48°C pendant 3h, comparé au traitement par immersion dans l'eau à température constante 48°C pendant 2h ou par l'augmentation progressive de la température pendant 3h. Aborisade et Ojo (2002) ont traité des tomates mûres inoculées par *Rhizopus stolonifer* à l'air chaud. Les couples temps-températures de 60°C pendant 6 min ou 70°C pendant 1-5 min, étaient les meilleures conditions contre l'altération fongique des tomates.

1.4.1.3 Rinçage à l'eau chaude et brossage.

Le brossage est une amélioration proposée pour les opérations de nettoyage et de désinfection. Un rinçage à l'eau chaude augmente l'efficacité du traitement. Ce procédé consiste à rincer les fruits frais par des buses avec de l'eau chaude, tout en assurant le brossage à l'aide de poils synthétiques semi-fermes, suivi d'un ressuyage (sous une lame d'air) pour éliminer l'eau de rinçage (Fallik et Lurie, 2007). Le rinçage à l'eau chaude avec brossage est un traitement court, de l'ordre de 10 à 25 s pour des températures allant de 48 à 63°C. Ce type de procédé a montré son efficacité dans la désinfestation des fruits frais (Lichter *et al.*, 2000 ; Porat *et al.*, 2000 ; Prusky *et al.*, 1999). En général, les dommages causés par celui-ci sur les fruits ont été observés à des températures supérieures à 60°C (Fallik, 2004).

1.4.2 Procédés de stabilisation des fruits

1.4.2.1 Contrôle de la température, le froid

La réfrigération est une technique très efficace pour prolonger la durée de vie des fruits et légumes (Cai *et al.*, 2006 ; Cliffe-Byrnes et O'Beirne, 2005). Il s'agit d'un stockage à des températures supérieures à la température de congélation commençante et au-dessous de 15°C. L'action du stockage réfrigéré concerne la maîtrise des points suivants (Karel et Lund, 2003) :

- La croissance des microorganismes d'altération.
- Les réactions chimiques associées à la dégradation de la couleur (brunissement, oxydation...) et la perte de la valeur nutritive.
- Les activités post-récolte métaboliques (le vieillissement en raison de la maturation).
- La perte d'eau.

Diminuer la respiration des fruits permet de prolonger leur durée de stockage en post-récolte. Ceci est souvent réalisé en combinant une baisse de la température et une augmentation de l'humidité relative de l'air (Drummond et Sun, 2010). Il a été recommandé pour le stockage des fruits frais, une température de 15°C, une humidité relative de 80-90% pour assurer un bon état sensoriel pendant environ trois semaines (Duarte et Molina, 2011). Les basses températures ont montré leur efficacité dans la préservation de la qualité des dattes (réduction de la perte de couleur, de saveur, de texture...), ainsi que l'altération par la microflore fongique et les infestations par les insectes (Yahia et Kader, 2011).

1.4.2.2 Contrôle de l'activité de l'eau, le séchage

L'objectif du séchage est d'abaisser la teneur en eau d'un produit, et par conséquent son a_w jusqu'à obtenir un produit microbiologiquement stable à température ambiante. L'abaissement de l' a_w par séchage est une technique souvent utilisée pour prolonger la durée de vie de certains fruits riches en eau (George *et al.*, 2004). La teneur en eau optimale recherchée pour la conservation d'un fruit dépend de l' a_w minimale du développement des microorganismes cibles responsables de l'altération. La technique de séchage la plus traditionnelle est le séchage au soleil, mais elle n'est pas sans inconvénients (poussière, attaque par les insectes, brunissement...). Industriellement la technique du séchage par entraînement (air-chaud) est largement utilisée ; des techniques ont récemment émergé telles que le séchage par microonde, par radiofréquences et par rayonnement. Selon Kocabiyik *et al.*

(2012), ces techniques sont plus efficaces pour un moindre coût, et préservent mieux la qualité des produits séchés.

Différentes techniques et différents types de séchoirs utilisés dans le séchage des dattes ont été détaillés dans la littérature (Rao *et al.*, 2012). Les variétés de dattes riches en eau (dattes molles, parfois demi molles) sont souvent séchées à une activité en eau optimale ($a_w < 0,76$) pour leur bonne conservation lors du stockage et de la commercialisation. Kader et Hussein (2009) ont suggéré des teneurs en eau de 23 à 25% bh pour éviter d'éventuelles dégradations par les microorganismes. De leur côté Ait-Oubahou et Yahia (1999) ont suggéré un ratio sucre/eau avoisinant 2 pour les variétés demi molles, et supérieur à 2 pour les variétés sèches. L' a_w des dattes dépend de la composition de sa pulpe (sucres, pectine, cellulose...), de sa teneur en eau et de la température ; l'équilibre thermique et hydrique entre un produit et l'atmosphère qui l'entoure est caractérisé par les isothermes de sorption, représentant les variations de a_w en fonction de la teneur en eau base sèche du produit, pour une température donnée. Belarbi *et al.* (2000) ont constaté que les variétés des dattes à sucre réducteurs sont plus hygroscopiques que les variétés à saccharose telle que la *Deglet-nour*. Ces auteurs ont suggéré l'utilisation du modèle de Baunauer, Emmett et Teller (BET) pour la modélisation des courbes de sorption de la pulpe des dattes (Figure 5).

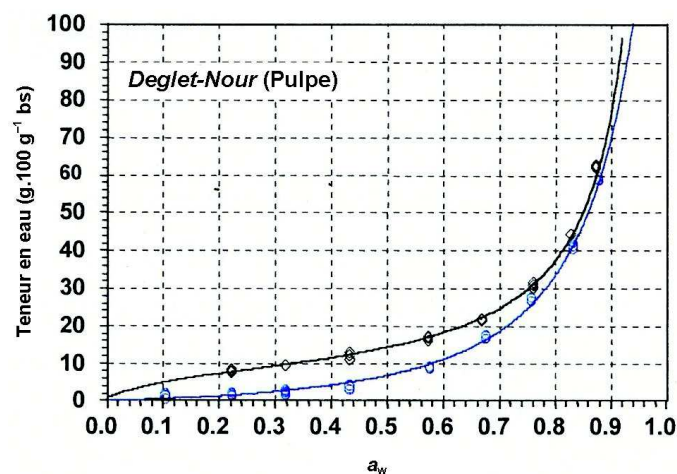


Figure 5. Isotherme de désorption (noir) et d'adsorption (bleu) à 25°C de la datte *Deglet-Nour*. Les symboles sont les points expérimentaux (◇) et la ligne continue (—) est le modèle

de BET :
$$X = \frac{X_m C a_w}{(1 - a_w)(1 - a_w + C a_w)}$$
 ; X est la teneur en eau à l'équilibre du

produit (g.100 g⁻¹ bs) ; X_m est la teneur en eau (g.100 g⁻¹ bs) de la couche monomoléculaire (Belarbi *et al.*, 2000).

1.4.2.3 *Contrôle de l'atmosphère, conditionnement sous atmosphère modifiée*

La durée de conservation des fruits et légumes peut être prolongée par la modification de l'atmosphère environnant de ces produits que ce soit dans l'emballage (Modified Atmosphere Packaging, MAP) ou dans des chambres de stockage avec une atmosphère contrôlée (Controlled Atmosphere Storage, CAS). Les produits frais se conservent plus longtemps sous CAS que sous MAP, car la composition de l'atmosphère sous MAP a tendance à changer avec l'activité respiratoire et l'activité microbologique du fruit (Erkmen, 2012 ; Gorris et Peppelenbos, 1999 ; Oraikul, 2003). Par ailleurs la perméabilité du film d'emballage aux gaz modifie aussi la composition (Sandhya, 2010).

Les trois principaux gaz utilisés sont le CO₂, le N₂ et l'O₂, seuls ou en combinaison (O'Beirne, 2010). D'autres gaz ont eu un succès tels que le CO, SO₂, NO, He, H₂, Ar, etc. Pour ces gaz leurs applications ont été très limitées en raison de la réglementation (danger sur la santé) et des problèmes organoleptiques et techniques qui leurs sont associés (Church, 1994). Le N₂ est un gaz sans aucune activité antimicrobienne mais son principal rôle est de se substituer à l'O₂ dans le MAP. En absence d'O₂, seule les microorganismes anaérobies stricts ou facultatifs peuvent se développer. L'O₂ inhibe la croissance des microorganismes anaérobies stricts, mais favorise la croissance des aérobies. De plus, il est responsable de plusieurs réactions d'altération telles que l'oxydation, l'accélération de la maturation des fruits et légumes (Oraikul, 2003). L'effet antimicrobien des MAP est généralement attribué à l'effet inhibiteur de la croissance des souches aérobies strictes par le CO₂ (Devlieghere *et al.*, 2000 ; Phillips, 1996). Pour ces raisons, la modification de l'atmosphère en MAP implique une réduction de l'O₂ et une augmentation des concentrations de CO₂, pour réduire l'altération, maintenir la qualité et prolonger la durée de conservation des fruits (Beaudry, 1999).

1.5 Conclusions et objectifs

La première partie de la bibliographie a été consacrée à la description biochimique et physico-chimique du fruit dattier à différents stades de maturité, et a permis de situer les différents états de récoltes et de consommation de la variété *Deglet-nour*. En effet, cette partie sert de support pour comprendre la qualité de datte approvisionnée pour nos essais de qualité *premium*. Le marché des dattes *premium* est en croissance et la *Deglet-nour* immature possède des qualités organoleptiques reconnues qui devraient lui permettre d'y entrer. Ce marché est cependant difficile et limité du fait du besoin de conservation au froid : les dattes riches en eau évoluent et se dégradent très vite. Les différents problèmes d'altérations que

subit la datte ont été recensés (microbiologique, brunissement, infestation, dépréciation de la qualité) ; l'altération fongique est majeure. Des solutions technologiques pour la maîtrise du développement fongique ont été illustrées, ainsi que les outils qui peuvent être mis en œuvre pour optimiser les procédés destinés au traitement de ce fruit : 1) Les traitements thermiques peuvent être utilisés pour lutter contre cette microflore fongique d'altération (Barkai-Golan, 2001 ; Vicente *et al.*, 2002). Ce traitement a été efficace également pour lutter contre les insectes et les ravageurs en post-récolte des dattes *Deglet-nour* (Ben-Lalli *et al.*, 2011 ; Hallman, 2000) ; 2) La réfrigération est très efficace pour prolonger la durée de vie des fruits d'une manière générale (Cai *et al.*, 2006 ; Cliffe-Byrnes et O'Beirne, 2005). Ce procédé a montré son efficacité dans la préservation de la qualité des dattes (couleur, de saveur, de texture...) (Yahia et Kader, 2011) ; 3) L'effet inhibiteur de la croissance des moisissures par le CO₂ (Devlieghere *et al.*, 2000 ; Phillips, 1996), donne au conditionnement de type MAP enrichi en CO₂ une grande efficacité pour la réduction de l'altération fongique et la prolongation de la durée de conservation des fruits (Beaudry, 1999). Sachant que la combinaison de ces procédés multiplie leur efficacité, l'utilisation de ces derniers constitue une voie très prometteuse pour préserver la qualité *premium* de la *Deglet-Nour*.

Les objectifs de la thèse se focalisent sur :

1. Isoler et identifier les levures et les moisissures caractéristiques des dattes *Deglet-Nour* responsables de leur altération.
2. Estimer la sensibilité thermique des spores de ces souches cibles.
3. Évaluer l'impact du traitement thermique sur la PPO (enzymes de brunissement des dattes).
4. Modéliser et quantifier l'effet de trois facteurs environnementaux (température, a_w et CO₂) sur la croissance de ces souches cibles.
5. Discuter de la pertinence de construire un procédé séquençant une opération de traitement thermique et d'un conditionnement aux facteurs environnementaux contrôlés.

2 MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1 Matériel végétal

2.1.1 Approvisionnement et échantillonnage

Les dattes de variété *Deglet-nour* utilisées dans ce travail proviennent de trois régions du sud algérien (Biskra, Tolga et Doucen). Elles ont été récoltées et acheminées dans des conteneurs isothermes (4-6°C) vers l'UMR Qualisud (Montpellier, France), avec un délai d'environ 3 jours. Elles sont récoltées à un stade de maturité précoce entre la fin du stade *Khalal* et la fin du stade *Routab*, comme indiqué dans la figure suivante :

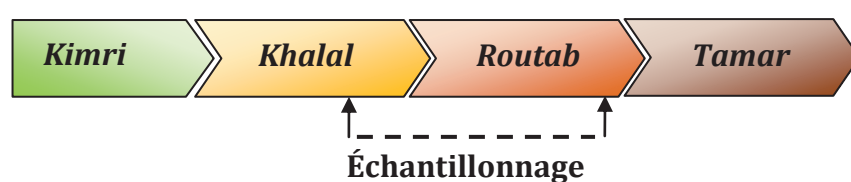


Figure 6. Schéma explicatif de la position d'échantillonnage par rapport aux stades de maturité.

Pour les échantillons destinés à l'analyse microbiologique, les dattes sont prélevées à partir de 5 palmiers choisis au hasard dans chaque région, et à partir de chaque palmier. 5 lots ont été échantillonnés. Les dattes ont été coupées à l'aide de ciseaux désinfectés à l'éthanol, et introduites directement dans des sacs en plastique stériles pour limiter les contaminations.

2.1.2 Préparation de la pâte de datte

Les échantillons de dattes présentent une grande hétérogénéité vis-à-vis de la couleur et de l'activité de l'eau. Afin d'obtenir une matrice de travail homogène et représentative, une pâte homogène a été préparée à partir des dattes *Deglet-Nour* suivant le protocole décrit par Ben-Lalli (2010). Les fruits ont été découpés manuellement en petits morceaux, trempés dans de l'eau déminéralisée (0,6 kg d'eau pour 1 kg de dattes découpées), puis laissés au repos pendant 16 heures à 4°C. Ensuite, le mélange a été tamisé en utilisant des toiles (1-0,25 mm de maille) et une presse hydraulique (SAKAYA modèle A2, Thaïlande). La pâte obtenue est homogène et d'une texture liquide (purée) d' a_w de 0,9 environ. Cette pâte a été immédiatement congelée puis stockée à -20°C. Une lyophilisation a été réalisée par la société Lyofal (Saint-Rémy de Provence, France), et le lyophilisat a été ensuite stocké à -20°C.

2.1.3 Reconstitution de la pâte de dattes

Le lyophilisat est réduit en poudre fine ($a_w = 0,2$ environ) dans un broyeur à couteau R 40B (Robocoupe S.A., Bagnolet, France) avant son utilisation. La reconstitution des pâtes de dattes à des a_w souhaitées a été réalisée par ajout d'une quantité d'eau précise déterminée avec l'isotherme de sorption par Belarbi *et al.* (2000).

2.2 Équipements et protocoles de traitement

2.2.1 Traitement thermique des spores en suspension

Le traitement thermique isotherme des suspensions de spores a été réalisé comme suit (Figure 7) : un flacon en pyrex contenant 99 mL de solution (eau physiologique stérile contenant 9 g/L NaCl et 0,005 % (V/V) Tween 80) a été immergé dans un bain d'eau à température régulée avec une agitation continue (l'agitateur magnétique stérile est introduit dans le flacon en Pyrex). Les températures de la suspension de spores et celles du bain d'eau ont été acquises à l'aide de deux thermocouples (type K, capteur NiCr- Ni, ref. ZA 9020 -FS Thermo E4). Un thermocouple est introduit au centre du flacon et l'autre dans le bain d'eau. Ils sont connectés à une centrale d'acquisition de données (ALMEMO 2890-9 V2.3, Ahlborn, Holzkirchen, Allemagne). Lorsque la solution dans le flacon est stabilisée à la température désirée, 1 mL de la suspension de spores (10^8 spores/mL) est inoculé de telle sorte que le taux de dilution soit de 1:100 pour obtenir une population initiale de 10^6 spores/mL. À des intervalles de temps, 1 mL de suspension de spores est transféré dans des tubes à essai contenant 9 mL de solution saline physiologique stérile, préalablement immergés dans un bain d'eau glacée. Chaque condition de traitement thermique a été répétée trois fois.

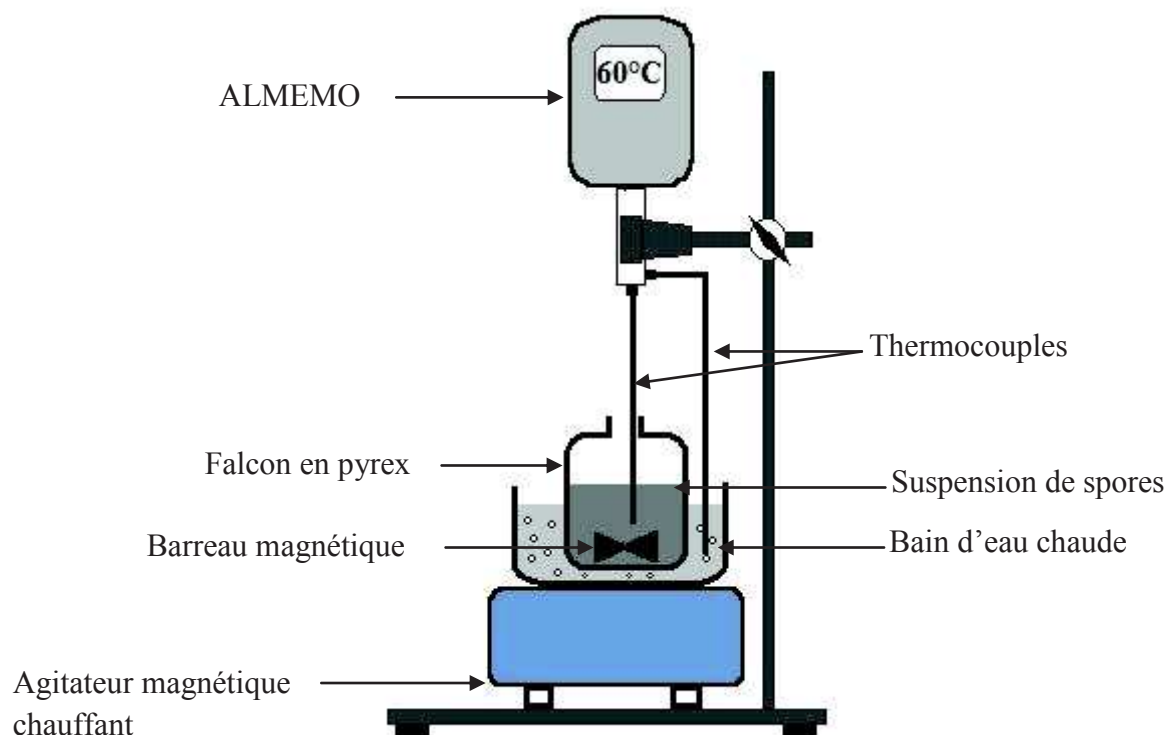


Figure 7. Équipement de traitement thermique en situation isotherme des suspensions de spores.

2.2.2 Traitement thermique des suspensions de spores à la surface des dattes

Des dattes *Deglet-nour* de forme plus au moins régulière ont été triées et sélectionnées. Ces dattes ont été désinfectées avec de l'air chaud humide (80°C/80 % HR) pendant 15 minutes dans une enceinte climatique (BIA, Conflans Sainte Honorine, France), puis refroidies et séchées sous une hotte à flux laminaire pendant une heure. Après désinfection, les dattes ont été contaminées en surface avec 60 μL /datte de la suspension de spores préparée à 10^8 spores/mL (5 μL \times 3 gouttes \times 4 coté/datte). Les gouttes sont étalées avec une pipette Pasteur stérile sur le sens de la longueur de datte. La charge fongique des échantillons contaminés (témoins) a été déterminée. L'équipement utilisé pour le traitement thermique des dattes inoculées est présenté dans la Figure 8. Les dattes inoculées sont enveloppées avec un film en latex stérile (doigtiers médicales aux latex) tendu sur elles et fermé à l'aide d'une pince métallique (Figure 8 a, b, c). Ensuite elles ont été immergées dans un bain d'eau chaude à température contrôlée (Polystat, Fischer Bioblock Scientific, France). La température de la surface a été enregistrée toutes les secondes à l'aide d'un thermocouple (type T, un capteur de Cu-CuNi, ref. ZA 9021-FST Thermo E4) situé entre la surface de la datte et l'enveloppe en latex (Figure 8 d, e), relié à une centrale d'acquisition de données (ALMEMO 2890-9 V2.3,

Ahlborn , Holzkirchen , Allemagne). Les dattes traitées ont été prélevées du bain à des intervalles de temps appropriés. Elles sont ensuite directement plongées dans un bain d'eau glacée avant d'être lavées dans de l'eau physiologique stérile (20 mL). Cette eau de lavage est diluée et ensemencée, puis les spores viables sont dénombrés (Figures 8 f, d, e, g, h).

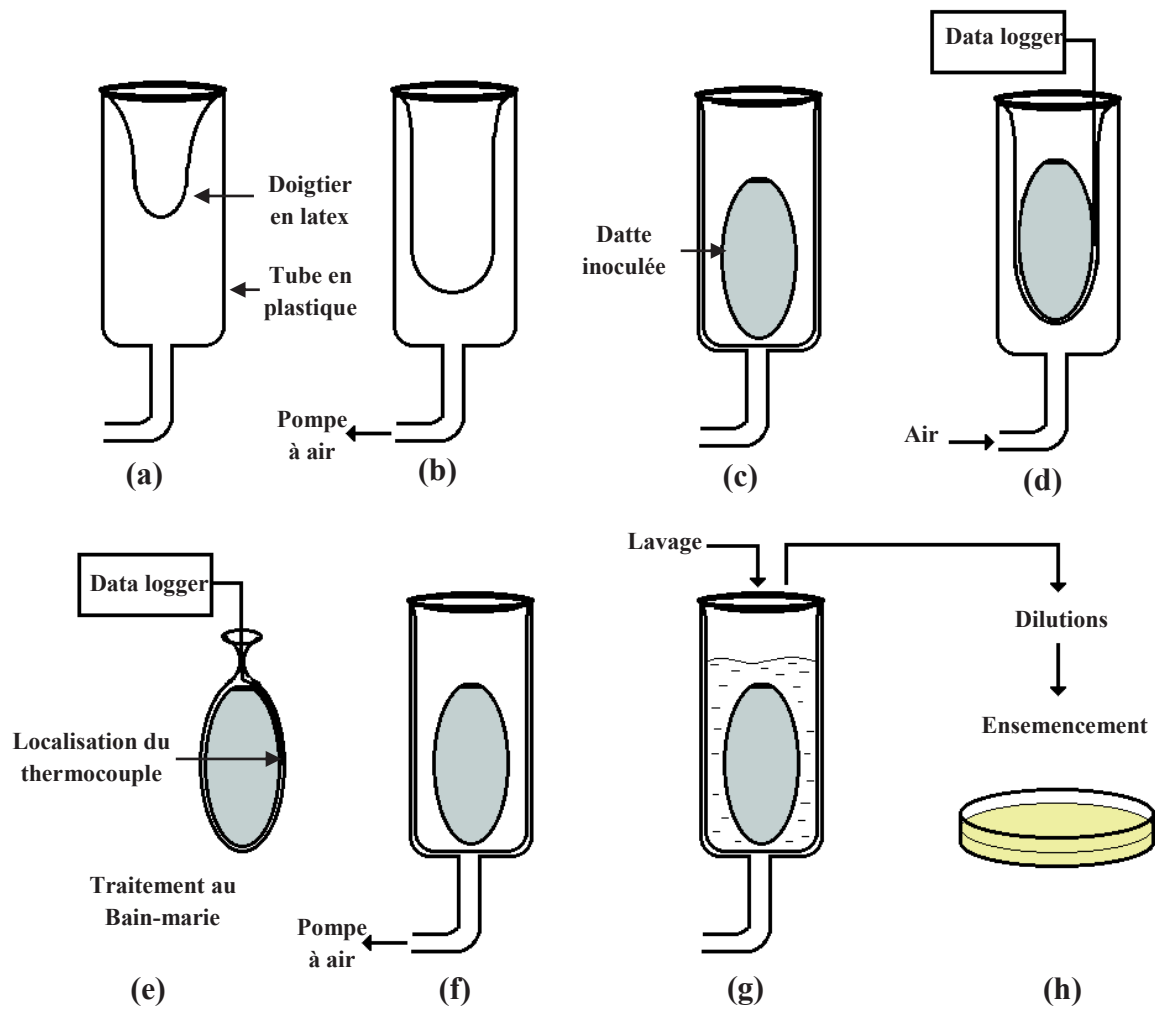


Figure 8. Description schématique du protocole de traitement thermique des spores en surface des dattes (situation non-isotherme). Étapes décrivant l'avant (a, b, c, d) et l'après (f, g, h) traitement thermique (e).

2.2.3 Traitement thermique de la pâte de dattes

En vue d'étudier l'impact du traitement thermique sur l'activité enzymatique de la PPO, des traitements thermiques ont été réalisés sur la pâte de dattes. Les échantillons de pâte de dattes sont disposés en fine couche (<2mm) dans des sachets en aluminium et OPA/COEX/PP (Golio, Italia) thermoscellés sous vide. Ces sachets sont thermorésistants et étanches (imperméables à l'eau, à l'oxygène et à la lumière). Cette configuration permet d'obtenir une durée de montée en température rapide (<2 min) et de considérer la température comme homogène dans tout l'échantillon. Les traitements thermiques ont été réalisés par immersion des sachets dans des bains d'eau thermostatés et agités. Les sachets ont été retirés à des intervalles de temps, et immédiatement refroidis dans un bain d'eau glacée puis placés à -18°C jusqu'à l'analyse.

2.2.4 Croissance sous atmosphère modifiée et à température et a_w contrôlées

2.2.4.1 Maîtrise de la concentration de CO_2 , de la température et de l' a_w

L' a_w du milieu de culture PDA de base a été modifiée par l'addition de quantités connues de glycérol (en remplaçant une partie de l'eau par le glycérol) pour atteindre des réductions d' a_w entre 0,99 et 0,81. Les températures ont été modifiées et contrôlées à l'aide d'une étuve thermostatée (Firlabo, Modèle FI57U, Lyon, France) ou d'une enceinte climatique (BIA, Conflans Sainte Honorine, France). Pour étudier l'effet du dioxyde de carbone (CO_2), la concentration d' O_2 a été fixée à 20% (V/V), et les différents niveaux de concentration de CO_2 dans le mélange gazeux ont été obtenus en réduisant la concentration de N_2 . Les mélanges gazeux ont été préparés à partir de gaz purs (O_2 , CO_2 et N_2) à l'aide d'un débitmètre à flotteur (modèle G, Aalborg Instruments, Orangeburg, NY, USA). Le mélange a été humidifié à l' a_w souhaitée, par barbotage dans l'une des deux solutions salines saturées : K_2SO_4 ($a_w = 0,967$ à 35°C) et $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ($a_w = 0,980$ à 25°C) pour *Asp. niger* et *Alt. alternata* respectivement. Les mélanges gazeux humidifiés ont été introduits dans un bocal équipé d'un ventilateur, pour brasser le mélange avant son utilisation.

2.2.4.2 Deux dispositifs pour l'étude

Pour étudier l'effet des trois facteurs environnementaux (concentration de CO_2 dans l'atmosphère, la température et l' a_w) sur la croissance des souches isolées, deux dispositifs ont été utilisés : l'un dit système fermé et l'autre dit système contrôlé.

Système fermé

Les boîtes de Petriensemencées de spores d'*Asp. niger* et *Alt. alternata* ont été enfermées dans des sacs en polyéthylène d'une capacité de 5 L. Ces sacs sont composés de film duplex OPP à la colle, enduit de PVDC/PE (Cellpack Packaging SCF, Illfurth, France); les caractéristiques sont résumées dans le tableau 1. Ils sont scellés sous vide (une boîte par sac) à l'aide d'une thermoscelleuse (Multivac C200, Sepp Haggemuller KG, Wolfertschewenden, Allemagne). Ensuite 3 litres du mélange gazeux préparés préalablement sont injectés dans chaque sac scellé sous vide. Pour éviter la dessiccation et toute variation significative de l' a_w des milieux, les sacs sont restés scellés pendant toute la durée de croissance des mycéliums des souches. Pour chaque condition d'incubation, 3 à 5 boîtes ont été utilisées par traitement.

Tableau 1. Caractéristiques du film plastique utilisé pour le conditionnement des boîtes de Pétriensemencées.

Caractéristiques	Unité	Valeurs
Épaisseur PP	μ	32 ± 3
Épaisseur PE	μ	30 ± 3
Épaisseur totale	μ	62 ± 6
Perméabilité O ₂ (23°C et 75% HR)	$\text{cm}^3 \text{m}^{-2} \text{jour}^{-1}$	20
Perméabilité CO ₂ (23°C et 75% HR)	$\text{cm}^3 \text{m}^{-2} \text{jour}^{-1}$	80
Perméabilité à la vapeur (38°C et 90% HR)	$\text{g m}^{-2} \text{jour}^{-1}$	3,8

Système contrôlé

Un dispositif a été développé pour garantir une composition en gaz constante. Il sera nommé "système contrôlé". Ce système sert à maintenir les boîtes inoculées dans des conditions constantes d'atmosphère modifiée pendant toute la période d'incubation. Il s'agit de la température et de l'humidité relative (HR). Ce dispositif est constitué d'une jarre de type Genbox 7,0-litre (BioMérieux, Marcy l'Etoile, France) équipée d'une entrée et d'une sortie pour permettre la circulation du mélange gazeux (Figure 9 d), d'un ventilateur pour assurer un bon brassage et la circulation de l'air (Figure 9 f, n). Le mélange de gaz a été préparé préalablement (Figure 9 a, b) et conditionné en HR par un barbotage à travers deux solutions salines saturées (Figure 9 c). La jarre a été placée dans une grande étuve à température contrôlée (Figure 9 e). Les deux facteurs HR et la température ont été enregistrés (une mesure toutes les cinq minutes) en utilisant un capteur d'humidité et de température (Sensirion

SHT75, Suisse) placé à l'intérieur de la jarre (Figure 9 g, m). La composition du gaz dans l'espace de tête de la jarre a été vérifiée périodiquement (Figure 9 l, h) à l'aide d'un analyseur de gaz (PBI Dansensor, modèle checkmate 9900, Ringsted, Denmark). Le diamètre des colonies a été mesuré en prenant des images avec un appareil photo numérique (Nikon Coolpix L320, Nikon, France) placé sous la boîte (Figure 9 k). Les images ont été analysées par la suite à l'aide du logiciel ImageJ, et les diamètres ont été calculés par référence au diamètre de la boîte de Pétri ($d = 85$ mm).

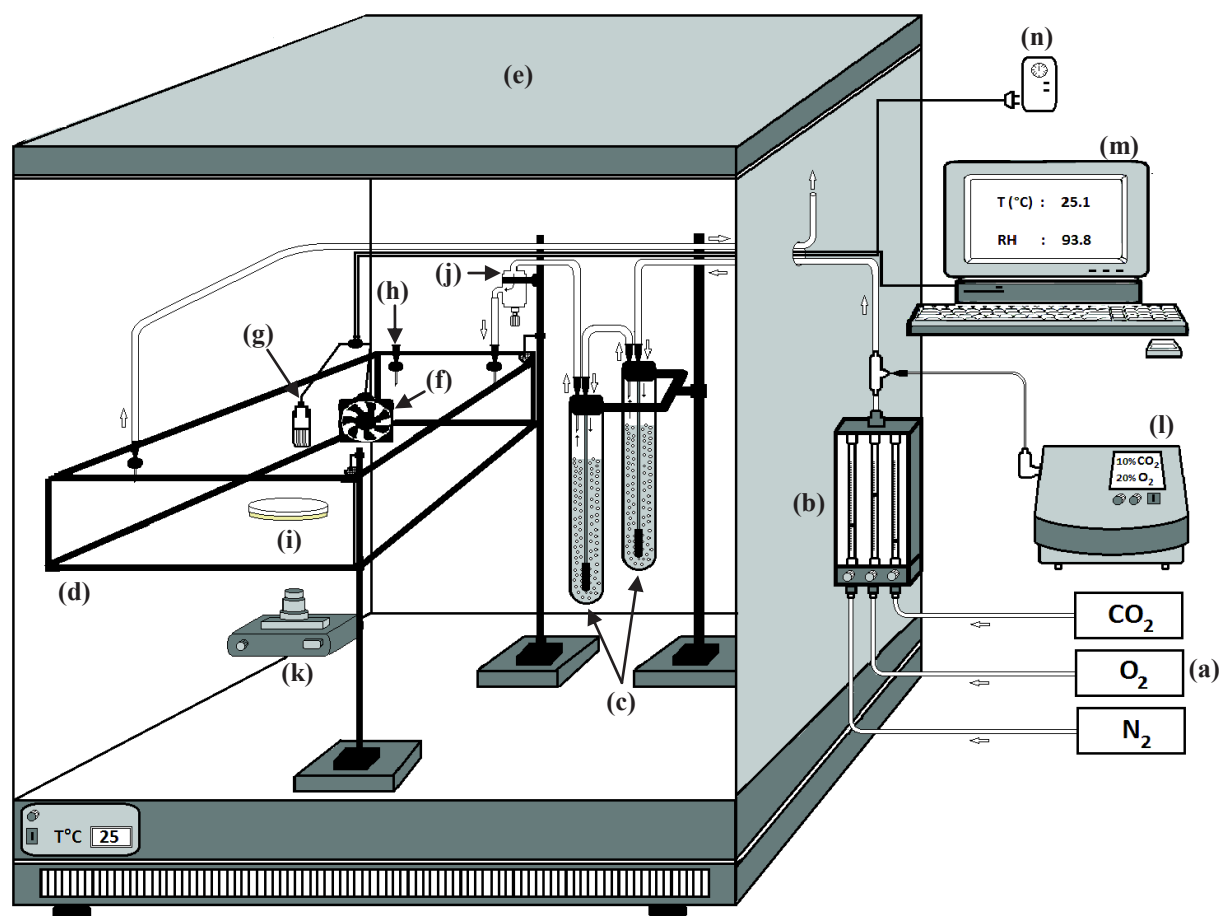


Figure 9. Dispositif expérimental du système contrôlé : (a) gaz purs (l'oxygène O_2 , le dioxyde de carbone CO_2 et l'azote N_2) ; (b) débitmètre à flotteur multi-gaz ; (c) solutions saturées de sel (K_2SO_4 ou $K_2Cr_2O_7$) et des diffuseurs immergés pour générer de fines bulles ; (d) Genbox-jar 7,0 litres ; (e) étuve thermostatée ; (f) ventilateur 12V ; (g) capteur d'humidité et de température ; (h) septum en silicone et une aiguille de seringue pour vérifier la composition de l'atmosphère dans l'espace de tête ; (i) boîte de Pétri inoculée ; (j) régulateur de débit ; (k) appareil photo numérique ; (l) analyseur de gaz ; (m) ordinateur connecté au capteur pour convertir le signal du capteur en humidité relative et en température ; (n) minuterie électrique commandant le fonctionnement du ventilateur.

2.2.4.3 Croissance sur de la pâte de datte

La pâte de dattes reconstituée a été pasteurisée dans des sacs thermorésistants en aluminium et OPA/COEX/PP (Golio, Italia). Ces sacs préalablement remplis de pâte de dattes (formant une couche très fine <2 mm d'épaisseur) ont été scellés sous vide assurant l'étanchéité à l'eau. La pâte pasteurisée a été étalée dans de petites boîtes de Petri (54 mm de diamètre), puis inoculée au centre avec 5 μ L de suspension de spores à 10^6 spores/mL. Les boîtes sont ensuite placées dans des jarres étanches de type Anaerobic-jar (Merck, Darmstadt, Germany) contenant un récipient avec une solution de glycérol-eau ajustée à l' a_w de la pâte de dattes, afin d'éviter des changements significatifs de l' a_w . Trois à cinq boîtes ont été utilisées par traitement.

2.2.4.4 Planification expérimentale

Trois facteurs environnementaux ont été étudiés : la température, l' a_w et la concentration en CO_2 de l'atmosphère. Une planification expérimentale de type monofactorielle (Baril *et al.*, 2012) a été suivie. Il s'agit de modifier un seul facteur environnemental tout en fixant les autres facteurs à des valeurs correspondant à des conditions de croissance optimale des souches. Neuf niveaux d' a_w des milieux de croissance allant de 0,993 à 0,818 ont été étudiés à des températures d'incubation de 25 et 35°C pour *Asp. niger* et *Alt. alternata* respectivement. Ceci a été réalisé dans des conditions de composition en atmosphère de l'air (78,1 % N_2 , 20,9 % O_2 , 0,04 % CO_2 , V/V). L'effet de la température sur les taux de croissance a été étudié à 8 niveaux de température allant de 10°C à 40°C avec des a_w de 0,970 et 0,986 pour *Asp. niger* et *Alt. Alternata* respectivement, et dans de l'air naturel pour l'atmosphère. Six niveaux de concentrations de CO_2 allant de 9,4 % (V/V) à 55,1 % (V/V) ont été étudiés en système fermé et de 9,5 % à 27,3 % en système contrôlé. Les a_w des milieux et les températures de croissance ont été fixés à 0,970 $a_w/35^\circ C$ et 0,986 $a_w/25^\circ C$ pour *A. niger* et *Alt. alternata*. Pour évaluer la performance de prédiction des modèles utilisés sur pâte de dattes, six conditions d'incubation ont été testées ($T/a_w/CO_2$ (% , V/V)): (25/0,86/10) ; (25/0,86/0) ; (15/0,92/10) ; (15/0,92/0) ; (25/0,90/20) ; (25/0,90/30). Les conditions d'incubation ont été réalisées pour une durée maximale de 6 semaines avec 3 répétitions.

2.3 Méthodes analytiques

2.3.1 Analyses physicochimiques

2.3.1.1 Mesure de la teneur en eau

La mesure de la teneur en eau a été déterminée selon la méthode AOAC (1990), en utilisant une méthode par dessiccation sous pression réduite (30 kPa environ) dans une étuve

(Bioblock Scientifique) à 70°C. Environ exactement 3 g d'échantillon sont pesés dans des coupelles en aluminium préalablement séchées. Les échantillons sont déshydratés dans l'étuve jusqu'à poids constant, soit environ 48h. Les coupelles sont pesées après avoir été refroidies dans un dessiccateur sous pression réduite à température ambiante. La mesure a été répétée trois fois pour chaque échantillon. La répétabilité de la mesure est estimée à $\pm 1 \times 10^{-4}$ kg d'eau par kg^{-1} de produit.

2.3.1.2 Mesure de l'activité de l'eau

L'activité de l'eau est mesurée à 25°C à l'aide d'un a_w -mètre AquaLab CX-2 (Decagon Devices, Pullman, WA, USA). L'appareil est contrôlé préalablement avec une solution aqueuse de NaCl saturée ($0,747 \pm 0,003$ d' a_w). Pour chaque échantillon trois mesures d' a_w sont effectuées. La répétabilité de la mesure a été estimée à $\pm 0,01$.

2.3.1.3 Mesure du pH

La mesure du pH a été réalisée avec un pH-mètre (SCHOTT, modèle TitroLine, France) préalablement étalonné. La mesure du pH a été réalisée trois fois pour chaque échantillon. La répétabilité de mesure a été estimée à $\pm 0,05$ unité de pH.

2.3.2 Analyses microbiologiques

2.3.2.1 Dénombrement et isolement

Pour avoir une charge représentative de microorganismes dans les échantillons de dattes récoltées, la méthode décrite dans le schéma ci-dessous (Figure 10) a été suivie. La microflore fongique est dénombrée sur milieu PDA (Potato Dextrose Agar) avec 0,01 % de chloramphénicol, et les levures osmophiles sur OGYA (Oxytetracycline Glucose Yeast Agar) supplémenté de 20 % bs de saccharose. Des dilutions décimales sont réalisées en vue des dénombrements. L'eau physiologique de dilution contient 9 g/L NaCl et 0,005% (V/V) Tween 80. L'ensemencement est effectué en surface avec 200 μL de suspension. L'incubation est effectuée à 25°C pendant 5 jours. Trois boîtes ont étéensemencées pour chaque dilution. Une fois les colonies dénombrées, les souches dominantes ont été sélectionnées visuellement avec une différenciation morphologique des colonies.

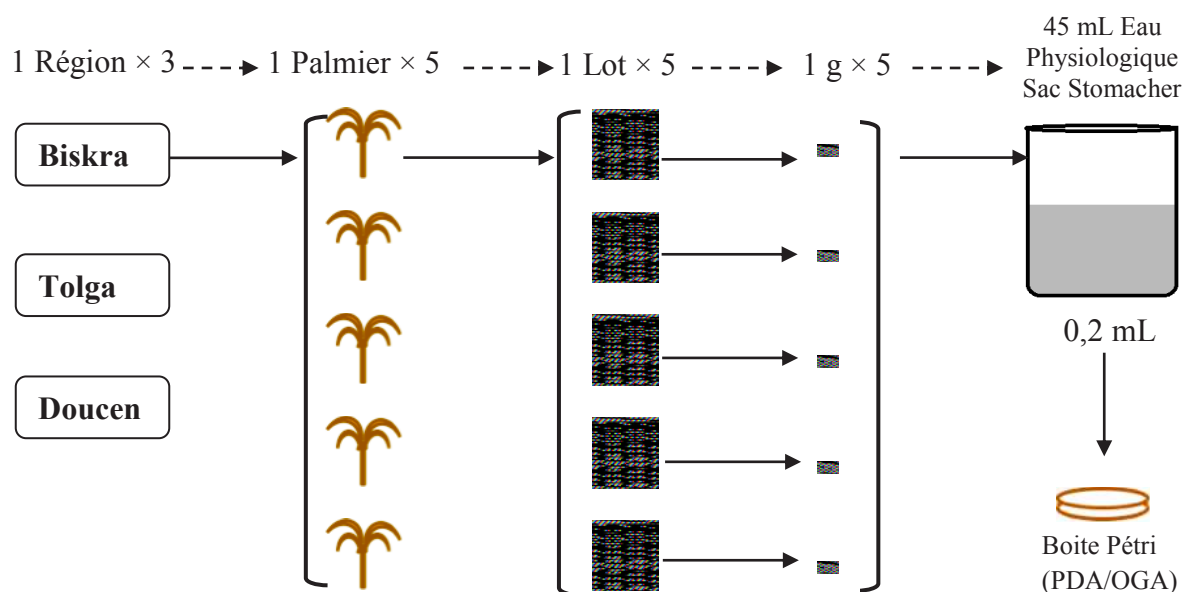


Figure 10. Schéma décrivant la méthode du prélèvement sur les échantillons de dattes utilisées pour l'analyse microbiologique.

2.3.2.2 Préparation des suspensions de spores.

Les suspensions de spores utilisées pour les traitements thermiques ou pour étudier les cinétiques de croissance ont été préparées comme suit : les souches sont cultivées sur PDA avec 0,01 % de chloramphénicol, à 25°C pendant 10 jours pour obtenir une sporulation forte des colonies. Les spores sont libérées et recueillies après un lavage des colonies avec de l'eau physiologique stérile (9 g/L NaCl et 0,005 % (V/V) Tween 80) et un raclage doux de la surface des colonies à l'aide d'une pipette Pasteur. Pour retirer les fragments des mycéliums, la suspension a été filtrée à travers un papier-filtre. Après l'estimation de la concentration des spores à l'aide d'une cellule de Malassez, la suspension a été ajustée avec une solution physiologique saline stérile pour obtenir la concentration souhaitée de spores exprimée en nombre de spores par mL.

2.3.2.3 Identification des souches isolées

Observation microscopique et morphologie des colonies. La morphologie des colonies de moisissures a été observée en recto et verso à l'œil nu, pour décrire l'aspect de la culture (plate, surélevée, floconneuse...), la couleur des colonies et l'effet de la croissance des mycéliums sur la gélose. Ensuite une observation au microscope optique a été effectuée pour décrire l'appareil végétatif (thalle filamenteux) ainsi que l'appareil reproducteur asexué (observation des spores asexuées).

Extraction des ADN

L'extraction ADN des souches fongiques isolées (souches pures) a été effectuée sur leurs spores. Les spores ont été récupérées selon le protocole décrit précédemment. La suspension de spores récupérées a été répartie dans des tubes Eppendorf de 2 mL en duplicata. L'extraction d'ADN a été réalisée selon le protocole décrit par Karakousis *et al.* (2006) avec les modifications proposées par El Sheikha et Montet (2011). Avant d'amplifier les séquences cibles de l'extrait d'ADN, une vérification de sa présence et de sa pureté est analysée par électrophorèse sur gel d'agarose (Promega, France) à 0,8 % (p/v) dans un tampon TAE 1X (Eppendorf, Allemagne). 8 µL de la solution d'ADN extrait avec 2 µL de la solution du colorant bleu/orange (Promega, France) sont déposés dans chaque puits du gel. Le marqueur de taille moléculaire est un marqueur de 16,21 kb (Invitrogen, USA). La migration dure de 45 min à 1 h sous une tension de 100 V. À la fin de la migration, le gel d'agarose est immergé dans une solution de bromure d'éthidium (Promega, France) à 25 µg/mL pendant 15 min, puis rincé durant 10 min à l'eau avant d'être observé sur un trans-illuminateur UV à 318 nm. Le gel est photographié par une caméra digitale et la photo est traitée grâce au système Gel Smart 7,3 (Clara Vision, Les Ulis, France).

Amplification des ADN par PCR

La région D1/D2 de l'ADNr 26/28S est amplifiée en utilisant deux couples d'amorces, un couple pour les levures GC-NL1f et LS2r (Tableau 2). Ce couple d'amorces couvre la région polymorphe D1/D2 allant des positions 27 à 50 pour NL1f et 266 à 285 pour LS2 du gène de l'ARN 26S du ribosome de *Saccharomyces cerevisiae*. Ils donnent un amplicon de 258 pb. Pour les moisissures, le couple d'amorces utilisé est GC-U1f et U2r (Tableau 2). Le Primer U1 correspond aux coordonnées de 403 à 422, et l'amorce U2 correspond aux coordonnées de 645 à 662 d'un ADNr de référence du gène de l'ARN 28S de *S. cerevisiae*. Ils donnent un amplicon de 260 pb. Un GC-clamp de 30 nucléotides est ajouté aux deux amorces NL1f et U1f l'extrémité 5' afin de s'assurer que le fragment d'ADN demeurera partiellement bicaténaire pour la méthode DGGE (Sheffield *et al.*, 1989). Les réactions de PCR sont effectuées dans un Thermo cycler (PTC-100 Peltier Thermal Cycler, MJ Research Inc., USA). Les amplicons obtenus sont ensuite vérifiés par électrophorèse sur gel d'agarose (Promega, France) à 2% (p/v) dans un tampon TAE 1X (Eppendorf, Allemagne).

Tableau 2. Séquence des amorces universelles utilisées pour les levures et les moisissures.

Amorces (Sigma, France)	Position	Séquences
Levures		
GCNL1f	27 – 50	5' - <u>CGC CCG CCG CGC GCG GCG GGC</u> <u>GGG GCG GGG</u> GCC ATA TCA ATA AGC GGA GGA AAA G – 3'
LS2r	266 – 285	5' - ATT CCC AAA CAA CTC GAC TC – 3'
Moisissures		
GCU1f	403 – 422	5' - <u>CGC CCG CCG CGC GCG GCG GGC</u> <u>GGG GCG GGG</u> GTG AAA TTG TTG AAA GGG AA – 3'
U2r	645 – 662	5' - GAC TCC TTG GTC CGT GTT – 3'

*Numérotation établie pour *S. cerevisiae*.

Électrophorèse en gel d'acrylamide avec gradient dénaturant (DGGE)

Les fragments d'ADNr amplifiés par PCR sont analysés par DGGE dans un gel à 8% d'acrylamide/bisacrylamide (37,5/1, V/V, Promega, France) contenant un gradient d'agents dénaturants qui s'étend de 30% à 60% pour les ADN levuriens (El Sheikha, 2010) et de 40% à 70% pour les ADN de moisissures (El Sheikha et Montet, 2011). Ce gradient est constitué d'urée (Promega, France) et de formamide (Promega, France) (Tableau 3) sachant que 100% correspond à 7M d'urée et 40% (V/V) de Formamide. L'appareillage DGGE utilisé est le modèle Biorad Dcode (Biorad, USA). De l'ADNr provenant de souches pures levures (*Candida apicola*, *Pichia kudriavzevii* et *Pichia sorbitophila*) et de moisissures (*Aspergillus niger*) a été utilisé comme référence pour étalonner les gels. Ces ADN témoins permettent de vérifier le bon déroulement de la migration DGGE. La position des bandes d'ADN de nos souches pures a été comparée à celle des témoins.

Tableau 3. Composition des solutions de préparation des gels de DGGE ayant un gradient de dénaturant de 30 à 60% (ADN levuriens) et de 40 à 70% (ADN de moisissures).

Constituants	Gradient dénaturant			
	30%	40%	60%	70%
40% Acrylamide/bisacrylamide	20 mL	20 g	20 mL	20 g
Formamide	12 mL	16 mL	24 mL	28 mL
Urée	12,6 g	16,8 mL	25,2 g	29,4 mL
TAE 50X	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL
Eau qsp	100 mL	100 mL	100 mL	100 mL

Séquençage des fragments d'ADN

Les bandes sont découpées sur le gel DGGE avec un scalpel stérile. L'ADN de chaque bande est ensuite élué dans 100 μ L du tampon TE à 4°C pendant 12h. Un échantillon de 100 μ L de l'ADN élué à partir de chaque bande est purifié avec un kit Wizard PCR Preps DNA Purification system (Promega, France) puis ré-amplifié par PCR GC-clamp. Les amplicons sont ensuite envoyés pour un séquençage chez GATC Biotech (Allemagne). Les séquences des ADN_r 26S et 28S obtenues sont comparées à celles de la banque de données disponibles sur le site de GenBank de NCBI (National Center for Biotechnology Information databases) grâce au programme BLAST afin de déterminer les séquences connues les plus proches.

2.3.3 Mesure de l'activité PPO

La détermination de l'activité PPO après traitement thermique de la pâte de dattes a été réalisée sur l'extrait enzymatique. Celui-ci a été préparé comme suit : 2g de pâte de dattes traitée thermiquement ($a_w = 0,77$) sont homogénéisés dans un bain d'eau glacée (4-5°C) par broyage-homogénéisation avec un UltraTurrax T 10 B (IKA, Germany) en présence de 10 ml de tampon citrate-phosphate pH 5,5 à 0,2 M et de 0,1 g/g de polyvinylepyrrolidone. Après filtration à travers un papier filtre dans une enceinte à 5°C, l'extrait est centrifugé (10 000 g) pendant 30 min à 4°C. L'activité enzymatique de la PPO du surnageant a été immédiatement mesurée. La densité optique est mesurée à 420 nm toutes les 10 s pendant 10 min à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible (Shimadzu, Model UV-2450, Japan) équipé d'un thermostat. Le milieu réactionnel contient 1,4 mL de tampon citrate -phosphate pH 6,8 à 0,4 M, 0,1 mL

d'extrait enzymatique et 0,5 mL de catéchol 0,1 M, le substrat de la réaction est ajouté manuellement.

2.4 Expression et analyse des résultats

2.4.1 Modélisation des cinétiques d'inactivation thermique

La diminution de la population de spores survivantes $N^{(t)}$ en situation isotherme (traitement en suspension) a été décrite par un modèle de premier ordre (Équation 2). Le modèle de Bigelow (Équation 7) a été utilisé comme modèle secondaire pour décrire l'effet de la température sur le paramètre D_T (temps de réduction décimale à température de traitement T). Les deux équations sont détaillées en bibliographie (section 1.3.1.3). La médiane de la gamme de température de traitement (52,5°C et 46°C pour *A niger* et *C. apicola*, respectivement) a été utilisée comme température de référence T_{ref} pour identifier les paramètres z et D_{ref} . Pour prédire les taux d'inactivation en situation réelle (surface de la datte) en utilisant l'histoire thermique (non-isotherme), les populations de spores au temps t noté $N^{(t)}$ ont été calculées par intégration sur le temps du traitement :

$$N^{(t)} = N^{(0)} 10^{\left(-\frac{VP}{D_{ref}}\right)} \quad (27)$$

VP est la valeur pasteurisatrice, qui correspond à l'équivalent de temps de traitement isotherme à la température de référence.

$$VP = \int_0^t 10^{\left(\frac{T^{(t)} - T_{ref}}{z}\right)} dt \quad (28)$$

Une température de référence de 70°C a été utilisée pour calculer les VP . Cette température est la température de référence classique utilisée en pasteurisation des matrices alimentaires.

2.4.2 Modélisation de la croissance

Le modèle linéaire à deux phases a été utilisé pour décrire l'évolution du diamètre des colonies $d^{(t)}$ en fonction du temps (Gougouli et Koutsoumanis, 2010) :

$$d^{(t)} = \begin{cases} d^{(0)} & , \quad t \leq \lambda \\ d^{(0)} + \mu(t-\lambda) & , \quad t > \lambda \end{cases} \quad (29)$$

$d^{(0)}$ (mm) est le diamètre de la goutte de suspension déposée sur le support de croissance ($d^{(0)} = 4 - 5$ mm), représentant le diamètre initial de la colonie. μ et λ sont la vitesse de croissance (mm jour⁻¹) et le temps de latence (jours) respectivement.

Le γ -concept a été utilisé pour décrire l'effet combiné des facteurs environnementaux (température, a_w et CO₂) sur μ_{\max} (section 4.2.4.1.2).

$$\mu = \mu_{\text{opt}} \gamma(T) \gamma(a_w) \gamma(\text{CO}_2) \quad (30)$$

Le modèle cardinal avec inflexion (Équation 26) a été utilisé comme modèle secondaire pour décrire l'effet de la température $\gamma(T)$ et de l' $a_w \gamma(a_w)$, tandis que le modèle cardinal simple (Équation 25) a été utilisé pour décrire l'effet du dioxyde de carbone $\gamma(\text{CO}_2)$. Dans notre étude $a_{w \max}$ est fixée à 1 et $\text{CO}_{2 \text{opt}}$ à 0. Afin de prendre en compte les interactions entre les facteurs environnementaux, un terme $\xi(T, a_w, \text{CO}_2)$ décrivant les effets quantitatifs des interactions sur μ a été introduit (Le Marc *et al.*, 2002) :

$$\mu = \mu_{\text{opt}} \gamma(T) \gamma(a_w) \gamma(\text{CO}_2) \xi(T, a_w, \text{CO}_2) \quad (31)$$

L'effet relatif quantitatif des interactions sur μ_{\max} s'écrit :

$$\xi(a_w, \text{CO}_2) = \begin{cases} 1 & , \quad \psi \leq 0,5 \\ 2(1-\psi) & , \quad 0,5 < \psi \leq 1 \\ 0 & , \quad \psi > 1 \end{cases} \quad (32)$$

ψ est défini comme suit :

$$\psi = \sum_i \frac{\varphi_i}{2 \prod_{j \neq i} (1 - \varphi_j)} \quad (33)$$

φ_i sont les contributions des facteurs environnementaux i aux interactions. Les contributions de l' a_w et du CO_2 peuvent être écrites comme suit :

$$\varphi_T = (1 - \gamma(T))^3 \quad (34)$$

$$\varphi_{a_w} = (1 - \gamma(a_w))^3 \quad (35)$$

$$\varphi_{\text{CO}_2} = (1 - \gamma(\text{CO}_2))^2 \quad (36)$$

Le Marc (2001) a démontré que :

- Si ψ est inférieur à 0,5, les effets des interactions sont bien décrits par l'approche du modèle modulaire classique (Équation 30), dans ce cas $\zeta = 1$.
- Si ψ est supérieur à 1, aucune croissance ne se produit du fait des interactions, dans ce cas $\zeta = 0$.
- Si ψ est entre 0,5 et 1, ζ décroît linéairement en fonction de ψ .

2.4.3 Calcul des limites de croissances/non-croissance

Les limites de croissances/non-croissances des deux souches *Asp. Niger* et *Alt. alternata* ont été déterminées par une approche déterministe telle que décrite par Le Marc (2001). L'équation (31) est utilisée pour calculer les différents couples a_w/CO_2 définissant les limites de croissance/non-croissance (avec $T = T_{\text{opt}}$). Ces limites ont été définies comme la transition d'un domaine de croissance ($\mu > 0,001 \text{ mm jour}^{-1}$) à un domaine de non-croissance de ces deux souches fongiques ($\mu < 0,001 \text{ mm jour}^{-1}$). Ce critère de $0,001 \text{ mm jour}^{-1}$ a été choisi par le fait que le modèle d'interaction (Équation 31) ne converge pas à $\mu = 0,001 \text{ mm jour}^{-1}$. De plus, il n'existe pas de différence significative entre les limites définies par des $\mu > 0,001 \text{ mm jour}^{-1}$ (courbes superposées), et le contraire est vrai pour des $\mu < 0,001 \text{ mm jour}^{-1}$ (courbes clairement séparées).

Pour valider les limites de croissances/non-croissance simulées, 25 combinaisons d' a_w allant de 0,80 à 0,88 et de concentrations en CO_2 allant de 45 à 65 % (V/V) ont été incubées à 35°C pour *Asp. niger*. Pour *Alt. alternata*, 36 combinaisons d' a_w allant de 0,82 à 0,92 et de concentrations en CO_2 allant de 30 à 55 % (V/V) ont été incubées à 25°C.

2.4.4 Évaluation de la performance des modèles

Pour prendre en considération l'effet de la matrice, la vitesse de croissance sur pâte de dattes $\mu_{opt\ matrice}$ en condition optimales est calculée à partir de μ déterminée sur pâte de dattes $\mu_{matrice}$:

$$\mu_{opt\ matrice} = \frac{\mu_{matrice}}{\gamma(T) \gamma(a_w) \gamma(CO_2)} \quad (37)$$

Un facteur d'exactitude A_f (accuracy factors) et un facteur de bias B_f (bias factors) ont été calculés afin d'évaluer la performance des modèle de croissances (Ross, 1996).

$$A_f = 10^{(\sum |\log(\mu_{prédit} / \mu_{observé})| / n)} \quad (38)$$

$$B_f = 10^{(\sum \log(\mu_{prédit} / \mu_{observé}) / n)} \quad (39)$$

2.4.5 Évaluation de l'inactivation thermique de la PPO

La diminution de l'activité enzymatique de la PPO après un traitement thermique est exprimée ici par la diminution de l'activité résiduelle relative (ARR). Elle se définit comme le rapport de l'activité de cette enzyme $A^{(t)}$ après un traitement thermique d'une durée t , sur son activité initiale (traitement thermique à $t = 0$) considérée aussi comme une activité témoin $A^{(0)}$:

$$ARR = \frac{A^{(t)}}{A^{(0)}} \quad (40)$$

L'activité enzymatique $A^{(t)}$ est définie comme la vitesse initiale de la réaction de la PPO. Cette vitesse initiale est estimée à partir de la dérivation analytique d'un polynôme de second degré ajusté sur les données de concentrations résiduelles du substrat en fonction du temps (courbes de cinétique de consommation de substrat en fonction du temps). Cette vitesse est exprimée en $\mu \text{ mol min}^{-1} \text{ L}^{-1}$, en utilisant un coefficient d'extinction molaire de $1417 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ proposé dans la littérature pour les premiers dérivés d'oxydation du catéchol (Waite (1976) cité par Belarbi *et al.* (2003)). La cinétique de diminution de l'activité résiduelle ARR de la PPO peut être décrite avec une équation bi-exponentielle décroissante à trois paramètres (Aymard et Belarbi, 2000 ; Weemaes *et al.*, 1998) :

$$ARR = a \exp(-k_1 t) + (a-1) \exp(-k_2 t) \quad (41)$$

Avec a un paramètre qui avec $(1-a)$ représente les proportions relatives aux formes de l'enzyme (isoenzymes ou isoformes). k_1 et k_2 sont les constantes de vitesse de l'inactivation.

2.4.6 Estimation des paramètres

Les paramètres des modèles non linéaires ont été ajustés d'une manière itérative en minimisant la somme carrée des écarts (MSE, Mean Square Error) entre des valeurs mesurées (y) et prédites (\hat{y}) grâce à la méthode du simplex de Nelder-Mead (Lagarias *et al.*, 1998) à l'aide de la fonction « fminsearch » du logiciel Matlab (version 7, The MathWorks Inc, Natick, MA, EtatsUnis). MSE est appelée fonction objective :

$$MSE = \frac{1}{(n-p)} \sum_{i=1}^n (\hat{y}^{(t_i)} - y^{(t_i)})^2 \quad (42)$$

Avec n le nombre de données expérimentales, et p le nombre de paramètres du modèle. L'intervalle de confiance pour chaque paramètre a été déterminé par la méthode de Monte-Carlo (Hessler, 1997) avec 2000 à 5 000 simulations. La racine carrée de la somme des écarts (RMSE, Root Mean Square Error) entre les données expérimentales et les données prédites a été utilisée comme indicateur de la qualité d'ajustement du modèle. La corrélation entre les paramètres de chaque modèle a été évaluée en utilisant la fonction « corrcoef » de Matlab (version 7, The MathWorks Inc, Natick, MA, ÉtatsUnis).

Chaque cinétique thermique $T^{(t)}$ (Équation 28) a été ajustée à l'aide d'une fonction de lissage spline « *csaps* » de Matlab. Deux paramètres cinétiques D_{ref} et z ont été estimés pour ce modèle ($p=2$). Pour le modèle γ -concept (Équation 30) $p=7$, les paramètres estimés sont : $a_{w \text{ min}}$, $a_{w \text{ opt}}$, T_{min} , T_{opt} , T_{max} , $\text{CO}_2 \text{ max}$ et μ_{opt} . Pour le modèle primaire logistique avec délai et rupture (Équation 29), les paramètres $d^{(0)}$, μ_{max} et λ ont été estimés ($p=3$).

En ce qui concerne les modèles primaires de premier ordre qui décrivent les cinétiques d'inactivation thermique des spores (Équation 2) ou bien le modèle bi-exponentielle (Équation 41) qui décrit la cinétique de diminution de l'ARR de la PPO, les paramètres ont été ajustés en utilisant le Toolbox « *cftool* » de Matlab (version 7, The MathWorks Inc, Natick, MA, États-Unis).

2.5 Modélisation du couplage transfert thermique et inactivation

Un modèle combinant transfert de chaleur, cinétique de survie des levures et moisissures et impact sur la qualité des dattes a été développé. Ce modèle reprend en partie celui développé par Ben-lalli *et al.* (2013) pour la modélisation de la désinfestation de datte par un traitement thermique. Le transfert de chaleur est supposé conductif au sein de la datte, avec une condition aux limites de nature convective entre la surface de la datte et le media chaud. Cette condition aux limites est supposée uniforme sur toute la surface de la datte. La datte est supposée être composée de trois compartiments : la pulpe riche en sucres réducteurs (fructose et glucose) et en saccharose, une lame d'air mince et statique qui sépare la pulpe du noyau, et le noyau. En 2D axi-symétrie, le domaine numérique est divisé en 3 compartiments : la pulpe (péricarpe, mésocarpe et endocarpe), noté Ω_1 , la lame d'air (Ω_2) et le noyau (Ω_3). Chaque sous-domaine est supposé homogène, isotrope et de forme présentée sur la figure 11, suivant l'axe de révolution horizontal.

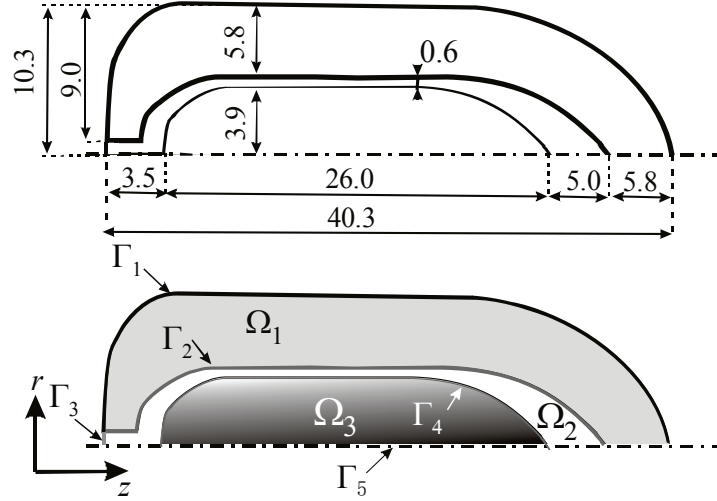


Figure 11. Représentation schématique (non à l'échelle) en 10^{-3} m, d'une datte en 2D axisymétrique. Ω_1 : pulpe ; Ω_2 : lame d'air ; Ω_3 : noyau ; Ω_4 : Γ_i : limite entre deux sous-domaines ; Γ_5 est l'axe de symétrie.

2.5.1 Le modèle de transfert de chaleur en régime instationnaire

Le problème thermique peut être décrit par l'équation de conservation de l'énergie :

$$\frac{\partial(\rho_i c_i T_i)}{\partial t} - \nabla \cdot (k_i \nabla T_i) = 0 \quad \text{dans} \quad \Omega_i \times (0, t) \quad \text{avec} \quad i = 1 \text{ à } 3 \quad (43)$$

Les conditions aux limites et initiales sont :

$$-k \nabla T_1 \cdot \vec{n} - h(T_1 - T_\infty) = 0 \quad \text{sur} \quad \Gamma_1 \times (0, t_c) \quad (44)$$

$$T_1 = T_2 \quad \text{sur} \quad \Gamma_2 \times (0, t_c) \quad (45)$$

$$T_2 = T_3 \quad \text{sur} \quad \Gamma_4 \times (0, t_c) \quad (46)$$

$$\nabla T_2 \cdot \vec{n} = \vec{0} \quad \text{sur} \quad \Gamma_3 \times (0, t_c) \quad (47)$$

$$\nabla T_i \cdot \vec{n} = \vec{0} \quad \text{sur} \quad \Gamma_5 \times (0, t_c) \quad \text{avec} \quad i = 1, 2 \text{ et } 3 \quad (48)$$

$$T_i = T_0 \quad \text{dans} \quad \Omega_i \times \{0\} \quad \text{avec} \quad i = 1 \text{ à } 3 \quad (49)$$

Où Γ_i est la frontière entre deux sous-domaines (Figure 11), $T_i(r, z, t)$ est la température, ρ_i est la masse volumique (kg m^{-3}), c_i est la capacité thermique massique ($\text{J kg}^{-1} \text{K}^{-1}$), k_i est la conductivité thermique ($\text{W m}^{-1} \text{K}^{-1}$) ; tous les paramètres sont supposés être indépendants de la température T , estimée à 20°C ; h ($\text{W m}^{-2} \text{K}^{-1}$) est le coefficient d'échange convectif, T_∞ est la température du media chaud autour de la datte et t_c est le temps total de simulation. Comme Ben-Lalli *et al.* (2013), la valeur du coefficient d'échange convectif de $65 \pm 10 \text{ W m}^{-2} \text{K}^{-1}$ a été utilisée. Cette valeur est établie pour une datte soumise à un flux d'air à $2,9 \text{ m s}^{-1}$ et 70°C . Lors de la phase de refroidissement avec de l'air à 25°C , h vaut $42 \pm 6 \text{ W m}^{-2} \text{K}^{-1}$.

2.5.2 Propriétés thermophysiques et paramètres d'entrées

La pulpe et le noyau de la datte sont supposés non-poreux et composés d'eau, de protéines, glucides, lipides et cendres. Les compositions sont regroupées dans le tableau 4.

Tableau 4. Valeurs des paramètres d'entrées utilisées pour les simulations.

Paramètres	Pulpe	Noyau
Composition (en fraction massique)		
Eau	0,187	0,140
Protéines	0,019 ^(a)	0,048 ^(b)
Lipides	0,003 ^(a)	0,088 ^(b)
Glucides	0,772 ^(a)	0,715 ^(b)
Cendres	0,019 ^(a)	0,010 ^(b)
Propriétés thermique estimées (à 20°C)		
Masse volumique ρ ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$) (Eq. 50)	1 432	1 379
Capacité thermique massique c ($\text{J} \cdot \text{kg}^{-1} \text{K}^{-1}$) (Eq. 51)	2 072	2 002
Conductivité thermique k ($\text{W} \cdot \text{m}^{-1} \text{K}^{-1}$) (Eq. 52)	0,329	0,286

(a): composition moyenne de la datte (*Deglet-Noor*) donnée par (Dowson et Aten, 1963).

(b): valeur du noyau de la datte donnée par (Besbes *et al.*, 2004).

La masse volumique, capacité thermique massique et conductivité thermique de chaque sous-domaine Ω_i (excepté pour la lame d'air $i \neq 2$) sont exprimées suivant les lois classiques de mélange.

$$\frac{1}{\rho_i} = \sum_j \frac{w_i^j}{\rho_i^j} \quad (50)$$

$$c_i = \sum_j w_i^j c_i^j \quad (51)$$

$$k_i = \rho_i \sum_j \frac{w_i^j}{\rho_i^j} k_i^j \quad (52)$$

Où w_i^j , est la fraction massique du constituant j dans le sous-domaine Ω_i . La masse volumique, capacité thermique massique, conductivité de chaque constituant j (eau, protéines, glucides, lipides, cendre) sont données dans la littérature (Choi et Okos, 1986). Ainsi, les propriétés thermo physiques estimées à 20°C sont regroupées dans le tableau 4.

2.5.3 Cinétiques d'inactivation thermique des souches fongiques

Afin d'évaluer le nombre de réductions décimales ($n\text{Log}$) des levures et moisissures lors d'un traitement thermique, les valeurs pasteurisatrices (VP) ont été calculées par l'intégration numérique de l'équation différentielle ordinaire :

$$\frac{dVP}{dt} = 10^{\frac{T_1 - T_{ref}}{z}} \quad \text{sur} \quad \Gamma_1 \times (0, t_c) \quad (53)$$

Avec comme condition initiale $VP = 0$ à $t = 0$. Le nombre de réduction décimale de population est alors obtenue par $n\text{Log} = VP/D_{ref}$.

2.5.4 Cinétiques de dégradation de la qualité du produit

Afin d'évaluer l'impact du traitement thermique sur la qualité des dattes, un "indice qualité" noté QI est estimé à la surface de la datte (Γ_1). Cet indicateur a pour expression (Heldman et Hartel, 1997) :

$$\frac{d \log_{10} QI}{dt} = \frac{T_1 - T_{ref}}{z_Q} \quad \text{sur} \quad \Gamma_1 \times (0, t_c) \quad (54)$$

Avec comme condition initiale $QI = 1$ à $t = 0$.

Ou z_Q et T_{ref} représentent le z -value ($^{\circ}\text{C}$) et la température de référence ($T_{ref} = 70^{\circ}\text{C}$) pour les composés labile. Pour la datte riche en sucres réducteurs, la dégradation de la qualité en cours d'un traitement thermique se manifeste essentiellement par un brunissement non-enzymatique en périphérie de la datte. Aussi, une valeur de $z_Q = 17^{\circ}\text{C}$ proposée par Reynes (1997) pour les réactions de type Maillard et reprise par Ben-Lalli *et al.* (2011) a été utilisée pour cette réaction de dégradation. Le modèle a été enrichi en introduisant une condition limite : nous avons déterminé un D_{ref} correspondant à une réduction de l'indice de qualité de 1 à 0,2 pour une exposition des dattes pendant 120 min à 70°C .

2.5.5 Résolution numérique

Le système mathématique à résoudre comprend 3 variables de température $T_i, (i = 1 \text{ à } 3)$, une valeur pasteurisatrice VP et un indice qualité QI , dépendant respectivement des équations (43), (53) et (54). Le système des 3 équations aux dérivées partielles (EDP) est résolu par la méthode des éléments finis et le logiciel commercial COMSOL MultiphysicsTM (version 4.4, COMSOL Inc., Stockholm, Sweden). Les éléments finis sont triangulaires avec trois 3 nœuds par éléments. Le nombre total d'éléments est de 212 pour la pulpe, 50 pour la lame d'air et 245 pour le noyau. Une étude de convergence liée à la qualité du maillage a été réalisée et confirme que les solutions numériques sont indépendantes du maillage retenu. Les polynômes de Lagrange (fonction du 2nd ordre) sont utilisés comme fonction d'interpolation. Le problème linéarisé a été résolu à chaque pas de temps par la méthode UMFPACK (unsymmetric multifrontal method and direct sparse LU factorization). Les deux équations différentielles ordinaires (EDO) non-linéaires pour le calcul de la valeur pasteurisatrice et de l'indice qualité ont été réalisées sous le logiciel Matlab[®] (The MathWorks Inc., Natick, MA, USA).

3 RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

3.1 Les souches cibles d'altération de la *Deglet-Nour* fraîche

3.1.1 La charge totale fongique et les levures osmophiles

Tous les échantillons de dattes analysés provenant des trois régions (Biskra, Tolga et Doucen) sont contaminés par des moisissures et des levures. L'analyse microbienne classique de la population totale fongique ainsi que les levures osmophiles sont présentées dans le tableau 5. L'absence de contamination au niveau de la pulpe a été vérifiée et confirmée, et l'analyse a révélé que celle-ci était saine (absence de contamination). Il a alors été considéré que la charge fongique mesurée se trouve uniquement en surface des fruits. Les populations fongiques pour les trois régions indiquées dans le tableau 5 sont similaires à celles déterminées par Moore *et al.* (2002) pour des dattes Saoudiennes ($5,3 \cdot 10^2$ UFC/g). En revanche, elles sont inférieures à celles rapportées par Habibi Najafi et Haddad Khodaparast (2009) pour des dattes Shahani Iraniennes ($8,5 \cdot 10^3$ UFC/g). Shenasi *et al.* (2002a) ont rapporté des charges élevées pour 25 variétés de dattes au stade *Routab* ($1,6 \cdot 10^3$ UFC/g) et une charge relativement faible au stade *Tamar* ($1,2 \cdot 10^2$ UFC/g).

Tableau 5. Microflore fongique totale et population en levures osmophiles déterminées sur des dattes *Deglet-Nour* provenant de trois régions en Algérie (Biskra, Tolga et Doucen).

Régions	Microflore fongique totale		Levures osmophiles	
	10^2 UFC/g*	10^2 UFC/cm ² **	10^2 UFC/g*	10^2 UFC/cm ² **
Biskra	$4,2 \pm 1,2$	$1,8 \pm 0,5$	$0,24 \pm 0,10$	$0,11 \pm 0,02$
Tolga	$2,4 \pm 0,9$	$1,0 \pm 0,4$	$0,16 \pm 0,04$	$0,07 \pm 0,02$
Doucen	$5,8 \pm 1,9$	$2,5 \pm 0,8$	-	-

Valeur moyenne \pm écart-type avec $n=5$; n est la population déterminée sur des échantillons provenant d'un seul palmier dattier (voir figure 10).

* Le poids d'une datte $13,5 \pm 2,1$ g (une moyenne de 30 dattes).

** La surface d'une datte $31,8 \pm 3,8$ cm² (moyenne calculée à partir de 30 dattes).

3.1.2 Isolement et identification moléculaire

Trois types de colonies différentes morphologiquement ont été trouvées dans les populations dénombrées : deux moisissures et une levure. Chacune des deux moisissures était présente dans les échantillons des trois régions ; la moisissure était présente dans les échantillons de

Biskra et Tolga, absente de celui de Doucen. Dans le but de savoir si les colonies avec la même morphologie étaient issues des mêmes souches et afin de vérifier leur proximité avec des souches références, la DGGE a été utilisée après extraction et amplification de l'ADNr de ces souches. Sur le gel (Figure 12), les bandes des souches témoins sont intenses, uniques et situées aux positions attendues. Ceci confirme le bon déroulement de la méthode DGGE. Les bandes d'ADN des moisissures des deux types de colonies isolées migrent à la même position pour les trois régions (Biskra, Tolga et Doucen). La même constatation est faite pour les levures issues des deux régions (Biskra et Tolga). Cela nous a permis de considérer que les souches des colonies morphologiquement similaires étaient les mêmes. Pour identifier exactement les souches présentes, le séquençage pour une seule région a été réalisé pour deux moisissures et une levure. La comparaison des séquences obtenues avec celles répertoriées dans la base de données GenBank a donné une similarité de séquences supérieure à 95% pour *Aspergillus niger* (Numéro d'accèsion : AB573988.1), *Alternaria alternata* (Numéro d'accèsion : GU048607.1) et *Candida apicola* (Numéro d'accèsion : CBS4076).

3.1.3 Identification morphologique et microscopique

Le type d'amorces utilisées dans notre cas donne des amplicons courts (258 pb pour les levures et 260 pb pour les moisissures) jugés insuffisants pour un objectif d'identification des espèces microbiennes. Pour cette raison, l'identification a été soutenue par une comparaison morphologique et microscopique des souches identifiées à la bibliographie. Par observation en recto des boîtes de Pétri, les colonies d'*Asp. niger* sur PDA à 25°C présentent des mycéliums blancs au début de la croissance qui noircissent rapidement avec une production de conidies (spores). En verso, les colonies sont jaune vif et leurs croissances provoquent des fissures radiales sur la gélose. L'observation au microscope optique donne des hyphes cloisonnées et diaphanes. Les conidiophores sont longs, lisses et hyalins, devenant plus sombres au sommet et se terminant par une vésicule globuleuse, avec des conidies sphériques noires. Morphologiquement, les colonies *Alt. alternata* cultivées sur PDA à 25°C sont grises ou gris-vert, avec un mycélium suédé à floconneux. En recto des boîtes de Pétri, les colonies sont brun clair. Au microscope, les conidies sont grandes, produites en chaînes, pluricellulaires, brun clair à brun, de forme ovoïde ou ellipsoïdale, et souvent avec un court bec conique ou cylindrique. Cette comparaison a confirmé l'identité des deux colonies de moisissures isolées, correspondant à *Asp. niger* et *Alt. alternata*.

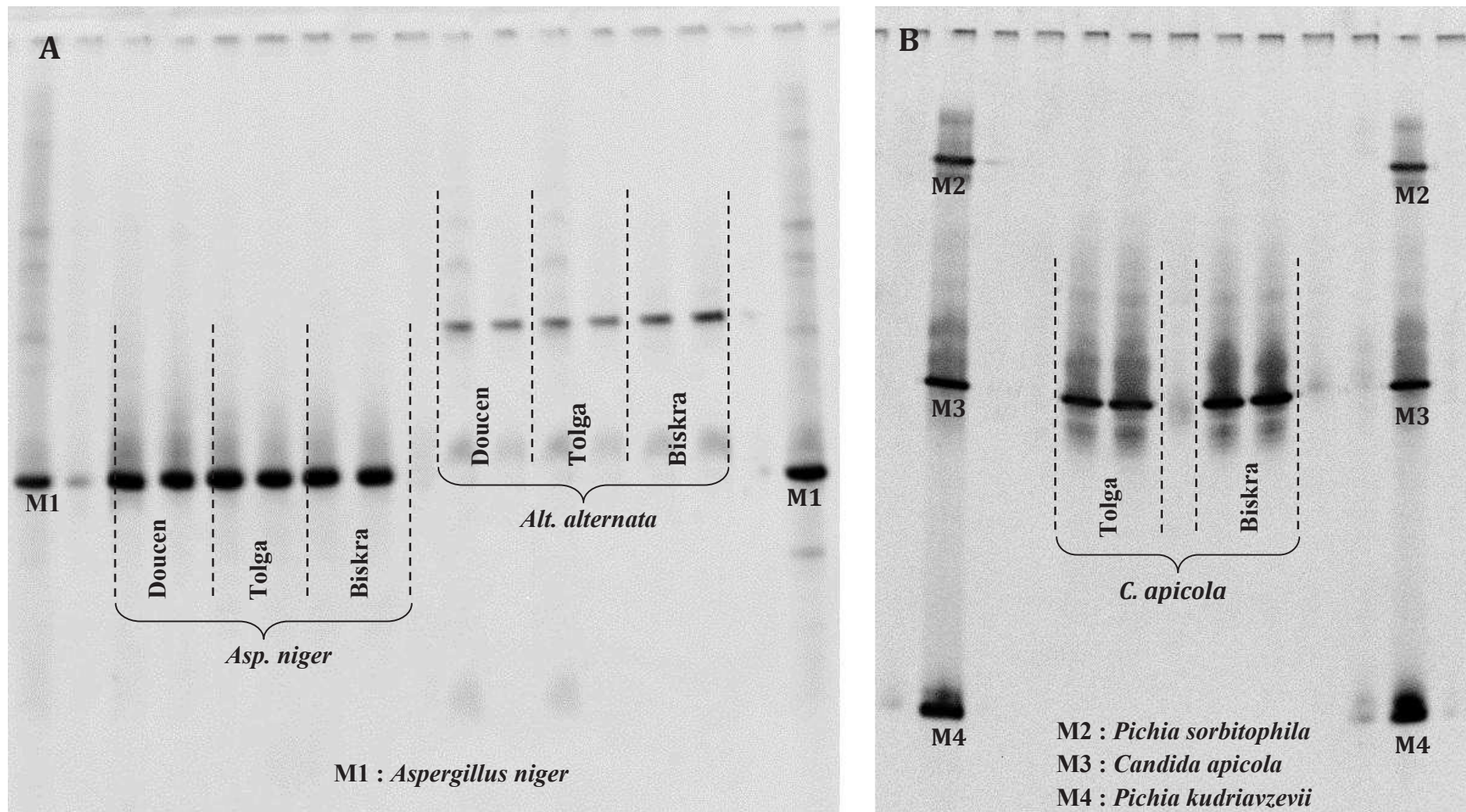


Figure 12. Photo du gel DGGE d'ADN des moisissures (A) et des levures (B) isolées à partir des dattes *Deglet-nour* provenant des trois régions (Biskra, Tolga et Doucen). M1, M2, M3 et M4 sont les souches de références.

3.1.4 Caractéristiques et spécificité des souches cibles isolées

Asp. niger est la moisissure la plus fréquemment rapportée dans les aliments entreposés, en particulier dans les produits secs. De plus, il est connu pour être responsable des altérations en post-récolte des fruits et légumes (Pitt et Hocking, 2009), et également signalé comme une espèce productrice d'ochratoxines (Abarca *et al.*, 1994). De même *Alt. alternata* est un agent d'altération de nombreux fruits mûrs, connu comme responsable de pertes importantes en post-récolte notamment de la tomate (Morris *et al.*, 2000 ; Pose *et al.*, 2009). Cet agent est considéré comme pathogène, car il est susceptible de produire des métabolites toxiques (mycotoxines) qui présentent un danger pour la santé du consommateur (Medina *et al.*, 2006 ; Oviedo *et al.*, 2011).

Dans le cas des dattes, *Asp. niger*, *Asp. flavus* et *Asp. fumigatus* sont les espèces d'*Aspergillus* les plus fréquemment observées sur les dattes entreposées (Atia, 2011 ; Shenasi *et al.*, 2002b). Des espèces du genre *Alternaria* (*Alt. alternata* 22% -62% et *Alt. clamydospora* 24%) ont été signalées comme responsables d'altération des dattes (Al-Sheikh, 2009 ; Giridhar et Reddy, 2001). Dans son rapport pour la FAO, Djerbi (1983) a signalé que *Aspergillus* spp et *Alternaria* spp sont les principaux agents responsables de la détérioration du fruit dattier. Pour *C. apicola*, aucune étude n'a signalé la présence de cette espèce sur la datte. En revanche et en raison de ses caractéristiques particulières, *C. apicola* est susceptible d'altérer pendant la conservation et le conditionnement des fruits riches en sucre tels que la datte (teneurs en sucre totaux 70-80% MS). *C. apicola* est une levure "xérotolérante", "osmotolérante" et possède un métabolisme fermentaire important (Stratford *et al.*, 2002 ; Tokuoka, 1993). Cette espèce de levure est souvent isolée à partir de produits riches en sucre tels que le miel (Rosa *et al.*, 2003) et le moût de raisins à haute teneur en sucre (Tofalo *et al.*, 2009). Les spores de *C. apicola* ont été associées à des insectes floricoles (Lachance *et al.*, 2010), ce qui explique leur présence dans le miel (transportées par les abeilles) et sans doute sur les fruits du palmier dattier.

3.1.5 Conclusions partielles

Asp. niger, *Alt. alternata* et *C. apicola* ont été isolées, identifiées et les charges fongiques estimées sur la datte *Deglet-Nour*. *Asp. niger* et *Alt. alternata* sont signalées dans la bibliographie comme des souches spécifiques de l'altération en post-récolte du fruit dattier. *C. apicola* est une souche qui n'a pas été déjà citée en bibliographie parmi les souches fongiques spécifiques de la datte. En revanche, cette souche possède des caractéristiques

particulières par rapport aux autres levures déjà isolées sur la datte. Ceci confirme son rôle dans l'altération de la datte, fruit riche en sucre et parfois faible en a_w . Ces constatations mettent en évidence l'intérêt d'un traitement post-récolte des dattes fraîches avant un conditionnement ou un entreposage. Ce traitement doit cibler les spores d'*Asp. niger* (pour les moisissures) et *C. apicola* (pour les levures) comme représentantes de la microflore fongique d'altération des dattes fraîches *Deglet-Nour*. La conception d'un traitement thermique afin d'assurer l'élimination de ces vecteurs microbiens tout en minimisant l'impact sur la qualité de ce fruit, nécessite la connaissance de la thermosensibilité de ces souches cibles. Ces connaissances sont basées sur des paramètres (z et D_T) estimés à partir des cinétiques d'inactivation thermique de leurs spores.

3.2 Thermosensibilité des spores de *C. apicola* et d'*Asp niger*

3.2.1 Analyse du traitement thermique des spores en suspension (isotherme)

Les spores d'*Asp. niger* et de *C. apicola* ont été prélevées au cours de la phase stationnaire de croissance (phase de sporulation) pour deux raisons : premièrement, la plupart des souches fongiques présentes sur les fruits du palmier dattier sont sous la forme sporulée ; deuxièmement, la forme sporulée des souches fongique est plus résistante à la chaleur que la forme végétative (Plessset *et al.*, 1987 ; Raso *et al.*, 1998 ; Schenberg-Frascino et Moustacchi, 1972).

Le milieu utilisé pour le traitement thermique des spores n'est pas nutritif. Il contient de l'eau, du NaCl pour équilibrer la pression osmotique, et un agent mouillant pour désagglomérer (éviter la formation d'amas de spores) et empêcher l'adhérence des spores sur les parois des flacons en Pyrex (Young et Kauss, 1984). En effet, les spores des moisissures telles qu'*Asp. niger* sont hydrophobes et peuvent adhérer à des surfaces telles que le verre (Pitt et Hocking, 2009). L'agitation a joué un rôle important à la fois pour disperser les spores dans la suspension et homogénéiser la température à l'intérieur du flacon. L'inoculation de 1 mL de suspension de spores à température ambiante dans 99 mL de milieu chauffé à la température désirée (60°C par exemple) induit une variation de la température du traitement inférieure à 0,5°C. Par conséquent, le traitement thermique des spores d'*Asp. niger* et de *C. apicola* en utilisant le dispositif décrit précédemment dans la figure 7 peut être considéré comme isotherme.

3.2.2 Analyse du traitement thermique en surface des dattes (non-isotherme)

L'étude de l'inactivation thermique d'*Asp. niger* et de *C. apicola* sur la surface de la datte, a nécessité le développement d'un dispositif expérimental capable de maintenir l'inoculum microbien à la surface du fruit tout en appliquant le traitement thermique. De plus, le dispositif devait assurer la récupération de tout l'inoculum après traitement pour évaluer les populations survivantes par rapport à la charge initiale inoculée. Par ailleurs, la température devait être mesurée sur la surface du fruit au cours du traitement thermique. Ces conditions expérimentales ont été obtenues pour la datte en utilisant le protocole présenté précédemment dans la figure 8. Ce dispositif a permis de traiter thermiquement des dattes entières inoculées en surface avec une charge de spores connues (spores d'*Asp. niger* et de *C. apicola*), et de suivre leur taux de réduction. L'utilisation du doigtier en latex comme revêtement des dattes inoculées a permis d'une part l'isolement du fruit à l'eau afin d'éviter son lavage, et d'autre part d'assurer un bon contact et une pression satisfaisante entre l'élément sensible (thermocouple T) et la surface de la datte. Aussi il a été possible, par ce dispositif, d'enregistrer la cinétique thermique au voisinage de l'interface de la datte.

3.2.3 Cinétique d'inactivation thermique des spores en suspension

Les cinétiques d'inactivation thermique des spores d'*Asp. niger* et de *C. apicola* ont été bien représentées par une cinétique de premier ordre (classiquement dit log linéaire) avec un RMSE $< 0,21$, ce qui signifie que l'erreur moyenne entre les valeurs expérimentales et prédites des populations survivantes est inférieure à 0,2 log. La figure 13 présente les cinétiques de survie expérimentales et les valeurs prédites obtenues en optimisant le paramètre D . Contrairement aux observations faites par certains auteurs (Bayne et Michener, 1979 ; Fujikawa et Itoh, 1996a ; Juneja et Marks, 2003 ; King Jr *et al.*, 1979 ; Sant'Ana *et al.*, 2009), aucun épaulement ni traînée des courbes de survie n'est observé pour nos temps d'échantillonnage. En effet, la forme résistante et le phénomène d'activation des spores ne sont pas manifestés par les souches étudiées. Ceci pourrait être lié à la sensibilité des souches ainsi qu'aux conditions de traitement thermique utilisées. Par ailleurs, les souches sauvages n'auraient subi aucune contrainte thermique (isolées à partir de la datte directement sur le palmier dattier) et les spores utilisées sont de même âge. En outre, pour les travaux cités ci-dessus ayant rapporté des épaulements et/ou des traînées, les traitements thermiques ont été utilisés sur des espèces de bactéries et de moisissures résistantes souvent traitées à des températures supérieures à 75°C.

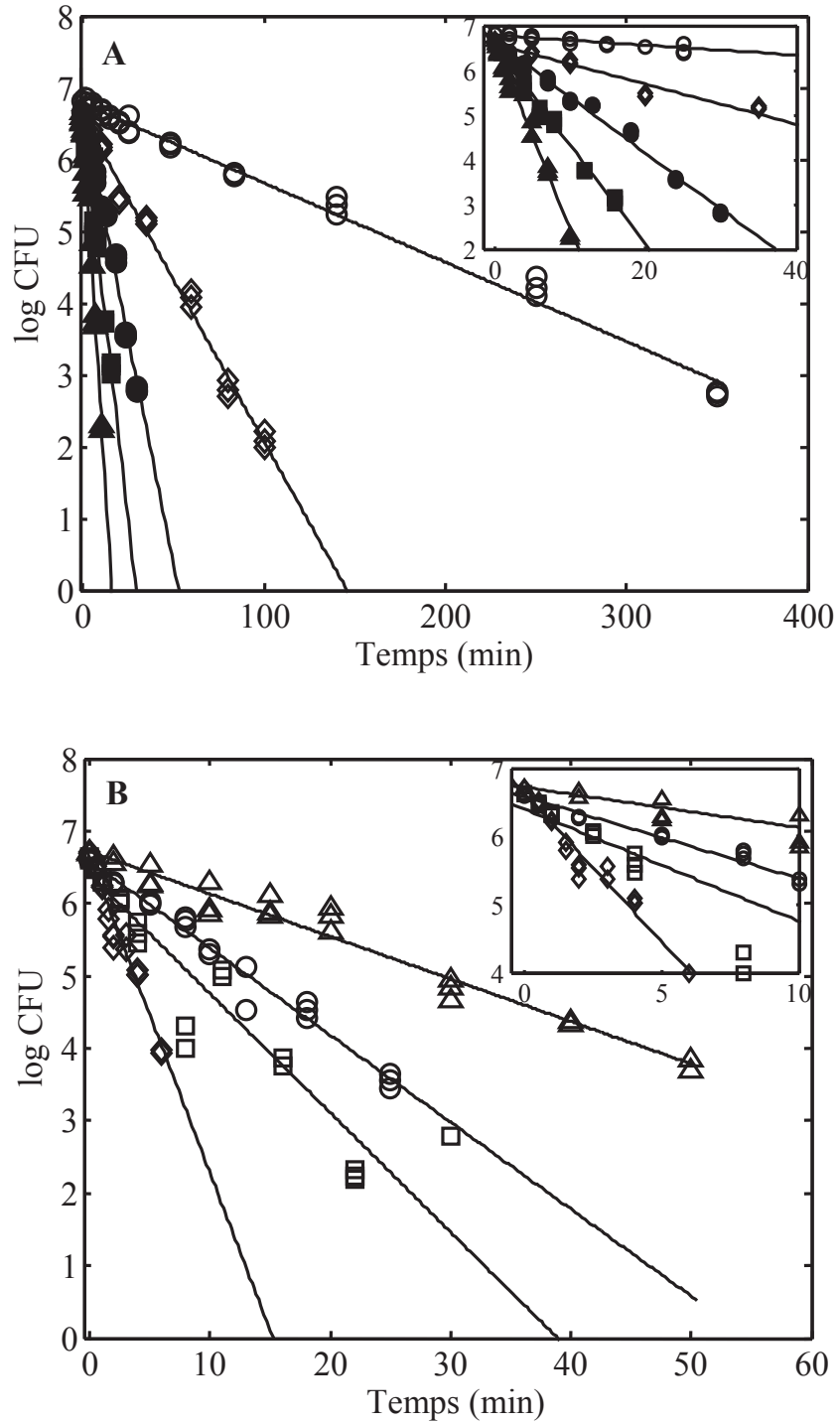


Figure 13. Cinétiques de diminution des populations survivantes d'*Asp. niger* (A) et *C. apicola* (B) à différentes températures (42°C Δ, 45°C ○, 47°C □, 50°C ◇, 55°C ●, 57°C ■, 60°C ▲). Les valeurs expérimentales sont représentées par les symboles, celles simulées par les lignes continues.

La sensibilité thermique des deux souches est quantifiée par les valeurs des temps de réduction décimale D_T présentés dans le tableau 6. L'inactivation des spores a été observée à basses températures : 42°C et 45°C pour *C. apicola* et *Asp. niger*, respectivement. Le temps de réduction décimale à 50°C D_{50} était de $21,1 \pm 2,1$ min pour *Asp. niger* et $2,3 \pm 0,4$ min pour *C. apicola*, cela signifie que les spores d'*Asp. niger* possèdent une résistance à la chaleur nettement supérieure à ceux de *C. apicola*.

Les spores de la souche *Asp. niger* isolée à partir des dattes *Deglet-nour* présentent une résistance à la chaleur plus élevée ($D_{60} = 2,4 \pm 0,3$ min) que les spores de souches isolées dans divers aliments transformés ($D_{60} = 1,1$ min) (Fujikawa et Itoh, 1996b), dans des aliments acides $D_{60} = 0,45$ min (Shearer *et al.*, 2002) où dans de la bière $D_{60} = 0,04$ min (Reveron *et al.*, 2005).

Tableau 6. Estimation du paramètre cinétique D_T de l'inactivation thermique des spores (42 à 60°C) pour *C. apicola* et *Asp. niger* par la méthode classique.

Température de traitement (°C)	<i>C. apicola</i>		<i>Asp. niger</i>	
	D_T (min)	RMSE	D_T (min)	RMSE
42	$17,1 \pm 2,8$	0,17	ND	ND
45	$8,3 \pm 1,1$	0,14	$90,5 \pm 6,0$	0,11
47	$6,1 \pm 1,7$	0,47	ND	ND
50	$2,3 \pm 0,4$	0,16	$22,1 \pm 2,1$	0,17
55	ND	ND	$8,0 \pm 0,7$	0,13
57	ND	ND	$4,5 \pm 0,4$	0,12
60	ND	ND	$2,4 \pm 0,3$	0,21

Valeurs moyennes \pm intervalle de confiance à 95% déterminé par la méthode de Monte-Carlo (2 000 tires aléatoires).

RMSE (Root Mean Squared Error): La racine de la moyenne des carrés des écarts entre les valeurs prédites et celles simulées ($\log_{10} N$).

ND : Non Déterminé.

3.2.4 Thermosensibilité des spores

L'influence de la température du traitement sur les valeurs de D_T est quantifiée par le paramètre z (Figure 14). Les valeurs estimées de D_{ref} sont $D_{52,5} = 10,3 \pm 2,9$ min et $D_{46} = 5,6 \pm 0,1$ min pour *Asp. niger* et *C. apicola* respectivement. Les valeurs de z montrent qu'*Asp. niger* et *C. apicola* manifestent le même comportement vis-vis de l'augmentation de

la température. En effet, les valeurs de z sont élevées et ne sont pas significativement différentes pour les deux souches, qui sont de $9,6 \pm 1,0^\circ\text{C}$ et $9,4 \pm 2,6^\circ\text{C}$ pour *Asp. niger* et *C. apicola* respectivement. Cela s'explique par le fait que les spores des deux souches étaient peu sensibles à l'augmentation de la température, et qu'elles possèdent le même comportement vis-à-vis de l'augmentation de la température. La sensibilité thermique des spores de la souche *Asp. niger* ($D_{57} = 4,5 \pm 0,4^\circ\text{min}$) est inférieure à celle de souches isolées dans des jus ($D_{57} = 9,4-32 \text{ min}$) (Shearer *et al.*, 2002). En ce qui concerne la sensibilité thermique de *C. apicola*, aucune donnée n'a été publiée dans la littérature à notre connaissance.

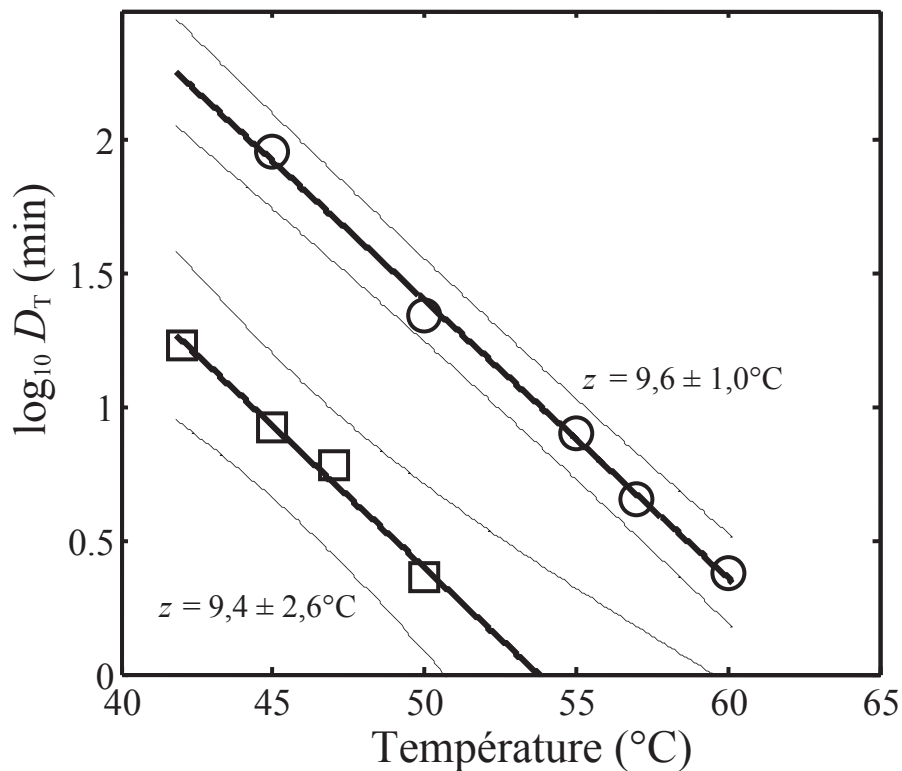


Figure 14. Temps de réductions décimales en fonction de la température de chauffage (T) pour *Asp. niger* (○) et *C. apicola* (□). Les lignes continues représentent l'ajustement du modèle de Bigelow et les lignes discontinues représentent les intervalles de confiance à $\pm 95\%$.

3.2.5 Cinétique d'inactivation thermique des spores en surface de la datte

La figure 15 b compare les populations survivantes $N^{(t)}$ d'*Asp. niger* et de *C. apicola* obtenues expérimentalement sur la surface de la datte au cours du chauffage à 70°C , avec celles

calculées par l'équation 27 en utilisant les paramètres estimés z et $D_{T_{ref}}$ et les données des profils temps-température (Figure 15 a). Cette figure montre bien que les taux de survie expérimentaux valident les données des taux de survie simulés. Par ailleurs, cela permet non seulement la validation des paramètres z et $D_{T_{ref}}$ (déterminés par traitement thermique en suspension) pour les spores d'*Asp. niger* et de *C. apicola*, mais aussi la démarche de traitement en surface et la méthode de calcul utilisée, en régime thermique transitoire.

La méthode de Bigelow est utilisée pour quantifier l'effet du traitement thermique non-isotherme dans les opérations de pasteurisation. Pour une durée de 300 secondes de traitement thermique, aucune survie de spores n'a été détectée. Ce fait est aussi prédit par le modèle (Équation 27). Pour le calcul des valeurs pasteurisatrices (VP), la température de référence est de 70°C pour les aliments solides avec une valeur de z égale à 10°C (valeurs de référence en thermo-bactériologie). Cette valeur est proche des valeurs obtenues pour *Asp. niger* et *C. apicola* isolées sur le fruit dattier. Avec ces résultats, les valeurs pasteurisatrices cibles peuvent être facilement calculées. Par exemple, une valeur pasteurisatrice de 2 min doit être appliquée pour obtenir une réduction de 9 log de la population des spores d'*Asp. niger* sur la surface de la datte.

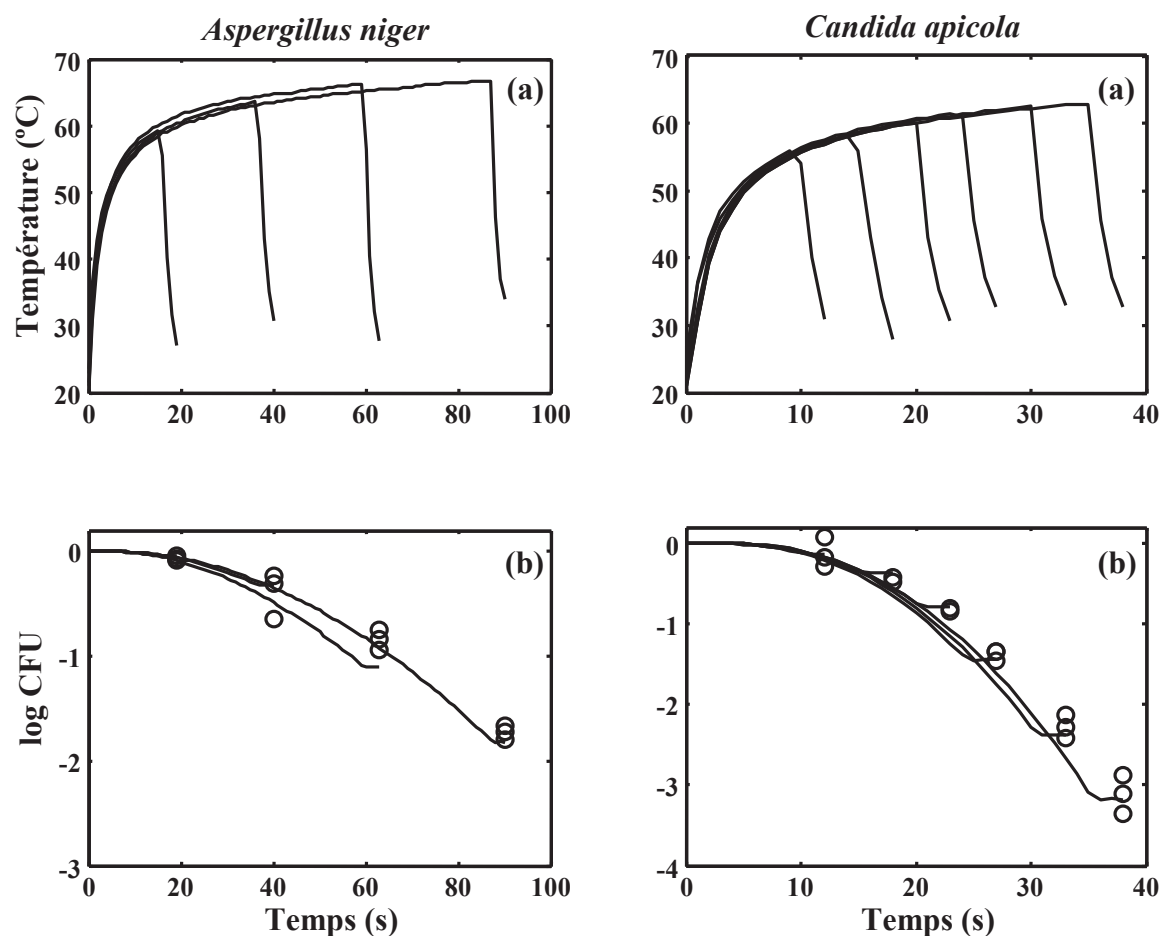


Figure 15. Les profils de temps-températures enregistrés au voisinage de la surface de la datte sont présentés (a). Les populations survivantes $N^{(t)}$ (log CFU) déterminées en surface de la datte au cours du traitement thermique à 70°C (symbole) et les populations survivantes simulées (lignes continues) (b).

3.2.6 Conclusions partielles

La thermosensibilité des spores d'*Asp. niger* et de *C. apicola* a été évaluée sur un domaine de températures compris entre 42 et 60°C. Celle-ci est située dans la gamme des souches fongiques sensibles au traitement thermique, indiquée par les valeurs de D_T estimées. *Asp. niger* manifeste une résistance supérieure à la chaleur comparée à *C. apicola* ($D_{50} = 22,1 \pm 2,1$ min et $D_{50} = 2,3 \pm 0,4$ min, respectivement). En revanche, les deux souches possèdent le même comportement vis-à-vis de l'augmentation de la température, avec un z de $9,6 \pm 1,0^\circ\text{C}$ et $9,4 \pm 2,6^\circ\text{C}$, pour *Asp. niger* et *C. apicola*, respectivement. Les paramètres cinétiques de l'inactivation (D et z) ont été validés par quantification expérimentale des taux de survie par un traitement à 70°C sur la surface de la datte. La sensibilité thermique des

spores d'*Asp. niger* et de *C. apicola* ainsi que le calcul des *VP*, peut ainsi aider à optimiser le traitement thermique en post-récolte du fruit dattier.

3.3 Impact du traitement thermique sur l'activité de la polyphénoloxydase PPO de la datte *Deglet-Nour*

3.3.1 Analyse cinétique de l'inactivation thermique de la PPO

Le but de ce travail est de modéliser les cinétiques d'inactivation des enzymes de brunissement de la datte PPO, de mieux évaluer l'effet du traitement thermique sur leur l'activité résiduelle, et d'apporter une meilleure analyse au phénomène de la thermostabilité des isoenzymes présents dans la datte. Les modèles cinétiques trouvés dans la littérature sont basés sur : le modèle de premier ordre (Ludikhuyze *et al.*, 1999), le modèle Weibull (Yemenicioğlu *et al.*, 1998) et le modèle biexponentiel (diphasique) (Weemaes *et al.*, 1998). Ici, seul le modèle biexponentiel est utilisé. Ce modèle a été ajusté avec succès aux données expérimentales de RRA en fonction du temps, comme le montre la figure 16. L'analyse des résidus révèle une bonne homoscedasticité (distribution aléatoire), indiquant son bon ajustement aux données de RRA. Cette qualité d'ajustement est confirmée par la valeur faible de RMSE (0,03).

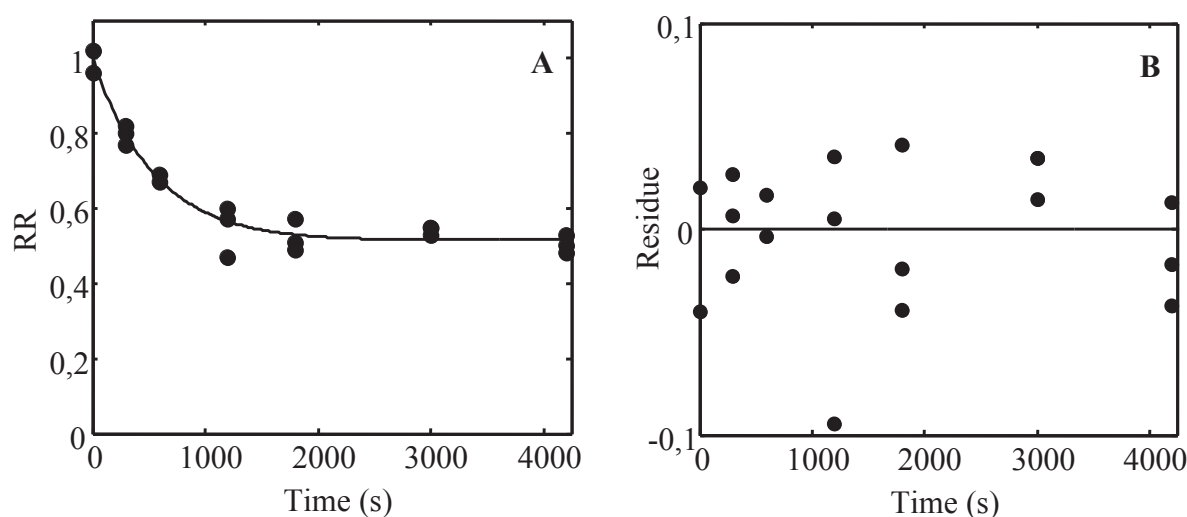


Figure 16. Cinétiques de réduction des ARR de la PPO de la datte *Deglet-Nour* à 70°C. **A** : ajustement du modèle biexponentiel (lignes continues) aux ARR expérimentaux (symboles). **B** : les résidus ($ARR_{\text{expérimental}} - ARR_{\text{simulé}}$).

Les paramètres cinétiques du modèle biexponentiel décrivant l'inactivation thermique de la PPO de la *Deglet-Nour* à 70°C sont : $k_1 = 1,81 \pm 0,6 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, $k_2 = 0,005 \pm 0,006 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ et $a = 0,49 \pm 0,10$ (Valeurs moyennes \pm intervalle de confiance à 95%). Ce modèle traduit bien

l'inactivation thermique de cette enzyme avec une signification biologique robuste. En effet, la première étape d'inactivation affiche une vitesse de diminution de RRA importante ($k_1 = 1,81 \pm 0,6 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$), contrairement à la deuxième étape où la vitesse est assez faible ou presque nulle ($k_2 = 0,005 \pm 0,006 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$). Ces deux vitesses peuvent être interprétées par la présence de deux isoenzymes avec une thermosensibilité différente, et les termes pré-exponentiels a ($0,49 \pm 0,10$) et $1-a$ expriment les proportions relatives de ces deux formes d'enzymes. Cette dernière interprétation confirme le choix du modèle biexponentiel pour décrire les cinétiques d'inactivation de la PPO de la datte. Ce constat a été confirmé par Belarbi *et al.* (2003).

3.3.2 La thermostabilité de la PPO

Seule la thermostabilité de la PPO a été étudiée dans notre cas, car la POD est considérée comme étant l'une des enzymes les plus thermostables (Rudra Shalini *et al.*, 2008 ; Yemenicioğlu *et al.*, 1998). Il est très courant d'étudier la thermostabilité des enzymes de brunissement (PPO ou POD) en appliquant des traitements thermiques sur l'extrait enzymatique. Dans notre cas, les traitements thermiques ont été réalisés sur une pâte de dattes reconstituée à $a_w = 0,77$, pour approcher au mieux la situation réelle du traitement thermique appliqué sur une datte entière standard. Korbel *et al.* (2013) ont constaté que les deux enzymes PPO et POD sont beaucoup plus sensibles au traitement thermique (50°C et 60°C à différents temps de traitement) en extrait enzymatique qu'en matrice (lyophilisat reconstitué de mangue à 0,98 a_w). Ces auteurs ont observé une activité résiduelle de 82% après traitement de lyophilisat reconstitué de mangue à 60°C pendant 1 heure. Ici, après 30 min de traitement thermique à 70°C, l'activité résiduelle est réduite seulement à 49 %. Cette observation et l'analyse cinétique ci-dessus, révèlent la présence d'isoenzymes thermostables dans la datte (RRA stable à 49%). Belarbi *et al.* (2003) ont montré l'existence de deux composantes enzymatiques, à la suite d'une électrophorèse en gel d'acrylamide et avec un protéinogramme réalisé sur un extrait enzymatique de la datte. Ces deux formes se manifestent comme deux formes de sensibilité à la chaleur, une thermosensible et une thermostable. La diminution rapide de l'activité résiduelle de la PPO au début du chauffage (0 à 10 min) peut être attribuée à l'isoenzyme thermosensible, et la diminution qui suit (10 à 70 min) est plus lente voire nulle est attribuée à l'isoenzyme thermostable. Cette dernière est responsable du maintien de l'RRA globale à 49%. En effet, l'activité de l'enzyme mesurée pour le témoin (sans traitement thermique) est en fait la somme des activités de toutes les formes d'enzymes actives (activité globale). De ce point de vue, pour baisser l'RRA de la forme thermostable de la PPO de la

datte, une augmentation de la température ($>70^{\circ}\text{C}$) et/ou du temps de traitement (>70 min) sont nécessaires. Une telle augmentation significative de la température n'est pas sans conséquence sur la qualité de la datte. En effet les températures supérieures à 70°C impactent significativement la couleur de la datte (Belarbi, 2001 ; Boubekri, 2010).

3.3.3 Conclusions partielles

L'effet du traitement thermique sur l'enzyme de brunissement PPO de la *Deglet-Nour* a été évalué par modélisation de la cinétique de son activité résiduelle RRA à 70°C (température de référence de la pasteurisation des dattes). Cette analyse a révélé la présence de deux formes de sensibilité à la chaleur différentes, une isoenzyme thermosensible et une autre thermostable. Cette dernière avec une stabilité à 49 % d'ARR. Il apparaît difficile de l'inactiver totalement à des températures supérieures à 70°C sans effet négatifs sur la qualité de la datte en particulier sa couleur. Ces résultats sont assez concluants pour ne pas poursuivre l'étude, car les températures qui seraient efficaces pour éliminer l'activité de cette enzyme dépassent la gamme de températures recherchées pour le traitement thermique de la *Deglet-Nour* qui est de l'ordre de la pasteurisation. À l'issue de cette conclusion, limiter le brunissement enzymatique de la *Deglet-Nour* ne peut être obtenu par un traitement thermique ($T < 70^{\circ}\text{C}$), mais d'autres techniques telles que le conditionnement sous atmosphère modifiée appauvrie en substrat de cette enzyme (O_2) pourraient être une solution. La conservation au froid est une autre alternative.

3.4 Modélisation de l'effet du transfert thermique sur *VP* et *QI*

3.4.1 Identification des points critiques

Lors d'un traitement thermique la surface de la datte présente un champ de température hétérogène, avec l'existence de points froids et chauds. La figure 17 a), illustre les profils de température à différents temps, le long de l'arc de la surface de la datte. Quel que soit le temps de traitement, la température la plus basse se situe à 0,0285 m du pédoncule (point dit « froid ») alors que la température la plus élevée est localisée juste au niveau du pédoncule (point dit « chaud »). L'incidence du champ de température sur le nombre de réduction décimale de la population des levures et l'indice qualité (*IQ*) est illustrée, respectivement sur les Figures 17 b) et 17 c).

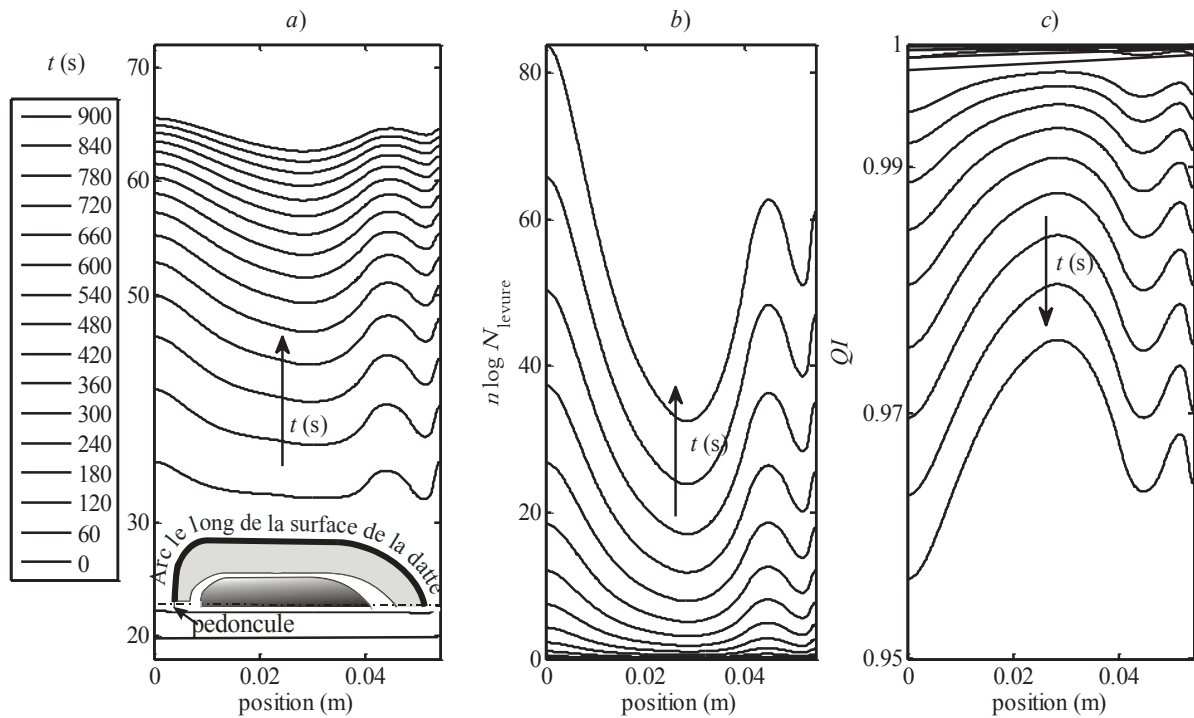


Figure 17. Profils *a)* : de température, *b)* de réduction décimale de la population des levures *C. apicola* et *c)* indice qualité le long de l'arc de la surface de la datte, durant le chauffage à l'air chaud (70°C et $h = 30 \text{ W m}^{-2} \text{ K}^{-1}$) à différents temps de traitement (t).

Les écarts de 6°C au maximum observés entre le point chaud et froid conduisent à des nombres de réductions décimales de la population des levures sensiblement différents. Après 900 s, le nombre de réductions décimales peut varier de 32 à 84. La diminution de l'indice de qualité (IQ), est faible sur toute la surface de la datte (de 1 à 0,956 pour une valeur initiale de 1). L'impact des écarts de température reste donc modeste en valeur absolue. Aussi par la suite, les simulations liées à la réduction des microflores et à l' IQ , seront évaluées uniquement aux points froid et chaud, respectivement.

3.4.2 Cinétique d'un traitement thermique

La figure 18 est une illustration d'un traitement thermique à l'air chaud d'une datte afin d'obtenir 9 log de réduction de la population des levures *C. apicola*. Le barème de traitement thermique retenu pour cette simulation est de 70°C durant 682 s, suivi d'un refroidissement à l'air (20°C). En fin de chauffe à 70°C , les températures du point froid et chaud, sont respectivement, $58,5$ et $63,0^{\circ}\text{C}$. La valeur de coefficient d'échange de chaleur $h = 30 \text{ W m}^{-2} \text{ K}^{-1}$ explique la durée relativement longue de montée en température de la surface de la datte. Il faudrait attendre près de 1 400 s pour que la température atteigne la température de l'air à $0,2^{\circ}\text{C}$ près. L'augmentation du nombre de réductions décimales débute

aux environs de 180 s, c'est à dire à partir de 40 °C pour atteindre son maximum à 685 s. Aucune contribution significative de la phase de refroidissement n'est observée sur la valeur pasteurisatrice. Nous sommes bien en présence d'un traitement de surface sans effet retard, lié à l'inertie thermique de la datte, lors du transfert de chaleur de la datte vers l'air de refroidissement. La simulation confirme qu'un tel traitement thermique réduit de très peu l'indice qualité (moins de 2,2 %).

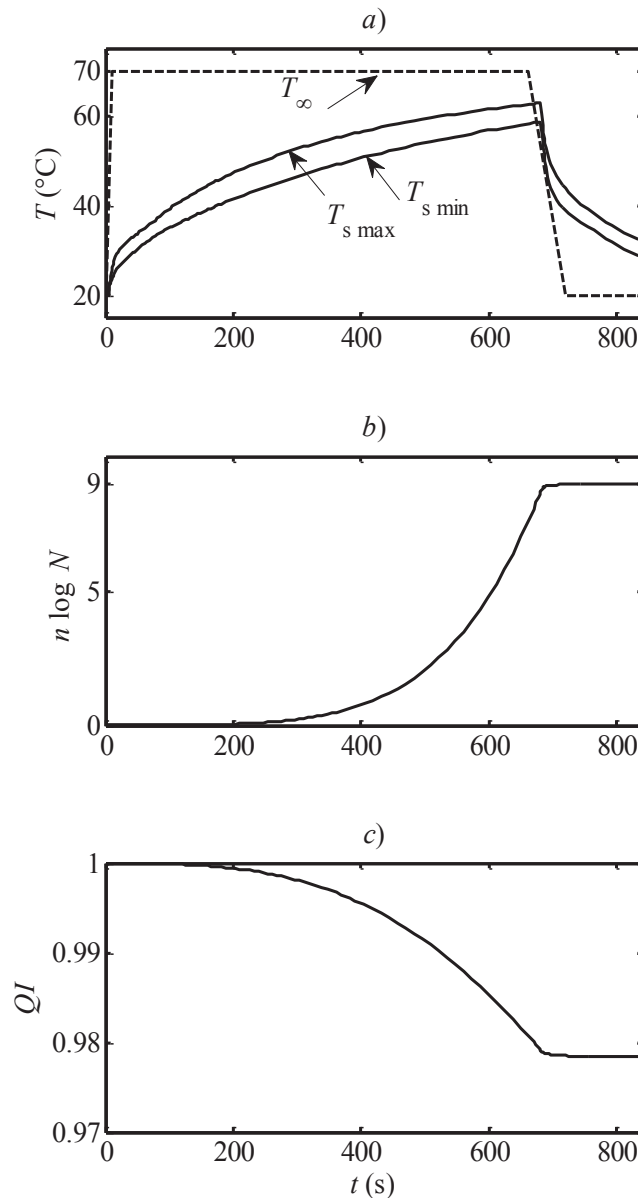


Figure 18. Simulations des cinétiques *a*) : de températures de l'air (T_{∞}), du point froid ($T_{s \min}$) et chaud ($T_{s \max}$), *b*) : de réduction décimale ($n \log N = 9$) de la population des levures *C. apicola* et *c*) : d'indice qualité (QI) durant 682 s de chauffage à l'air chaud (70°C et $h = 30 \text{ W m}^{-2} \text{ K}^{-1}$) et de refroidissement (20°C et $h = 42 \text{ W m}^{-2} \text{ K}^{-1}$) d'une datte.

3.4.3 Barème de pasteurisation

Outre le fait que le contrôle du traitement thermique s'effectue par le couple temps-température, les transferts convectifs entre l'air et la surface de la datte étant limitants, la valeur du coefficient d'échange a une grande importance. La Figure 19 établit les barèmes de pasteurisation (temps, température) permettant d'obtenir 11 réductions décimales des levures (*C. apicola*) pour différentes valeurs de coefficient d'échange convectif (h) dont le cas de transfert externe non-limitant ($h \rightarrow \infty$). Les conditions de convection naturelle, c'est-à-dire avec des valeurs de h inférieures à $25 \text{ W m}^{-2} \text{ K}^{-1}$ ont été exclues car elles conduiraient à des procédés pas assez intensifs et à des hétérogénéités de température au sein des lits de produit. Avec de l'air à 70 °C , lorsque la valeur de h varie de 30 et $60 \text{ W m}^{-2} \text{ K}^{-1}$, le temps de traitement diminue de 711 s à 407 s. Dans le cas limite d'un transfert thermique externe non limitant, la durée de traitement serait en théorie réduite à seulement 11 s. Cette dernière situation n'est pas accessible avec de l'air. Par ailleurs pour des valeurs de h supérieures à $150 \text{ W m}^{-2} \text{ K}^{-1}$, les vitesses d'air à mettre en œuvre sont très élevées. Elles demanderaient des puissances mécaniques de ventilation souvent trop importantes.

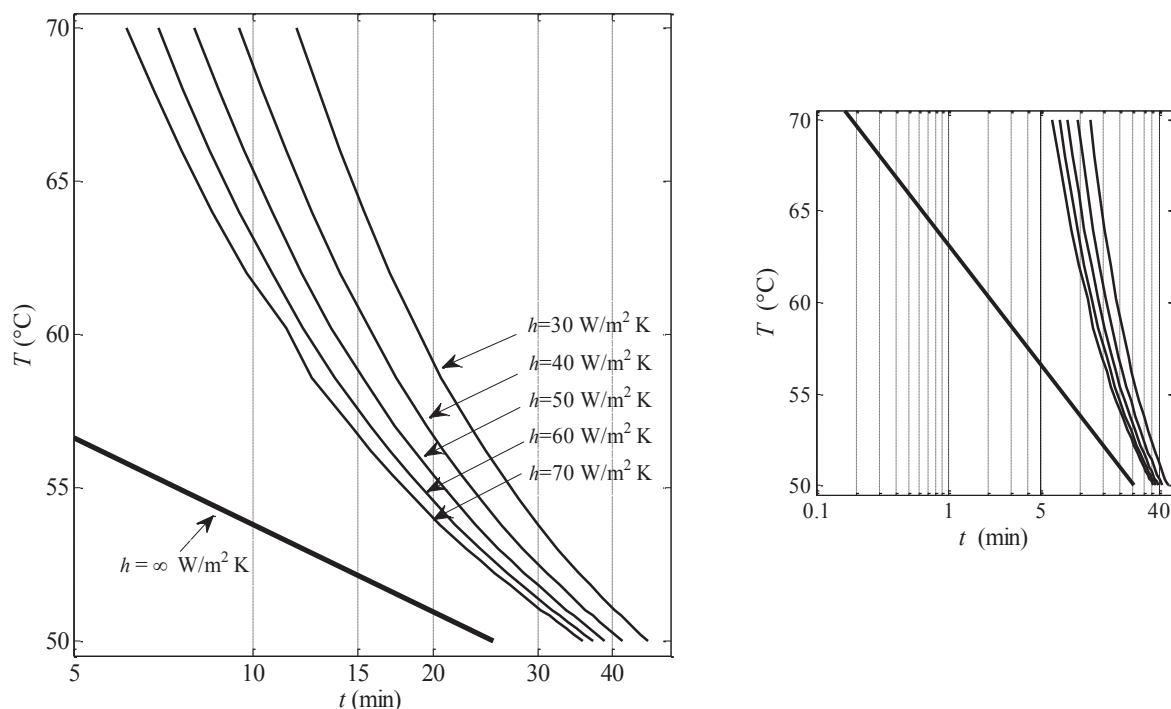


Figure 19. Barème de pasteurisation (temps, température) pour obtenir 11 réductions décimales des levures (*C. apicola*) avec $D_{50^{\circ}\text{C}} = 2,3 \pm 0,4 \text{ min}$ et $z = 9,4 \pm 2,6 \text{ min}$. Simulations réalisées pour différentes valeurs de coefficient d'échange convectif (h).

3.4.4 Quelle vitesse d'air ?

Ce paramètre vitesse d'air est la grandeur qui peut permettre de moduler l'intensité des processus de transfert convectif. L'estimation d'un coefficient d'échange convectif est classiquement réalisée par des corrélations entre le nombre de Nusselt et les nombres de Reynolds (Re) et de Prandtl (Pr), avec des corrections de viscosité (μ). La littérature offre très peu de corrélation pour des formes de type ellipsoïde de révolution et dans nos conditions de $Re > 1\ 000$. Aussi, avons-nous supposé la datte comme une sphère de diamètre 0,04 m. Parmi les corrélations disponibles dans la littérature pour le nombre de Nusselt moyen (\overline{Nu}) et pour une sphère disposée dans un flux uniforme, celle de Whitaker (1976) est largement considérée comme étant la plus précise et très pratique à utiliser. La représentation algébrique fournie par Whitaker est :

$$\overline{Nu} = \frac{hD}{k} = 2 + (0,4 Re^{1/2} + 0,06 Re^{2/3}) Pr^{0,4} \left(\frac{\mu}{\mu_{paroi}} \right)^{1/4} \quad (55)$$

Avec $1 \leq Re \leq 10^5$

Soient U_1 et U_2 deux vitesses d'air ; les valeurs des coefficients d'échange convectif associées, noté h_1 et h_2 , s'expriment (toutes choses égale par ailleurs) par la fraction rationnelle :

$$\frac{h_2}{h_1} = \frac{2 + \left[0,4 \left(\frac{\rho U_2 D}{\mu} \right)^{1/2} + 0,06 \left(\frac{\rho U_2 D}{\mu} \right)^{2/3} \right]}{2 + \left[0,4 \left(\frac{\rho U_1 D}{\mu} \right)^{1/2} + 0,06 \left(\frac{\rho U_1 D}{\mu} \right)^{2/3} \right]} \quad (56)$$

En s'appuyant sur la donnée expérimentale de Ben-Lalli *et al.* (2013) $h = 65 \pm 10 \text{ W m}^{-2} \text{ K}^{-1}$ à 70°C et $2,9 \text{ m s}^{-1}$ de vitesse d'air– il est ainsi possible d'estimer la vitesse d'air à imposer pour obtenir une valeur de coefficient d'échange convectif choisie. La figure 20 illustre cette relation non linéaire. Pour accroître la valeur de h de 30 à $60 \text{ W m}^{-2} \text{ K}^{-1}$ avec de l'air à 70°C alors la vitesse d'air augmentera de $0,6$ à $2,5 \text{ m s}^{-1}$, c'est-à-dire sera multipliée par 4,2.

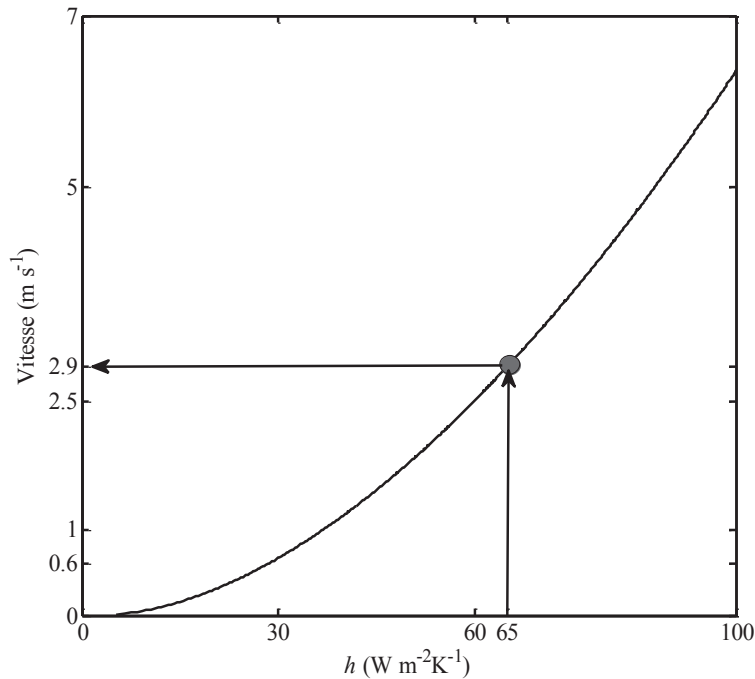


Figure 20. Relation entre la vitesse de l'air à 70 °C et le coefficient d'échange convectif (h) autour d'une datte supposée sphérique (diamètre = 0,04 m), d'après la corrélation de Whitaker (1976).

3.4.5 Conclusion partielle

Le modèle de transfert de chaleur, initialement développé par Ben-Lalli *et al.* (2013) pour la désinfestation de datte par un traitement thermique, a été complété en intégrant l'effet de pasteurisation de la surface de la datte. L'estimation de l'impact sur la couleur, *via* un indice global de qualité a été conservée. Par simulation, le point chaud a été localisé au niveau du pédoncule alors que le point froid se situe à 2,8 cm de ce dernier, c'est-à-dire au niveau de la partie cylindrique de la datte. La capacité du modèle à prédire aussi exactement que possible l'évolution de la température au point froid est essentielle pour l'estimation de la valeur pasteurisatrice ; soulignons ici, que parmi les hypothèses du modèle, le coefficient d'échange de chaleur est supposé homogène sur toute la surface de la datte alors que des gradients de coefficient h existent sur ces surfaces convexes, liés au champ de vitesse hétérogène (Schlichting, 1979). Prendre en compte ce type de variation paraît en l'état assez complexe et nécessiterait d'accéder à l'écoulement de l'air autour de la datte. Malgré ces limitations, l'outil de simulation apparaît déjà constituer dès à présent un apport important pour la construction rationnelle d'un barème de traitement thermique. Les températures hautes et temps courts sont à privilégier. Un barème de type (70 °C et 7 min) avec une vitesse d'air de $2,5 \text{ m s}^{-1}$ est théoriquement satisfaisant.

3.5 Modélisation de l'effet de la température, de l'activité de l'eau et du dioxyde de carbone sur la croissance d'*Asp. niger* et *Alt. alternata*.

3.5.1 Description et intérêt du système contrôlé

Dans cette étude, les cinétiques de croissance d'*Asp. niger* et *Alt. alternata* ont été étudiées dans un système fermé ; un dispositif facile à réaliser (un sac de 5 L contenant une boîte de Pétri et 3 L de mélange gazeux) pour générer des données de croissance. En revanche sur une longue durée d'observation, la composition du gaz est susceptible de dériver. L'évolution de la concentration en CO₂-O₂ dans l'espace de tête des sacs est liée à l'augmentation de la biomasse fongique produite dans les boîtes de Pétri. En effet, dans le système fermé, d'une part la température et l' a_w sont stabilisées en utilisant une étuve thermostatée et des solutions eau-glycérol, respectivement, d'autre part, la composition de l'atmosphère modifiée varie avec la croissance des deux souches fongiques. Un autre système, dit contrôlé, a ainsi été mis au point pour valider les données issues du système fermé.

Le système contrôlé présenté précédemment a été conçu pour déterminer avec précision à quel moment la composition de l'atmosphère modifiée dans le système fermé commence à varier de manière significative comparée à celle mesurée dans le système contrôlé. Les courbes de croissance provenant du système fermé sont comparées à celles générées par le système contrôlé (Figure 21). Après un certain temps de latence (0,5-1,5 jours), la croissance du diamètre des colonies $d^{(t)}$ est linéaire tout au long de la période de mesure. Les courbes de croissance obtenues par le système fermé comme indiqué dans la figure 21 a, b (10,0 et 18,2 %, V/V CO₂) pour *Asp. niger* et la figure 21a (9,5 %, V/V CO₂) pour *Alt. alternata*, présentent une légère courbure au moment où les colonies fongiques atteignent environ 70 mm de diamètre.

L'évolution des concentrations en CO₂ et O₂ dans le système fermé au cours des cinétiques de croissance est présentée dans la figure 22. Les concentrations en CO₂ et O₂ dans les sacs en polyéthylène sont constantes (lignes horizontales), à l'exception de trois traitements pour lesquels des augmentations significatives en CO₂ et des diminutions significatives en O₂ apparaissent après 85 heures d'incubation (moments de la courbure). Ce temps correspond à un diamètre de colonie d'environ 70 mm. Par conséquent, seules les données de diamètre inférieur à 70 mm ont été utilisées pour ajuster le modèle primaire de croissance. En outre, la comparaison des vitesses de croissance μ estimés à partir du système contrôlé et ceux estimés à partir du système fermé ($d^{(t)} < 70$ mm) montre qu'il n'existe aucune différence significative entre les paramètres cinétiques des deux systèmes. Par exemple pour *Asp. niger*, μ est estimé

à $22,59 \pm 1,70 \text{ mm jour}^{-1}$ à $9,4 \pm 0,2 \%$ V/V CO_2 dans le système fermé et à $25,15 \pm 2,44 \text{ mm jour}^{-1}$ à $10,0 \pm 0,5 \%$ V/V CO_2 dans le système contrôlé.

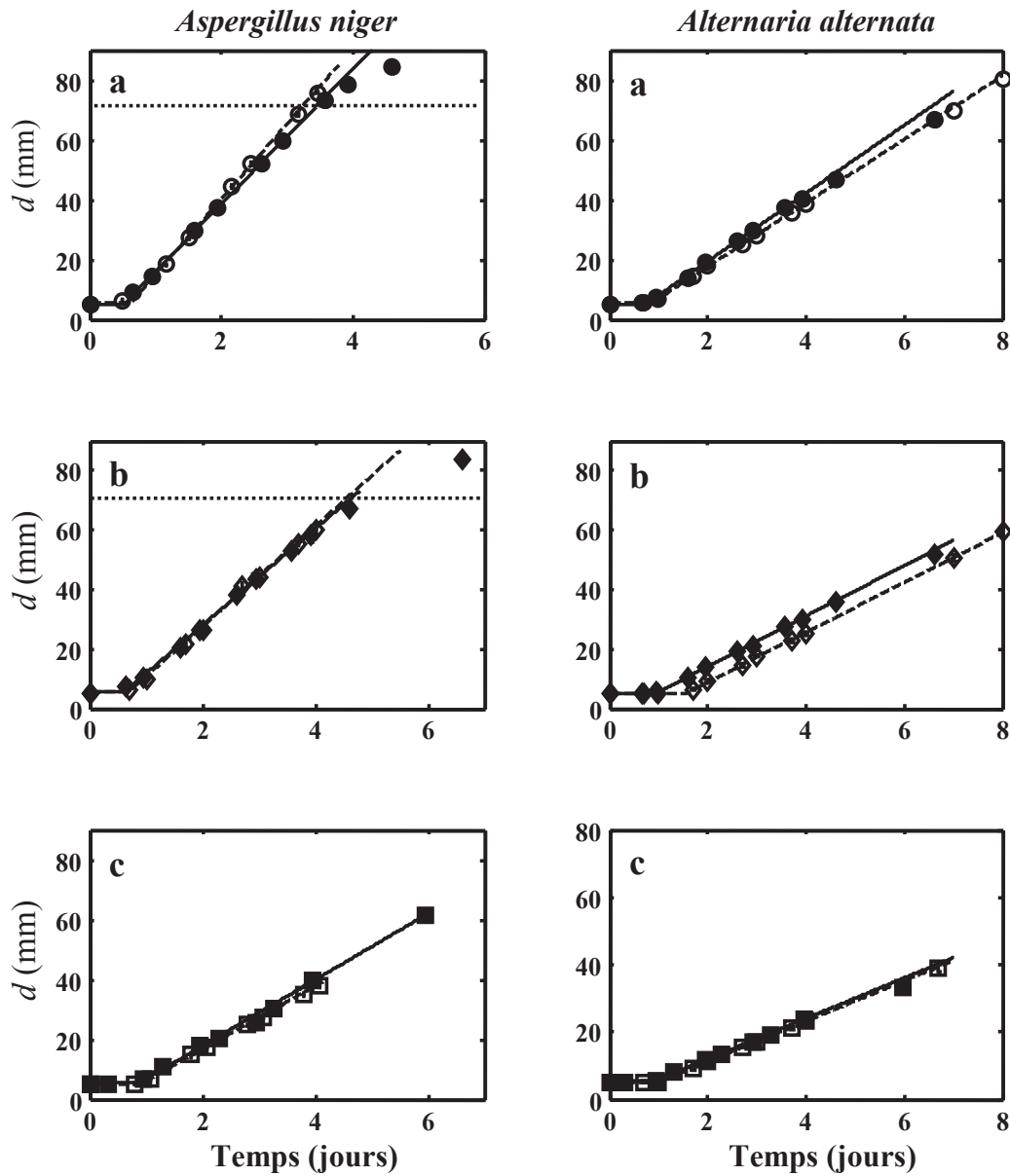


Figure 21. Diamètres de croissance $d^{(t)}$ expérimentaux (symboles) sur PDA et simulés (lignes en pointillé) dans le système fermé (symboles pleins) et le système contrôlé (symboles vides).

Les concentrations en CO_2 (% V/V) sont : 10,0/9,5 (● et ○),
18,2/18,4 (◆ et ◇) et 26,3/27,3 (■ et □) pour *Asp. niger*/*Alt. alternata*.

Les barres d'erreur représentent les écarts-types ($n = 5$).

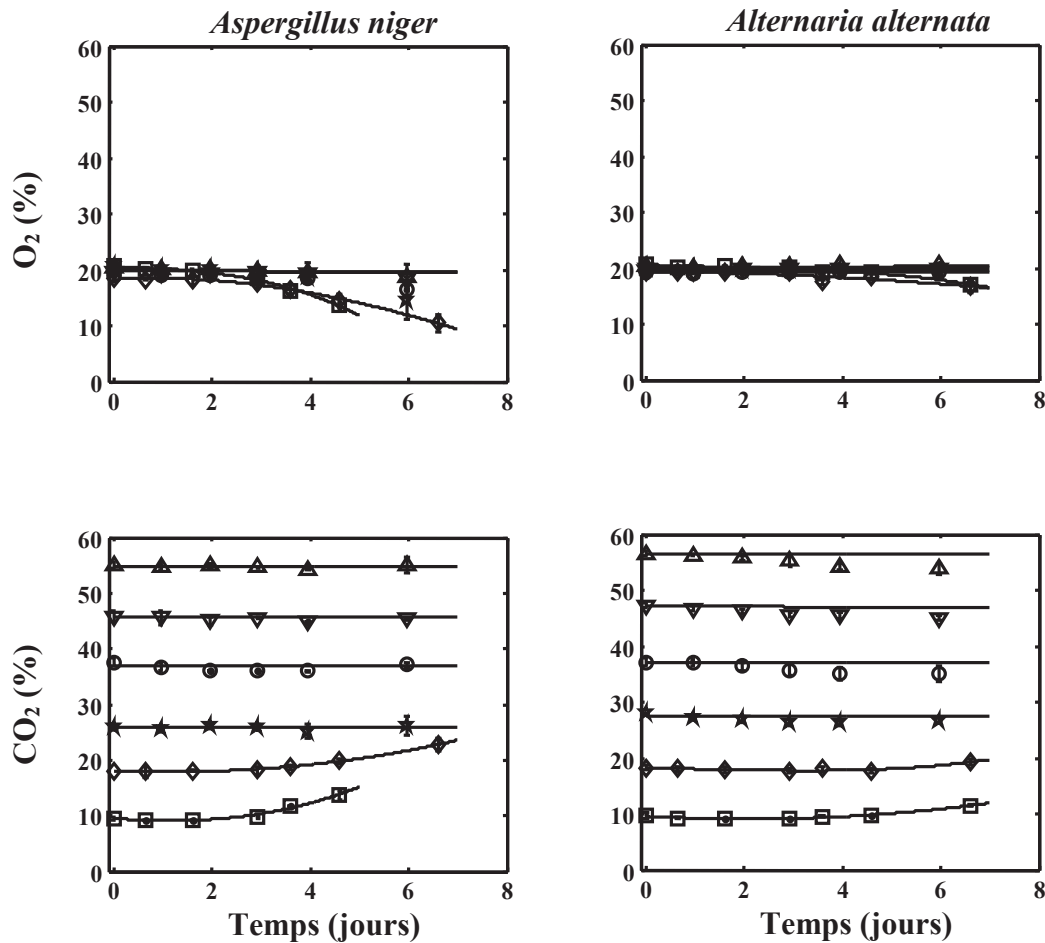


Figure 22. Évolution de la concentration de CO_2 et d' O_2 dans l'espace de tête des sacs en polyéthylène (système fermé). Les pourcentages initiaux de CO_2/O_2 (% V/V) pour *Asp. niger* : \square 9,5/20,6, \diamond 18,0/18,4, \star 26,0/20,65, \circ 37,6/19,1, ∇ 45,8/19,6 et Δ 55,1/20,4. Pour *Alt. Alternata* : \square 9,7/20,8, \diamond 18,2/19,3, \star 27,9/20,2, \circ 37,2/19,2, ∇ 47,3/19,6 et Δ 56,5/20,5. Les barres d'erreur représentent les écarts-types ($n = 3$).

3.5.2 Modélisation primaire : croissance en fonction du temps

Le modèle linéaire à deux phases proposé par Gougouli et Koutsoumanis (2010) a été choisi comme modèle de croissance primaire. Ce modèle est simple, robuste et décrit parfaitement la croissance des moisissures. Les paramètres cinétiques, la vitesse de croissance (μ) et le temps de latence (λ) ont été estimés pour toutes les conditions (résultats présentés dans le tableau 7). Les valeurs des RMSE (1,9 mm en moyenne pour toutes les conditions) ont confirmé la qualité de l'ajustement du modèle linéaire à deux phases par rapport aux données expérimentales de croissance $d^{(t)}$.

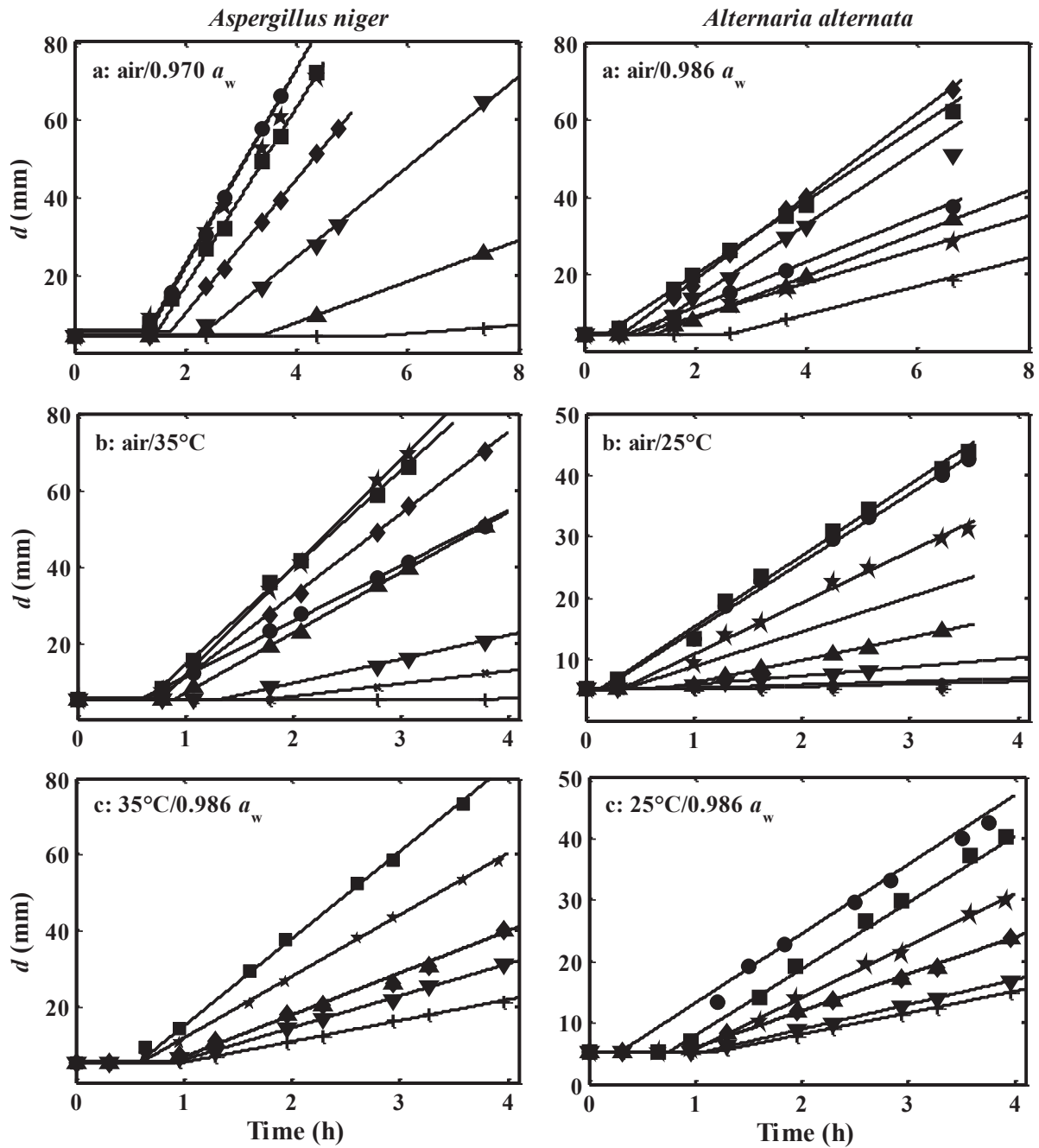


Figure 23. Cinétique de croissance des diamètres $d^{(t)}$ expérimentaux (symboles) et simulés (lignes continues) pour *Asp. niger* et *Alt. alternata* à différentes températures (a: + 10, ▲ 15, ▼ 20, ◆ 25, ■ 30, ● 35, et ★ 37°C), activités de l'eau (b: ● 0,993, ■ 0,979, ★ 0,952, ◆ 0,928, ▲ 0,908, ▼ 0,871, × 0,852, + 0,828 et * 0,818) et concentrations en CO₂ (c: ■ 9,4, ★ 18,1, ◆ 26,3, ▲ 36,4, ▼ 45,7 et + 55,1 %). Les barres d'erreur représentent les écarts types ($n = 3$).

Les données de croissance des deux souches *Asp. niger* et *Alt. alternata* sont basées sur les diamètres des colonies de ces souches. D'après la figure 23, la croissance en fonction du temps est linéaire après une phase de latence. Cette phase de latence est définie comme la

période pendant laquelle les diamètres des colonies $d^{(t)}$ restent égaux au diamètre initial $d^0 = 4-5$ mm. Ce diamètre correspond au diamètre initial de la goutte de suspension de spores déposée sur la gélose. Cette méthode se base sur un diamètre initial préétabli qui intègre le processus de germination des spores des deux espèces étudiées ; celle-ci simplifie l'acquisition des données de croissance et facilite l'estimation du temps de latence (λ).

La croissance des moisissures dans les aliments ou des matrices alimentaires modèles est inhibée par divers facteurs environnementaux. Dans cette étude, les plus importants sont la température, l' a_w , et la concentration en CO_2 dans l'atmosphère de croissance (atmosphère modifiée). La vitesse de croissance (μ) des deux souches fongiques diminue lorsque T et a_w sont baissées à partir de leurs valeurs optimales, et elle diminue continuellement avec l'augmentation de la concentration de CO_2 (tableau 7). La comparaison des valeurs estimées des vitesses de croissances μ pour *Asp. niger* et *Alt. alternata* dans les mêmes conditions d'essai de température, d' a_w et de CO_2 , indiquent qu'*Asp. niger* possède une vitesse de croissance significativement plus rapide qu'*Alt. alternata* alors que les temps de latences sont plus courts pour cette dernière. Par exemple à 35°C , la vitesse de croissance d'*Asp. niger* ($25,55 \pm 0,30$ mm jour⁻¹) est 4,4 fois supérieure à celle d'*Alt. alternata* ($5,82 \pm 0,76$ mm jour⁻¹). À la même température et à une a_w de 0,952, *Asp. niger* manifeste une plus grande vitesse de croissance comparé aux vitesses estimées dans toutes les conditions testées ($28,21 \pm 3,14$ mm jour⁻¹). La vitesse la plus faible et le temps de latence le plus long ont été mesurés pour *Asp. niger* dans les conditions de croissance sous air, à 10°C de température et pour une a_w de 0,970.

Dans la croissance bactérienne, le temps de latence λ peut être déterminé par le rapport entre la quantité de « travail » qu'une bactérie doit effectuer afin de s'adapter à son nouvel environnement et la vitesse à laquelle elle est capable de l'effectuer (Delignette-Muller, 1998 ; Robinson *et al.*, 1998). Ce travail d'adaptation est appelé *état physiologique* des cellules microbiennes ; il est défini par le produit $\mu \times \lambda$, et ce dernier est constant pour des états de pré-inoculation identiques des cultures (Baranyi et Roberts, 1994). Contrairement à la croissance bactérienne, le produit $\mu \times \lambda$ chez les moisissures n'a pas été étudié en détail dans la littérature (Gougouli et Koutsoumanis, 2010). Dans notre étude, le produit $\mu \times \lambda$ est relativement constant pour chaque facteur environnemental étudié (T , a_w et CO_2), mais avec une faible corrélation entre μ et $1/\lambda$ (Figure 24). De leur côté, Gougouli et Koutsoumanis (2010) ont rapporté que le produit $\mu \times \lambda$ est relativement constant pour la croissance d'autres moisissures (*Penicillium expansum* et d'*Asp. niger*) à différentes températures d'incubation.

Les vitesses de croissance μ ont été modélisées à la suite de la modélisation primaire, en raison de la difficulté de développer une modélisation secondaire à partir des λ .

Tableau 7. Vitesses de croissance (μ) sur milieu synthétique PDA et temps de latence (λ) estimés pour *Asp. niger* et *Alt. alternata* à différentes températures, activités de l'eau et concentrations en CO₂.

Facteurs environnementaux	<i>Asp. niger</i>			<i>Alt. alternata</i>		
	μ (mm jour ⁻¹)	λ (jours)	RMSE (mm)	μ (mm jour ⁻¹)	λ (jours)	RMSE (mm)
Température °C (air, 0,970 a_w pour <i>Asp. niger</i> et 0,986 a_w pour <i>Alt. alternata</i>)						
10	1,13 ± 0,04	5,5 ± 0,5	0,05	3,67 ± 0,41	2,6 ± 0,3	1,10
15	5,29 ± 0,09	3,5 ± 0,3	0,94	5,54 ± 0,71	1,3 ± 0,3	1,34
20	11,64 ± 0,16	2,3 ± 0,3	1,16	9,57 ± 1,54	1,0 ± 0,2	1,93
25	17,30 ± 0,21	1,7 ± 0,2	0,94	10,78 ± 1,22	0,7 ± 0,3	2,87
30	23,05 ± 0,029	1,5 ± 0,2	1,42	9,58 ± 1,08	0,4 ± 0,2	2,62
35	25,55 ± 0,30	1,3 ± 0,3	1,01	5,82 ± 0,76	0,8 ± 0,3	1,59
37	21,97 ± 2,58	1,2 ± 2,1	4,33	4,34 ± 0,62	1,0 ± 0,3	1,27
40	0	ND	ND	ND	ND	ND
Activité de l'eau (air, 35°C pour <i>Asp. niger</i> et 25°C pour <i>Alt. alternata</i>)						
0,993	14,47 ± 1,35	0,6 ± 0,1	3,09	11,2 ± 1,2	0,2 ± 0,1	2,84
0,979	25,44 ± 2,43	0,7 ± 0,1	4,33	11,6 ± 1,1	0,2 ± 0,2	3,13
0,952	28,21 ± 3,14	0,8 ± 0,1	4,32	8,4 ± 0,9	0,4 ± 0,2	2,10
0,928	21,41 ± 2,13	0,8 ± 0,1	4,00	5,6 ± 0,7	0,3 ± 0,2	1,53
0,908	15,79 ± 1,93	0,9 ± 0,2	2,83	3,7 ± 0,7	0,8 ± 0,2	0,87
0,871	12,81 ± 1,98	1,1 ± 0,5	2,63	1,4 ± 0,5	0,5 ± 0,5	0,64
0,852	6,27 ± 0,51	1,3 ± 0,2	2,98	0,5 ± 0,4	0,6 ± 0,8	0,57
0,828	3,30 ± 0,33	1,8 ± 0,3	1,57	0,4 ± 0,5	1,1 ± 1,0	0,57
0,818	0,37 ± 0,02	3,5 ± 0,3	0,06	0	ND	ND
CO₂ (% , V/V) (35°C et 0,970 a_w pour <i>Asp. niger</i>, 25°C et 0,986 a_w pour <i>Alt. alternata</i>)						
9,4 ± 0,2	22,59 ± 1,70	0,5 ± 0,1	4,02	11,37 ± 1,10	0,8 ± 0,1	2,41
18,1 ± 0,5	16,20 ± 1,54	0,6 ± 0,2	3,66	8,49 ± 1,02	1,0 ± 0,2	1,85
26,3 ± 0,7	11,05 ± 1,28	0,9 ± 0,2	2,74	6,02 ± 0,93	0,9 ± 0,3	1,38
36,4 ± 0,8	7,20 ± 0,63	0,7 ± 0,2	1,71	4,13 ± 0,72	1,1 ± 0,3	0,93
45,7 ± 0,7	4,67 ± 0,58	0,9 ± 0,2	1,20	2,48 ± 0,43	1,0 ± 0,3	0,81
55,1 ± 0,8	3,21 ± 0,59	0,7 ± 0,3	1,10	1,92 ± 0,48	1,1 ± 0,5	0,70

Valeurs moyennes ± intervalle de confiance à 95% déterminé par la méthode de Monte-Carlo (2 000 tirs aléatoires).

RMSE (Root Mean Squared Error) : La racine de la moyenne de la somme des carrés des écarts entre les $d^{(i)}$ prédits et les $d^{(i)}$ simulés.

ND : Non Déterminé.

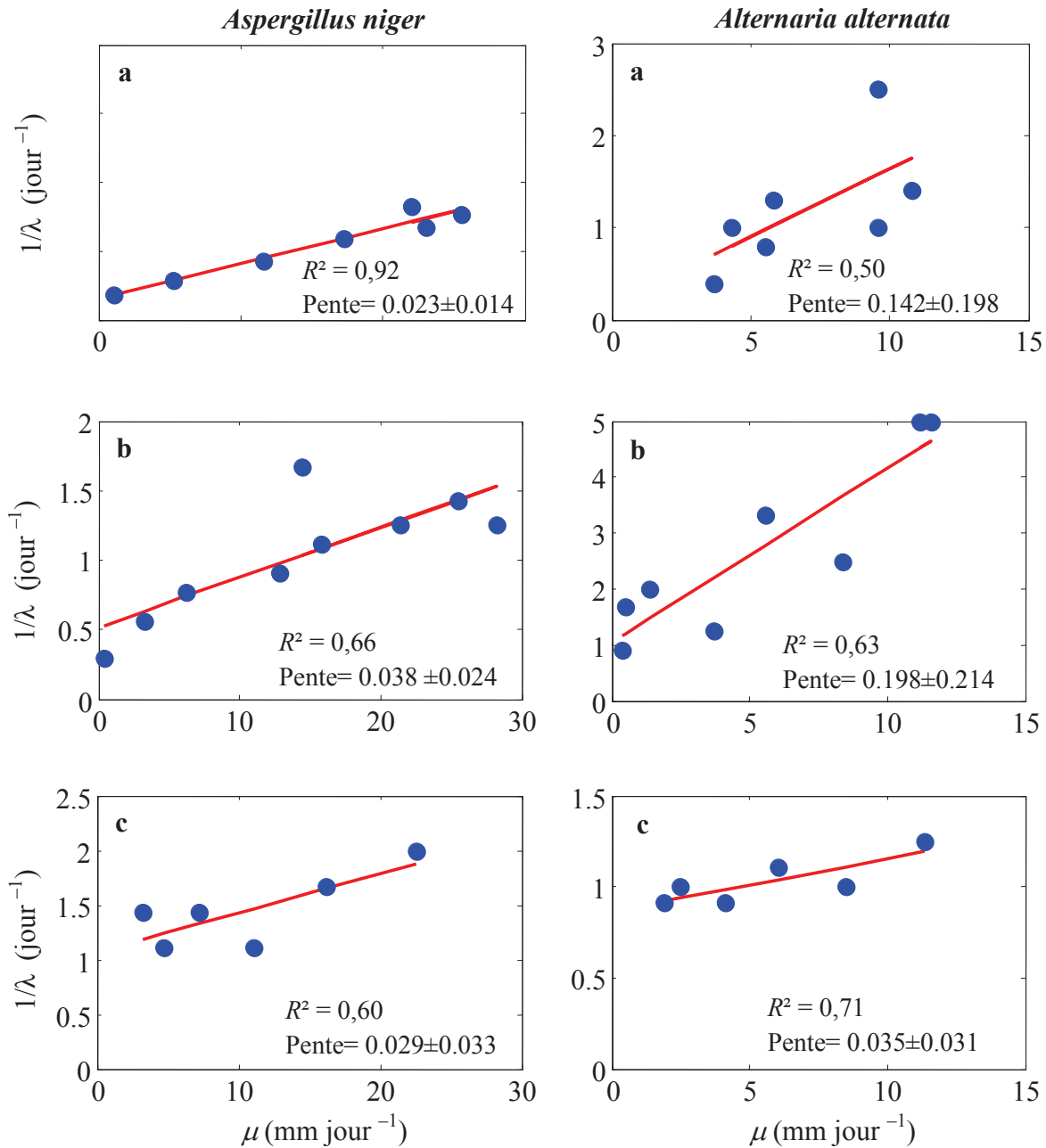


Figure 24. Relation entre le temps de latence λ et la vitesse de croissance μ d'*Asp. niger* et d'*Alt. alternata* : effet de la température (a), de l' a_w (b) et du CO_2 (c). Valeurs moyennes des pentes \pm intervalle de confiance à 95%.

3.5.3 Modélisation secondaire : effet de T , a_w et du CO_2 sur les vitesses de croissance d'*Asp. niger* et de *Alt. alternata*

Concernant la modélisation secondaire, l'équation 21 (basée sur le γ -concept) associe le modèle cardinal avec inflexion décrivant l'effet de T et d' a_w (équation 26), le modèle cardinal

simple décrivant l'effet du CO₂ (équation 26). L'équation 21 a été ajustée avec succès aux données précédemment identifiées de taux de croissance (μ). La bonne qualité d'ajustement de cette équation est justifiée par les courbes présentées dans la figure 25, ainsi que les faibles valeurs des RMSE (0,41 et 0,29 mm jour⁻¹ pour *Asp. niger* et *Alt. alternata* respectivement) indiquées dans le tableau 7. Les modèles cardinaux ont été appliqués avec succès dans de nombreuses études (Garcia *et al.*, 2011 ; Marín *et al.*, 2009 ; Panagou *et al.*, 2010 ; Sautour *et al.*, 2001). L'avantage de ces modèles est le faible nombre de paramètres, ce qui facilite leurs estimations (procédure de convergence). En outre, comparés aux paramètres des modèles polynomiaux, les paramètres des modèles cardinaux ont une signification physiologique et biologique (Brul et Klis, 1999).

Le peu d'études publiées sur la modélisation de l'effet du CO₂ sur la croissance microbienne utilisent principalement des modèles polynomiaux. Il convient de souligner cependant, qu'aucune approche de modélisation cardinale n'a été trouvée dans la littérature décrivant l'effet du CO₂ sur la croissance fongique, bien que l'effet du CO₂ sur la croissance bactérienne soit décrit par un modèle cardinal (Ross et Dalgaard, 2004a), appliqué à la croissance de *Morganella psychrotolerans* (Emborg et Dalgaard, 2008). Dans notre étude, le modèle cardinal a été appliqué avec succès pour décrire l'effet du CO₂ sur les vitesses de croissance des deux souches fongiques *Asp. niger* et *Alt. alternata*, comme le montrent les courbes en bas de la Figure 25.

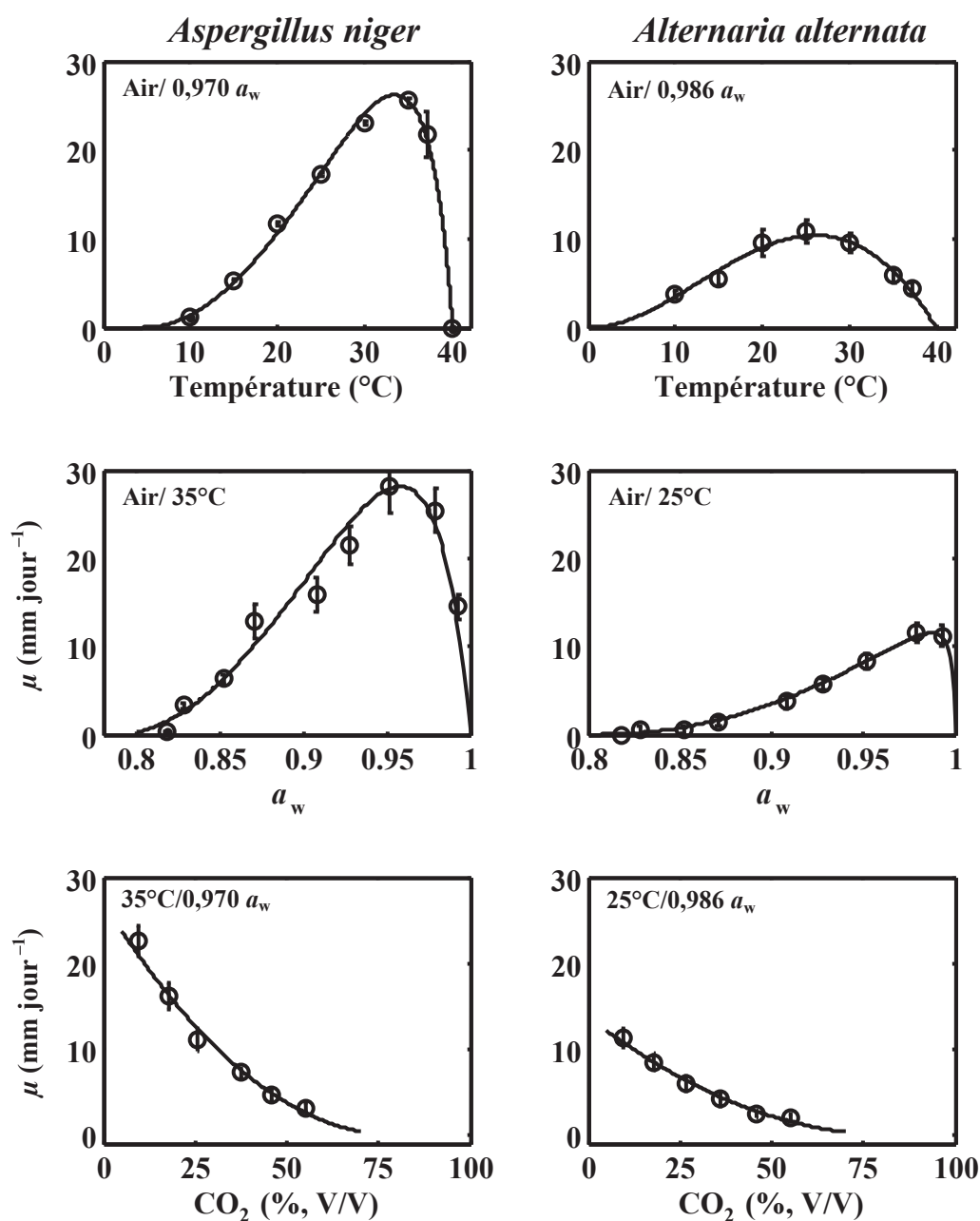


Figure 25. Vitesses de croissance (μ) d'*Asp. niger* et d'*Alt. alternata* en fonction de la température, de l'activité de l'eau et de la concentration en CO_2 . Les lignes continues sont les vitesses simulées en utilisant le modèle cardinal avec inflexion pour décrire l'effet de l'activité de l'eau et de la température, et le modèle cardinal simple pour décrire l'effet de la concentration en CO_2 . Les barres d'erreur représentent les intervalles de confiance à 95% des valeurs de μ estimées.

Les paramètres estimés des facteurs environnementaux testés (valeurs minimales, maximales et optimales) du modèle cardinal secondaire sont présentés dans le tableau 8. *Asp. niger* manifeste une vitesse de croissance plus rapide ($\mu_{\text{opt}} = 28,6 \pm 2,5 \text{ mm jour}^{-1}$) ainsi qu'une plus grande tolérance aux faibles a_w ($a_{w \text{ min}} = 0,786 \pm 0,006$) qu'*Alt. alternata* ($\mu_{\text{opt}} = 12,1 \pm 1,4 \text{ mm jour}^{-1}$, $a_{w \text{ min}} = 0,808 \pm 0,004$), tandis qu'*Alt. alternata* est plus tolérante aux fortes concentrations en CO_2 qu'*Asp. niger*, avec respectivement des concentrations en CO_2 maximales de $95,1 \pm 6,8 \%$ et $79,8 \pm 4,0 \%$.

Tableau 8. Paramètres cardinaux estimés pour la croissance d'*Asp. niger* et *Alt. alternata* sur milieux synthétique PDA.

Paramètres	<i>Asp. niger</i>	<i>Alt. alternata</i>
$\mu_{\text{opt}} \text{ (mm jour}^{-1}\text{)}$	$28,6 \pm 2,5$	$12,1 \pm 1,4$
$T_{\text{min}} \text{ (}^\circ\text{C)}$	$4,4 \pm 1,5$	$1,6 \pm 3,4$
$T_{\text{opt}} \text{ (}^\circ\text{C)}$	$34,2 \pm 1,5$	$26,1 \pm 1,3$
$T_{\text{max}} \text{ (}^\circ\text{C)}$	$39,0 \pm 1,1$	$39,4 \pm 0,9$
$a_{w \text{ min}}$	$0,786 \pm 0,006$	$0,808 \pm 0,004$
$a_{w \text{ opt}}$	$0,958 \pm 0,006$	$0,988 \pm 0,008$
$a_{w \text{ max}}^*$	1	1
$\text{CO}_2 \text{ opt}^* \text{ (\%)} $	0,0	0,0
$\text{CO}_2 \text{ max} \text{ (\%)} $	$79,8 \pm 4,0$	$95,1 \pm 6,8$
<i>RMSE</i> (mm jour⁻¹)	0,41	0,29

Valeurs moyennes \pm intervalle de confiance à 95% déterminé par la méthode de Monte-Carlo (5 000 tirs aléatoires).

RMSE (Root Mean Squared Error): La racine de la moyenne des carrés des écarts entre les μ prédites et les μ simulées.

*Valeurs définies.

Les T et les a_w minimales sont inférieures à celles rapportées par certains auteurs pour les deux souches. La T_{min} estimée ($4,4 \pm 1,6^\circ\text{C}$) était plus faible que les valeurs rapportées par Astoreca *et al.* (2012) ($8,4\text{-}10^\circ\text{C}$), Gougouli et Koutsoumanis (2010) ($10,1^\circ\text{C}$), et à celles citées par Pitt et Hocking (2009) ($6\text{-}8^\circ\text{C}$). Il faut signaler que dans notre cas, à une température testée de 10°C , *Asp. niger* manifeste une vitesse de croissance assez significative

de $1,13 \pm 0,04 \text{ mm jour}^{-1}$. La T_{max} ($39,8 \pm 1,1^\circ\text{C}$) est relativement proche de celles rapportées par Astoreca *et al.* (2012) ($\sim 40^\circ\text{C}$) et Gougouli et Koutsoumanis (2010) ($43,1^\circ\text{C}$), mais inférieure à celles de Pitt et Hocking (2009) ($45\text{--}47^\circ\text{C}$). T_{opt} ($34,2^\circ \pm 1,4 \text{ C}$) est dans la même gamme de valeurs rapportées par Vats et Banerjee (2002) (30°C), Gougouli et Koutsoumanis (2010) ($33,1^\circ\text{C}$), Sautour *et al.* (2001) (31°C) et Leong *et al.* (2006) (35°C). En ce qui concerne *Alt. alternata*, T_{opt} ($26,1 \pm 1,3^\circ\text{C}$) est similaire aux valeurs déterminées expérimentalement ($25,0^\circ\text{C}$) par Sautour *et al.* (2001) ainsi qu'Oviedo *et al.* (2011).

Les a_w optimales et minimales estimées ont été également comparées avec les données publiées dans la littérature. Dans le cas d'*Alt. alternata*, $a_{w \text{ opt}}$ et $a_{w \text{ min}}$ ($0,988 \pm 0,008$ et $0,808 \pm 0,004$, respectivement) sont proches des valeurs déterminées expérimentalement par Pose *et al.* (2009) ($0,982/0,922$), Oviedo *et al.* (2011) ($0,98/0,90$), Torres *et al.* (2003) ($0,98/\text{ND}$), et les valeurs estimées par Sautour *et al.* (2001) en utilisant le modèle de Rosso ($0,987/0,883$). Pour *Asp. niger*, les valeurs d' $a_{w \text{ opt}}$ et $a_{w \text{ min}}$ ($0,958 \pm 0,006$ et $0,786 \pm 0,006$, respectivement) sont légèrement différentes à celles estimées par Parra et Magan (2004) ($0,97/ 0,80$), et celles rapportées par Tassou *et al.* (2007) ($0,962 \pm 0,004 / 0,826 \pm 0,037$). Bien qu'*Alt. alternata* soit une souche fongique non xérophilique, les deux souches sont capables de croître à des a_w inférieures à 0,85 lorsque les deux facteurs T et CO_2 sont à leurs niveaux optimums. Cette xérotolérance exprimée par ces souches à travers leur $a_{w \text{ min}}$ est probablement due à l'environnement sur lequel elles ont été isolées. En effet, l' a_w des dattes peut varier de 0,65 (datte sèche) à 0,85 (datte à humidité intermédiaire).

Toutes les concentrations de CO_2 testées ont eu un effet significatif sur la croissance des deux souches fongiques. Pour *Asp. niger* et *Alt. alternata* respectivement, μ est réduite de 49 et 53% lorsqu'elles sont exposées à environ 26% CO_2 , et jusqu'à 86 et 83% pour environ 55% de CO_2 . Il est important de signaler que le CO_2 a eu un effet sur la morphologie des colonies. En effet, à des concentrations élevées de CO_2 (55% par exemple), les colonies d'*Asp. niger* sont blanches, compactes et ridées, avec une pigmentation brun clair observée du verso de la boîte. De leur côté, les colonies d'*Alt. alternata* deviennent blanches et cotonneuses, avec une légère teinte verdâtre au centre. Pour les deux espèces étudiées, les concentrations maximales de CO_2 peuvent être comparées aux valeurs de CO_2 maximales obtenues pour d'autres espèces. La croissance *Eurotium chevalieri* et *Xeromyces bisporus* est totalement inhibée dans 80 % $\text{CO}_2/20 \%$ O_2 d'atmosphère, mais seulement retardée dans le cas de *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium commune* et *Byssoschlamys fulva* (Taniwaki *et al.*, 2010). El Halouat et Debevere (1997) ont constaté que 80 % CO_2 et 20 % N_2 où 60 % CO_2 et

40 % N₂ peuvent inhiber complètement la germination de *Eurotium amstelodami* et *Fusarium oxysporum*, mais des conditions similaires n'ont pas empêché la germination et la croissance *Aspergillus niger* et *Penicillium. Chysogenum*.

Cairns-Fuller *et al.* (2005) ont souligné une nette interaction entre les effets d' a_w et de CO₂ sur la croissance des levures et des moisissures : sur des grains de blé à une a_w optimale de 0,95, les vitesses de croissance de *Penicillium verrucosum* sont diminuées de 40 % quand la moisissure est exposée à une atmosphère de 25 % CO₂ et par 75% pour 50 % CO₂. La vitesse de croissance est réduite à 90 % pour 50 % de CO₂ et 0,90 d' a_w .

3.5.4 L'interface de croissance/non-croissance

L'avantage d'inclure les interactions entre les paramètres environnementaux pour prédire les limites de croissance/non-croissance microbiennes a été souligné dans de nombreuses études (Augustin, 1999 ; Le Marc *et al.*, 2002 ; Mejlholm et Dalgaard, 2007 ; Zuliani *et al.*, 2007). Ici, les interactions entre l' a_w et le CO₂ sur les vitesses de croissance des deux souches fongiques ont été modélisées en utilisant l'approche déterministe proposée par Le Marc *et al.* (2002).

L'interface définie par le modèle d'interaction (Équation 31) a été comparée avec de nouvelles observations expérimentales de croissance/non-croissance (Figure 26). Le modèle déterministe utilisé décrit correctement l'effet des interactions entre l' a_w et les concentrations en CO₂, ainsi que les limites de croissance/non-croissance, à la fois pour *Asp. niger* et pour *Alt. alternata*. Toutes les observations expérimentales ont été correctement prédites pour *Alt. alternata*, et pour *Asp. niger*. Seulement deux observations ont été prédites à tort parmi toutes les observations expérimentales (croissance dans l'interface non-croissance à 0,86 a_w /60 % CO₂ et à 0,88 a_w /65 % CO₂). Toute hausse d' a_w doit être compensée par une augmentation de la concentration en CO₂ pour atteindre la limite de non-croissance. Par exemple, pour *Asp. niger*, lorsque l' a_w augmente de 0,80 à 0,85, la concentration en CO₂ doit être renforcée de 18 % à 46 %, soit une augmentation de 28 %. Pour *Alt. alternata*, une augmentation d'environ 32 % de CO₂ serait nécessaire pour une même augmentation en a_w de 0,05.

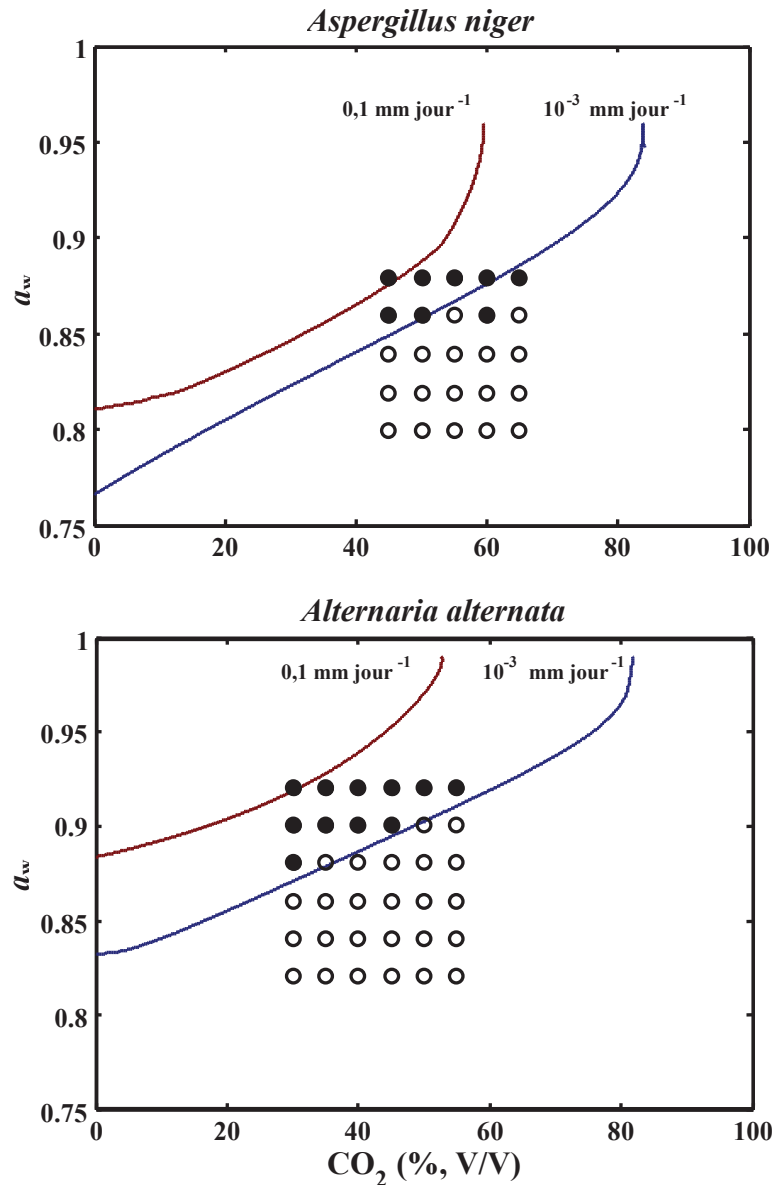


Figure 26. Interface de croissance/non-croissance d'*Asp. niger* et d'*Alt. alternata* en fonction de l' a_w et de la concentration en CO_2 . Comparaison des données observées de croissance (●) et de non-croissance (○) et limite prédite par l'équation 32 (ligne continue). Les symboles en carré présentent les données observées en condition de croissance (■) et non-croissance (□) sur pâte de dattes.

3.5.5 Évaluation de la performance des modèles sur pâte de datte

En utilisant le γ -concept (Équation 32), les paramètres sont déterminés de façon indépendante sur un milieu synthétique PDA. Une vitesse de croissance optimale (μ_{opt}) peut être ensuite déterminée à partir des cinétiques de croissances réalisées sur une matrice alimentaire réelle. Cette méthode a été utilisée avec succès par Judet-Correia *et al.* (2010) pour la croissance de

Botrytis cinerea et *Penicillium expansum* sur des baies de raisin. Dans notre étude, la croissance des deux souches a été réalisée sur pâte de dattes *Deglet-Nour* comme matrice réelle en substitution à une datte entière. Le choix de cette matrice est justifié par le fait que la pâte de dattes est une matrice homogène et qui permet de réaliser des croissances sur une surface plane. L'estimation des paramètres cardinaux sur pâte de dattes permet d'inclure de possibles effets des facteurs environnementaux qui ne sont pas pris en compte par la croissance en milieu synthétique PDA. Les paramètres vitesses de croissance μ déterminés sur pâte de dattes sont présentés dans le tableau 9.

Tableau 9. Vitesses de croissance μ estimées pour *Asp. niger* et *Alt. alternata* sur pâte de dattes.

Facteurs environnementaux CO_2 (% V/V)/ a_w /T (°C)	<i>Asp. niger</i>		<i>Alt. alternata</i>	
	μ (mm jour ⁻¹)	RMSE (mm)	μ (mm jour ⁻¹)	RMSE (mm)
00/0,86/25	1,68 ± 0,18	2,16	AC	AC
00/0,92/15	1,02 ± 0,34	0,36	1,39 ± 0,27	2,32
10/0,86/25	1,04 ± 0,14	1,38	AC	AC
10/0,92/15	0,18 ± 0,01	0,08	2,03 ± 0,44	3,01
20/0,90/25	2,25 ± 0,24	2,66	1,14 ± 0,17	1,54
30/0,90/25	1,17 ± 0,18	1,34	0,32 ± 0,07	0,68

RMSE (Root Mean Squared Error) : La racine de la moyenne des carrés des écarts entre les $d^{(t)}$ prédits et les $d^{(t)}$ simulés.

AC : Absence de Croissance.

Afin d'évaluer la performance du modèle γ -concept, les facteurs d'exactitude A_f et un facteur de biais B_f ont été calculés. Les valeurs de biais et d'exactitude sont $B_f = 1,18$ et $1,03$ et $A_f = 1,72$ et $1,23$ pour *Asp. niger* et *Alt. alternata* respectivement. La valeur de B_f est proche de 1 pour *Asp. niger* et supérieure à 1 pour les deux souches, indiquant que, globalement le modèle γ -concept prédit des vitesses légèrement supérieures à celles observées. La valeur de A_f est supérieure à 1 pour les deux souches, et la valeur la plus élevée est obtenue pour *Asp. niger*. Ces valeurs indiquent, en moyenne, que les prédictions sont déviées de celles observées de 72% pour *Asp. niger* et de 23% pour *Alt. alternata*. La comparaison graphique des vitesses prédites et celles observées sur pâte de dattes est présentée dans la figure 27.

Les valeurs de B_f montrent que le modèle γ -concept surestime les vitesses de croissance ($\mu_{\text{prédit}} > \mu_{\text{observé}}$) pour *Asp. niger* et *Alt. alternata*. Cela indique que le modèle est « optimiste » et fournit des prédictions plutôt conservatrices (Ross, 1996). De leur côté, les valeurs de A_f

montrent que le modèle prédit mieux les vitesses de croissance pour *Alt. Alternata* (déviations 23%) que pour *Asp. niger* (déviations 72%). Cette qualité de prédiction pour *Alt. alternata* est confirmée par la bonne dispersion des points autour de la bissectrice présentée dans la figure 27. Il est important de signaler que la qualité de prédiction du modèle γ -concept est améliorée lorsqu'un terme d'interaction ξ est ajouté. En effet, les valeurs de B_f et de A_f calculées à partir des vitesses simulées en utilisant l'équation 33 (avec le terme ξ), sont respectivement plus faibles et proches de 1 comparé à celles issues des vitesses calculées par l'équation 32 (sans le ξ).

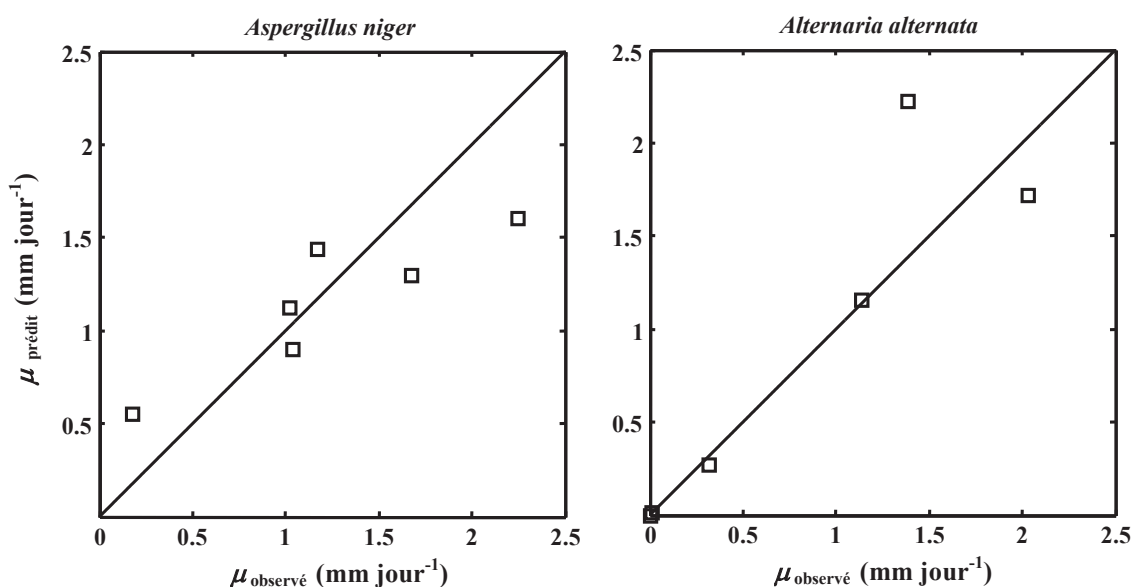


Figure 27. Comparaison des vitesses de croissances d'*Asp. niger* et d'*Alt. alternata* calculées avec l'équation 33 et celles observées sur pâte de dattes à différentes conditions de T , d' a_w et de concentrations en CO_2 .

De meilleures valeurs de B_f et de A_f ont été rapportées dans la littérature témoignant du succès de la validation du modèle γ -concept sur d'autres matrices alimentaires. Judet-Correia *et al.* (2010) ont obtenu un $B_f = 1,01-1,06$ et un $A_f = 1,11-1,29$, pour décrire l'effet de la T et de l' a_w sur la croissance de *Botrytis cinerea* et de *Penicillium expansum* sur une matrice équivalente au raisin. Des valeurs tout à fait comparables aux nôtres ($B_f = 1,31$ et $A_f = 1,59$) ont été obtenues par Tassou *et al.* (2007) à partir des données de la littérature, décrivant l'effet de la T et de l' a_w sur la croissance de *Asp. carbonarius* sur des raisins de cuve.

3.5.6 Conclusions partielles

Les effets combinés de la température (10-40°C), de l' a_w (0,993-0,818) et de la concentration en CO₂ (9,4-55,1%, V/V) sur la vitesse de croissance ont été quantifiés et modélisés. Les résultats de cette étude ont mis en évidence l'effet significatif de ces facteurs environnementaux (T , a_w et CO₂) sur les vitesses de croissance des deux souches fongiques étudiées. *Asp. niger* manifeste une vitesse de croissance plus rapide et une plus grande tolérance aux faibles a_w qu'*Alt. alternata*, tandis qu'*Alt. alternata* est plus tolérante aux concentrations en CO₂ qu'*Asp. niger*. L'étude de la performance du modèle sur pâte de dattes a permis d'inclure les effets d'autres facteurs environnementaux et de leurs interactions, qui sont à l'origine de l'effet matrice. Les valeurs de B_f et A_f montrent que le modèle γ -concept surestime les vitesses de croissance ($\mu_{\text{prédit}} > \mu_{\text{observé}}$) avec des déviations assez importantes (72% et 23% pour *Asp. niger* et *Alt. alternata*, respectivement). Mais le modèle reste optimiste avec des prédictions conservatrices. L'approche déterministe (Le Marc *et al.*, 2002) a décrit correctement les limites de croissance/non-croissance définies par l'effet combiné de l' a_w et de la concentration en CO₂. Les résultats des modèles développés dans cette étude peuvent être utilisés avantageusement : 1) pour prédire et optimiser une conservation sécurisée en inhibant la croissance d'*Asp. niger* et *Alt. Alternata*, par des combinaisons de T et d' a_w dans un emballage enrichi en CO₂, 2) pour évaluer les risques d'altération de la datte *Deglet-Nour* à humidité intermédiaire.

4 DISCUSSION GÉNÉRALE

4.1 Quelle est la qualité de datte visée pour la conservation ?

La recherche de solutions technologiques et les conditions de stockage qui seront mises en œuvre pour la conservation de ce fruit dépendent de la qualité cible de la datte. La première partie de l'étude bibliographique a mis en lumière les différents états physiologiques de récolte et de consommation de la datte *Deglet-Nour*. Le détail de l'évolution biochimique et le développement au cours des différents stades de maturation a permis de comprendre les caractéristiques organoleptiques des dattes immatures. En effet, ce fruit peut être cueilli à un stade de maturité précoce : à la fin du stade *Khalal* (stade 3/5) et au stade *Routab* (stade 4/5). La *Deglet-Nour* est très appréciée au stade *Routab*, car elle possède une couleur très attractive, une texture caractéristique d'un fruit frais (pulpe tendre) et un goût fruité. Au stade *Khalal*, la datte gagne sa couleur caractéristique de fruit mûr. Au début de ce stade, elle est marquée par une texture dure et une astringence prononcée. Le ramollissement du fruit commence à l'extrémité apicale, puis s'étend progressivement sur toute la datte, avec l'astringence qui s'atténue au fur et à mesure. Ces descriptions peuvent définir la qualité de la *Deglet-Nour* visée dans ce travail. En effet, le fruit est récolté soit au stade *Routab* pour une consommation directe, ou bien au stade *Khalal* avec un fruit qui peut continuer son murissement après récolte pour une consommation ultérieure. La *Deglet-Nour* échantillonnée a été récoltée entre la fin du stade *Khalal* et au stade *Routab* dans son intégralité.

Un conditionnement sous atmosphère modifiée a été réalisé dans le but de réduire la vitesse de murissement d'une *Deglet-Nour* en fin du stade *Khalal*, et de conserver les propriétés organoleptiques caractéristiques de cette datte dite de qualité *premium*. Cet essai a conduit au gonflement de l'emballage et à l'altération du fruit au bout de 1 à 2 semaines de stockage (Figure 28).



(1) *Deglet-Nour*
(en fin du stade *Khalal*)

(2) Conditionnement
sous atmosphère modifiée

(3) Emballage gonflé
(1 à 2 semaines de stockage)

Figure 28. Essais de conditionnement sous atmosphère modifiée pour des dattes *Deglet-Nour* en fin de stade *Khalal*.

Les dattes *premium* étant riches en sucre et ayant une activité en eau élevée ($a_w = 0,80-0,85$) sont le siège d'altérations microbiologiques (Figure 29) ou biochimiques. On peut douter donc qu'un conditionnement sous atmosphère modifiée seule puisse être suffisant pour surmonter les altérations microbiennes de la datte fraîche au cours du stockage. En effet un développement anaérobie de microorganismes, qui correspond à des fermentations, peut se produire. La mise sur le marché de ce type de dattes rapidement périssables avec ou sans conditionnement, nécessite une maîtrise de ces microorganismes d'altération caractéristiques de ce fruit.



Altération par les levures



Altération par les moisissures

Figure 29. Altération fongique des dattes *Deglet-Nour*, photos prises dans une chambre froide de stockage dans une entreprise de conditionnement de dattes (Biskara, Algérie).

4.2 Quelles sont les microorganismes d'altération caractéristiques de la *Deglet-Nour* ?

Avant de déterminer l'identité des microorganismes d'altération de la *Deglet-Nour*, le degré de contamination du fruit a été mesuré. La détermination de la charge en population fongique totale ainsi qu'en levures osmophiles est la première tâche réalisée. Elle varie respectivement de 2 à 2,7 log UFC/g et de 1 à 1,3 log UFC/g. Cette charge est celle présente sur le fruit encore sur le palmier ; elle est susceptible d'augmenter (1 à 3 log) après sa récolte, et cette augmentation dépend des pratiques utilisées pendant et après la récolte. La présence d'éventuelle contamination au niveau de la pulpe a été vérifiée, et l'analyse a révélé l'absence de contamination. Aussi la charge fongique déterminée est présente uniquement à la surface de la dattes. Cette observation, ouvre la voie à des traitements thermiques de surface.

À partir des populations dénombrées, deux types de colonies de moisissures différentes morphologiquement, et un type de levure osmophile ont été isolés. Ces colonies ont été identifiées pour les trois régions échantillonnées. Les deux espèces de moisissures sont *Aspergillus niger* et *Alternaria alternata*, et la levure osmophile était *Candida apicola*. *A. niger* et *A. alternata* ont déjà été signalées comme des agents d'altération pour d'autres variétés de dattes. Ces deux souches sont aussi susceptibles de produire des métabolites toxiques (mycotoxines) présentant un danger pour la santé. Concernant *C. apicola*, aucune étude n'a signalé la présence de celle-ci sur le fruit dattier. Cette espèce nécessite plus d'attention, car elle possède des caractéristiques particulières (xérotolérante, osmotolérante, métabolisme fermentaire important). Elle est présente sur les aliments très riches en sucre tels que le miel, le moût de raisins à haute teneur en sucre... Aussi la présence de *C. apicola* peut être étroitement liée à l'altération observée figure 28 (fermentation).

Face à l'ensemble des altérations détaillées dans la bibliographie (section 1.2.2), le risque d'altération microbiologique reste l'ennemi majeur de la conservation et du conditionnement des dattes *Deglet-Nour*, en particulier immatures (riches en eau). L'importance du risque engendré par ces souches nécessite leur élimination avant tout conditionnement ou stockage. Les traitements thermiques peuvent être une solution pour remédier à ce problème. Ce traitement thermique a été efficace pour lutter contre les insectes et les ravageurs de la *Deglet-Nour* (Ben-Lalli, 2010). De plus, il est considéré comme un procédé compatible pour la dattes avec un label d'agriculture biologique contrairement à d'autres technologies (les procédés chimiques, l'irradiation...). Toute démarche rationnelle d'optimisation d'un traitement thermique de décontamination nécessite la détermination de la sensibilité

thermique des souches cibles à traiter. *Asp. niger* et *C. apicola* ont été sélectionnées comme souches cibles représentatives des moisissures et des levures respectivement. Le choix d'*Asp. niger* par rapport à *Alt. alternata* est justifié par la thermosensibilité des spores d'*Asp. niger* qui se situe dans une large gamme de sensibilité thermique rapportée dans la littérature. De plus cette souche était beaucoup plus présente sur les boîtes dénombrées lors de la détermination de la charge fongique totale. Les caractéristiques de *C. apicola* décrites précédemment et son rôle dans l'altération des dattes nécessitent son élimination sur le fruit ; elle est considérée comme une souche cible de nos travaux. Ce raisonnement est dans l'optique d'une stratégie du « pire des scénarios ».

4.3 Les composantes définissant le traitement thermique

4.3.1 *Asp. niger* comme souche de référence

Malgré que les deux souches possèdent une réponse similaire à une augmentation de la température (un z de $9,6 \pm 1,0^\circ\text{C}$ et $9,4 \pm 2,6^\circ\text{C}$, pour *Asp. niger* et de *C. apicola*, respectivement), les spores d'*Asp. niger* développent une résistance à la chaleur presque 10 fois supérieure à celle de *C. apicola* ($D_{50} = 22,1 \pm 2,1$ min et $D_{50} = 2,3 \pm 0,4$ min, respectivement). À cet effet, la définition du traitement thermique peut être construite sur la base de données de sensibilité d'*Asp. niger*, car tout couple temps-température appliqué sur celle-ci sera 10 fois plus efficace sur *C. apicola*, comme cela est illustré figure 30.

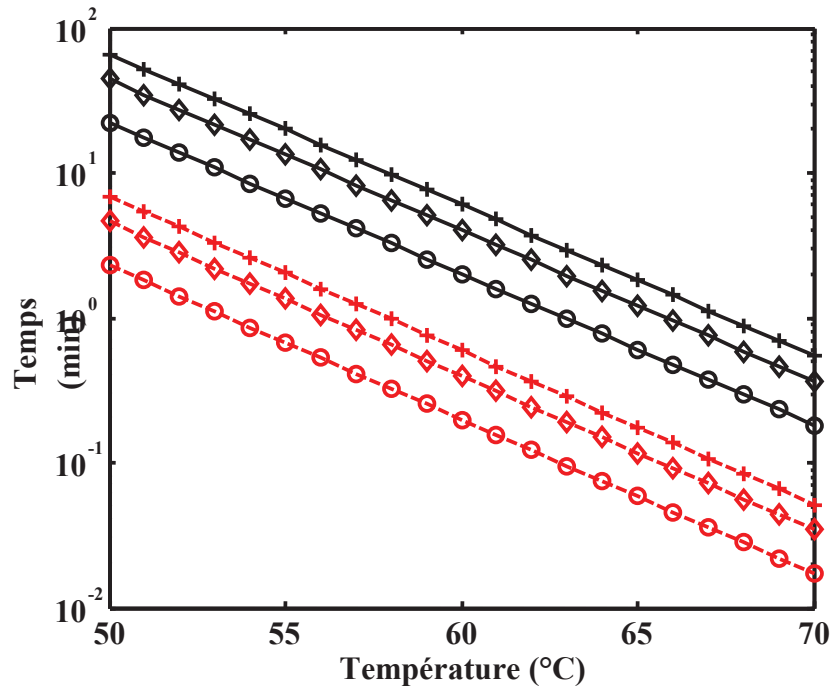


Figure 30. Impact du couple temps-température sur la réduction des populations (+ 1 log, ◇ 2 log et ○ 3 log) d'*Asp. niger* (—) et de *C. apicola* (- - -).

4.3.2 Quelle réduction des populations lors du traitement thermique ?

Nous traitons ici un exemple de choix de barème de réduction de la charge en moisissures et levures basées sur nos données et une cible de risque maximal de défaut telle qu'une cellule marketing pourrait définir : au plus une barquette de 500 g sur 10 000 présentant un défaut. Ce risque se traduit par : au plus une barquette de 500 g sur 10 000 soit contaminée par 1 UFC, alors 1 UFC serait présente dans $10\,000 \times 500$ g soit $1 \text{ UFC} / 5 \cdot 10^6$ g, ou encore $2 \cdot 10^{-7}$ UFC/g. Les contaminations maximales des moisissures et levures constatées lors de nos enquêtes ont été de $5,8 \pm 1,9 \cdot 10^2$ UFC/g et $0,24 \pm 0,10 \cdot 10^2$ UFC/g, respectivement. Dans l'hypothèse d'une répartition normale des charges microbiennes autour des moyennes relevées, la figure 31 propose une illustration de cette distribution dans le cas de la flore fongique totale. Ainsi, avec un risque unilatéral de 1/10 000 (probabilité de 99,9999 %), un lot récolté de dattes pourrait être exceptionnellement chargé de $1,3 \times 10^3$ et $0,6 \times 10^2$ UFC/g en moisissures et levures, respectivement.

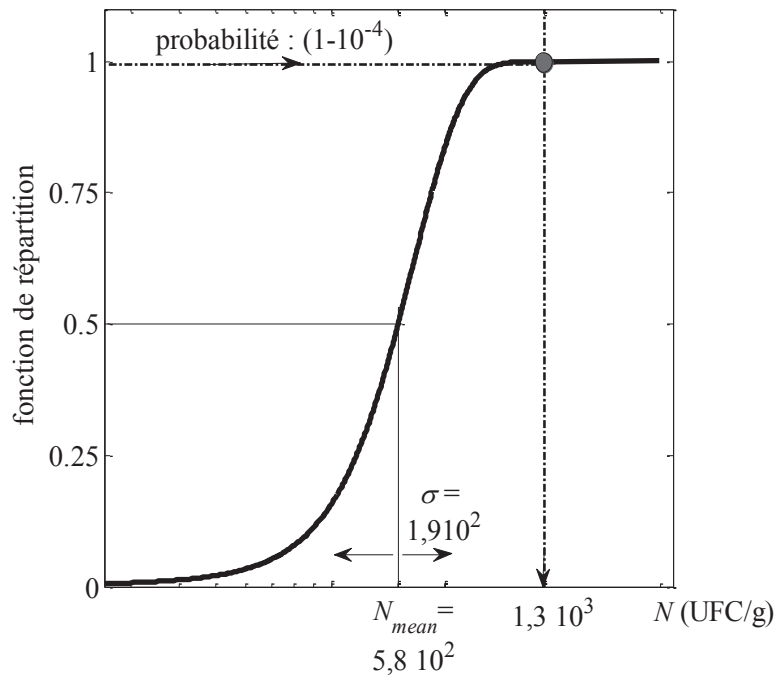


Figure 31. Fonction de répartition de la loi normale pour une valeur moyenne

$N_{\text{mean}} = 5,8 \times 10^2$ UFC/g et un écart type $\sigma = 1,9 \times 10^2$ UFC/g.

Cas de la flore fongique totale.

En conséquence, le traitement thermique devrait réduire la population de moisissures de $1,3 \times 10^3$ à 2×10^{-7} UFC/g et la population de levures de $0,6 \times 10^2$ à 2×10^{-7} UFC/g et levures, respectivement, soit des nombres de réductions décimales arrondies de 10 log et 9 log, pour les moisissures et les levures, respectivement.

4.3.3 Quel impact sur la couleur ?

La couleur est un paramètre de qualité direct simple et rapide à mesurer, qui peut être utilisé pour quantifier la dégradation de la qualité globale du fruit (goût, arômes, composition en pigments) (Francis, 1995 ; Kara et Erçelebi, 2013 ; Pathare *et al.*, 2013). Les modifications des propriétés physicochimiques des dattes durant les traitements thermiques résultent principalement du brunissement non-enzymatique (Belarbi (2001). Pour la variété *Deglet-Nour*, le brunissement non-enzymatique causé par un traitement thermique peut être localisé uniquement en surface (Ben-Lalli *et al.*, 2011).

Pour estimer la dégradation thermique de la couleur de la datte, Ahmed et Ramaswamy (2005) ont représenté la dégradation de la couleur d'une pâte de dattes par une réaction de premier ordre ; la couleur est quantifiée par les composantes trichromatiques du système

Hunter *Lab.* Un indice de dégradation de la couleur « *IC* » a été calculé en utilisant le modèle d'Arrhenius, avec comme paramètres cinétiques : $E_a = 65,17 \text{ kJ.mol}^{-1}$ et $k_{\text{ref}} = 0,002 \text{ min}^{-1}$ à $T_{\text{ref}} = 70 \text{ °C}$. Cet indice diminue seulement de 1 à 0,99 pour un traitement thermique à 70°C pendant 5 min. Pour une réduction de charge de 12 log d'*Asp. niger*, un traitement à 70°C pendant 2,4 min est suffisant, avec un indice de couleur qui reste constant. Lors des traitements thermiques de validation (70°C) réalisés dans cette étude, aucune variation significative de couleur des dattes n'a été observée. Ces observations sont confirmées par celles rapportées par Reynes (1997), montrant aucun changement de la couleur en surface, de la texture et de la composition chimique des dattes traitées par microonde (65°C pour 3 min). En outre, Belarbi (2001) rapporte que des dattes traitées à l'air chaud pendant 1 h ne subissent qu'un léger changement de couleur de 5%.

Il faut noter que les valeurs de z_Q varient de 17 à 45°C pour l'ensemble des changements sensoriels des aliments, c'est à dire les composés gustatifs, la texture, la couleur... (Holdsworth et Simpson, 2007). Ceci est à comparer aux valeurs de z ($\sim 10\text{°C}$) estimées dans notre étude. Cela nous conduit à privilégier les procédés à Hautes-températures-Temps-courts (high-temperature/short-time HTST) pour réduire les populations d'*Asp. niger* et d'*C. apicola* tout en minimisant l'impact de la chaleur sur la qualité des dattes, comme indiqué figure 32.

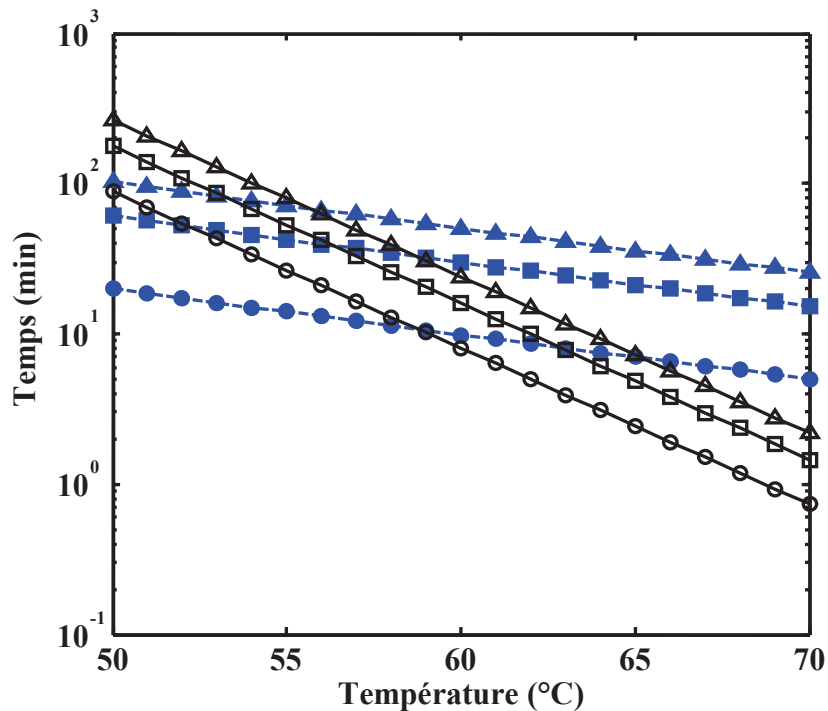


Figure 32. Impact du couple temps-température (—) sur la réduction des populations d'*Asp. niger* (Δ 1 log, \square 2 log et \circ 3 log) et sur la dégradation de l'indice de couleur (- - -) IQ (Δ 95%, \blacksquare 97% et \bullet 99%).

4.4 Inhibition du développement d'*Asp. niger* et d'*Alt. alternata*

4.4.1 Deux dispositifs pour l'étude

Les effets de la température (10–40°C), de l' a_w (0,993–0,818) et de la concentration en CO_2 (9,4–55,1%, V/V) sur les vitesses de croissance d'*Asp. niger* et d'*Alt. alternata* ont été quantifiés et modélisés avec succès. Deux dispositifs ont été utilisés pour quantifier ces effets : l'un dit système fermé et l'autre dit système contrôlé. Le système fermé est simple à réaliser et facilite la génération de données de croissance en grand nombre. Cependant, il n'est pas sans contraintes, car la croissance des moisissures peut provoquer de manière significative des variations des facteurs environnementaux étudiés. Le système contrôlé a permis de vérifier cette contrainte, et de valider ainsi les résultats de la croissance en système fermé (une boîte de Pétri dans un sac de 5 L contenant 3 L de mélange gazeux) avec la condition suivante : la mesure des diamètres de croissances doit être limitée à environ 70 mm, ce qui correspond à 85 heures d'incubation pour des conditions optimales de croissance.

4.4.2 Pourquoi *Asp. niger* et *Alt. alternata* ?

L'effet de la température, de l' a_w et de la concentration en CO₂ a été étudié seulement pour les deux souches de moisissures *Asp. niger* et *Alt. alternata*. Ce choix a été argumenté comme suit : la levure *C. apicola* est presque dix fois moins sensible à la chaleur que les deux moisissures ($D_{50}= 2,3 \pm 0,4$ min et $D_{50}= 22,1 \pm 2,1$ min, pour *C. apicola* et *Asp. niger* respectivement). Ainsi, tout traitement thermique appliqué sur la datte sera presque 10 fois plus efficace pour réduire la population de levure que pour les deux moisissures. Comme il a été mentionné précédemment, *C. apicola* peut se développer dans une ambiance appauvrie en oxygène (métabolisme fermentaire). En conséquence, la présence de cette espèce en post-traitement thermique dans une ambiance close (emballage sous MAP) présente un danger important. Il est ainsi primordial d'éliminer efficacement *C. apicola* pendant le traitement thermique des dattes avant de conditionner celles-ci. Cet objectif peut être atteint par la conception d'une opération de pasteurisation en mettant *Asp. niger* comme la souche la plus résistante à la chaleur (souche cible). Ainsi, il est très probable qu'un traitement thermique appliqué sur les dattes puisse s'affranchir du problème des levures mais pas de celui des spores des moisissures (charge initiale pas complètement réduite). C'est pourquoi un conditionnement sous atmosphère modifiée enrichie en CO₂ sera efficace uniquement pour les deux souches fongiques *Asp. niger* et *Alt. alternata*.

4.4.3 Intérêt de la combinaison des effets de l' a_w et du CO₂

Les effets relatifs de la température, de l' a_w et de la concentration en CO₂ sur les vitesses de croissance d'*Asp. niger* et d'*Alt. alternata* sont comparés figure 33. Celle-ci révèle que les impacts de la diminution de l' a_w ou de la température sur la croissance d'*Asp. niger* sont identiques (Figure 33 A). En revanche l'effet de l' a_w est comparable à celui de la concentration en CO₂ (Figure 33 B) pour *Alt. alternata*. Ceci conduit à conclure que la concentration en CO₂ et l' a_w sont les facteurs qui impactent le plus la croissance les deux souches fongiques.

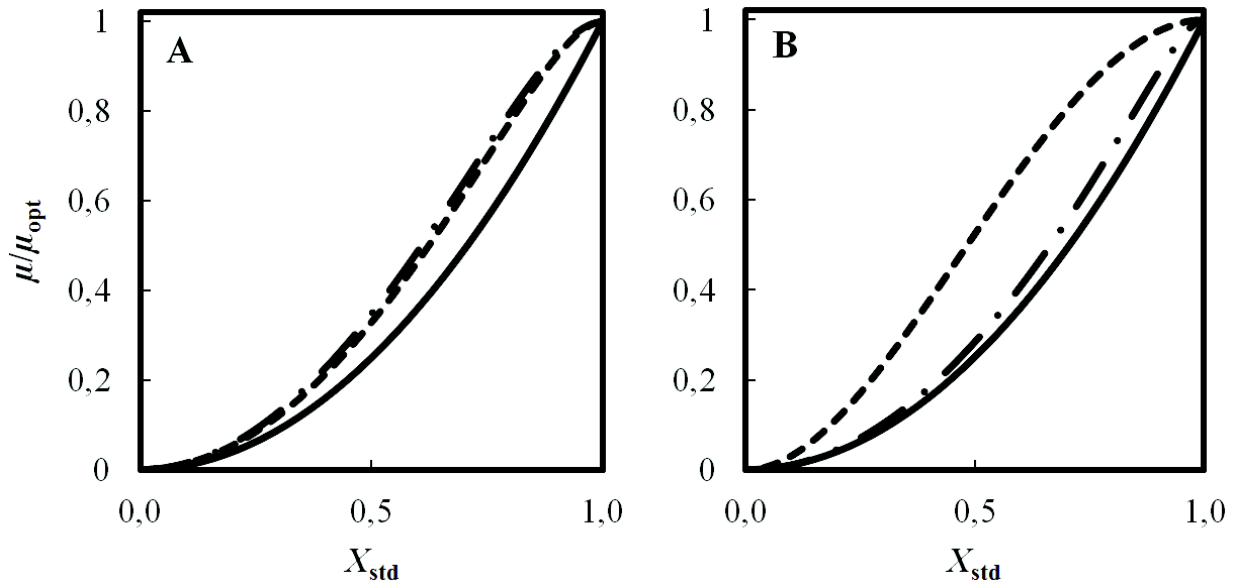


Figure 33. Comparaison des effets simulés de température (- - -) d' a_w (— - —) et de concentration en CO₂ (—) sur la vitesse de croissance d'*Asp. niger* (A) et d'*Alt. Alternata* (B).

X représente la température, l' a_w ou la concentration en CO₂ transformés : $X_{std} = (X - X_{min}) / (X_{opt} - X_{min})$. Pour le CO₂, $X_{std} = 1 - (X - X_{max}) / (X_{min} - X_{max})$.

Les valeurs cardinales minimales (X_{min}) affichent une limite de la croissance pour un seul facteur (ex : température) lorsque les autres facteurs (ex : a_w et CO₂) sont fixés à leurs valeurs optimales. L'avantage d'inclure les interactions entre les facteurs est que les valeurs cardinales minimales de ces facteurs peuvent être augmentées dans le cas de la température et de l' a_w , et diminuées dans le cas du CO₂. Ceci donne un degré de liberté supplémentaire dans le choix des combinaisons de ces trois facteurs afin d'inhiber les deux souches fongiques. À cela, il faut ajouter une autre marge de sécurité, qui est celle de l'effet inhibiteur de la matrice (pâte de dattes). Les valeurs cardinales ont été identifiées sur milieu de culture PDA, et la vitesse de croissance des deux souches fongiques est moins rapide (inférieure de 0,9 mm jour⁻¹ en moyenne) sur pâte de dattes que sur PDA.

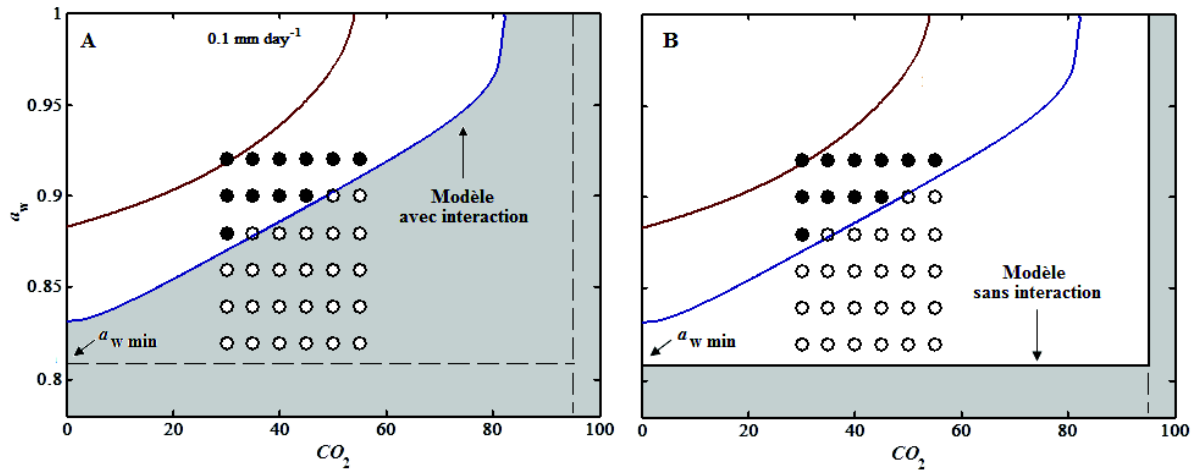


Figure 34. Comparaison des limites de croissance et non croissance pour *Alt. alternata* définies par une démarche déterministe (A) avec celles définies par une démarche modulaire (B).

Dans ce travail, seul l'effet combiné de la concentration en CO_2 et de l' a_w a été étudié. Comme il a été justifié précédemment, ce sont les facteurs les plus influents sur la croissance des deux souches fongiques. Les limites de croissance obtenues par la combinaison de ces deux facteurs ont été correctement définies par l'approche déterministe proposée par Le Marc *et al.* (2002). En effet, le tracé des zones limites de croissance pour *Alt. alternata* défini selon la démarche modulaire (Équation 30), montre que le modèle tend à sous-estimer les interactions (zone grise de la figure 34 B). En revanche, l'introduction d'un terme décrivant les effets quantitatifs des interactions permet de délimiter la vraie zone limite de croissance (zone grise de la figure 34 A). Cette zone définie par l'interaction entre la concentration en CO_2 et l' a_w est une marge de manœuvres des combinaisons des deux facteurs pour la définition d'un MAP limitant le développement de ces moisissures d'altération.

Pour conclure, baisser l' a_w en dessous de la valeur $a_{w \text{ min}}$ n'est pas nécessaire si ce facteur est combiné à de l'atmosphère modifiée enrichie en CO_2 . Par exemple, pour une limite de croissance à 25°C d'*Alt. alternata*, il est possible de tolérer une a_w de 0,85 si la concentration en CO_2 est supérieure ou égale à 18% (V/V). Par ailleurs, la conservation au froid positif peut jouer un rôle très efficace dans l'amplification de l'effet inhibiteur de ces deux facteurs environnementaux (a_w et CO_2). En effet, combiner ces deux facteurs environnementaux à un stockage au froid (2-5°C) proche des températures limites de croissance T_{min} d'*Asp. niger* ($4,4 \pm 1,5^\circ\text{C}$) et d'*Alt. Alternata* ($14,6 \pm 3,4^\circ\text{C}$), peut bloquer totalement le développement de ces deux souches fongiques d'altération.

4.5 Les voies technologique de conservation

Différentes voies technologiques de conservation peuvent être envisagées à l'issue des résultats de l'étude de l'effet des trois facteurs environnementaux (T , a_w et CO_2) sur la croissance des deux souches fongiques d'altération. Le risque de présence de moisissures (*Alt. niger* et *Alt. alternata*) en post-traitement thermique met en évidence la nécessité de mettre en place une opération pour inhiber ces souches capables de se développer et d'altérer le produit. La littérature a recensé une multitude de techniques pour inhiber le développement des microorganismes, souvent très coûteuses (congélation) ou dangereuses pour la santé humaine (antifongiques, fumigation...). Pour des dattes biologiques destinées à l'exportation, l'utilisation d'antifongiques et de produits chimiques en fumigation n'est pas autorisée. La congélation d'une *Deglet-Nour* immature avec une teneur en eau élevée n'est pas conseillée (problème de décongélation qui perturbe le processus de maturation). La réduction de l' a_w par séchage n'est pas souhaitable pour ce type de datte, car sa teneur en eau élevée (0,80 – 0,85 a_w) est recherchée afin de préserver sa texture tendre et moelleuse. Aussi, cette teneur en eau élevée est nécessaire pour continuer les processus de maturation (réactions enzymatiques et biochimiques de maturation). En revanche, l'étude de l'effet de l' a_w sur la croissance d'*Alt. niger* et d'*Alt. alternata* permet de positionner l' a_w de la *Deglet-Nour* immature par rapport à l' a_w limite de croissance de ces souches. En d'autres termes, il s'agit de savoir si l' a_w des dattes serait favorable ($a_w \text{ datte immatures} > a_w \text{ min moisissures}$) ou défavorable ($a_w \text{ datte immatures} < a_w \text{ min moisissures}$) au développement des deux moisissures. Dans le cas de la *Deglet-Nour* immature, l' a_w de celle-ci est favorable au développement d'*Asp. niger* et d'*Alt. alternata*, d'où la nécessité d'utiliser d'autres facteurs inhibiteurs tels que la température (froid positif) et/ou le CO_2 (conditionnement de type MAP) pour la conservation de celles-ci.

4.5.1 Un conditionnement de type MAP enrichi en CO_2

La modification de l'atmosphère ambiante de la datte impliquant une réduction de l' O_2 et une augmentation de la concentration en CO_2 est une technique efficace pour inhiber les microorganismes, et prolonger la durée de vie de la qualité de ce fruit. De plus, la tolérance des dattes au CO_2 constitue un avantage pour la conception des MAP à hautes concentrations en CO_2 (Navarro *et al.*, 2001). En effet, l'effet antimicrobien des MAP est généralement attribué à l'effet inhibiteur du CO_2 sur la croissance fongique. Pour la *Deglet-Nour premium*, l' a_w est élevée, favorisant le développement des levures et des moisissures. L'élimination des levures et la réduction de la charge des moisissures par un traitement thermique maîtrisé est

en effet, la première opération unitaire que nous préconisons. Ensuite, les moisissures résistantes peuvent être inhibées par un conditionnement enrichi en CO₂ ; 46 % en CO₂ est suffisant pour inhiber la croissance d'*Asp. niger* sur une *Deglet-Nour premium* ($a_w = 0,85$) stockée à température ambiante (35°C comme température optimale de croissance). Un MAP pour des dattes pourrait être utilisé seul. Cependant, il est beaucoup plus efficace lorsqu'il est couplé à d'autres facteurs inhibiteurs de la croissance fongique tels que le froid.

4.5.2 Autres voies de conservation

D'autres voies peuvent être envisagées. La plus simple serait le stockage au froid positif (2 - 15°C), en prenant en compte les limites de température de croissance des souches fongiques étudiées ($T_{\min} = 1,6 - 4,4^\circ\text{C}$). Le froid positif peut ralentir considérablement le développement de la microflore fongique d'altération (une datte à 0,85 a_w stockée à 5°C, μ est estimée à 0,003 et 0,043 mm jour⁻¹ pour *Asp. niger* et *Alt alternata* respectivement), ainsi les dattes pourraient être stockées au froid directement après récolte, c'est à dire en s'affranchissant de toute opération de traitement thermique. Néanmoins, la durée de vie de telles dattes conservées au froid serait courte sans traitement thermique préalable. Le stockage à des températures supérieures à 2 °C n'inhibe pas totalement la croissance de la microflore fongique d'altération. Pour des dattes à 0,80 d' a_w stockées au froid (5°C), le développement des deux souches fongiques est inhibé totalement ; mais comme il a été indiqué précédemment le séchage des dattes immatures n'est pas souhaitable. Dans ce cas, la diminution de l' a_w (séchage) peut être remplacée par une augmentation de la concentration en CO₂ (conditionnement MAP enrichi en CO₂), c'est à dire, une combinaison d'un conditionnement MAP et d'un stockage à froid positif : un conditionnement à des concentrations en CO₂ inférieures à 46% des *Deglet-Nour premium* (0,80-0,85 a_w), destinées à être stockées au froid positif (2 - 15°C) est suffisant pour empêcher le développement d'*Asp. niger* et d'*Alt alternata*.

4.6 Durée de vie, « shelf life »

Selon Dantigny *et al.* (2002), le temps de latence λ est défini comme la durée de non croissance du diamètre de la colonie, avec un diamètre inférieur au diamètre formé durant le « temps de rejet ». Ce temps de rejet (t_r) est le critère utilisé pour déterminer une durée de vie d'un produit alimentaire (Dantigny *et al.*, 2006 ; Gougouli *et al.*, 2011). Il est défini comme le temps nécessaire pour un inoculum fongique à former une colonie de 2 mm de diamètre : $t_r = \lambda + (\mu/2 \text{ mm})$. Ce temps de latence coïncide avec l'achèvement de la durée de germination.

Le modèle primaire logistique avec délai et rupture permet de simuler des diamètres $d^{(t)}$ de croissances en fonction du temps t à partir des vitesses μ estimées dans un environnement constant de T , d' a_w et de CO_2 . Le modèle secondaire a permis de quantifier l'effet des facteurs environnementaux et leurs interactions sur les μ uniquement. Ces effets sur λ peuvent être estimés à partir de la relation $\mu \times \lambda = cte$ (cte : constante). Ainsi une estimation d'un temps de rejet t_r pour la dattes *Deglet-Nour* provoqué par les deux souches fongiques d'altération est possible : $t_r (T, a_w, CO_2) = (cte/\mu) + (\mu/2 \text{ mm})$.

À ce niveau, l'ensemble des données dont nous disposons ne permettent pas une estimation robuste de la durée de vie des dattes *Deglet-Nour* car d'autres éléments manquant à notre étude seraient nécessaire :

- Une identification plus robuste de la constante ($cte = \mu \times \lambda$) est nécessaire pour le bon calcul des λ . En effet, les corrélations établies entre μ et $1/\lambda$ sont trop médiocres pour une identification robuste de cette constante.
- L'effet de la taille de l'inoculum sur λ : Ceci reflète l'effet du degré de contamination des dattes (charge fongique) sur la vitesse d'apparition des colonies, et sur le temps du rejet. Il été démontré que la taille de l'inoculum n'influence pas la vitesse de croissance des moisissures μ (Baert *et al.*, 2008 ; Gougouli *et al.*, 2011) ;
- L'effet du traitement thermique sur λ et μ : À l'heure actuelle, la bibliographie ne dispose pas de ce type d'information. En effet, nous n'avons aucun renseignement sur l'impact du traitement thermique post-récolte des dattes sur la capacité des souches fongiques d'altération à germer et sur leurs vitesses de croissance.

Ainsi, il serait prématuré de proposer des durées de vie pour des dattes *Deglet-Nour* à ce niveau de modélisation de la croissance fongique d'altération caractéristique de cette variété.

CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

La *Deglet-Nour* récoltée au stade *Routab* est une datte de qualité sensorielle très intéressante. En revanche, à ce stade de maturité précoce, la *Deglet-Nour* est susceptible de développement microbien en raison de son activité en eau intermédiaire ($a_w = 0,80-0,85$). Cette datte dite de qualité « *premium* » pourrait offrir un nouveau marché pour la filière datte en Algérie, moyennant la conception d'un procédé post-récolte afin de maîtriser ces microflore fongiques d'altération. S'appuyant sur ce constat, l'objectif de ce travail a été d'une part d'évaluer l'impact d'une opération de traitement thermique sur la réduction des microflore fongiques initiales des dattes, et d'autre part, d'examiner l'effet de trois facteurs environnementaux (température, a_w et CO_2) sur la croissance de ces microflore. Notre ambition est de prodiguer des recommandations sur la conception et la conduite d'un procédé post-récolte afin de contrôler les microflore fongiques tout en préservant la couleur des dattes. Pour avancer vers cet objectif quatre démarches ont été menées à bien :

1. L'identification des souches fongiques et la mesure des niveaux de contamination sur différents lots de dattes collectées dans trois régions du sud algérien.
2. L'analyse cinétique et la modélisation de l'inactivation thermique de deux souches caractéristiques des microflore des dattes (une levure et une moisissure). La conception d'un modèle associant transfert d'énergie (conduction et convection) et réactions d'inactivation des deux souches.
3. L'élaboration d'une base de données expérimentales et la conception d'un modèle (primaire et secondaire) prévisionnel de croissance de deux moisissures en fonction des conditions environnementales de température (10–40°C), d' a_w (0,993–0,818) et de la composition de l'atmosphère en CO_2 (9,4–55,1%, V/V).
4. La proposition de procédés et règles de conduite associant ou non un traitement thermique de surface et un conditionnement sous atmosphère modifiée. Une discussion est proposée sur l'intérêt d'un stockage au froid.

La conclusion est divisée en deux parties. La première partie (bilan et perspectives scientifiques) reprend les principaux résultats de ce travail en termes de description des microflore, d'inactivation thermique et croissance en fonction des conditions environnementales. La seconde partie fournit des éléments de réponse sur la conception d'un

procédé à répondre aux attentes des producteurs/transformateurs de dattes *premium* (performance, limite,...).

➤ Bilan et perspectives scientifiques

Trois souches fongiques caractéristiques de la *Deglet-Nour* responsables de son altération ont été isolées et identifiées : *Asp. niger* et *Alt. alternata* comme moisissures et *C. apicola* comme levure. La thermosensibilité des spores d'*Asp. niger* et de *C. apicola* a été évaluée. *Asp. niger* peut être considérée comme une souche cible du traitement thermique (*pire scénario*), car la résistance de celle-ci est dix fois supérieure à celle de *C. apicola*. Le traitement thermique utilisé n'a présenté aucun impact significatif sur l'enzyme du brunissement PPO de la *Deglet-Nour*. Aucune variation significative de la couleur des dattes n'a été observée lors des traitements thermiques. La connaissance de la thermosensibilité de ces souches cibles basées sur des paramètres (z et D_T) et le calcul des VP en surface des dattes sont les éléments de la conception d'un traitement thermique de type pasteurisation. Cette opération unitaire assure l'élimination de ces microflores avec peu d'impact sur la couleur des dattes. Les traitements à hautes-températures-temps-courts sont à privilégier pour réduire efficacement les populations fongiques tout en minimisant l'impact de la chaleur sur la qualité globale de ce fruit. Par simulation, un barème de type (70 °C et 7 min) avec une vitesse d'air de $2,5 \text{ m s}^{-1}$ est théoriquement satisfaisant. Une évaluation de la robustesse du modèle et une validation expérimentale d'un tel barème reste à entreprendre.

Les effets de la température, l' a_w et le CO_2 seuls ou combinés sur *Asp. niger* et *Alt. alternata* ont été quantifiés et modélisés. *Asp. niger* manifeste une plus grande tolérance aux faibles a_w ($a_{w \text{ min}} = 0,786$) qu'*Alt. alternata* ($a_{w \text{ min}} = 0,808$), tandis qu'*Alt. alternata* est plus tolérante aux fortes concentrations en CO_2 et aux basses températures qu'*Asp. niger* (respectivement : 95,1 % et 79,8 % pour $\text{CO}_{2 \text{ max}}$; 4,4°C et 1,6°C pour T_{min}). Les vitesses de croissance des deux moisissures sont surestimées par le modèle γ -concept, mais ce dernier reste optimiste avec des prédictions conservatrices. Les limites de croissance/non-croissance définies par l'effet combiné de l' a_w et de la concentration en CO_2 sont correctement prédites. Le modèle prévisionnel a été construit à partir de données de croissance obtenues sur des souches sauvages (isolées directement sur le palmier dattier). Il est vraisemblable que le comportement de ces deux moisissures soit très différent à la suite d'un traitement thermique. L'impact de l'état physiologique (lié au stress thermique) sur la croissance (temps de latence et vitesse de

croissance) de ces deux moisissures est une information essentielle à recueillir et à analyser pour prévoir le devenir des microflore lors du séquençage des opérations de traitement thermique et de conservation sous MAP. Par ailleurs, la prédiction des temps de latence des deux moisissures n'a pas été d'une qualité convenable ; c'est un manque, qui devrait être comblé pour prétendre à l'estimation de durée de vie des dattes.

➤ Bilan et perspectives industrielles

Des comparaisons entre différentes conditions opératoires de traitements thermiques ont été simulées pour réduire la population des levures. Des recommandations et des préconisations sont suggérées. Sans traitement thermique, il est possible de conserver des dattes *premium* dans des conditions de froid positif ($T \sim 2$ °C). En s'affranchissant d'une chaîne du froid, seuls des conditionnements sous atmosphère modifiée autorisent une conservation de ces dattes dans des conditions de température ambiante. Avant ce conditionnement, un traitement thermique préalable est nécessaire pour inactiver les levures. Ce traitement thermique de la surface des dattes (HTST), devrait être préférentiellement réalisé par un chauffage convectif intense à l'air chaud ; par exemple, 70 °C/7 min. permettraient de réduire de 9 log la population de *C. apicola* et de s'affranchir de tout risque de fermentation. L'atmosphère modifiée devrait être riche en CO₂ (≥ 46 % V/V) pour des dattes à $a_w = 0,85$. La filière des dattes biologiques pourrait intégrer ces deux opérations. Un léger séchage des dattes constituerait un degré de liberté supplémentaire ; en effet, en fonction du niveau d'avancement physiologique des dattes au sein du stade de maturité *Routab*, il serait possible de réduire l' a_w ($\sim 0,80$ °C) et ainsi diminuer la concentration en CO₂ (≥ 18 % V/V) de l'atmosphère.

Ce modèle prévisionnel (température, l'activité en eau et la concentration de l'atmosphère en CO₂) constitue une très bonne base pour valider les divers modes de conservation : au froid positif (associé ou non à un léger séchage) ou sous MAP (quelle concentration en CO₂, quelle perméabilité). Ces modèles fournissent aussi des orientations techniques pour la réalisation de prochains tests. Ainsi, peut-on espérer que ce travail contribuera à promouvoir une nouvelle filière de *Deglet-Nour premium*, dans le respect des produits sains et durables obtenus à l'aide de technologies simples et accessibles.

RÉFÉRENCES

- Abarca, M., Bragulat, M., Castella, G., and Cabanes, F. (1994). Ochratoxin A production by strains of *Aspergillus niger* var. *niger*. *Applied and environmental microbiology* **60**, 2650-2652.
- Aborisade, A., and Ojo, F. (2002). Effect of postharvest hot air treatment of tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill) on storage life and decay caused by *Rhizopus stolonifer*. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* **109**, 639-645.
- Achour, M., and Bagga, N. (2005). Effet des conditions d'entreposage sur la dégradation de la couleur des dattes tunisiennes de type Deglet Nour. *Fruits* **60**, 41-46.
- Achour, M., Ben Amara, S., Ben Salem, N., Jebali, A., and Hamdi, M. (2003). Effet de différents conditionnements sous vide ou sous atmosphère modifiée sur la conservation de dattes Deglet Nour en Tunisie. *Fruits* **58**, 205-212.
- Adams, M. R., Little, C. L., and Easter, M. C. (1991). Modelling the effect of pH, acidulant and temperature on the growth rate of *Yersinia enterocolitica*. *Journal of Applied Bacteriology* **71**, 65-71.
- Afshari-Jouybari, H., Farahnaky, A., and Moosavi-Nasab, S. (2013). The Use of Acetic Acid, Sodium Chloride Solutions, and Incubation to Accelerate the Ripening of 'Mazafati' Date. *International Journal of Fruit Science* **14**, 95-106.
- Agarwal, A. K., and Brisk, M. L. (1985). Sequential experimental design for precise parameter estimation. 1. Use of reparameterization. *Industrial & Engineering Chemistry Process Design and Development* **24**, 203-207.
- Ahmed, I. A., Ahmed, A. W. K., and Robinson, R. K. (1997). Susceptibility of date fruits (*Phoenix dactylifera*) to aflatoxin production. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **74**, 64-68.
- Ahmed, J., Almusallam, A., and Al-Hooti, S. N. (2013). Isolation and characterization of insoluble date (*Phoenix dactylifera* L.) fibers. *LWT - Food Science and Technology* **50**, 414-419.
- Ahmed, J., and Ramaswamy, H. S. (2005). Effect of Temperature on Dynamic Rheology and Colour Degradation Kinetics of Date Paste. *Food and Bioproducts Processing* **83**, 198-202.
- Ait-Oubahou, A., and Yahia, E. (1999). Postharvest handling of dates. *Postharvest News and Information* **10**, 67N-74N.
- Al-Farsi, M., Alasalvar, C., Al-Abid, M., Al-Shoaily, K., Al-Amry, M., and Al-Rawahy, F. (2007). Compositional and functional characteristics of dates, syrups, and their by-products. *Food Chemistry* **104**, 943-947.
- Al-Farsi, M. A., and Lee, C. Y. (2008). Nutritional and Functional Properties of Dates: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **48**, 877-887.
- Al-Redhaiman, K. (2005). Chemical changes during storage of 'Barhi' dates under controlled atmosphere conditions. *HortScience* **40**, 1413-1415.
- Al-shahib, W., and Marshall, R. J. (2003). The fruit of the date palm: its possible use as the best food for the future? *International Journal of Food Sciences and Nutrition* **54**, 247-259.
- Al-Sheikh, H. (2009). Date-palm fruit spoilage and seed-borne fungi of Saudi Arabia. *Research Journal of Microbiology* **4**, 208-213.
- AOAC (1990). Fruits and fruits products. In "Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists International", pp. 910-928. K. Helrich, Arlington.
- Ashraf, Z., and Hamidi-Esfahani, Z. (2011). Date and Date Processing: A Review. *Food Reviews International* **27**, 101-133.

- Astoreca, A., Vaamonde, G., Dalcero, A., Ramos, A. J., and Marín, S. (2012). Modelling the effect of temperature and water activity of *Aspergillus flavus* isolates from corn. *International Journal of Food Microbiology* **156**, 60-67.
- Atia, M. M. M. (2011). Efficiency of physical treatments and essential oils in controlling fungi associated with some stored date palm fruits. *Australian Journal of Basic & Applied Sciences* **5**, 1572-1580.
- Augustin, J. C. (1999). Modélisation de la dynamique de croissance des populations de *Listeria monocytogenes* dans les aliments. Thèse Université Claude Bernard, Lyon 1.
- Awad, M. A. (2007). Increasing the rate of ripening of date palm fruit (*Phoenix dactylifera* L.) cv. Helali by preharvest and postharvest treatments. *Postharvest Biology and Technology* **43**, 121-127.
- Aymard, C., and Belarbi, A. (2000). Kinetics of thermal deactivation of enzymes: a simple three parameters phenomenological model can describe the decay of enzyme activity, irrespectively of the mechanism. *Enzyme and Microbial Technology* **27**, 612-618.
- Babic, I., Hilbert, G., Nguyen-The, C., and Guiraud, J. (1992). The yeast flora of stored ready-to-use carrots and their role in spoilage. *International Journal of Food Science & Technology* **27**, 473-484.
- Baliga, M. S., Baliga, B. R. V., Kandathil, S. M., Bhat, H. P., and Vayalil, P. K. (2011). A review of the chemistry and pharmacology of the date fruits (*Phoenix dactylifera* L.). *Food Research International* **44**, 1812-1822.
- Baloch, M. K., Saleem, S. A., Baloch, A. K., and Baloch, W. A. (2006). Impact of controlled atmosphere on the stability of Dhakki dates. *LWT - Food Science and Technology* **39**, 671-676.
- Baranyi, J., and Roberts, T. A. (1994). A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. *International Journal of Food Microbiology* **23**, 277-294.
- Baril, E., Coroller, L., Couvert, O., El Jabri, M., Leguerinel, I., Postollec, F., Boulais, C., Carlin, F., and Mafart, P. (2012). Sporulation boundaries and spore formation kinetics of *Bacillus* spp. as a function of temperature, pH and a_w . *Food Microbiology* **32**, 79-86.
- Barkai-Golan, R. (2001). Physical means. In "Postharvest diseases of fruits and vegetables: development and control", pp. 418. Elsevier, Netherlands.
- Barth, M., Hankinson, T., Zhuang, H., and Breidt, F. (2010). Microbiological Spoilage of Fruits and Vegetables. In "Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages" (W. H. Sperber and M. P. Doyle, eds.), pp. 135-183. Springer New York.
- Bayne, H. G., and Michener, H. D. (1979). Heat resistance of *Byssoschlamys* ascospores. *Applied and environmental microbiology* **37**, 449.
- Beaudry, R. M. (1999). Effect of O₂ and CO₂ partial pressure on selected phenomena affecting fruit and vegetable quality. *Postharvest Biology and Technology* **15**, 293-303.
- Belarbi, A. (2001). Stabilisation par séchage et qualité de la datte *Deglet-Nour*. Thèse de doctorat, ENSIA-Massy, Paris.
- Belarbi, A., Aymard, C., and Hebert, J. (2003). *Deglet-Nour* date polyphenoloxidase activity is very thermolabile and exhibits peculiarities in its thermal inactivation kinetics. *Food biotechnology* **17**, 193-202.
- Belarbi, A., Aymard, C., Meot, J. M., Themelin, A., and Reynes, M. (2000). Water desorption isotherms for eleven varieties of dates. *Journal of Food Engineering* **43**, 103-107.
- Ben-Lalli, A. (2010). Étude et modélisation de la désinfestation de la datte : analyse du couplage entre transferts thermiques et mortalité des insectes. Thèse de doctorat, Université des sciences et techniques de Montpellier 2., Montpellier, France.

- Ben-Lalli, A., Bohuon, P., Collignan, A., and Méot, J.-M. (2013). Modeling heat transfer for disinfection and control of insects (larvae and eggs) in date fruits. *Journal of Food Engineering* **116**, 505-514.
- Ben-Lalli, A., Méot, J.-M., Collignan, A., and Bohuon, P. (2011). Modelling heat-disinfection of dried fruits on "biological model" larvae *Ephestia kuehniella* (Zeller). *Food Research International* **44**, 156-166.
- Besbes, S., Blecker, C., Deroanne, C., Drira, N.-E., and Attia, H. (2004). Date seeds: chemical composition and characteristic profiles of the lipid fraction. *Food Chemistry* **84**, 577-584.
- Besbes, S., Drira, L., Blecker, C., Deroanne, C., and Attia, H. (2009). Adding value to hard date (*Phoenix dactylifera* L.): Compositional, functional and sensory characteristics of date jam. *Food Chemistry* **112**, 406-411.
- Biglari, F., AlKarkhi, A. F. M., and Easa, A. M. (2008). Antioxidant activity and phenolic content of various date palm (*Phoenix dactylifera*) fruits from Iran. *Food Chemistry* **107**, 1636-1641.
- Biglari, F., AlKarkhi, A. F. M., and Easa, A. M. (2009). Cluster analysis of antioxidant compounds in dates (*Phoenix dactylifera*): Effect of long-term cold storage. *Food Chemistry* **112**, 998-1001.
- Booij, I., Piombo, G., Risterucci, J., Coupe, M., Thomas, D., and Ferry, M. (1992). Etude de la composition chimique de dattes à différents stades de maturité pour la caractérisation variétale de divers cultivars de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). *Fruits* **47**, 667-678.
- Boubekri, A. (2010). Optimisation des traitements thermiques de la datte Algérienne «*Deglet-Nour*». Thèse de doctorat, Université de HADJ-LAKHDAR de Batna, Algérie.
- Bouka, H., Chemseddine, M., Abbassi, M., and Brun, J. (2001). La pyrale des dattes dans la région de Tafilalet au Sud-Est du Maroc. *Fruits* **56**, 189-196.
- Brul, S., and Klis, F. M. (1999). Mechanistic and mathematical inactivation studies of food spoilage fungi. *Fungal Genetics and Biology* **27**, 199-208.
- Bulut, L., and Kilic, M. (2009). Kinetics of hydroxymethylfurfural accumulation and color change in honey during storage in relation to moisture content. *Journal of Food Processing and Preservation* **33**, 22-32.
- Cai, C., Xu, C., Shan, L., Li, X., Zhou, C., Zhang, W., Ferguson, I., and Chen, K. (2006). Low temperature conditioning reduces postharvest chilling injury in loquat fruit. *Postharvest Biology and Technology* **41**, 252-259.
- Cairns-Fuller, V., Aldred, D., and Magan, N. (2005). Water, temperature and gas composition interactions affect growth and ochratoxin A production by isolates of *Penicillium verrucosum* on wheat grain. *Journal of Applied Microbiology* **99**, 1215-1221.
- CEE-ONU-DDP-08 (2010). Norme concernant la commercialisation et le contrôle de la qualité commerciale des dattes. In "Norme CEE-ONU-DDP-08" (N. UNIES, ed.), pp. 8, New York et Genève.
- Cerf, O. (1977). A REVIEW Tailing of Survival Curves of Bacterial Spores. *Journal of Applied Bacteriology* **42**, 1-19.
- Chaira, N., Smaali, M. I., Martinez-Tomé, M., Mrabet, A., Murcia, M. A., and Ferchichi, A. (2009). Simple phenolic composition, flavonoid contents and antioxidant capacities in water-methanol extracts of Tunisian common date cultivars (*Phoenix dactylifera* L.). *International Journal of Food Sciences and Nutrition* **60**, 316-329.
- Chazarra, S., García-Carmona, F., and Cabanes, J. (2001). Evidence for a tetrameric form of Iceberg lettuce (*Lactuca sativa* L.) polyphenol oxidase: purification and characterization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **49**, 4870-4875.

- Chebbi, H. E., and Gil, J. M. (2002). Position competitive des exportations tunisiennes de dattes sur le marche europeen: une analyse shift-share. *A Mediterranean Journal of Economics, Agriculture and Environment* **1**, 40-47.
- Chirife, J., and Buera, M. D. P. (1994). Water activity, glass transition and microbial stability in concentrated/semimoist food systems. *Journal of Food Science* **59**, 921-927.
- Chisari, M., Barbagallo, R. N., and Spagna, G. (2007). Characterization and role of polyphenol oxidase and peroxidase in browning of fresh-cut melon. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56**, 132-138.
- Choi, Y., and Okos, M. R. (1986). Temperature and composition on the thermal properties of foods. In "Food engineering and process application" (M. LeMaguer and P. Jelen, eds.), pp. 93-101-93. Elsevier Applied Science Publishers, New York, NY, USA
- Church, N. (1994). Developments in modified-atmosphere packaging and related technologies. *Trends in Food Science & Technology* **5**, 345-352.
- Civello, P. M., Martínez, G. A., Chaves, A. R., and Añón, M. C. (1997). Heat treatments delay ripening and postharvest decay of strawberry fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **45**, 4589-4594.
- Cliffe-Byrnes, V., and O'Beirne, D. (2005). Effects of chlorine treatment and packaging on the quality and shelf-life of modified atmosphere (MA) packaged coleslaw mix. *Food Control* **16**, 707-716.
- CODEX-STAN (1985). Norme codex pour les dattes. (CODEX-STAN143-1985, ed.), pp. 6.
- Colman, S., Spencer, T., Ghamba, P., and Colman, E. (2012). Isolation and identification of fungal species from dried date palm (*Phoenix dactylifera*) fruits sold in Maiduguri metropolis. *African Journal of Biotechnology* **11**, 12063-12066.
- Da Silva, F. V. M., and Gibbs, P. A. (2009). Principles of thermal processing: pasteurization. In "Engineering aspects of thermal food processing" (S. Ricardo, ed.), pp. 13-49. Taylor & Francis-CRC Press, Boca Raton.
- Dantigny, P., Bensoussan, M., Vasseur, V., Lebrihi, A., Buchet, C., Ismaili-Alaoui, M., Devlieghere, F., and Roussos, S. (2006). Standardisation of methods for assessing mould germination: A workshop report. *International Journal of Food Microbiology* **108**, 286-291.
- Dantigny, P., Soares Mansur, C., Sautour, M., Tchobanov, I., and Bensoussan, M. (2002). Relationship between spore germination kinetics and lag time during growth of *Mucor racemosus*. *Letters in Applied Microbiology* **35**, 395-398.
- Dehghan-Shoar, Z., Hamidi-Esfahani, Z., and Abbasi, S. (2010). Effect of temperature and modified atmosphere on quality preservation of sayer date fruits (*Phoenix dactylifera* L.). *Journal of Food Processing and Preservation* **34**, 323-334.
- Delhalle, L., Daube, G., Adolphe, Y., Crevecoeur, S., and Clinquart, A. (2012). Les modèles de croissance en microbiologie prévisionnelle pour la maîtrise de la sécurité des aliments (synthèse bibliographique). *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement* **16**, 369-381.
- Delignette-Muller, M. (1998). Relation between the generation time and the lag time of bacterial growth kinetics. *International Journal of Food Microbiology* **43**, 97-104.
- Devlieghere, F., Geeraerd, A. H., Versyck, K. J., Bernaert, H., Van Impe, J. F., and Debevere, J. (2000). Shelf life of modified atmosphere packed cooked meat products: addition of Na-lactate as a fourth shelf life determinative factor in a model and product validation. *International Journal of Food Microbiology* **58**, 93-106.
- Djerbi, M. (1983). "Report on consultancy mission on date palm pests and diseases." FAO. Rapport N°: IND/80/043, Octobre 1983, Rome.

- Dowson, V. H. W., and Aten, A. (1963). Récolte et conditionnement des dattes. *In* "Cahier No. 72" (F. Collection, ed.), pp. 397. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture, Rome.
- Drummond, L., and Sun, D.-W. (2010). Effects of Chilling and Freezing on Safety and Quality of Food Products. *In* "Processing Effects on Safety and Quality of Foods" (E. Ortega-Rivas, ed.), pp. 295. CRC Press, Boca Raton.
- Duarte, O., and Molina, L. (2011). Cocona (*Solanum sessiliflorum* Dunal). *In* "Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits: Fundamental Issues" (E. M. Yahia, ed.), Vol. 3, pp. 1-8. Woodhead Publishing, Philadelphia, USA.
- El-Rayes, D. (2009). Effect of Carbon Dioxide-Enriched Atmosphere during Cold Storage on Limiting Antioxidant Losses and Maintaining Quality of 'Barhy' Date Fruits. *King Abdulaziz Univ. Meteorol. Environ. Arid Land Agric. Sci* **20**, 3-22.
- El Halouat, A., and Debevere, J. M. (1997). Effect of water activity, modified atmosphere packaging and storage temperature on spore germination of moulds isolated from prunes. *International Journal of Food Microbiology* **35**, 41-48.
- El Sheikha, A. (2010). Determination of the geographical origin of fruits by using 26S rDNA fingerprinting of yeast communities by PCR-DGGE: an application to Shea tree fruits. *Journal of Life Sciences* **4**, 9-15.
- El Sheikha, A. F., and Montet, D. (2011). Determination of fruit origin by using 28S rDNA fingerprinting of fungi communities by PCR-DGGE: an application to Physalis fruits from Egypt, Uganda and Colombia. *Fruits* **66**, 79-89.
- Elleuch, M., Besbes, S., Roiseux, O., Blecker, C., Deroanne, C., Drira, N.-E., and Attia, H. (2008). Date flesh: Chemical composition and characteristics of the dietary fibre. *Food Chemistry* **111**, 676-682.
- Emborg, J., and Dalgaard, P. (2008). Modelling the effect of temperature, carbon dioxide, water activity and pH on growth and histamine formation by *Morganella psychrotolerans*. *International Journal of Food Microbiology* **128**, 226-233.
- Erkmen, O. (2012). Modified-Atmosphere Storage of Foods. *In* "Progress in Food Preservation" (R. Bhat, A. K. Alias and G. Paliyath, eds.), pp. 49-64. John Wiley & Sons, Oxford.
- Fallik, E. (2004). Prestorage hot water treatments (immersion, rinsing and brushing). *Postharvest Biology and Technology* **32**, 125-134.
- Fallik, E., and Lurie, S. (2007). Thermal control of fungi in the reduction of postharvest decay. *In* "Heat treatments for postharvest pest control: theory and practice" (T. Juming, M. Elizabeth, W. Shaojin and L. Susan, eds.), pp. 162. CABI UK.
- Farag, K. M., and Kassem, H. A. (1998). Accelerating and intensifying color formation of Zaghloul date palm fruits using modified ethephon formulations. *In* "Proceedings of the First International Conference on Date Palms", pp. 62-71. United Arab Emirates University, Al-Ain.
- Farahnaky, A., and Afshari-Jouybari, H. (2011). Physicochemical changes in Mazafati date fruits incubated in hot acetic acid for accelerated ripening to prevent diseases and decay. *Scientia Horticulturae* **127**, 313-317.
- Fellows, P. J. (2000). Chilling. *In* "Food processing technology: principles and practice", pp. 397-403. CRC Press, Boca Raton.
- Fernandez, A., Salmeron, C., Fernandez, P., and Martinez, A. (1999). Application of a frequency distribution model to describe the thermal inactivation of two strains of *Bacillus cereus*. *Trends in food science & technology* **10**, 158-162.
- Finkelshtain, I., Kachel, Y., and Rubin, O. (2011). "Policy, Competitiveness and Agricultural Trade: An Application of the Policy Analysis Matrix (PAM) to Israeli Agriculture."

- Department of Agricultural Economics and Management, The Hebrew University of Jerusalem, Jerusalem.
- Francis, F. J. (1995). Quality as influenced by color. *Food Quality and Preference* **6**, 149-155.
- Fujikawa, H., and Itoh, T. (1996a). Characteristics of a multicomponent first-order model for thermal inactivation of microorganisms and enzymes. *International journal of food microbiology* **31**, 263-271.
- Fujikawa, H., and Itoh, T. (1996b). Tailing of thermal inactivation curve of *Aspergillus niger* spores. *Applied and environmental microbiology* **62**, 3745-3749.
- Gaffney, J. J., and Armstrong, J. W. (1990). High-Temperature Forced-Air Research Facility for Heating Fruits for Insect Quarantine Treatments. *Journal of Economic Entomology* **83**, 1959-1964.
- Garcia, D., Ramos, A. J., Sanchis, V., and Marín, S. (2011). Modelling the effect of temperature and water activity in the growth boundaries of *Aspergillus ochraceus* and *Aspergillus parasiticus*. *Food Microbiology* **28**, 406-417.
- Geeraerd, A., Herremans, C., and Van Impe, J. (2000). Structural model requirements to describe microbial inactivation during a mild heat treatment. *International journal of food microbiology* **59**, 185-209.
- George, S., Cenkowski, S., and Muir, W. (2004). A review of drying technologies for the preservation of nutritional compounds in waxy skinned fruit. In "North Central ASAE/CSAE Conf, Winnipeg, Manitoba, Canada", Vol. 2425.
- Gervais, P., and de Marañon, I. M. (1995). Effect of the kinetics of temperature variation on *Saccharomyces cerevisiae* viability and permeability. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes* **1235**, 52-56.
- Gervais, P., and Marechal, P. (1994). Yeast resistance to high levels of osmotic pressure: Influence of kinetics. *Journal of food engineering* **22**, 399-407.
- Gherbawy, Y. (2001). Use of RAPD-PCR to characterize Eurotium strains isolated from date fruits. *Cytologia- international journal of cytology* **66**, 349-356.
- Giorni, P., Battilani, P., Pietri, A., and Magan, N. (2008). Effect of aw and CO₂ level on *Aspergillus flavus* growth and aflatoxin production in high moisture maize post-harvest. *International Journal of Food Microbiology* **122**, 109-113.
- Giridhar, P., and Reddy, S. (2001). Mycobiota and potential mycotoxins of date fruit. *Journal of food science and technology* **38**, 418-420.
- Glasner, B., Botes, A., Zaid, A., and Emmens, J. (1999). Date harvesting, packing house management, and marketing aspects. In "Date palm cultivation" (A. Zaid and E. J. Arias, eds.), Vol. FAO Plant Production and Protection Paper, No. 156, pp. 177-198. FAO, Rome, Italy.
- González, H. H. L. (1998). Relationship between *Fusarium graminearum* and *Alternaria alternata* contamination and deoxynivalenol occurrence on Argentinian durum wheat. *Mycopathologia* **144**, 97-102.
- Gorris, L. G. M., and Peppelenbos, H. W. (1999). Modified-Atmosphere Packaging of Produce. In "Handbook of Food Preservation" (M. S. Rahman, ed.), Vol. Second Edition, pp. 316-329. CRC press, Boca Raton.
- Gougouli, M., Kalantzi, K., Beletsiotis, E., and Koutsoumanis, K. P. (2011). Development and application of predictive models for fungal growth as tools to improve quality control in yogurt production. *Food Microbiology* **28**, 1453-1462.
- Gougouli, M., and Koutsoumanis, K. P. (2010). Modelling growth of *Penicillium expansum* and *Aspergillus niger* at constant and fluctuating temperature conditions. *International Journal of Food Microbiology* **140**, 254-262.
- Habibi Najafi, M. B., and Haddad Khodaparast, M. (2009). Efficacy of ozone to reduce microbial populations in date fruits. *Food Control* **20**, 27-30.

- Hallman, G. J. (2000). Factors affecting quarantine heat treatment efficacy. *Postharvest Biology and Technology* **21**, 95-101.
- Hamad, S. H. (2008). Microbial Spoilage of Date Rutab Collected from the Markets of Al-Hofuf City in the Kingdom of Saudi Arabia. *Journal of Food Protection* **71**, 1406-1411.
- Hasegawa, S., and Maier, V. P. (1980). Polyphenol oxidase of dates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **28**, 891-893.
- Hazbavi, E., Khoshtaghaza, M. H., Mostaan, A., and Banakar, A. (2013). Effect of storage duration on some physical properties of date palm (cv. Stamaran). *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* **14**, 140-146.
- Heldman, D., and Hartel, R. (1997). Thermal Processing Principles. In "Principles of Food Processing", pp. 13-33. Springer US, Gaithersburg, Maryland.
- Hessler, J. P. (1997). The use of Monte Carlo simulations to evaluate kinetic data and analytic approximations. *International Journal of Chemical Kinetics* **29**, 803-817.
- Hills, B. P., and Mackey, B. M. (1995). Multi-compartment kinetic models for injury, resuscitation, induced lag and growth in bacterial cell populations. *Food Microbiology* **12**, 333-346.
- Holdsworth, D., and Simpson, R. (2007). Kinetics of Thermal Processing. In "Thermal Processing of Packaged Foods", pp. 87-122. Springer US.
- Idder, M. A., Idder-Ighili, H., Saggou, H., and Pintureau, B. (2009). Taux d'infestation et morphologie de la pyrale des dattes *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller) sur différentes variétés du palmier dattier *Phoenix dactylifera* (L.). *Cahiers Agricultures* **18**, 63-71.
- Judet-Correia, D., Bollaert, S., Duquenne, A., Charpentier, C., Bensoussan, M., and Dantigny, P. (2010). Validation of a predictive model for the growth of *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum* on grape berries. *International Journal of Food Microbiology* **142**, 106-113.
- Juneja, V. K., and Marks, H. M. (2003). Mathematical description of non-linear survival curves of *Listeria monocytogenes* as determined in a beef gravy model system at 57.5 to 65 C. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* **4**, 307-317.
- Kader, A. A., and Hussein, A. M. (2009). Harvesting and postharvest handling of dates. In "Project on the Development of Sustainable Date Palm Production Systems in the GCC countries of the Arabian Peninsula" (ICARDA, ed.), pp. 15, Aleppo, Syria.
- Kara, Ş., and Erçelebi, E. A. (2013). Thermal degradation kinetics of anthocyanins and visual colour of Urmu mulberry (*Morus nigra* L.). *Journal of Food Engineering* **116**, 541-547.
- Karabulut, O. A., Arslan, U., and Kuruoglu, G. (2004). Control of Postharvest Diseases of Organically Grown Strawberry with Preharvest Applications of some Food Additives and Postharvest Hot Water Dips. *Journal of Phytopathology* **152**, 224-228.
- Karakousis, A., Tan, L., Ellis, D., Alexiou, H., and Wormald, P. J. (2006). An assessment of the efficiency of fungal DNA extraction methods for maximizing the detection of medically important fungi using PCR. *Journal of microbiological methods* **65**, 38-48.
- Karel, M., and Lund, D. B. (2003). Storage at Chilling Temperatures. In "Physical Principles of Food Preservation: Revised and Expanded", Vol. , pp. 129. Marcel Dekker, NEW YORK.
- Khali, M., Selselet-Attou, G., and Guetarni, D. (2007). Influence de La thermisation et d'un emballage pour atmosphères modifiées sur la composition chimique de la datte *Deglet-Nour* au cours du stockage au froid. *Sci. Technol., C-26*, 9-16.
- King, A. D. (1997). Heat resistance of *Talaromyces flavus* ascospores as determined by a two phase slug flow heat exchanger. *International journal of food microbiology* **35**, 147-151.

- King Jr, A., Bayne, H., and Alderton, G. (1979). Nonlogarithmic death rate calculations for *Byssochlamys fulva* and other microorganisms. *Applied and environmental microbiology* **37**, 596-600.
- Klein, J. D., and Lurie, S. (1992). Heat treatments for improved postharvest quality of horticultural crops. *HortTechnology* **2**, 316-320.
- Kocabiyik, H., Bhat, R., Alias, A., and Paliyath, G. (2012). Biological Materials and Food-Drying Innovations. In "Progress in Food Preservation" (R. Bhat, A. K. Alias and G. Paliyath, eds.), pp. 131-142. Wiley-Blackwell, UK.
- Korbel, E., Servent, A., Billaud, C., and Brat, P. (2013). Heat Inactivation of Polyphenol Oxidase and Peroxidase as a Function of Water Activity: A Case Study of Mango Drying. *Drying Technology* **31**, 1675-1680.
- Kotzekidou, P. (1997). Heat resistance of *Byssochlamys nivea*, *Byssochlamys fulva* and *Neosartorya fischeri* isolated from canned tomato paste. *Journal of food science* **62**, 410-412.
- Lachance, M.-A., Dobson, J., Wijayanayaka, D. N., and Smith, A. M. (2010). The use of parsimony network analysis for the formal delineation of phylogenetic species of yeasts: *Candida apicola*, *Candida azyma*, and *Candida parazyza* sp. nov., cosmopolitan yeasts associated with floricolous insects. *Antonie van Leeuwenhoek* **97**, 155-170.
- Lagarias, J., Reeds, J., Wright, M., and Wright, P. (1998). Convergence Properties of the Nelder--Mead Simplex Method in Low Dimensions. *SIAM Journal on Optimization* **9**, 112-147.
- Le Jean, G., Abraham, G., Debray, E., Candau, Y., and Piar, G. (1994). Kinetics of thermal destruction of *Bacillus stearothermophilus* spores using a two reaction model. *Food Microbiology* **11**, 229-241.
- Le Marc, Y. (2001). Développement d'un modèle modulaire décrivant l'effet des interactions entre les facteurs environnementaux sur les aptitudes de croissance de *Listeria*. Thèse de doctorat, Université de Bretagne Occidentale, Quimper, France.
- Le Marc, Y., Huchet, V., Bourgeois, C. M., Guyonnet, J. P., Mafart, P., and Thuault, D. (2002). Modelling the growth kinetics of *Listeria* as a function of temperature, pH and organic acid concentration. *International Journal of Food Microbiology* **73**, 219-237.
- Leong, S.-l. L., Hocking, A. D., and Scott, E. S. (2006). Effect of temperature and water activity on growth and ochratoxin A production by Australian *Aspergillus carbonarius* and *A. niger* isolates on a simulated grape juice medium. *International Journal of Food Microbiology* **110**, 209-216.
- Leong, S.-l. L., Pettersson, O. V., Rice, T., Hocking, A. D., and Schnürer, J. (2011). The extreme xerophilic mould *Xeromyces bisporus* — Growth and competition at various water activities. *International Journal of Food Microbiology* **145**, 57-63.
- Lichter, A., Dvir, O., Rot, I., Akerman, M., Regev, R., Wiesblum, A., Fallik, E., Zauberman, G., and Fuchs, Y. (2000). Hot water brushing: an alternative method to SO₂ fumigation for color retention of litchi fruits. *Postharvest Biology and Technology* **18**, 235-244.
- Linton, R. H., Carter, W. H., Pierson, M. D., and Hackney, C. R. (1995). Use of a modified Gompertz equation to model nonlinear survival curves for *Listeria monocytogenes* Scott A. *Journal of Food Protection* **58**, 946-954.
- Logrieco, A., Bottalico, A., Mulé, G., Moretti, A., and Perrone, G. (2003). Epidemiology of toxigenic fungi and their associated mycotoxins for some Mediterranean crops. *European Journal of Plant Pathology* **109**, 645-667.

- Ludikhuyze, L., Ooms, V., Weemaes, C., and Hendrickx, M. (1999). Kinetic Study of the Irreversible Thermal and Pressure Inactivation of Myrosinase from Broccoli (*Brassica oleracea* L. Cv. Italica). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **47**, 1794-1800.
- Lurie, S. (1998). Postharvest heat treatments. *Postharvest Biology and Technology* **14**, 257-269.
- Machiels, D., and Istasse, L. (2002). La réaction de Maillard: importance et applications en chimie des aliments. *Ann. Méd. Vét* **146**, 347-352.
- Mafart, P., Couvert, O., Gaillard, S., and Leguerinel, I. (2002). On calculating sterility in thermal preservation methods: application of the Weibull frequency distribution model. *International journal of food microbiology* **72**, 107-113.
- Maier, V. P., and Schiller, F. H. (1961). Studies on Domestic Dates. III. Effect of Temperature on Some Chemical Changes Associated with Deterioration a,b. *Journal of Food Science* **26**, 529-534.
- Mansouri, A., Embarek, G., Kokkalou, E., and Kefalas, P. (2005). Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry* **89**, 411-420.
- Margosan, D. A., Smilanick, J. L., Simmons, G. F., and Henson, D. J. (1997). Combination of Hot Water and Ethanol to Control Postharvest Decay of Peaches and Nectarines. *Plant Disease* **81**, 1405-1409.
- Marín, S., Colom, C., Sanchis, V., and Ramos, A. J. (2009). Modelling of growth of aflatoxigenic *A. flavus* isolates from red chilli powder as a function of water availability. *International Journal of Food Microbiology* **128**, 491-496.
- Marquenie, D., Lammertyn, J., Geeraerd, A., Soontjens, C., Van Impe, J., Nicolai, B., and Michiels, C. (2002). Inactivation of conidia of *Botrytis cinerea* and *Monilinia fructigena* using UV-C and heat treatment. *International journal of food microbiology* **74**, 27-35.
- McGuire, R. G. (1991). Market quality of grapefruit after heat quarantine treatments. *HortScience* **26**, 1393-1395.
- McMeekin, T. A., Chandler, R. E., Doe, P. E., Garland, C. D., Olley, J., Putro, S., and Ratkowsky, D. A. (1987). Model for combined effect of temperature and salt concentration/water activity on the growth rate of *Staphylococcus xylosum*. *Journal of Applied Bacteriology* **62**, 543-550.
- McMeekin, T. A., and Ross, T. (1996). Shelf life prediction: status and future possibilities. *International Journal of Food Microbiology* **33**, 65-83.
- Medina, Á., Valle-Algarra, F. M., Mateo, R., Gimeno-Adelantado, J. V., Mateo, F., and Jiménez, M. (2006). Survey of the mycobiota of Spanish malting barley and evaluation of the mycotoxin producing potential of species of *Alternaria*, *Aspergillus* and *Fusarium*. *International Journal of Food Microbiology* **108**, 196-203.
- Mejlholm, O., and Dalgaard, P. (2007). Modeling and predicting the growth of lactic acid bacteria in lightly preserved seafood and their Inhibiting effect on *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection* **70**, 2485-2497.
- Miller, W., McDonald, R., Hallman, G., and Sharp, J. (1991). Condition of Florida grapefruit after exposure to vapor heat quarantine treatment. *HortScience* **26**, 42-44.
- Mohsen, A. E. M. (2012). Nonchemical Methyl Bromide Alternatives in Dates' Processing Sector. In "Dates: production, processing, food, and medicinal values" (A. Manickavasagan, M. Mohamed Essa and E. Sukumar, eds.), pp. 227-253. CRC Press, Boca Raton.
- Moore, J. E., Xu, J., Millar, B., and Elshibly, S. (2002). Edible dates (*Phoenix dactylifera*), a potential source of *Cladosporium cladosporioides* and *Sporobolomyces roseus*: Implications for public health. *Mycopathologia* **154**, 25-28.

- Morris, P. F., Connolly, M. S., and St Clair, D. A. (2000). Genetic diversity of *Alternaria alternata* isolated from tomato in California assessed using RAPDs. *Mycological Research* **104**, 286-292.
- Anonyme (2015). Filère dattes: En attendant la labellisation. In "Le Soir d'Algérie", Vol. 074, pp. 6, Sidi M'Hamed, Alger.
- Navarro, S., Donahaye, J., Rindner, M., and Azrieli, A. (2001). Storage of dates under carbon dioxide atmosphere for quality preservation. In "Proc. Int. Conf. Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products", pp. 231-239. Executive Printing Services, Clovis, CA, U.S.A.
- O'Beirne, D. (2010). Controlled and Modified Atmosphere Packaging of Food Products. In "Innovation in food engineering: new techniques and products" (M. L. Passos and C. P. Ribeiro, eds.), pp. 467-479. CRC Press, Boca Raton.
- Ooraikul, B. (2003). Modified atmosphere packaging (MAP). In "Food preservation techniques" (P. Zeuthen and L. Bùgh-Sùrensen, eds.), pp. 338-355. Woodhead Publishing Limited, Cambridge.
- Oubahou, A., and Yahia, M. (1999). Postharvest handling of dates. *Postharvest News and Information* **10**, 67-74.
- Oviedo, M. S., Ramirez, M. L., Barros, G. G., and Chulze, S. N. (2011). Influence of water activity and temperature on growth and mycotoxin production by *Alternaria alternata* on irradiated soya beans. *International Journal of Food Microbiology* **149**, 127-132.
- Özhan, B., Karadeniz, F., and Erge, H. S. (2010). Effect of storage on nonenzymatic browning reactions in carob pekmez. *International Journal of Food Science & Technology* **45**, 751-757.
- Panagou, E. Z., Chelonas, S., Chatzipavlidis, I., and Nychas, G.-J. E. (2010). Modelling the effect of temperature and water activity on the growth rate and growth/no growth interface of *Byssoschlamys fulva* and *Byssoschlamys nivea*. *Food Microbiology* **27**, 618-627.
- Parra, R., and Magan, N. (2004). Modelling the effect of temperature and water activity on growth of *Aspergillus niger* strains and applications for food spoilage moulds. *Journal of applied microbiology* **97**, 429-438.
- Pathare, P., Opara, U., and Al-Said, F.-J. (2013). Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. *Food and Bioprocess Technology* **6**, 36-60.
- Patriarca, A., Azcarate, M. P., Terminiello, L., and Fernández Pinto, V. (2007). Mycotoxin production by *Alternaria* strains isolated from Argentinean wheat. *International Journal of Food Microbiology* **119**, 219-222.
- Peleg, M. (2000). Microbial survival curves--the reality of flat. *Food Research International* **33**, 531-538.
- Phillips, C. A. (1996). Review: Modified Atmosphere Packaging and its effects on the microbiological quality and safety of produce. *International Journal of Food Science & Technology* **31**, 463-479.
- Pitt, J., and Hocking, A. (2009). Spoilage of Stored, Processed and Preserved Foods. In "Fungi and Food Spoilage", pp. 401-421. Springer US.
- Plesset, J., Ludwig, J., Cox, B., and McLaughlin, C. (1987). Effect of cell cycle position on thermotolerance in *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of bacteriology* **169**, 779-784.
- Porat, R., Daus, A., Weiss, B., Cohen, L., Fallik, E., and Droby, S. (2000). Reduction of postharvest decay in organic citrus fruit by a short hot water brushing treatment. *Postharvest Biology and Technology* **18**, 151-157.
- Pose, G., Patriarca, A., Kyanko, V., Pardo, A., and Fernández Pinto, V. (2009). Effect of water activity and temperature on growth of *Alternaria alternata* on a synthetic tomato medium. *International Journal of Food Microbiology* **135**, 60-63.

- Pritchard, D. J., and Bacon, D. W. (1975). Statistical assessment of chemical kinetic models. *Chemical Engineering Science* **30**, 567-574.
- Prusky, D., Fuchs, Y., Kobiler, I., Roth, I., Weksler, A., Shalom, Y., Fallik, E., Zauberman, G., Pesis, E., Akerman, M., Ykutiely, O., Weisblum, A., Regev, R., and Artes, L. (1999). Effect of hot water brushing, prochloraz treatment and waxing on the incidence of black spot decay caused by *Alternaria alternata* in mango fruits. *Postharvest Biology and Technology* **15**, 165-174.
- Ragab, W., Ramadan, B., and Abdel-Sater, M. (2001). Mycoflora and Aflatoxins associated with Saidu Dates as affected by technological processes. pp. 25-27.
- Rahman, M. S., and Labuza, P. T. (2007). Water Activity and Food Preservation. In "Handbook of food preservation" (M. S. Rahman, ed.), Vol. Second Edition, pp. 448-471. CRC press, Boca Raton.
- Ramirez, M. L., Chulze, S., and Magan, N. (2006). Temperature and water activity effects on growth and temporal deoxynivalenol production by two Argentinean strains of *Fusarium graminearum* on irradiated wheat grain. *International Journal of Food Microbiology* **106**, 291-296.
- Rao, D. G., Hariharan, T., and Feroz, S. (2012). Processing of dates by dehydration and microwave drying. In "Dates: production, processing, food, and medicinal values" (A. Manickavasagan, M. M. Essa and E. Sukumar, eds.), pp. 203-215. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Raso, J., Calderón, M. L., Góngora, M., Barbosa-Cánovas, G. V., and Swanson, B. G. (1998). Inactivation of *Zygosaccharomyces bailii* in fruit juices by heat, high hydrostatic pressure and pulsed electric fields. *Journal of food science* **63**, 1042-1044.
- Ratkowsky, D., Olley, J., McMeekin, T., and Ball, A. (1982). Relationship between temperature and growth rate of bacterial cultures. *Journal of Bacteriology* **149**, 1-5.
- Reveron, I. M., Barreiro, J. A., and Sandoval, A. J. (2005). Thermal death characteristics of *Lactobacillus paracasei* and *Aspergillus niger* in Pilsen beer. *Journal of food engineering* **66**, 239-243.
- Reynes, M. (1997). Influence d'une technique de désinfestation par micro-ondes sur les critères de qualité physico-chimiques et biochimiques de la datte. Thèse de doctorat, Institut national polytechnique de Lorraine, France.
- Rivas, N. J., and Whitaker, J. R. (1973). Purification and some properties of two polyphenol oxidases from Bartlett pears. *Plant physiology* **52**, 501-507.
- Robinson, T. P., Ocio, M. J., Kaloti, A., and Mackey, B. M. (1998). The effect of the growth environment on the lag phase of *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology* **44**, 83-92.
- Rosa, C. A., Lachance, M. A., Silva, J. O., Teixeira, A. C. P., Marini, M. M., Antonini, Y., and Martins, R. P. (2003). Yeast communities associated with stingless bees. *FEMS yeast research* **4**, 271-275.
- Ross, T. (1996). Indices for performance evaluation of predictive models in food microbiology. *Journal of Applied Bacteriology* **81**, 501-508.
- Ross, T., and Dalgaard, P. (2004a). Secondary Models. In "Modeling Microbial Responses in Food" (R. C. McKellar and X. Lu, eds.), pp. 257-264. CRC Press, Boca Raton London New York Washington, D.C.
- Ross, T., and Dalgaard, P. (2004b). Secondary models. In "Modeling microbial responses in food" (R. C. McKellar and X. Lu, eds.), pp. 63-150. CRC Press, Boca Raton.
- Rosso, L. (1995). Modélisation et microbiologie prévisionnelle : Elaboration d'un nouvel outil pour l'agro-alimentaire. Thèse de doctorat, Université de Lyon 1.

- Rosso, L. (1998). Predictive microbiology: validation of the models in the industrial context. In "COST 914 workshop. Validation of predictive models in wide range of european foods", pp. 10-11.
- Rosso, L., Lobry, J. R., and Flandrois, J. P. (1993). An Unexpected Correlation between Cardinal Temperatures of Microbial Growth Highlighted by a New Model. *Journal of Theoretical Biology* **162**, 447-463.
- Rudra Shalini, G., Shivhare, U., and Basu, S. (2008). Thermal inactivation kinetics of peroxidase in mint leaves. *Journal of Food Engineering* **85**, 147-153.
- Saafi, E. B., El Arem, A., Issaoui, M., Hammami, M., and Achour, L. (2009). Phenolic content and antioxidant activity of four date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruit varieties grown in Tunisia. *International Journal of Food Science & Technology* **44**, 2314-2319.
- Saleem, S. A., Baloch, A. K., Baloch, M. K., Baloch, W. A., and Ghaffoor, A. (2005). Accelerated ripening of Dhakki dates by artificial means: ripening by acetic acid and sodium chloride. *Journal of Food Engineering* **70**, 61-66.
- Salomão, B., Slongo, A., and Aragão, G. (2007). Heat resistance of *Neosartorya fischeri* in various juices. *LWT-Food Science and Technology* **40**, 676-680.
- Sandhya (2010). Modified atmosphere packaging of fresh produce: current status and future needs. *LWT-Food Science and Technology* **43**, 381-392.
- Sant'Ana, A., Rosenthal, A., and Massaguier, P. (2009). Heat resistance and the effects of continuous pasteurization on the inactivation of *Byssoschlamys fulva* ascospores in clarified apple juice. *Journal of applied microbiology* **107**, 197-209.
- Sapru, V., Smerage, G., Teixeira, A., and Lindsay, J. (1993). Comparison of predictive models for bacterial spore population resources to sterilization temperatures. *Journal of food science* **58**, 223-228.
- Sautour, M., Dantigny, P., Divies, C., and Bensoussan, M. (2001). A temperature-type model for describing the relationship between fungal growth and water activity. *International Journal of Food Microbiology* **67**, 63-69.
- Schenberg-Frascino, A., and Moustacchi, E. (1972). Lethal and mutagenic effects of elevated temperature on haploid yeast. *Molecular and General Genetics MGG* **115**, 243-257.
- Schlichting H., (1979). Boundary-layer theory. 7th (eds), McGraw-Hill Book Company, Inc., New York. 817 p.
- Schrader, T. J., Cherry, W., Soper, K., and Langlois, I. (2006). Further examination of the effects of nitrosylation on *Alternaria alternata* mycotoxin mutagenicity in vitro. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* **606**, 61-71.
- Schwaab, M., and Pinto, J. C. (2007). Optimum reference temperature for reparameterization of the Arrhenius equation. Part 1: Problems involving one kinetic constant. *Chemical Engineering Science* **62**, 2750-2764.
- Shearer, A. E. H., Mazzotta, A. S., Chuyate, R., and Gombas, D. E. (2002). Heat Resistance of Juice Spoilage Microorganisms. *Journal of Food Protection* **65**, 1271-1275.
- Sheffield, V. C., Cox, D. R., Lerman, L. S., and Myers, R. M. (1989). Attachment of a 40-base-pair G + C-rich sequence (GC-clamp) to genomic DNA fragments by the polymerase chain reaction results in improved detection of single-base changes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **86**, 232-236.
- Shenasi, M., Aidoo, K. E., and Candlish, A. A. G. (2002a). Microflora of date fruits and production of aflatoxins at various stages of maturation. *International Journal of Food Microbiology* **79**, 113-119.
- Shenasi, M., Candlish, A. A. G., and Aidoo, K. E. (2002b). The production of aflatoxins in fresh date fruits and under simulated storage conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **82**, 848-853.

- Shull, J. J., Cargo, G. T., and Ernst, R. R. (1963). Kinetics of heat activation and of thermal death of bacterial spores. *Applied microbiology* **11**, 485-487.
- Sidhu, J. S. (2006). Date fruits production and processing. In "Handbook of fruits and fruit processing" (Y. H. Hui, ed.), pp. 391. Blackwell Publishing, Ames
- Stratford, M., Bond, C., James, S., Roberts, N., and Steels, H. (2002). *Candida davenportii* sp. nov., a potential soft-drinks spoilage yeast isolated from a wasp. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* **52**, 1369-1375.
- Tang, J., Ikediala, J., Wang, S., Hansen, J. D., and Cavalieri, R. (2000). High-temperature-short-time thermal quarantine methods. *Postharvest Biology and Technology* **21**, 129-145.
- Taniwaki, M. H. (1995). Growth and mycotoxin production by fungi under modified atmospheres. Ph.D. Thesis, University of New South Wales, Kensington.
- Taniwaki, M. H., Hocking, A. D., Pitt, J. I., and Fleet, G. H. (2009). Growth and mycotoxin production by food spoilage fungi under high carbon dioxide and low oxygen atmospheres. *International Journal of Food Microbiology* **132**, 100-108.
- Taniwaki, M. H., Hocking, A. D., Pitt, J. I., and Fleet, G. H. (2010). Growth and mycotoxin production by fungi in atmospheres containing 80% carbon dioxide and 20% oxygen. *International Journal of Food Microbiology* **143**, 218-225.
- Tapia, M. S., Alzamora, S. M., and Chirife, J. (2008). Effects of Water Activity (aw) on Microbial Stability: As a Hurdle in Food Preservation. In "Water Activity in Foods, Fundamentals and Applications" (G. V. Barbosa-Cánovas, A. J. Fontana Jr, S. J. Schmidt and T. P. Labuza, eds.), pp. 239. John Wiley & Sons, Iowa.
- Tassou, C. C., Panagou, E. Z., Natskoulis, P., and Magan, N. (2007). Modelling the effect of temperature and water activity on the growth of two ochratoxigenic strains of *Aspergillus carbonarius* from Greek wine grapes. *Journal of Applied Microbiology* **103**, 2267-2276.
- Tofalo, R., Chaves-López, C., Di Fabio, F., Schirone, M., Felis, G. E., Torriani, S., Paparella, A., and Suzzi, G. (2009). Molecular identification and osmotolerant profile of wine yeasts that ferment a high sugar grape must. *International journal of food microbiology* **130**, 179-187.
- Tokuoka, K. (1993). Sugar and salt tolerant yeasts. *Journal of applied microbiology* **74**, 101-110.
- Torres, M. R., Ramos, A. J., Soler, J., Sanchis, V., and Marín, S. (2003). SEM study of water activity and temperature effects on the initial growth of *Aspergillus ochraceus*, *Alternaria alternata* and *Fusarium verticillioides* on maize grain. *International Journal of Food Microbiology* **81**, 185-193.
- U.S.EPA (1996). Heat Treatments (Hot-water Immersion, High Temperature Forced Air, Vapor Heat) As Alternative Quarantine Control Technologies for Perishable Commodities. In "Part of EPA 430-R-96-021, 10 Case Studies, Volume 2" (M. B. A. C. Study, ed.). EPA Environmental Protection Agency.
- van Boekel, M. A. (2010). Kinetic modeling of reactions in foods. pp. 788. CRC press, Boca Raton, London.
- van Boekel, M. A. J. S. (2001). Kinetic aspects of the Maillard reaction: a critical review. *Food / Nahrung* **45**, 150-159.
- van Boekel, M. A. J. S. (2002). On the use of the Weibull model to describe thermal inactivation of microbial vegetative cells. *International journal of food microbiology* **74**, 139-159.
- van Boekel, M. A. J. S. (2008). Kinetic modeling of food quality: a critical review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **7**, 144-158.

- Vats, P., and Banerjee, U. C. (2002). Studies on the production of phytase by a newly isolated strain of *Aspergillus niger* var teigham obtained from rotten wood-logs. *Process Biochemistry* **38**, 211-217.
- Vicente, A. R., Martínez, G. A., Civello, P. M., and Chaves, A. R. (2002). Quality of heat-treated strawberry fruit during refrigerated storage. *Postharvest Biology and Technology* **25**, 59-71.
- Waite, J. H. (1976). Calculating extinction coefficients for enzymatically produced o-quinones. *Analytical Biochemistry* **75**, 211-218.
- Weemaes, C. A., Ludikhuyze, L. R., Van den Broeck, I., and Hendrickx, M. E. (1998). Kinetics of combined pressure-temperature inactivation of avocado polyphenoloxidase. *Biotechnology and Bioengineering* **60**, 292-300.
- Whitaker, S (1976) Elementary heat transfer analysis, Pergamon, New-York.
- Wijtes, T., McClure, P. J., Zwietering, M. H., and Roberts, T. A. (1993). Modelling bacterial growth of *Listeria monocytogenes* as a function of water activity, pH and temperature. *International Journal of Food Microbiology* **18**, 139-149.
- Yahia, E. M., and Kader, A. A. (2011). Date (*Phoenix dactylifera* L.). In "Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits." (E. M. Yahia, ed.), Vol. Volume 3: cocona to mango, pp. 41-79. Woodhead Publishing Series in Food Science, Mexico.
- Yemenicioğlu, A., Özkan, M., Velioglu, S., and Cemeroğlu, B. (1998). Thermal inactivation kinetics of peroxidase and lipoxygenase from fresh pinto beans (*Phaseolus vulgaris*). *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A* **206**, 294-296.
- Young, D. H., and Kauss, H. (1984). Adhesion of *Colletotrichum lindemuthianum* spores to *Phaseolus vulgaris* hypocotyls and to polystyrene. *Applied and environmental microbiology* **47**, 616.
- Zaid, A., and Arias Jiménez, E. (1999). Date palm cultivation. In "FAO Plant Production and Protection Paper", Vol. 156-Rev. 1, pp. 309. FAO, Rome.
- Zuliani, V., Lebert, I., Augustin, J. C., Garry, P., Vendeuvre, J. L., and Lebert, A. (2007). Modelling the behaviour of *Listeria monocytogenes* in ground pork as a function of pH, water activity, nature and concentration of organic acid salts. *Journal of applied microbiology* **103**, 536-550.
- Zwietering, M., Jongenburger, I., Rombouts, F., and Van't Riet, K. (1990). Modeling of the bacterial growth curve. *Applied and environmental microbiology* **56**, 1875-1881.
- Zwietering, M., Wijtzes, T., De Wit, J., and Van't Riet, K. (1992). A decision support system for prediction of the microbial spoilage in foods. *Journal of Food Protection* **55**, 973-979.