

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE DJILLALI LIABES DE SIDI-BEL-ABBES

Faculté de Génie électrique

Département d'Électrotechnique

Thèse présentée par :

Mr : SEMMAK Abdelkader

Pour l'obtention du diplôme de :

Doctorat LMD

Option : Haute tension

Intitulé de la thèse :

Contribution à l'étude de l'extraction des jus
et des huiles végétales par champ électrique pulsé

Présentée devant le jury composé de :

Pr. BRAHAMI Mostéfa	Professeur	(U.D.L. Sidi Bel-Abbés)	Président
Pr. TILMATINE Amar	Professeur	(U.D.L. Sidi Bel-Abbés)	Encadreur
Pr. REDONDO Luis	Professeur	(ISEL Lisbonne, Portugal)	Co-Encadreur
Dr. AKSA Wessim	MCA	(U.D.L. Sidi Bel-Abbés)	Examineur
Dr. TAIBI Ahmed	MCA	(Université de Tlemcen)	Examineur

Soutenu en : Juillet 2018



Laboratoire de recherche APELEC (Application of Plasma, Electrostatics & Electromagnetic Compatibility)



Remerciements

Avant tout je tiens à rendre grâce à **DIEU** qui nous a octroyé la raison qui place l'être humain au sommet du piédestal et qui le prédispose à domestiquer la nature à travers la science. «Louanges à DIEU, notre Créateur, notre Guide, notre Protecteur et notre Bienfaiteur».

Il m'est agréable de remercier particulièrement Mr **Amar TILMATINE**, Professeur à l'Université Djillali Liabes de Sidi Bel-Abbes, qui m'a mis sur la voie du présent travail, m'a fait l'honneur de diriger mes travaux. Sa haute compétence, sa disponibilité, ses qualités humaines et ses conseils judicieux ont été pour moi une source inestimable de réconfort et d'encouragement.

Je remercie sincèrement le Professeur **Luís Manuel dos Santos REDONDO** pour avoir accepté de co-diriger ma thèse. Je lui exprime toute ma reconnaissance pour les conseils enrichissants aux plans théorique et pratique dans le domaine de l'électronique. Je tiens à remercier vivement, son équipe de recherche de l'institut Supérieur d'Ingénierie ISEL de Lisbonne, Mr **Luís ENCARNÇÃO** et Mr **Hiren CANACSINH**, qui, dans le cadre du Programme national exceptionnel (PNE), m'ont apporté leur précieuse aide sur le domaine de l'électronique de puissance et la réalisation des circuits imprimés au niveau du laboratoire Pulsed Power Advanced Application Research Group, GIA2P2.

J'exprime toute ma gratitude au Docteur **Yassine BELLEBNA** pour la qualité de sa collaboration, Je suis très heureux de lui exprimer ma profonde reconnaissance pour l'aide et les conseils qu'il m'a prodigué tout au long de ce travail.

En outre, j'adresse mes remerciements les plus sincères à monsieur **BRAHAMI Mostéfa** pour avoir accepté de présider le jury, tout comme j'adresse ma profonde reconnaissance à messieurs : **AKSA Wessim** et **TAIBI Ahmed** pour avoir accepté d'examiner et d'évaluer ce modeste travail.

Mes meilleures pensées s'adressent à **mes parents** qui ont toujours fait de leur mieux pour que je puisse mener à bien mes études. Je les remercie pour leur soutien sans faille et pour la confiance qu'ils m'ont toujours accordée. A ma petite sœur **Nessrine**, mes frères : **FEZZAZI Omar**, **BEY Anes** et **FEZZAZI Ali**. Les mots sont peu de choses pour exprimer ma reconnaissance. Je leur dédie ce travail en témoignage de ma profonde affection.

Je ne pourrais terminer sans avoir à remercier particulièrement mes collègues du Laboratoire ainsi tous ceux ou celles qui m'ont apporté tout soutien et en particulier **Khaled DAIYOU**, **Djillali** et **Aicha**.

Merci Bon Dieu !

Merci encore à tous !

Abdelkader SEMMAK

TABLE DES MATIERES

Table des matières

Introduction générale 01

Chapitre I : Généralités sur le champ électrique pulsé (CEP)

I. Introduction 04

II. Historique 04

III. Mode d'action du champ électrique sur la cellule biologique 06

 III.1. Cellules biologiques végétales 06

 III.2. Electroporation 09

IV. Effets des paramètres du traitement par CEP sur le tissu végétal 12

 IV.1. Influence des paramètres électriques 12

 IV.2. Autre paramètres 15

V. Système de traitement par CEP 17

 V.1. Générateurs d'impulsion 18

 V.2. Chambre de traitement 22

VI. Diverses applications dans l'industrie agro-alimentaire 23

 VI.1. Extraction de composés cellulaires 23

 VI.2. Traitement des liquides et conservations des aliments 24

VII. Conclusion 24

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

I. Produits biologiques étudiés 25

 I.1. Betterave rouge 25

 I.2. Microalgues 26

II. Modes d'extraction 28

 II.1. Pressage 28

 II.2. Extraction des pigments par solvant 29

III. Appareillage de mesure	30
IV. Chambres de traitement	31
IV.1. Chambre cylindrique	31
IV.2. Chambres à unités multiples	31
V. Générateur de champ électrique pulsé	32
V.1. Principe de fonctionnement	32
V.2. Réglage des paramètres électriques	34
VI. Méthodologie des plans d'expériences	37
VI.1. Définitions	37
VI.2. Plans factoriels complets	39
VI.3. Plan composite centré	40
VI.4. Logiciel utilisé (MODDE.5)	41
VII. Conclusion	41

Chapitre 3 : Etude expérimentale du prétraitement CEP pour l'extraction de jus et de pigments

I. Introduction	43
II. Analyse expérimentale des chambres de traitement multi-unités pour le traitement des aliments	44
II.1. Procédure expérimentale	44
II.2. Expériences préliminaires pour la détermination des domaines de variation des facteurs	45
II.3. Modélisation de l'extraction de jus et de pigments par CEP.....	50
III. Extraction de pigments à partir de microalgues prétraitées par CEP.....	58
III.1. Domaines d'application	58
III.2. Extraction de pigments de microalgues marines	60
III.4. Résultats préliminaires du traitement par CEP	61
IV. Conclusion	65

Chapitre 4 : Etude et réalisation d'une alimentation d'impulsion à onde carrée

I. Introduction	66
II. Eléments principales du générateur	67
II.1. Transistors	67
II.2. Microcontrôleur	68
II.3. Pilote des transistors (driver)	69
II.4. L'isolation galvanique (fibre optique)	70
III. Simulation par LTSPICE	71
III.1. Calcul de la chute de tension d'impulsion	73
III.2. Choix du condensateur	75
IV. Réalisation et mise en marche de l'alimentation pulsée	76
IV.1. Circuit de commande	77
IV.2. Circuit de puissance	79
V. Etude de circuit réalisé	84
V.1. Influence de la fréquence de répétition	84
V.2. Étude de la chute de tension de l'impulsion	85
V.3. Fonctionnement a multi-niveaux	86
VI. Conclusion	88
Conclusion générale	89
Références bibliographiques	

INTRODUCTION

GENERALE

Introduction générale

Les agro-ressources présentent une source très importante de composés d'intérêts pour différents secteurs industriels (lipides, protéines, glucides, fibres, colorants, antioxydants...). La demande actuelle des consommateurs s'oriente, de plus en plus, vers des produits alimentaires ayant les caractéristiques suivantes : produits aussi proches que possible des produits frais, produits rapides à préparer, durée de conservation relativement longue.

L'extraction solide-liquide est un procédé largement utilisé en industrie de transformation des matières premières biologiques, notamment en agroalimentaire. Deux techniques d'extraction sont généralement employées: l'extraction par pression (pressage) et l'extraction par solvants (diffusion). Ces techniques sont souvent associées à des prétraitements thermique et mécanique ou à l'utilisation d'agents chimiques et biologiques. L'objectif de ces prétraitements est la dénaturation des membranes et des parois cellulaires afin de faciliter les opérations d'extraction. Néanmoins, ces méthodes présentent certains inconvénients. Par exemple, le traitement thermique (extraction par l'eau chaude) s'accompagne généralement d'une hausse de la consommation énergétique du procédé, avec une dégradation des composés d'intérêts (vitamines, polyphénols,...) et parfois l'extraction de composés indésirables dans le jus. Le traitement thermique, étant non sélectif, nécessite des opérations supplémentaires pour la séparation et la clarification des extraits. Les traitements chimiques et biologiques par l'ajout de solvants organiques ou d'enzymes sont un risque potentiel de contamination des extraits et de l'environnement. Les agents polluants représentent une quantité de déchets non-négligeable et nécessitent un traitement conséquent. D'autre part, le broyage du produit en de très fines particules améliore le rendement en jus mais ne permet pas une extraction sélective avec une faible pureté du jus obtenu à la fin de l'extraction (pressage ou diffusion). Il est donc nécessaire de trouver un compromis entre rendement d'extraction, qualité de l'extrait et consommation énergétique.

Plusieurs méthodes et techniques d'amélioration de l'extraction ont vu le jour. Ces techniques favorisent la dénaturation des membranes cellulaires et par conséquent

améliorent le potentiel d'extraction à partir de la matrice végétale. Ces technologies innovantes permettent de perméabiliser les membranes végétales sans affecter la qualité. La faible consommation énergétique des traitements électriques augmente leur attractivité en agro-alimentaire pour améliorer les procédés de séchage, de pressage, d'extraction et de déshydratation osmotique. Parmi les différentes électro-technologies on distingue les technologies non thermique, thermique et combinée. Il existe les technologies basées sur les champs électriques pulsés (CEP), le chauffage ohmique (CO) et les décharges coronaires. La plupart des études évoquant l'utilisation de ces techniques pour améliorer les procédés d'extraction se sont concentrées sur le procédé de pressage.

Les inconvénients du traitement thermique entraînent des différences qualitatives importantes entre les produits frais et les produits conservables. En réponse à cette antinomie entre qualité et conservation, apparaissent actuellement les traitements alternatifs non thermiques (techniques mettant en jeu des hautes pressions, de la lumière pulsée ou des champs électriques pulsés). Ces nouvelles technologies font aujourd'hui l'objet de nombreuses recherches, à la fois fondamentales et appliquées. Parmi ces technologies, seules émergeront celles répondant aux souhaits des consommateurs et présentant les caractéristiques suivantes: souplesse d'utilisation (facilité de mise en œuvre, capacité à traiter différents produits ...), coûts d'investissement et d'exploitation raisonnables, sécurité et reproductibilité du traitement.

La technique des champs électriques pulsés (CEP), en anglais Pulsed Electric Fields (PEF) semble répondre de manière satisfaisante, et à un coût raisonnable, aux besoins évoqués précédemment. L'électroporation est le phénomène de formation des pores ou de perméabilisation de la membrane cellulaire lorsque celle-ci est soumise à un champ électrique. Les principales applications concernent l'extraction de métabolites ou de composés cellulaires (pigments, jus, ...) et la réduction de la contamination bactérienne pour augmenter la durée de vie des denrées alimentaires.

C'est dans ce contexte que s'inscrit le travail de cette thèse, qui est divisé en quatre chapitres. D'une part, nous visons à étudier les mécanismes de dénaturation du tissu végétal par les traitements électriques. D'autre part, nous avons pour objectif d'étudier l'effet d'un

prétraitement par champ électrique (CEP) sur le rendement d'extraction des jus et des pigments. Les interactions entre les paramètres entrant en jeu dans le traitement sur l'aspect qualitatif et quantitatif des extraits seront discutées.

Le **chapitre 1** débutera par une étude bibliographique des modes d'action du CEP sur le tissu biologique, le principe de la génération des puissances électriques pulsées notamment le stockage capacitif. L'influence des paramètres du traitement sur l'électroporation sera discutée et on va voir aussi diverses applications concernant cette technique. Le **chapitre 2** s'attachera à décrire la méthodologie expérimentale adoptée au cours de ce travail de thèse, en présentant les matières premières étudiées, les dispositifs expérimentaux, les modes opératoires et les différents procédés appliqués.

Le **chapitre 3** vise à apprécier, à l'échelle du laboratoire, l'impact d'un traitement CEP sur la quantité de jus et des pigments extraite à partir de la betterave, en utilisant une nouvelle configuration de chambre de traitement. La méthode des plans d'expériences a été utilisée pour modéliser le prétraitement par CEP. Ce chapitre aura aussi pour objectif d'analyser l'influence de ce traitement sur l'extraction des pigments à partir des micro-algues dites *Nannochloropsis Gaditana*. Ce travail a été réalisé en collaboration avec le groupe HASSNAOUI, qui possède une unité de culture de micro-algues à Chiar, Sidi-Bel-Abbes.

Une réalisation d'une alimentation haute tension pulsé à base d'IGBT au niveau de laboratoire de Pulsed Power Advanced Application Research Group GIA2P2, ISEL Institute, Portugal est présenté dans le **chapitre 4**. Nous décrivons toutes les étapes qui mènent à la réalisation d'un générateur de tension pulsée de Marx composé de trois étages, et réalisé à base de commutateurs électroniques.

Une conclusion permettra d'apprécier les résultats de la démarche expérimentale au regard des objectifs fixés, à savoir d'une part, la pertinence de la technique des champs électriques pulsés pour l'extraction des jus, et d'autre part, la compréhension et la description des phénomènes impliqués.

CHAPITRE

1

Chapitre 1 : Généralités sur le champ électrique pulsé (CEP)

I. Introduction

L'originalité d'un traitement par champ électrique pulsé (CEP) réside dans sa sélectivité vis-à-vis des membranes biologiques. Celui-ci provoque des instabilités locales au niveau de la membrane cellulaire par une compression électromécanique. La tension induite par le champ électrique entraîne la création de pores ; ce phénomène est appelé électroporation [1].

Ce traitement consiste à appliquer une haute tension sous forme de courtes impulsions électriques à un produit placé entre deux électrodes. La valeur de l'intensité du champ électrique dépend essentiellement de la nature des cellules (animale, végétale, microbienne) et de l'application envisagée. Le principe d'action de cette technique consiste à créer de pores dans la membrane cellulaire. L'intensité varie généralement de 0,1-5 kV/cm durant 10-1000 μ s pour le traitement de cellules végétales jusqu'à 15-80 kV/cm durant 1-5 μ s pour l'inactivation des micro-organismes [2-3]. Un grand flux de courant électrique doit circuler à travers l'aliment à traiter dans une chambre de traitement pendant un temps très bref [4].

Il existe, notamment pour les forts courants, toute une gamme de générateurs réalisés, le plus souvent, à partir de semi-conducteurs de puissance (thyristors, IGBT, GTO...). Le domaine des hautes tensions est moins classique mais on trouve, néanmoins, un certain nombre d'architectures permettant de générer de tels signaux : transformateurs à lignes, de Tesla, générateurs de Marx... Le problème essentiel de ces générateurs réside, le plus souvent, dans les performances des commutateurs qui y sont associés : ce sont eux qui conditionnent les performances du générateur par « compression » du temps de restitution de l'énergie électrique stockée conduisant à l'amplification en puissance souhaitée. En effet, le commutateur idéal, susceptible de transmettre une centaine de kilo ampères sous des tensions atteignant la centaine de kilovolts avec des fronts rapides de montée de l'impulsion, suffisamment répétitif n'existe actuellement pas [5].

II. Historique

Le comportement de cellules biologiques soumises à un champ électrique variable avait permis à HOBNER dès 1910 et FRIKE en 1925 de décrire les caractéristiques électriques et géométriques d'érythrocytes (cytoplasme et membrane dont l'épaisseur est estimée alors à 10 nm) [6]. L'inactivation d'un milieu biologique par un transfert d'énergie électrique est également ancienne. On peut citer le procédé Electro-pure dans les années 1920 qui fut brièvement industrialisé pour la stérilisation du lait aux Etats Unis [7]. Dans les années 1940, les champs électriques ont été utilisés dans le traitement des aliments pour autre objectifs

que l'inactivation de microorganismes [8]. Ils ont été utilisés avec succès dans un processus qui augmente la perméabilité des tissus végétaux, facilitant l'extraction des fluides cellulaires. Aujourd'hui, de nombreuses applications mettent l'accent sur l'augmentation de l'efficacité d'extraction des jus en utilisant le CEP comme prétraitement [9].

En 1958, le premier article décrivant le claquage réversible des membranes est publié (Stampfli, 1958). C'est le début des études portant sur les effets des impulsions électriques intenses sur les cellules et les tissus biologiques [10].

Depuis 1960, l'effet du CEP sur le matériel cellulaire a été l'un des sujets de recherche scientifique les plus intéressants dans le domaine agroalimentaire et biotechnologie. Les premiers efforts ont été faits concernant l'augmentation de la perméabilité des tissus végétaux (DOEVENSPECK, 1960) ainsi que l'inactivation de micro-organismes en raison de l'électroporation (Sale & Hamilton, 1967) [11].

Une fois que les principes fondamentaux de la technologie PEF ont été compris, les chercheurs dans le domaine du génie génétique commencent à explorer le mécanisme d'action au niveau cellulaire. Zimmermann et al, (1974) ont introduit la théorie de la rupture diélectrique en utilisant une méthode développée pour favoriser la fusion cellulaire, ce qui permettrait de contrôler la perméabilité de la membrane cellulaire dans des zones localisées. Ce processus alors appelé dégradation électrique ou électroporation réversible est encore utilisé pour expliquer le mécanisme d'action des champs électriques sur les cellules.

Dans les années 1980, l'intérêt pour cette technologie a soudainement augmenté entre les communautés scientifiques pour la commercialisation des applications du CEP. L'exploration de la technologie «PEF» a été compliquée sans le travail collaboratif des chercheurs de différents domaines d'études. Des groupes de recherche multidisciplinaires, y compris les microbiologistes, chercheurs dans le domaine agro-alimentaire et ingénieurs en électricité soutenus par des entreprises, ont commencé à enquêter sur l'inconnu du CEP, qui a fini par devenir une nouvelle technologie non-thermique novatrice pour les applications agro-alimentaires [12].

L'une des premières applications industrielles de la technologie CEP est le processus ESTERIL, Développé par KRUPP MASHINENTECHNIK (Hambourg, Allemagne) à la fin des années 1980 pour la stérilisation électrique et la pasteurisation des fluides électriquement conducteurs [13]. Des résultats réussis ont été signalés à partir de ces premières applications (Université de Hambourg en collaboration avec Krupp), et donc cette technologie s'est révélée être un traitement prometteur pour les aliments liquides comme le jus d'orange et le lait. Dans les années 1990, de nouveaux systèmes pulsés de traitement de liquides en mode continu ont vu le jour suite aux progrès de l'électronique de puissance. La pasteurisation froide (évitant la thermo-dégradation des produits alimentaires) est encore la référence de cette technologie même si peu de systèmes industriels ont émergé [14].

Plus récemment, des équipes de recherche sur l'effet des impulsions électriques ultracourtes sur les cellules biologiques pour des applications cliniques ont continué leurs

travaux sur l'électroperméabilisation des cellules, menée par les équipes de LUIS MIR, JUSTIN TESSIE et DAMIJAN MIKLAVCIC pour des applications d'électro-chimiothérapie à savoir le traitement des cellules cancéreuses et transfert d'ADN [15].

III. Mode d'action du champ électrique sur la cellule biologique

III.1. Cellules biologiques végétales

a. Composition

La cellule représente la structure primaire de tous les tissus biologiques. Le schéma de l'organisation d'une cellule végétale est présenté Sur la figure 1.1. Le noyau représente la partie centrale de la cellule végétale soit environ 30 % de tout le volume cellulaire. Le cytoplasme est le volume cellulaire restant qui représente un milieu visqueux, semi transparent. Il contient tous les organites de la cellule, comme la mitochondrie, le ribosome, le lysosome, la vacuole, l'appareil de Golgi, les chloroplastes, le réticulum endoplasmique. Il est isolé par la membrane plasmique [16].

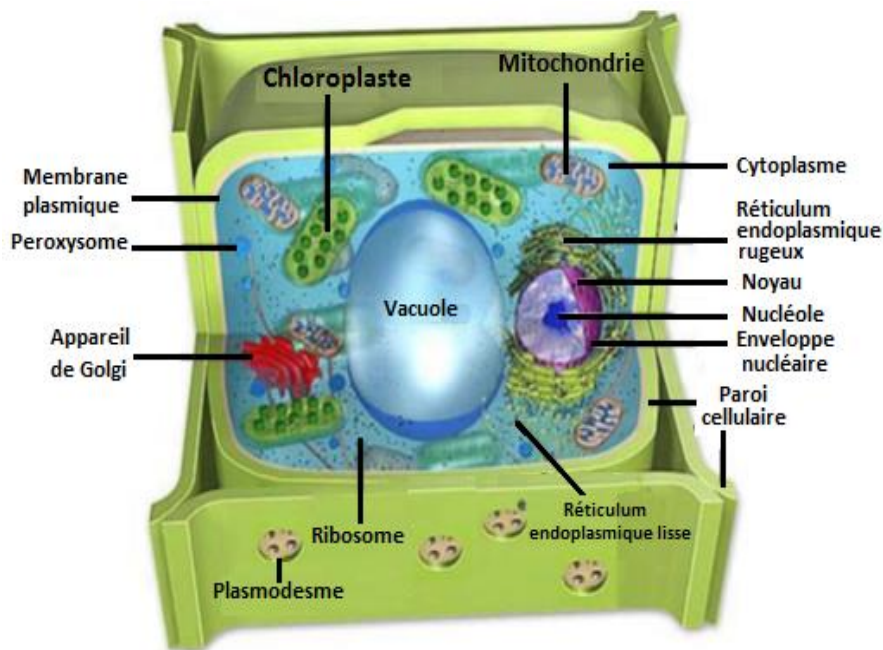


Figure 1.1. Schéma d'une cellule végétale avec ses organites.

Vers l'extérieur, la cellule est enrobée par une paroi cellulaire, qui lui donne sa structure squelettique. Les parois primaires sont couvertes par des membranes plasmiques et lamelles moyennes. Les lamelles moyennes se séparent aux points de jonction des cellules et l'espace extracellulaire s'élargit. Cette paroi constitue pour la cellule une charpente extérieure très structurée qui donne à la cellule sa forme et ses propriétés mécaniques. Les parois peuvent occuper environ 20 à 25 % du volume cellulaire [17]. La paroi est constituée

de fibrilles de cellulose enrobées dans une matrice formée d'autres polysaccharides et de glycoprotéines. Ces chaînes mesurent jusqu'à 30 nm de large et 5 μm de long. L'eau peut représenter 80 % du poids frais de la paroi. L'analyse biochimique révèle que la cellulose constitue 25 à 30 % du poids de la matière sèche pariétale, les hémicelluloses 15 à 25 %, les substances pectiques jusqu'à 35 % et les glycoprotéines 5 à 10 % [18].

Le métabolisme dans les cellules végétales mène à l'apparition des vacuoles (les espaces remplis par les solutions de produits vitaux). Dans les jeunes cellules, les vacuoles ont la forme de petites bulles distribuées dans l'espace cellulaire. Lors de la croissance et de la maturation les vacuoles s'unissent et forment une grande vacuole, qui peut occuper 90% du volume cellulaire.

Si d'un côté de la membrane existe une solution de solutés avec une concentration d'eau plus basse que de l'autre, l'eau va se déplacer de la solution de plus faible concentration en solutés vers celle de plus forte concentration en solutés. Ce transfert est connu sous le nom de flux osmotique. Pour éviter le mouvement de l'eau à travers les membranes qui séparent les solutions de compositions différentes la cellule maintient une pression osmotique. La pression hydrostatique de la cellule peut être calculé par la loi de VAN'T HOFF:

$$P = R T \Delta c \quad \text{Eq (1.1)}$$

P : pression osmotique (Pa),

C : concentration molaire de la solution (mol.m^{-3}),

R : constante des gaz parfait ($8,31 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$),

T : température absolue (K).

Cette pression définit la turgescence de la cellule. La turgescence commune des cellules crée l'élasticité de la plante, permettant de tenir la structure et de résister aux influences mécaniques [19].

Dans les cellules des fruits et légumes mûrs la pression osmotique est de l'ordre de 0,5-1 MPa [20]. L'existence de la paroi cellulaire permet à la cellule de résister à cette pression.

b. Membrane cellulaire

D'un point de vue mécanique, la membrane est une mosaïque fluide capable de se mouvoir sans se déchirer [21]. D'un point de vue électrique, la grande majorité des membranes contiennent un certain pourcentage de lipides avec des groupements chargés [22]. La membrane est un assemblage de phospholipides et de protéines avec une épaisseur totale d'environ 10 nm [23]. Elle assure deux fonctions de base : la compartimentation et la sélectivité. La fonction de compartimentation est dévolue aux lipides membranaires qui sont des molécules amphiphiles. Les lipides s'organisent en bicouche, partie apolaire au centre de la bicouche où l'eau n'a pas accès, partie polaire en contact avec le milieu aqueux de part et

d'autre de la bicouche. La structure se referme sur elle-même formant une vésicule close qui sépare le milieu interne (cytoplasme) du milieu externe (Fig 1.2).

La présence d'une structure close continue empêche le libre passage de macromolécules d'un compartiment à un autre ; de plus, l'existence de la partie apolaire (hydrophobe) au centre de la bicouche bloque pratiquement toute diffusion d'ions inorganiques (K^+ , Na^+ , Cl^- ...) et freine considérablement la diffusion de solutés organiques polaires (sucres, acides aminés...) [24].

La survie et le fonctionnement de la cellule nécessitent des échanges continuels de matière et d'information de part et d'autre de la membrane. Ces échanges sont possibles grâce à la présence des protéines membranaires. Elles sont accessibles de chaque côté de la membrane. Leur disposition permet de participer à des transformations et à des réactions qui s'effectuent de part et d'autre de la membrane.

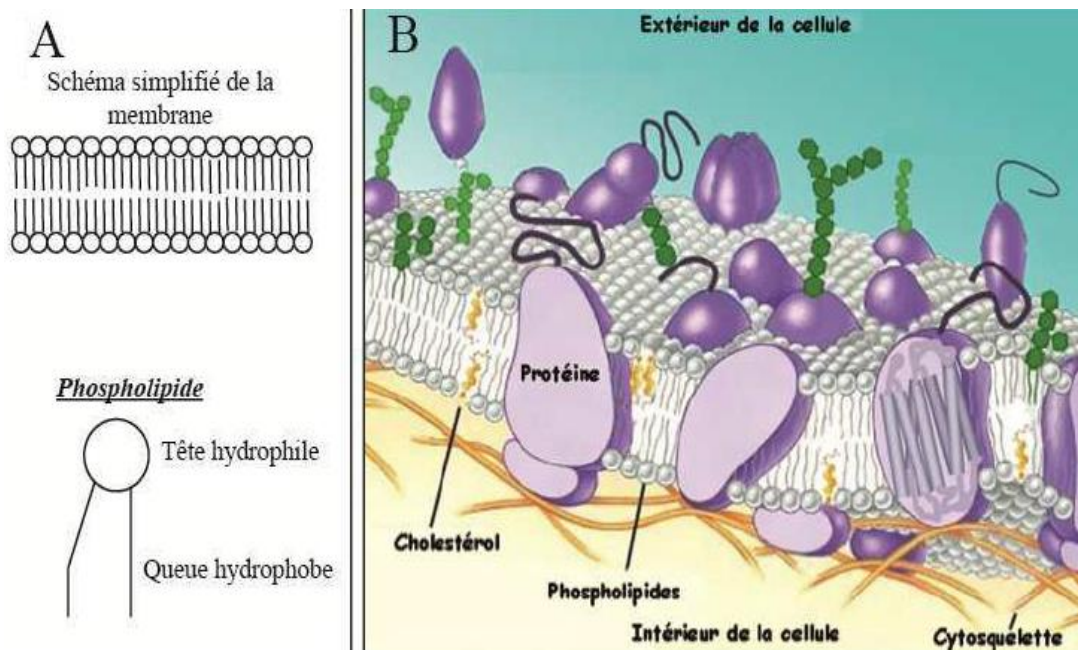


Figure 1.2. Composition de la membrane cellulaire ; A. Schéma simplifié représentant une bicouche lipidique, B. Schéma plus réaliste.

c. Potentiel transmembranaire

Les membranes cytoplasmiques sont souvent décrites comme un diélectrique. Les valeurs données dans la littérature sont de l'ordre de $\epsilon_m = 4-5$ pour la permittivité relative, et de $\sigma_m = 10^{-5}$ S/m pour la conductivité. Cette propriété diélectrique de la membrane est également ce qui lui permet de tenir le fort champ qui existe en permanence dans la membrane. L'activité des pompes et canaux protéiques maintient en effet des concentrations ioniques différentes dans les milieux intra et extra cellulaire (Tableau N° 1.1).

Cette différence dans la répartition des ions est la source d'une différence de potentiel (ΔPTM) de part et d'autre de la membrane dit différence de potentiel transmembranaire de repos $\Delta\Psi_0$ [10]. Le PTM au repos ($\Delta\Psi_0$) est par définition négatif

puisqu'il est égal à la différence de potentiel entre la face intérieure (Ψ_{int}) et la face extérieure (Ψ_{ext}) de la membrane [25].

$$\Delta\Psi_0 = \Psi_{int} - \Psi_{ext} \quad \text{Eq (1.2)}$$

Sa valeur est comprise entre -20 mV et -100 mV selon le type cellulaire chez les cellules animales. Il peut atteindre jusqu'à -200 mV chez les cellules végétales [26].

Tableau 1.1. Concentrations ioniques intracellulaire et extracellulaire [27].

Concentration ionique [mM]	K ⁺	Na ⁺	Mg ⁺⁺	Ca ⁺⁺	Cl ⁻	HCO ₃ ⁻
Intracellulaire	160	7-12	5	10 ⁻⁴ -10 ⁻⁵	4-7	8
Extracellulaire	4	144	1-2	2	120	26-28

III.2. Electroporation

a. Mécanisme

Il existe différentes théories expliquant la perte temporaire de la semi-perméabilité d'une cellule soumise à un champ électrique mais les plus acceptées sont la théorie de l'électrocompression et la théorie de l'état métastable [28]. Dans cette partie, nous allons décrire uniquement la théorie de l'électrocompression.

Zimmermann suppose que sous l'effet des CEP, les deux couches lipidiques formant la membrane cellulaire se polarisent et s'attirent créant une compression électromécanique réduisant l'épaisseur de la membrane traitée (Fig 1.3.b) [29]. Du fait des propriétés isolantes de la membrane et conductrices du cytoplasme, des charges opposées aux charges extérieures vont se développer sur la face interne de la membrane plasmique. Chaque portion est donc soumise à une différence de potentiel entre l'intérieur et l'extérieur. Ce potentiel est appelé potentiel transmembranaire induit ($\Delta\Psi_i$) [28].

Le potentiel transmembranaire s'ajoute au potentiel natif et une fois que la différence de potentiel transmembranaire dépasse une certaine valeur critique, appelée seuil de perméabilisation estimée à environ 200mV pour la plupart des types cellulaires [30], la perméabilisation a lieu.

$$| \Delta\Psi_i + \Delta\Psi_0 | \geq 200 \text{ mV} \quad \text{Eq (1.3)}$$

L'expression du PTM dans le cas d'un courant pulsé continu ou d'une impulsion rectangulaire unique est donnée par Neumann et al (Eq 1.4).

$$\Delta\Psi_i = \alpha f d_c E \cos \vartheta \quad \text{Eq (1.4)}$$

Avec :

α : constante dont la valeur dépend de la forme de la cellule ; $\alpha = 0,75$ pour une cellule sphérique et $\alpha = 1$ pour une cellule rectangulaire ou allongée,

f : paramètre dépendant des propriétés électriques et de la géométrie des cellules,

θ : angle défini par la direction du champ électrique et celle du potentiel mesuré ($^\circ$),

E : amplitude du champ électrique appliqué ($V.m^{-1}$),

d_c : diamètre de la cellule (m) [31].

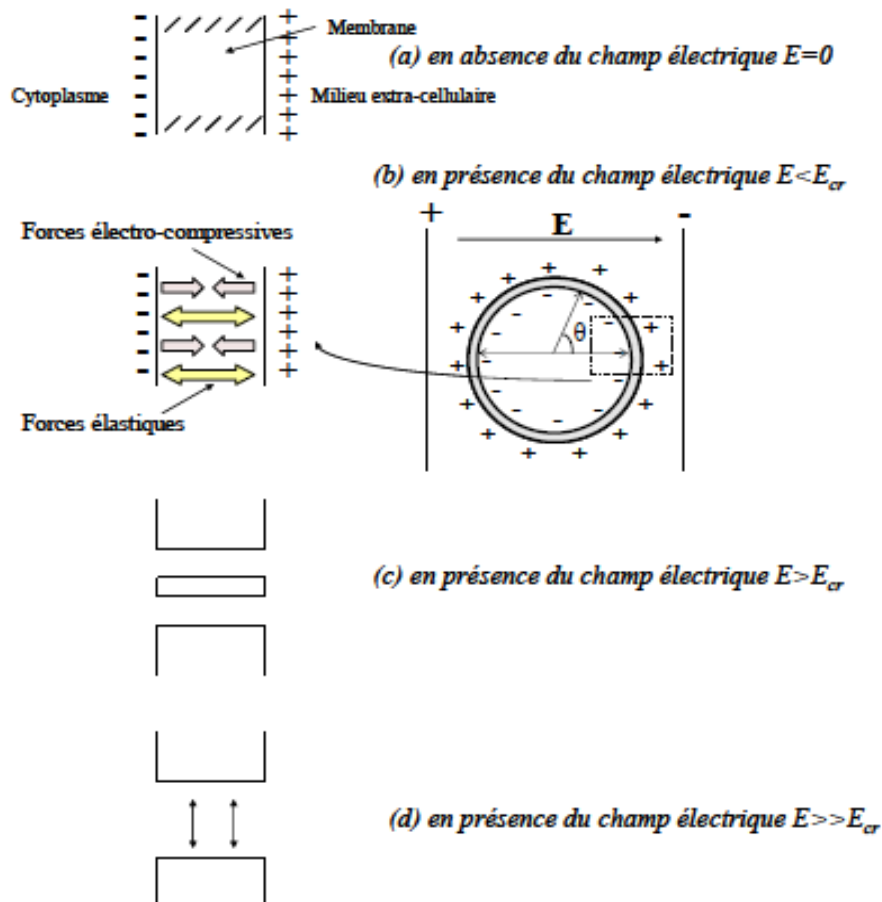


Figure 1.3. Perméabilisation cellulaire selon la théorie de l'électrocompression.

Dans le cas d'un courant pulsé (plusieurs impulsions rectangulaires):

$$\Delta\psi_i = \alpha f d_c E \cos \vartheta (1 - t/\tau) \quad [32] \quad \text{Eq (1.5)}$$

t : temps écoulé après la coupure du courant ($E=0$) (s),

τ : temps de relaxation (s).

Les paramètres τ et f peuvent être définis par les équations (1.6) et (1.7), respectivement :

$$\tau = 0.5 d_c f C_m (1/\sigma_c + 1/(2\sigma_e)) \quad [33] \quad \text{Eq (1.6)}$$

$$f = 1 / (1 + 0.5 d_c \sigma_m (\sigma_c + \sigma_e)) \quad [34] \quad \text{Eq (1.7)}$$

Avec:

C_m : capacité spécifique membranaire ($F.m^{-2}$),

σ_c : conductivité électrique cellulaire (sans membrane avec parois) ($S.m^{-1}$),

σ_e : conductivité électrique de compartiments intracellulaires ($S.m^{-1}$),

σ_m : conductivité électrique membranaire ($S.m^{-1}$).

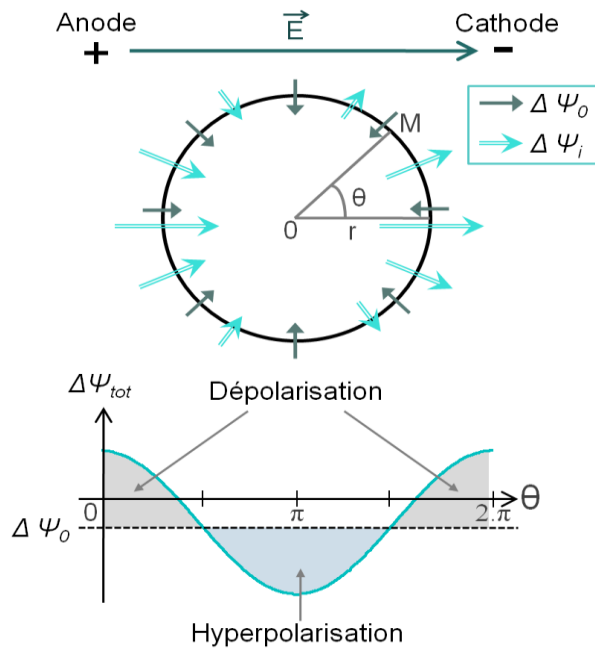


Figure 1.4. Représentation schématique des différences de potentiel transmembranaire de repos $\Delta\Psi_0$ et induite $\Delta\Psi_i$.

Lors de l'application des impulsions électriques, les charges se réorganisent de part et d'autre de la membrane, ce qui provoque une hyperpolarisation du côté de l'anode et une dépolarisation du côté de la cathode participant ainsi au phénomène de la perméabilisation (Fig 1.4) [35].

b. Types d'électroporation

La figure 1.5 donne un aperçu schématique des effets des impulsions électriques en fonction des paramètres durée de l'impulsion et amplitude du champ. Lorsque le champ électrique appliqué dépasse une valeur critique ($E > E_{cr}$), la membrane devient perméable de façon transitoire et réversible (Fig 1.3.c). Une augmentation de l'amplitude du champ électrique et/ou de la durée provoque une intensification de la perméabilisation et une destruction irréversible de la membrane cellulaire [36], dans laquelle les dommages induits dans la membrane sont trop importants et conduisent à la mort cellulaire (Fig 1.3.d). Au-delà, l'élévation de température, conséquence de l'effet Joule, induit des effets dits thermiques. Les limites entre les différentes zones ne sont pas parfaitement tranchées et leur position varie en fonction par exemple du type cellulaire considéré [10].

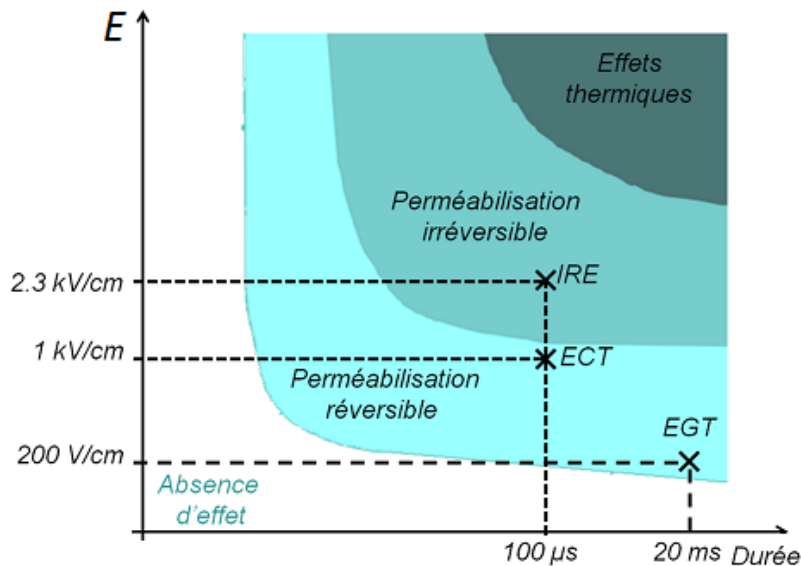


Figure 1.5. Schéma des différents effets obtenus lors de l'application d'une impulsion électrique sur une cellule. Exemples des applications médicales. Electrochimiothérapie (ECT), Electrogènetransfert (EGT), Electroporation irréversible pour l'ablation tumorale (IRE).

Zimmermann a prouvé que la valeur critique du potentiel transmembranaire à partir duquel la perméabilisation est irréversible pour un traitement à température ambiante correspond à 1 V [29]. L'effet des CEP sur la matière végétale peut être visible à moyenne intensité. En effet, le diamètre d'une cellule végétale est compris entre 10 et 100 μm , donc un CEP d'intensité modérée comprise entre 100 et 1000 V/cm suffit pour atteindre le PTM d'ordre 1 V et la perméabilisation cellulaire. Knorr et al ont montré que cette valeur dépend du type de cellule végétale et varie entre 0,7 et 2,2 V [37].

IV. Effets des paramètres du traitement par CEP sur le tissu végétal

Le type et le taux d'efficacité de l'électroporation cellulaire par l'application de champs électriques pulsés dépendent de nombreux paramètres qui incluent les modalités opératoires appliquées (force du champ, temps de traitement, durée, fréquence, forme et polarité des impulsions, forme des électrodes...) [38-39], les caractéristiques du fluide traité (conductivité, température, force ionique...) et celles des cellules traitées (forme et taille des cellules, orientation des cellules, concentration cellulaire, type d'enveloppes cellulaires...) [40-42].

IV.1. Influence des paramètres électriques

a. Intensité de CEP

L'intensité de champ électrique E est un paramètre de base de l'efficacité de l'électroporéabilisation des tissus végétaux. Lors d'une étude effectuée sur des pommes de terre, LEBOVKA *et al* ont démontré que la perméabilisation cellulaire augmente avec l'intensité du CEP appliqué [43].

Le potentiel transmembranaire critique de la membrane cellulaire est de l'ordre de 1 V, ce qui correspond pour la plupart des cellules végétales à une intensité de champ électrique appliqué de 300-400 V/cm. BAZHAL et VOROBIEV ont classifié les CEP en CEP de faible intensité ($E \leq 100-200$ V/cm), d'intensité modérée ($E = 300-1500$ V/cm) et d'intensité élevée ($E \geq 1500$ V/cm). Ces auteurs affirment que pour les tissus biologiques l'intensité optimale du champ se situe entre 200 et 1100 V/cm et dépend de la nature du produit traité [44].

b. Durée d'impulsion

Les impulsions milliseconde sont utilisées soit pour perméabiliser la membrane plasmique soit pour déplacer les acides nucléiques (chargés négativement) dans la solution ou le tissu pour permettre une entrée de ces molécules dans les cellules. Ces impulsions sont aussi appelées impulsions LV (Low voltage).

Les impulsions microseconde souvent appelées impulsions HV (high voltage), peuvent être utilisées pour entraîner l'électroporabilité, de faire entrer des acides nucléiques ou des médicaments mais ces impulsions peuvent aussi être utilisées pour réaliser la fusion de cellules en contact ou même pour rompre l'intégrité membranaire des cellules et entraîner une mort cellulaire dans le cas de l'électroporabilité irréversible [45].

Dans le cas d'impulsions nanosecondes et subnanosecondes, les charges électriques n'ont pas le temps de se déplacer et de modifier le potentiel transmembranaire permettant d'aboutir au processus d'électroporation. Dans ce cas, le champ électrique se propage ainsi dans le milieu intracellulaire et peut créer un phénomène d'électroporation des membranes du noyau ou des mitochondries [46-47].

L'étude d'ABIDOR *et al* [48] a été réalisée sur des bicouches purement lipidiques et a montré que la durée des impulsions influe aussi sur la tension pour laquelle on observe une rupture de la membrane. Plus la durée des impulsions est longue, plus les seuils de perméabilisation observés sont faibles.

c. Temps de traitement

L'efficacité du CEP augmente si son application est prolongée [1] [49-50]. Le temps de traitement t_{CEP} est défini comme :

$$t_{CEP} = N n t_i \quad \text{Eq (1.8)}$$

Avec :

N: nombre de trains d'impulsions,

n: nombre d'impulsions par train,

t_i : durée d'une impulsion (s).

Le nombre d'impulsions appliquées affecte l'efficacité de la perméabilisation et la durée de vie de l'état perméable. Plus le nombre d'impulsions est élevé, plus le nombre de molécules transférées augmente et la durée de vie des pores est longue [51].

BAZHAL *et al* ont montré que l'application de trois impulsions augmente le rendement d'extraction du jus de pomme de 5% par rapport au témoin. L'augmentation du nombre d'impulsions à 100 augmente le rendement d'extraction d'une manière importante (23%). Le traitement électrique à 1000 impulsions n'apporte que peu d'amélioration (7% de plus par rapport au traitement électrique de 100 impulsions) [49].

La fréquence de répétition joue aussi un rôle important sur la perméabilisation des membranes. L'équipe de PUCIHAR a montré que le seuil de déclenchement de l'électroporation varie en fonction de la fréquence de répétition (1,170 V/cm pour 1 Hz et 1,565 V/cm pour 8,3 kHz) [52].

d. Forme d'impulsion

Selon l'installation électrique utilisée, les impulsions générées peuvent avoir différentes formes, durées et énergies. Les types d'impulsion utilisée dans le traitement par CEP sont représentés dans la figure 1.6.

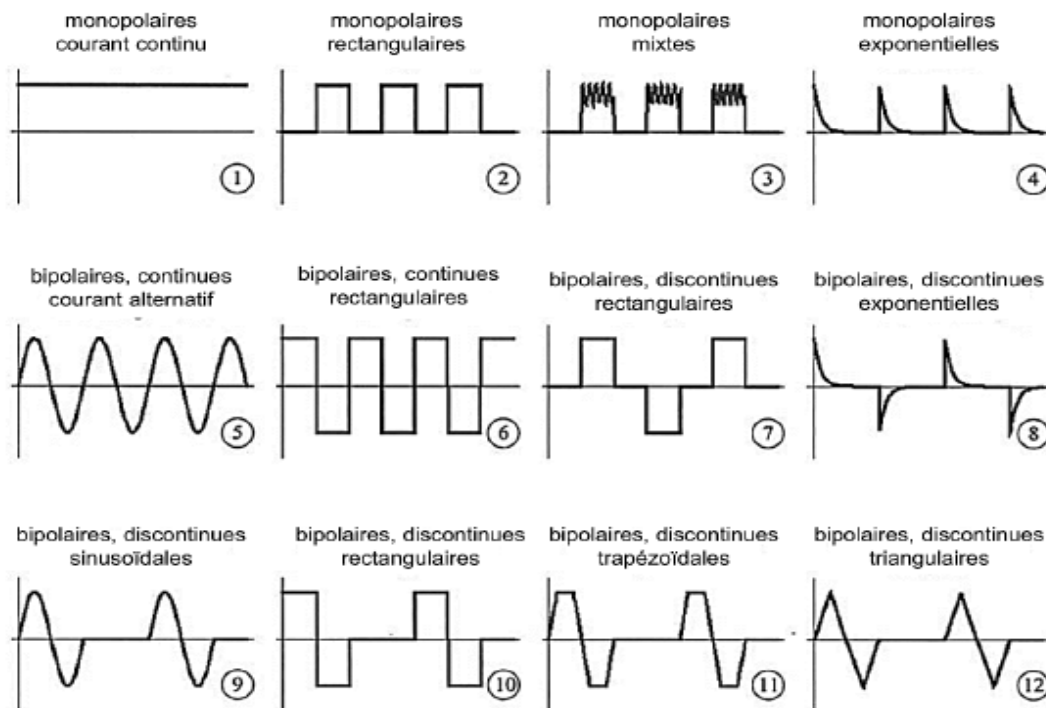


Figure 1.6. Formes typiques des impulsions.

Les impulsions monopolaires peuvent être rectangulaires, mixtes et exponentielles, tandis que les impulsions bipolaires sont discontinues sinusoïdales, trapézoïdales, triangulaires, continues rectangulaires, discontinues rectangulaires ou exponentielles décroissantes [53]. En effet, les impulsions bipolaires assurent une électroporation plus symétrique que les impulsions monopolaires, permet ainsi d'élargir la surface perméabilisée (Fig 1.7) et leur utilisation diminue l'érosion des électrodes [54-56].

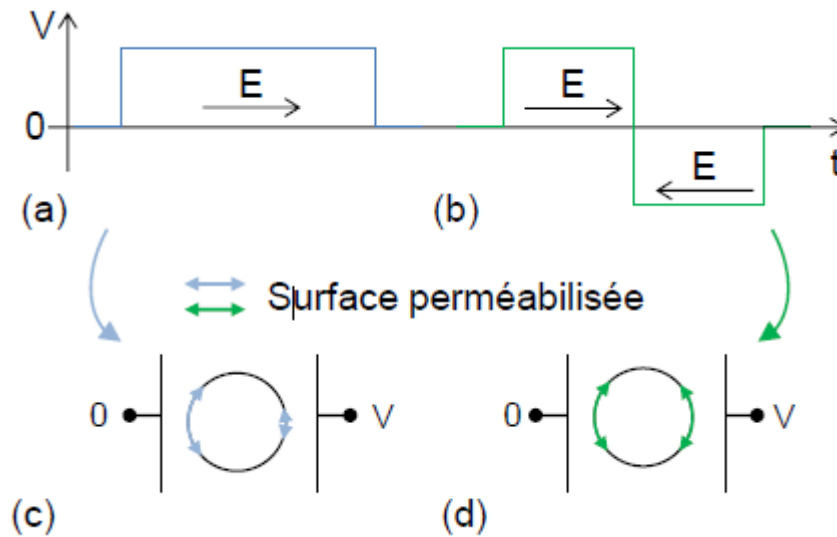


Figure 1.7. Efficacité, en termes de surface électroperméabilisée, des impulsions bipolaires par rapport aux impulsions monopolaires. Impulsion monopolaire rectangulaire (a), impulsion bipolaire symétrique (b). (c) et (d) surface de perméabilisation d'une cellule exposée à une impulsion de type (a) et (b) respectivement.

Les impulsions rectangulaires sont plus efficaces que les impulsions exponentielles du point de vue énergétique [2] [57], elles présentent l'avantage de délivrer l'énergie électrique à la tension maximale durant la quasi-totalité de chaque impulsion. Par contre, les impulsions exponentielles nécessitent un temps de remise à zéro relativement long [53].

IV.2. Autres paramètres

a. Bulles d'air

Suite à l'augmentation de température et aux réactions électrochimiques lors du traitement, des bulles d'air peuvent se former. Celles-ci influencent négativement l'efficacité du traitement. GONGORA et al ont remarqué que le traitement électrique devient fortement perturbé en présence de bulles d'air. Lors du traitement de produits solides (viande, fruits et légumes,...), les paramètres opératoires du traitement doivent être choisis judicieusement afin d'éviter la formation des décharges électriques ou d'autres phénomènes indésirables suite à la formation de bulles de gaz [58].

b. Température de traitement

La température a un effet considérable sur l'efficacité du traitement électrique et la perméabilisation cellulaire. En effet, le traitement thermique a une influence sur la stabilité et la fluidité de la membrane cellulaire. Une étude de ZIMMERMANN a montré que la température agit sur la perméabilisation cellulaire lors d'un traitement par champ électrique. Il a été démontré que le potentiel critique de la cellule dépend de la température. Le potentiel critique de perméabilisation d'une cellule de *Valonia Utricularis*

est de 1,5-2 V à 4°C, 1 V à la température ambiante et seulement 0,5 V à une température de 45-50 °C [29].

c. Effet joule

L'application d'un champ électrique sur des cellules entraîne un effet joule. Les milieux extracellulaire et intracellulaire se comportent comme des résistances R , et lorsqu'ils sont traversés par un courant d'intensité I pendant une période Δt , il y a une production d'énergie ΔQ sous forme de chaleur définie par la loi de Joule (Eq 1.9)

En considérant que l'augmentation de la température est en relation linéaire avec la durée de l'impulsion (Eq 1.10), l'application des impulsions plus courtes est un moyen pour minimiser les effets délétères de la chaleur.

$$\Delta Q = R I^2 \Delta t \quad \text{Eq (1.9)}$$

$$\Delta T = (\sigma_m E^2 / \rho C_p) t \quad \text{Eq (1.10)}$$

Où σ_m représente la conductivité du milieu, ρ représente la masse volumique, C_p est la chaleur spécifique et t est la durée de l'impulsion [59].

d. Conductivité électrique du milieu

Lorsque la différence de conductivité du milieu intracellulaire et extracellulaire est importante alors la diffusion des composés au travers de la membrane électroporée sera plus rapide [60]. L'efficacité du prétraitement CEP est également fonction de la conductivité du milieu à traiter. La présence d'air entre les particules réduit la conductivité du milieu et peut influencer l'efficacité du traitement électrique. C'est pourquoi le traitement électrique se fait généralement dans un liquide (eau, jus), afin d'augmenter la conductivité du milieu. L'ajout de liquide (rapport liquide/solide variable) augmente la consommation énergétique. Il en résulte des coûts supplémentaires réduisant l'attractivité de la technologie des CEP pour des applications industrielles.

Récemment, il a été démontré que lorsque le prétraitement électrique est appliqué sur un lit particulaire (cossettes de betteraves, particules de pomme de terre) sans ajout de liquide, la conductivité du milieu dépend de la masse volumique apparente du lit de particules [61]. Il a été également montré que, pour $E > 100$ V/cm, un pré-compactage des particules améliore la perméabilisation cellulaire, ainsi que la cinétique d'endommagement des cellules. Ainsi, un pré- traitement des cossettes de betteraves avant diffusion, et sans ajout de liquide, a été mis en place avec succès à l'échelle pilote et industrielle [62].

PUCHAR et al montrent que le seuil d'irréversibilité de l'électroperméabilisation des cellules diminue lorsque la conductivité de la solution augmente, mais que le seuil de perméabilisation ne change pas [63].

e. Géométrie de l'espace inter-électrodes et des électrodes

Le courant électrique au niveau des électrodes provoque des réactions d'oxydo-réductions qui peuvent aboutir à la production d'espèces chimiques réactives (radicaux libres, ions métalliques) selon la composition chimique des électrodes (acier, acier inoxydable, aluminium...), du milieu et les paramètres électriques appliqués. Au niveau des électrodes, il y a aussi une modification du pH notamment lors de l'application d'impulsions de longues durées ($> 100 \mu\text{s}$) [64]. Plus précisément, le milieu au niveau de l'anode devient acide tandis qu'aux alentours de la cathode, le milieu devient basique. Toutes ces réactions influencent la viabilité cellulaire mais aussi les conditions électriques lors de l'application des impulsions sur un milieu présentant alors des propriétés physiques différentes [65]. Certaines configurations des électrodes peuvent provoquer la formation d'un champ électrique non homogène. Cet effet peut être recherché notamment pour améliorer la fusion cellulaire ou à l'inverse non indiqué comme dans le cas de l'inactivation de micro-organismes [66].

V. Système de traitement par CEP

Le principe de génération des impulsions électriques repose sur le stockage de l'énergie électrique dans un condensateur et sur sa restitution à une charge en un temps très bref. Cette opération est réalisée grâce à un commutateur de puissance (Fig 1.9). Par exemple, pour une énergie de 1 J restituée pendant 1s, on peut obtenir, dans le cas idéal, une puissance de 1 MW crête si l'énergie est délivrée en 1 μs ou 1 GW si l'énergie est délivrée en 1 ns (Fig 1.8) [15] [36].

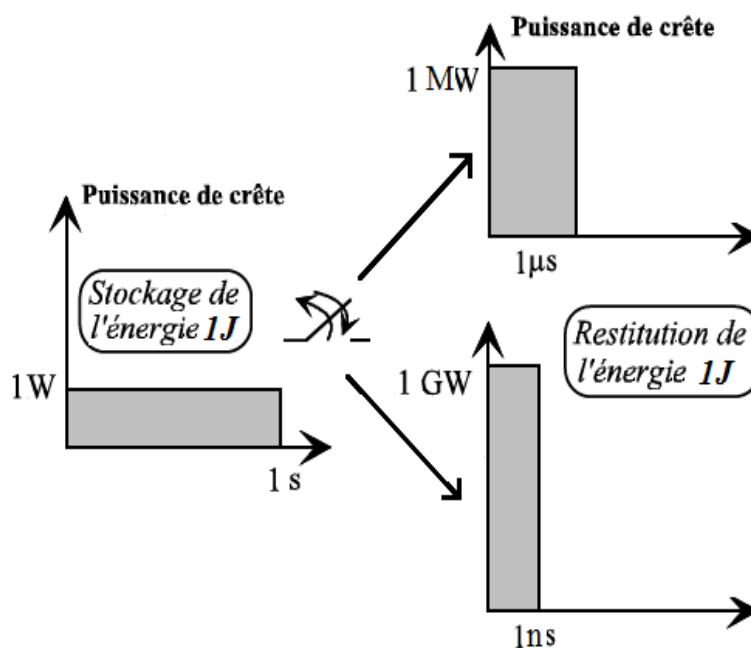


Figure 1.8. Principe de la production de puissances pulsées.

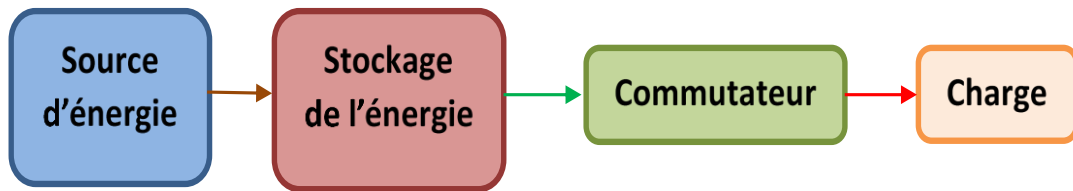


Figure 1.9. Principe général d'un système générateur de puissances pulsées.

V.1. Générateurs d'impulsion

La partie génération d'un système d'exposition est la partie qui produit les impulsions de tension. L'applicateur sert quant à lui à transformer les impulsions de tension en champs électriques pulsés dans l'échantillon [25]. Actuellement, la forme d'impulsion utilisée pour l'électroporation se divise en deux catégories principales: l'exponentielle décroissante et les impulsions rectangulaires. Les formes d'onde sont présentées à la figure 1.10 [67-68].

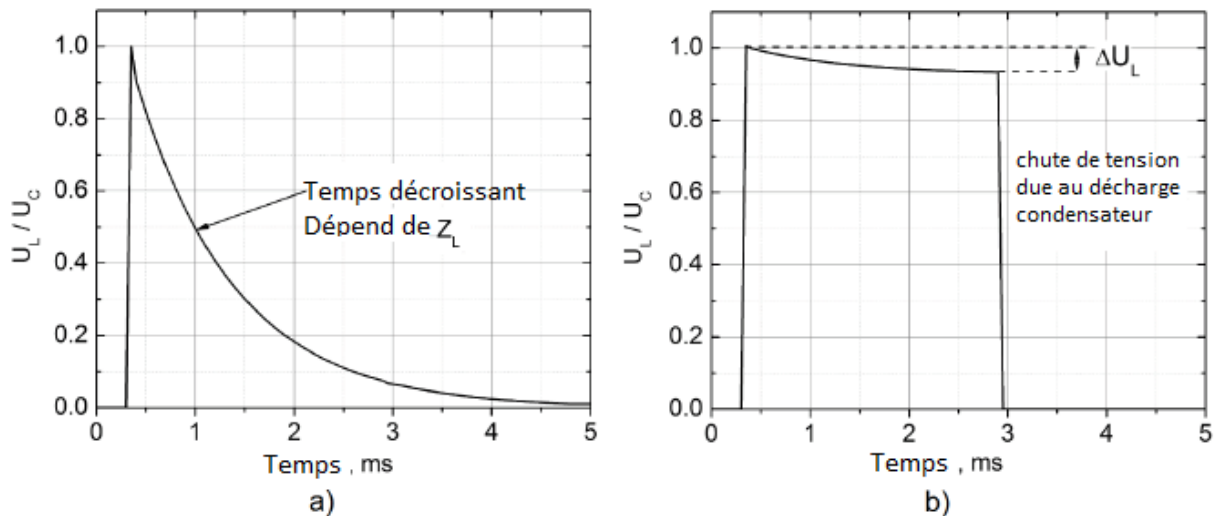


Figure 1.10. Formes typiques d'impulsion, utilisées pour l'électroporation. a) exponentielle décroissante, b) impulsion rectangulaire, U_c tension de chargement, U_L tension aux borne de la charge Z_L , ΔU_L chute de tension.

a. Décharge de condensateur

C'est le concept le plus ancien de génération d'impulsions d'électroporation, elle est la technique de base qui est utilisée pour générer des signaux afin de produire l'électroperméabilisation des milieux. Ce générateur se compose généralement d'une source d'alimentation, d'une batterie de condensateurs, d'un commutateur et de deux électrodes qui font le lien entre le générateur et la chambre de traitement électrique (Fig 1.11). En effet l'énergie délivrée par le générateur est temporairement emmagasinée dans les condensateurs puis déchargée au niveau des électrodes via le commutateur. L'impulsion délivrée par ce type de générateur set de forme exponentielle décroissante [15] [69-70].

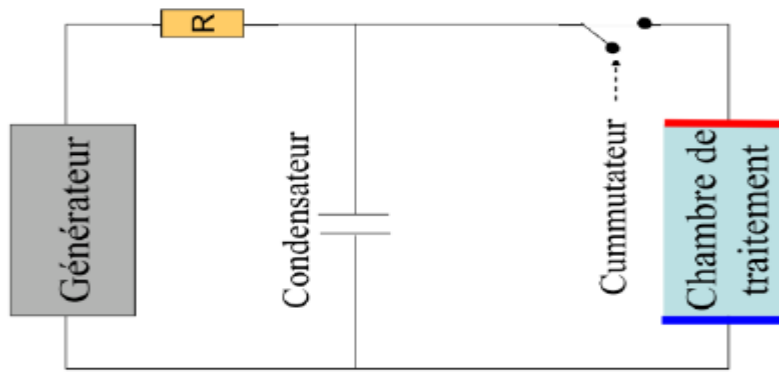


Figure 1.11. Schémas de principe des circuits électriques permettant la génération des impulsions électriques exponentielles.

b. Générateur de Marx

Le principe du générateur de Marx consiste à charger, à une même tension initiale V_0 , n condensateurs associés en parallèle puis à les décharger après les avoir associés en série, de façon à appliquer la tension nV_0 sur l'application (utilisation). L'onde de tension alors générée est de forme bi-exponentielle et n représente le nombre d'étages du générateur. La mise en série des n condensateurs est assurée par la fermeture de n commutateurs avec un commutateur par étage (Fig 1.12).

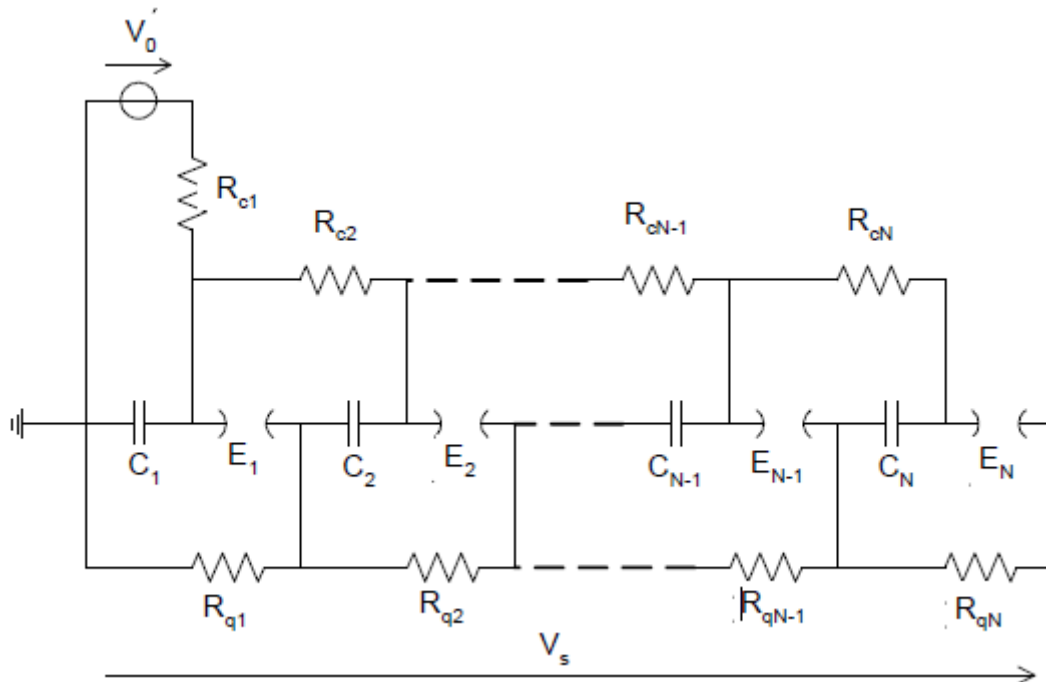


Figure 1.12. Générateur de Marx à N étages.

Chaque condensateur C_n de chacun des étages est chargé à la tension V_0 à travers une impédance de charge $Z_{c,i}$ (qui est souvent une résistance $R_{c,i}$ dont la valeur est choisie en fonction de la puissance de l'alimentation délivrant la tension V_0). A partir du second étage, la charge se fait aussi par l'intermédiaire de résistances $R_{q,i}$, qui ont un double rôle:

référencer, par rapport à la masse, une des électrodes des condensateurs puis, permettre la décharge de ces derniers, La valeur de ces résistances est ajustée en fonction de la forme de l'onde que l'on veut générer, notamment de son temps de décroissance.

Lors de la charge des condensateurs, le circuit équivalent au générateur de Marx peut être représenté par la figure 1.13.

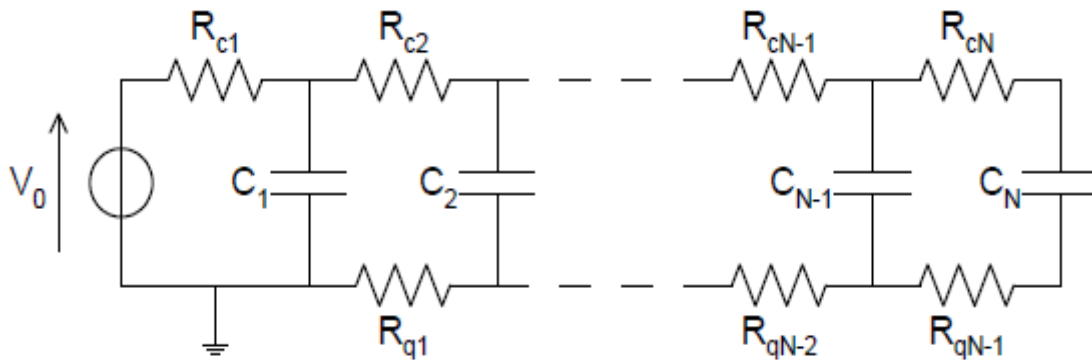


Figure 1.13. Circuit équivalent du générateur de Marx lors de la phase de charge des condensateurs.

Et, lors de la décharge, toujours dans l'hypothèse d'une impédance d'utilisation de valeur infinie, par le schéma de la figure 1.14 ($R_q = \sum R_{q,i}$).

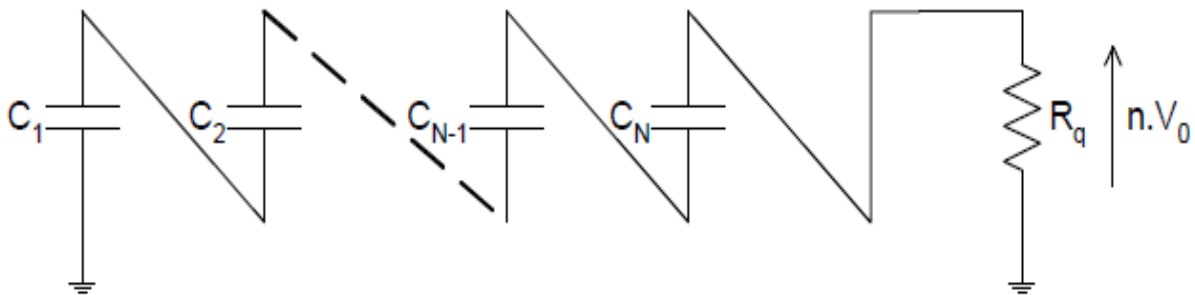


Figure 1.14. Circuit équivalent du générateur de Marx lors de la phase de décharge des condensateurs.

Ce circuit génère donc une impulsion de tension de temps de montée nul et dont la décroissance s'effectue de façon exponentielle, contrôlée par $\tau = C_{eq} R_q$ ($C_{eq} = C_i / n$) [71].

c. Générateur à ligne de transmission

Ce générateur est réalisé sur le principe de la décharge d'une ligne de transmission (une capacité coaxiale à constante répartie) par l'intermédiaire d'un commutateur rapide dans une charge ou dans un circuit également réalisé en structure de ligne. Afin de suivre, temporellement, l'évolution de l'onde de tension-courant dans la ligne. Le schéma SPICE simplifié de la décharge d'une ligne coaxiale dans une résistance dont la valeur est égale à l'impédance caractéristique de la ligne est présenté figure 1.15.

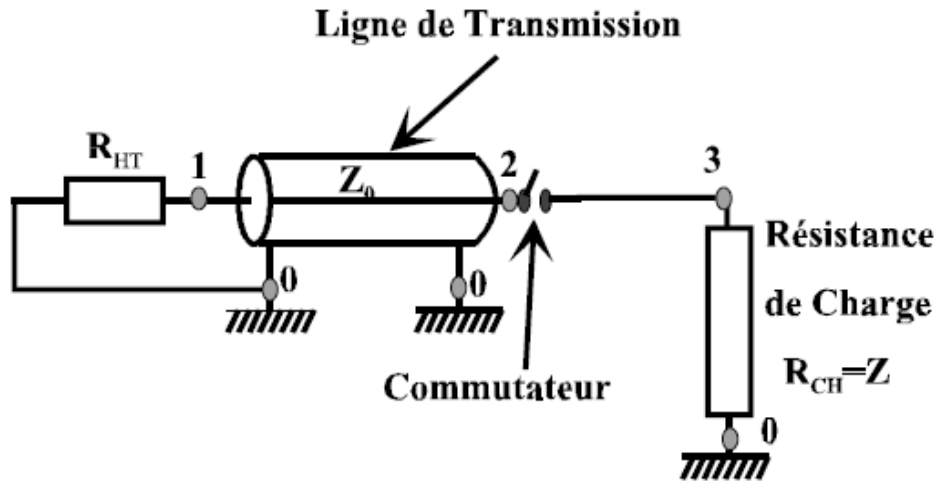


Figure 1.15. Schéma de la simulation SPICE de la décharge d'une ligne coaxiale.

Les résultats de cette simulation de base apparaissent sur la figure 1.16. Les nœuds 1 et 2 sont préalablement chargés à une tension de référence de 1 V. A $t = t_1$, l'interrupteur se ferme. Le potentiel au nœud 3 passe alors de 0 à 0,5 V, celui du nœud 2 passe de 1 V à 0,5 V et une onde de tension négative commence à se propager de 2 vers 1. Quand cette onde parvient en 1 au temps τ_0 (temps de propagation dans la ligne), elle subit une réflexion totale ($\Gamma = 1$) vers la sortie ($R_{HT} \rightarrow \infty$). Le potentiel du nœud 1 passe donc de 1 V à 0 V. Quand cette onde réfléchie parvient ensuite en 2 et 3 (à $t_1 + 2\tau_0$), le potentiel des nœuds 2 et 3 passe alors de 0,5 V à 0 car l'interrupteur est resté fermé [72].

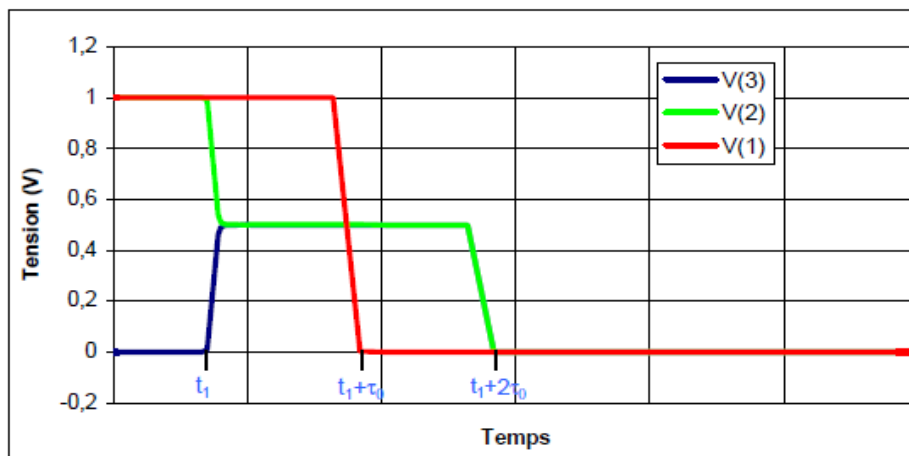


Figure 1.16. Résultats de la simulation SPICE de la décharge d'une ligne coaxiale.

Ainsi, une impulsion rectangulaire de tension est produite aux bornes de la résistance de charge. Ses caractéristiques principales sont :

- Une amplitude égale à la moitié de la tension de charge ;
- Une durée correspondant à deux fois le temps de propagation dans la ligne de transmission.

V.2. Chambre de traitement

La chambre de traitement par CEP se compose d'au moins deux électrodes. L'une des électrodes est reliée au générateur et l'autre est reliée à la terre. Ces électrodes sont fabriquées généralement en acier inoxydable et elles sont séparées par un isolant électrique. L'isolant forme une cellule qui contient la matière alimentaire qui sera traitée [68]. Afin d'assurer un même traitement pour chaque cellule végétale, la distribution d'énergie électrique doit être homogène au sein de la chambre de traitement [73]. La configuration de la cellule de traitement dépend de l'application du traitement par champs électriques pulsés. Les formes rectangulaires (électrodes plates en parallèles) et cylindriques (électrodes coaxiales ou électrodes colinéaires) sont les plus utilisées pour les applications actuelles de CEP (Fig 1.17). En effet, la configuration des électrodes plaques se compose de deux électrodes fixées par des isolants. Les isolants et les électrodes forment un canal pour la circulation du produit à traiter. La configuration des électrodes cylindriques coaxiales consiste en deux électrodes sous forme de cylindres coaxiaux. Ici, le liquide à traiter passe entre les électrodes. La configuration des électrodes cylindriques colinéaires comprend des électrodes annulaires séparées par des anneaux isolants [53] [74].

Les chambres de traitement par CEP sont en discontinu ou en continu. Les chambres de traitement en continu présentent l'avantage de pouvoir facilement s'implanter dans les lignes de production déjà existantes et de fonctionner à débit assez élevé [53].

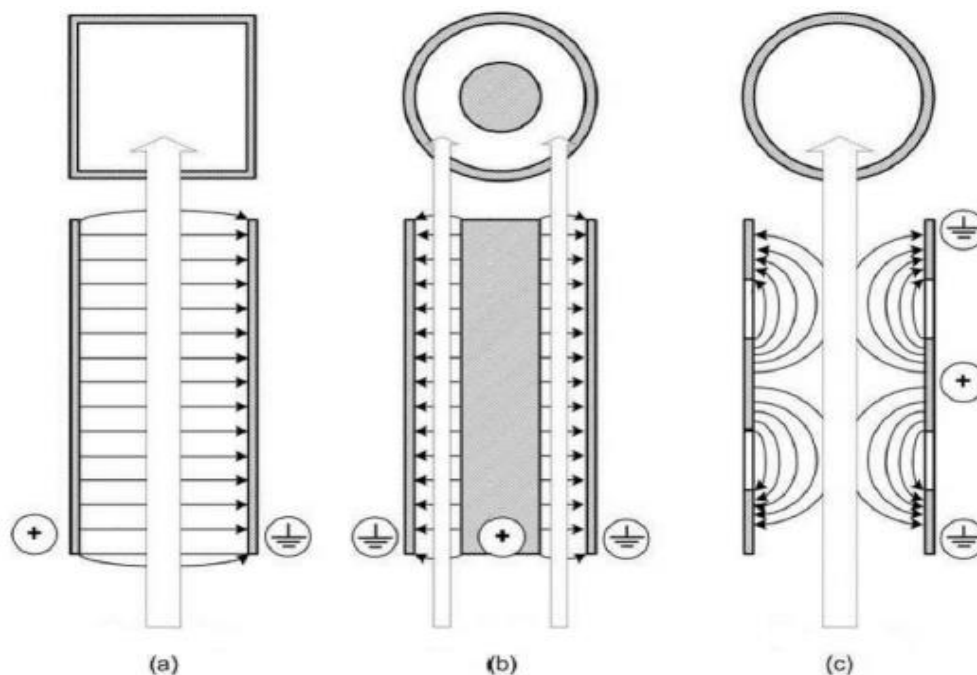


Figure 1.17. Configurations possibles des chambres de traitement par CEP, a. électrodes parallèles, b. électrodes coaxiales ; c. électrodes colinéaires).

VI. Diverses applications dans l'industrie agro-alimentaire

La figure 1.18 montre les deux types des applications de l'électroporation (réversible et irréversible) [30], dont les applications en domaine agro-alimentaires se situent dans la deuxième partie.

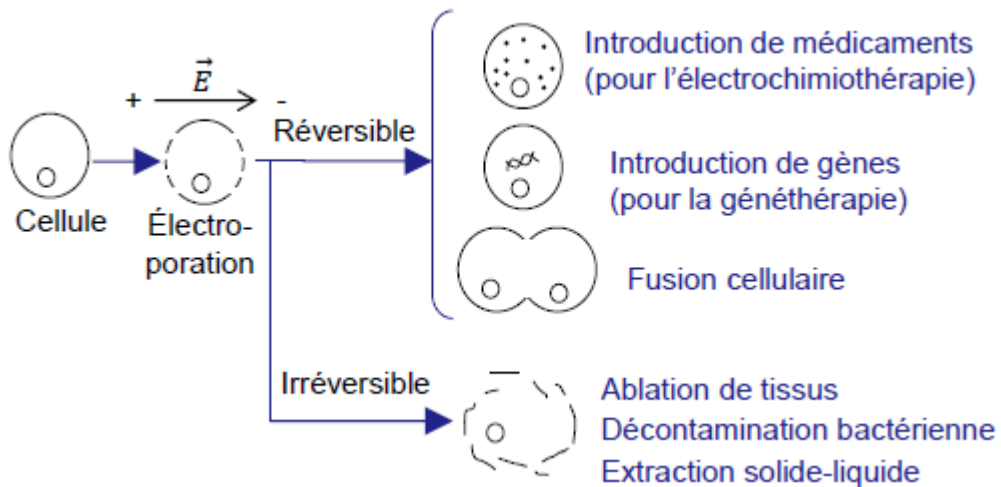


Figure 1.18. Aperçu des applications de l'électroporation réversible et irréversible [42].

VI.1. Extraction de composés cellulaires

L'efficacité de l'électroporation irréversible a de plus été démontrée pour l'extraction solide-liquide de matières végétales telles que le sucre à partir de betteraves, l'extraction des composés phénoliques du raisin [75-76], des jus de fruits et des lipides à partir des algues pour la production d'énergie renouvelable [77-78].



Figure 1.19. 1: Comparaison entre l'extraction du jus de betteraves par CEP et par la technique d'extraction traditionnelle. 2: l'installation industrielle utilisée pour le traitement des betteraves par CEP [79].

VI.2. Traitement des liquides et conservation des aliments

L'efficacité de l'électroporation pour l'inactivation des micro-organismes (et donc la conservation et la pasteurisation) des denrées alimentaires liquides est au centre de diverses publications [80-82]. Les résultats montrent que les impulsions électriques n'altèrent pas la qualité sensorielle des aliments. Plusieurs études ont mis en relief l'effet létal du traitement électrique sur les micro-organismes [83-86]. Les premières applications industrielles ont concerné la pasteurisation de jus (orange, pomme). Figure 1.20 présente une photo des boissons à base de jus de fruits pasteurisées et commercialisées aux Etats unis [87].



Figure 1.20. Jus pasteurisé par CEP.

VII. Conclusion

Nous avons décrit dans ce chapitre les principes de base d'un phénomène extrêmement intéressant et prometteur aussi bien dans l'industrie que pour les laboratoires de recherche: l'électroporation cellulaire. Nous avons présenté un état de l'art en mettant l'accent sur les paramètres influents de la perméabilisation suite à l'application d'un champ électrique pulsé. Bien que les mécanismes associés à l'électroperméabilisation ne soient encore pas très bien maîtrisés, les possibilités d'application de ces méthodes sont vastes dans des secteurs allant de l'agroalimentaire vers la médecine.

Dans le chapitre suivant, nous allons décrire le matériel et les méthodes utilisées dans le cadre du travail effectué dans cette thèse pour l'application du CEP à l'extraction de jus et de pigments.

CHAPITRE

2

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

Ce chapitre s'attache à décrire la méthodologie expérimentale mise en œuvre au cours de la thèse, en décrivant les différents procédés expérimentaux, les diverses chambres de traitement ainsi que les moyens utilisés pour la mesure des différentes grandeurs.

I. Produits biologiques étudiés

I.1. Betterave rouge

La betterave rouge appartient à la famille des chénopodiacées. Le mot betterave dérive de « bette », la plante qui produit la betterave, et de « rave », qui désigne toute plante potagère que l'on cultive pour sa racine. La betterave rouge est un légume d'une grande valeur nutritive (Fig 2.1). Elle contient de la betanine (pigment qui donne sa vive couleur rouge) qui diminuerait le risque de cancers de la peau, du foie et des poumons. Elle est une excellente source d'antioxydants, qui agissent comme protecteurs contre les maladies cardio-vasculaires et certains cancers. La betterave (tubercule ou feuilles) sont des sources de vitamines A, K, B1, B2, B5, B6 B9, C et E, de même que de cuivre, de fer, de magnésium et de manganèse.

La betanine est un pigment naturel présentant un pouvoir antioxydant élevé et largement utilisé en tant que colorant naturel [88]. La principale matière colorante est constituée de bétacyanines (rouges), dont 75 à 95 % de Betanine donnant une couleur pourpre foncée [89-90].



Figure 2.1. Betterave rouge.

Durant toute la durée de nos travaux, les betteraves fraîches ont été achetées dans un marché local. Pour préserver une bonne qualité au produit, elles ont ensuite été mises dans des sacs en plastique pour éviter la déshydratation et le développement microbien. Le tableau N° 2.1 résumé les différentes substances entrant dans la composition de la betterave et leur composition.

Tableau 2.1. Composition approximative de la betterave rouge pour une masse de 100g net [91].

Composants	Qté.	Min - Max
Eau	87.1 g	NC
Protéines	1.84 g	1.68 - 2 g
Lipides	0.18 g	NC
Acides gras saturés	0.028 g	NC
Glucides	8.56 g	NC
Sucre	7.96 g	NC
Fibres	2 g	NC

I.2. Microalgues

Les algues sont des végétaux marins qui sont constituées par un thalle. Bien que certaines espèces d'algues ressemblent étrangement aux plantes terrestres, les algues ne comportent ni racines, ni tiges et ni feuilles, en fait, le thalle se décompose également en 3 parties mais il s'agit de crampons, de stipes et de lames ou de frondes (Fig 2.2). Les algues vertes présentent une très grande diversité de molécules au sein de leurs cellules. Cette biomasse se différencie principalement des autres végétaux par sa richesse en lipides, en protéines, en vitamines, en pigments et en antioxydants. Elles représentent une source importante de quasiment toutes les vitamines essentielles : B1, B6, B12, C, E, K1, et possèdent un large panel de pigments. En plus de la chlorophylle (0,5 à 1% de la matière sèche) qui est le pigment primaire chez toutes les algues, on trouve toute une gamme de pigments supplémentaires de type caroténoïdes (0,1 à 0,2% de la matière sèche) [92].



Figure 2.2. *Caulerpa taxifolia*, connue sous le nom d'algue verte.
(Photo prise à l'entreprise du groupe Hassnaoui, Chiar, SBA)

Les microalgues sont des microorganismes aquatiques unicellulaires eucaryotes en forme d'ellipsoïde ou de disque, elles se trouvent dans tous les habitats aquatiques, marins ou d'eaux douces. Elles sont souvent connues sous la dénomination de « phytoplancton » [93]. Les microalgues sont considérées comme des algues unicellulaires, qui ont une taille de l'ordre du micromètre. Elles se développent principalement en suspension dans des solutions aqueuses [94]. Elles sont aptes à coloniser tous types de milieux aquatiques, notamment eaux salées, douces, saumâtres et même dans des eaux usées grâce à leurs capacités d'adaptation et de survie. Elles peuvent également se développer sur des surfaces rigides, telles que les troncs d'arbre, les structures immergées ou les murs [95].

Nannochloropsis est un genre d'algue verte comprenant 6 espèces connues. Le genre dans la classification taxonomique actuelle a été qualifié par Hibberd [96-97]. Parmi les espèces, la plus connue c'est le : *Nannochloropsis gaditana*, une microalgue de classe Eustigmatophyceae, groupe Eustigmatophytes, trouvé couramment dans les environnements marins.

Les installations pour la production de biomasse microalgale d'une haute valeur de marché, à partir du captage de CO₂ industriel, sont devenues dans l'une des technologies émergentes plus importantes, et avec plus d'avenir du marché. Il faut avoir présent que 1 m² peut arriver à produire entre 1 et 3 Kg de biomasse sèche par jour La biomasse est obtenue au moyen de l'emploi de photo-bioréacteurs de haut rendement, et à partir de la culture intensive de microalgues (Fig 2.3).

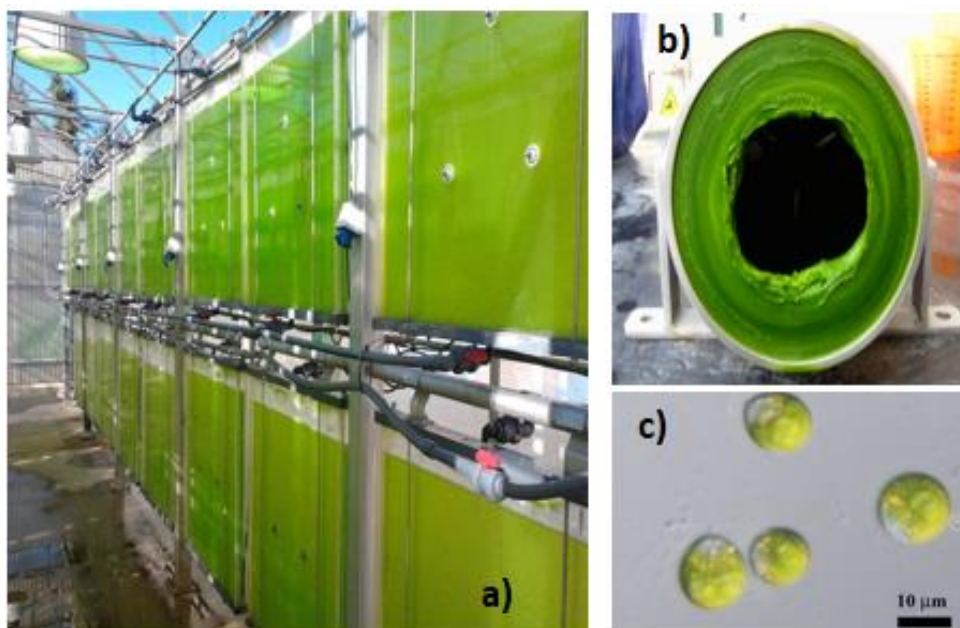


Figure 2.3. Production de biomasse. a. photo-bioréacteurs, b. Accumulation de la biomasse par centrifugation, c. Microscopie de la microalgue (*Nannochloropsis gaditana*).

II. Modes d'extraction

II.1. Pressage

Le pressage mécanique est une opération unitaire qui vise la séparation solide-liquide (expulsion du liquide à partir du solide) sous l'effet d'une pression exercée sur le produit.

Cette opération est relativement répandue et utilisée dans plusieurs secteurs pour :

- l'extraction de jus à partir de fruits ou de légumes (raisin, pomme, tomate...),
- l'extraction d'huiles à partir des graines oléagineuses (olive, lin,...).

Il a été démontré l'effet positif de l'augmentation de la pression dans l'amélioration du rendement d'extraction de jus à partir des fruits et légumes ou d'huile. Une étude a montré que, lors d'un pressage unidirectionnel sur des cossettes de betteraves à sucre, le rendement en jus peut augmenter de 6% à 37%. La figure 2.4 représente le rendement d'extraction de jus de betterave en fonction de la pression appliquée [98].

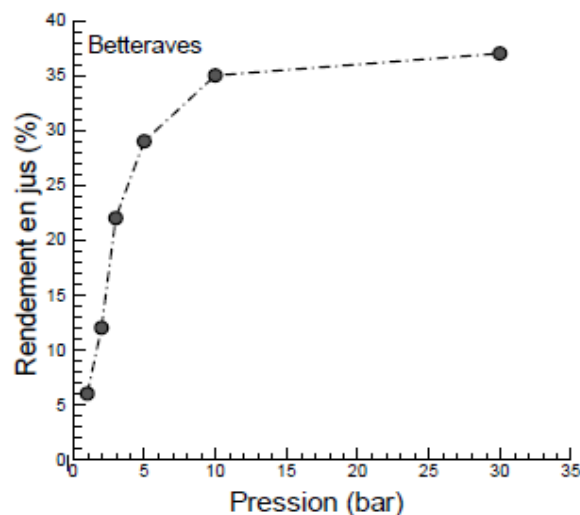


Figure 2.4. Evolution du rendement d'extraction de jus à partir des betteraves en fonction de la pression appliquée.

L'extraction a été réalisée à l'aide d'une presse hydraulique de type Mega, 15 tonnes (Fig 2.5). La chambre d'extraction utilisée est composée d'un cylindre isolant en matière plastique (téflon), un piston cylindrique et un disque perforé de diamètre 70 mm, le tout construit en une structure rigide pour le pressage de jus. Le Jus extrait a été filtré à travers un tamis en acier inoxydable placé au-dessus du piston. Le jus extrait pendant le pressage a été recueilli dans un collecteur en plastique placé sous la chambre de traitement (Fig 2.6).



Figure 2.5. Presse Hydraulique utilisée pour l'extraction.

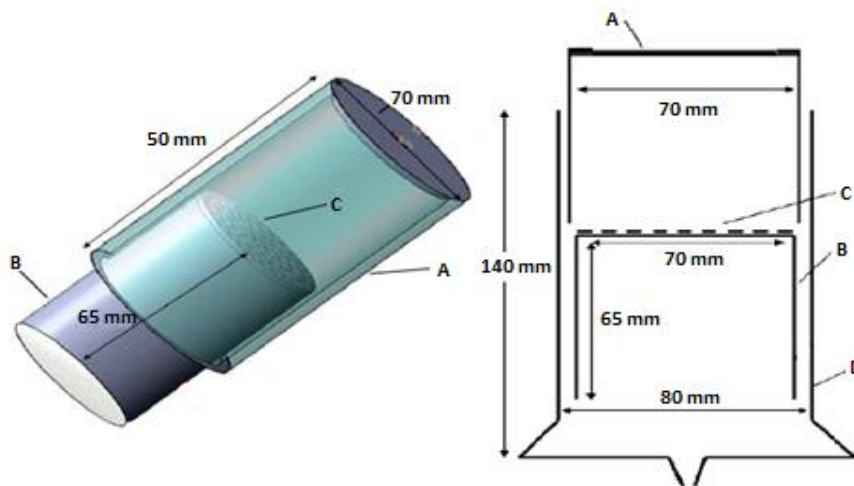


Figure 2.6. A gauche : Dessin de la chambre d'extraction tracé avec Solide-Works. A droite : Schéma synoptique. a. cylindre en téflon, b. piston en acier cylindrique perforé, c. Tamis en acier, d. Collecteur de jus.

II.2. Extraction Des Pigments Par Solvant

Les chlorophylles et les caroténoïdes sont solubles dans des solvants organiques et peuvent donc être séparés à l'aide de solvants ou de mélanges de solvants des lipides. Ces molécules sont dites liposolubles. L'aliment traité par CEP est mis dans de l'alcool absolu ou de l'acétone. Les pigments solubles dans les solvants organiques sont ainsi extraits. Après centrifugation et filtration pour éliminer les débris cellulaires, on obtient une solution brute de pigments [99]. L'acétone à 90% a longtemps été le solvant le plus employé car la chlorophylle a est plus stable dans l'acétone que dans le méthanol [100]. La figure 2.7 représente la centrifugeuse utilisée de marque LAB LINE RT-06.



Figure 2.7. Centrifugeuse numérique LAB LINE RT-06 (5500 tr/min).

Spectrophotométrie

La spectrophotométrie d'absorption est une méthode physique d'analyse chimique utilisée pour analyser la quantité des pigments extraits. Elle permet de mesurer la proportion de lumière absorbée par une espèce colorée en solution. On appelle cette grandeur l'absorbance. La couleur d'un pigment correspond à la couleur complémentaire de la lumière absorbée par le pigment lorsqu'il est éclairé en lumière blanche. Le spectrophotomètre fait passer une lumière blanche à travers une cuvette en verre de quartz remplis de solution et compare son intensité avec celle d'un faisceau de lumière blanche qui n'aurait pas traversé la solution. Le rapport sans unité donne l'absorbance de l'espèce colorée pour chaque radiation composant la longueur d'onde, on obtient alors un spectre [101]. La figure 2.8 représente les longueurs d'onde des différentes couleurs.

Couleur	ultraviolet	violet	bleu	vert	jaune	orange	rouge	Infrarouge
λ dans le vide (nm)	< 380	~ 380-446	~ 446-520	~ 520-565	~ 565-590	~ 590-625	~ 625-740	> 780

Figure 2.8. Longueurs d'onde des différents couleurs.

III. Appareillage de mesure

Un oscilloscope à mémoire numérique (INSTEK GDS-3154 150 MHz à 4 canaux) qui permet de visualiser des mesures complexes a été utilisé pour surveiller et capturer les formes d'ondes de tension. Une sonde haute tension (TEKTRONIX P6015A) avec un rapport d'atténuation de 1/1000 a été utilisé pour mesurer les tensions qui peuvent dépasser 6 kV.

A la fin de chaque expérience, la masse de jus extrait et collecté dans des gobelets en plastique a été mesurée à l'aide d'une balance électronique d'une résolution de 0.1 g et de portée 2000 g (KERN 440-47N). La balance est tarée à chaque prélèvement afin d'assurer une bonne mesure.

Par ailleurs, un spectrophotomètre a été utilisé pour évaluer la concentration des pigments en mesurant l'absorbance (OPTIZEN 1412V) qui peut analyser divers produits chimiques en utilisant les rayons visibles, de 340 nm à 1100 nm (Fig 2.9).



Figure 2.9. Spectrophotomètre.

IV. Chambres de traitement

Deux types des chambres de traitement ont été utilisées pour ce travail : les chambres cylindriques munies d'électrodes en forme de disque métallique en Inox pour le traitement des algues, et une nouvelle configuration des chambres dites chambre à unités multiples utilisées pour le traitement des autres produits.

IV.1. Chambre cylindrique

La première configuration des chambres est constituée par un isolant en POLYCARBONATE de diamètre interne 25 mm et deux électrodes en forme de disque en acier inoxydable de diamètre externe égal à 25 mm (Fig 2.10). Le produit à traiter est introduit dans la chambre en utilisant une seringue à travers un trou de 3 mm de diamètre.



Figure 2.10. Chambre de traitement statique.1. Isolant en polycarbonate, 2. Électrodes.

IV.2. Chambres à unités multiples

Pour le travail concernant l'extraction des jus, trois chambres de traitement de forme parallélépipédique avec mêmes dimensions de 6 x 6 x 10 cm³ comprenant une, deux et quatre unités de traitement ont été utilisées, constituées respectivement de deux, trois et cinq électrodes identiques en acier inoxydable (Fig 2.11). Chaque chambre est en plexiglas dans laquelle sont placées des électrodes identiques verticales et parallèles en acier

inoxydable, de dimensions 6 x 10 cm². Le volume maximal pour chaque chambre est de 360 ml. Les trois modèles réalisés sont décrits ci-dessous :

- Modèle TC1 : il est constitué d'une unité comprenant deux électrodes: une électrode HT et une électrode reliée à la terre placées sur les parois latérales de la chambre.
- Modèle TC2 : il est constitué de deux unités parallèles comprenant trois électrodes: une électrode HT centrale et deux électrodes latérales reliées à la terre.
- Modèle TC3 : il est constitué de quatre unités parallèles comprenant cinq électrodes: deux électrodes HT et trois électrodes reliées à la terre placées alternativement.

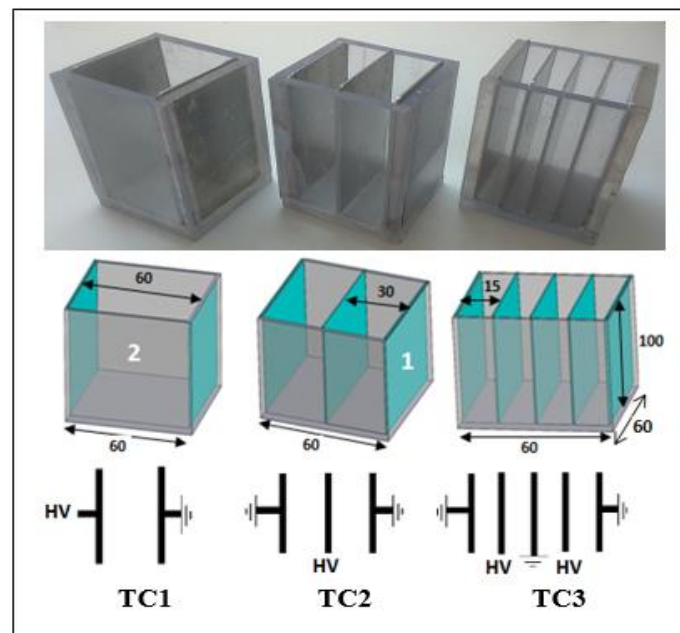


Figure 2.11. Chambres de traitement à unités multiples. 1. Électrodes en acier inoxydable, 2. Plexiglas (dimensions en mm).

V. Générateur de champ électrique pulsé

V.1. Principe de fonctionnement

Le générateur d'impulsion classique utilisé dans ce travail est de type à décharge de condensateur qui fonctionne en deux étapes : chargement et déchargement du condensateur (Fig 2.12). Il se compose d'un certain nombre d'éléments, comprenant une alimentation haute tension continue, une résistance de chargement, un élément de stockage d'énergie (banc de condensateurs) et un commutateur (éclateur).

Le banc de condensateur (Fig 2.13) est constitué de trois ensembles de cinq condensateurs mis série (2 μ F, 2 kV), avec une tension maximale de 10 kV avec la possibilité d'avoir différentes valeurs de la capacité suivant nos besoins par l'association en parallèle et en série (0,4 μ F, 0,8 μ F et 1,2 μ F).

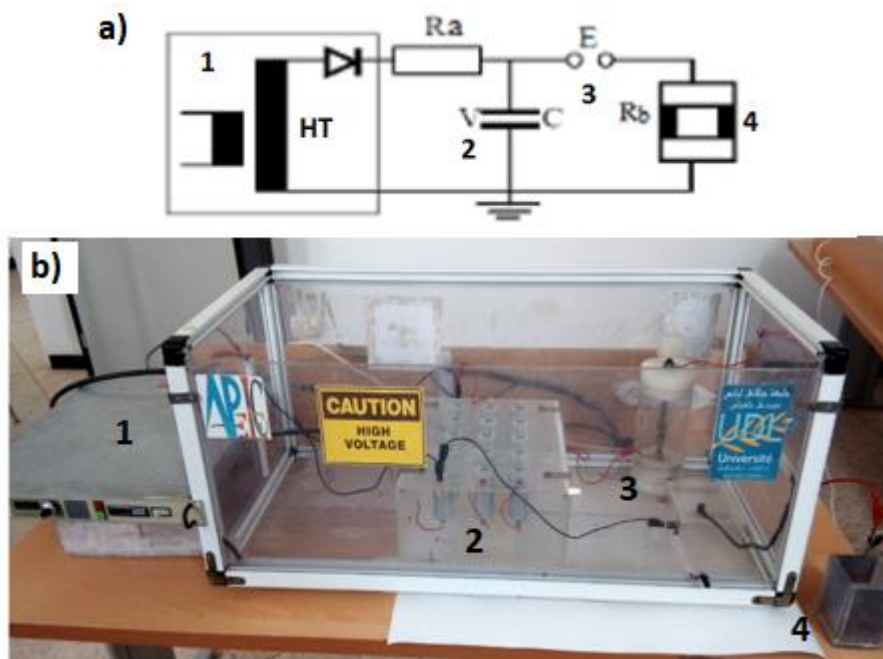


Figure 2.12. Le générateur d'impulsions réalisé. a) Schéma descriptif de l'installation, b) Photographie de l'installation. 1- Alimentation HT/DC, 2-banc de condensateurs, 3- éclateur, 4- chambre de traitement.

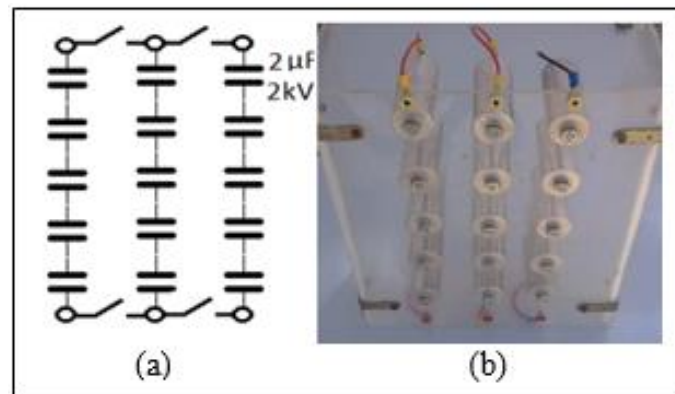


Figure 2.13. Banc de condensateurs utilisé. a) Circuit électrique, b) Photographie.

Ce banc de condensateurs est chargé par l'alimentation en courant continu (SPELLMAN 40 kV, 9 mA) jusqu'à la production du claquage dans l'éclateur, provoquant une impulsion HT brusque appliquée à la chambre de traitement.

L'éclateur utilisé pour la commutation est constitué de deux sphères en acier de 28 mm de diamètre chacune. Ce type d'éclateur peut décharger des tensions allant jusqu' au 100 kV et peuvent supporter des courants très élevés de l'ordre de plusieurs dizaines d'ampères, mais peuvent être utilisés uniquement à des valeurs de fréquence de répétition de 1 Hz à 100 Hz, ce qui représente une fréquence faible mais suffisante dans les expériences de laboratoire (Fig 2.14).



Figure 2.14. Commutateur haute tension (Eclateur).

V.2. Réglage des paramètres électriques

La résistance de chargement représentée sur la figure 2.12.a est en fait un potentiomètre placé à l'intérieur de l'alimentation HT permettant un contrôle du courant de charge afin de varier la fréquence de répétition. En effet, lorsque la limite de réglage du courant est réglée à sa valeur maximale les condensateurs sont chargés rapidement et par conséquent la fréquence de répétitions est élevée. Par contre, lorsque la limite est réglée à sa valeur minimale la fréquence est diminuée jusqu'à des valeurs inférieures à 1 Hz.

La valeur de tension appliquée à la chambre de traitement correspond à la tension de claquage V_0 au niveau de l'éclateur entre les deux sphères en acier inoxydable. V_0 peut être estimée à l'aide de l'équation suivante :

$$V_0 = 4.85 \lambda^{0.75} [102] \quad \text{Eq (2.1)}$$

λ : Distance entre les sphères (mm).

V_0 : Tension de claquage (kV).

Le tableau N° 2.2 représente quelques valeurs de la tension de claquage en fonction de la distance entre les sphères d'éclateur.

Pendant le traitement par CEP, la matière alimentaire est en contact direct avec les électrodes en inox et par conséquent elle est soumise à un champ électrique uniforme. En supposant l'homogénéité de l'échantillon, la valeur moyenne de l'intensité du champ électrique pulsé E est la suivante:

$$E = V/d \quad \text{Eq (2.2)}$$

Où :

V : Tension aux bornes de l'échantillon à traiter.

d : Distance entre les électrodes de la chambre de traitement.

A partir de l'équation précédente, on peut voir que le champ électrique est inversement proportionnel à la distance entre les électrodes et proportionnelle avec la tension délivrée par le condensateur [15].

Tableau 2.2. Valeurs de la tension de claquage en fonction de la distance entre sphères.

Distance entre sphères (mm)	Tension de claquage (kV)
1	5
2,5	10
4,5	15
6,5	20
9	25
11,5	30

La forme d'impulsion délivrée à l'aliment est de type exponentiel décroissant. Lorsque la tension de claquage V_0 aux bornes de l'éclateur est atteinte, le condensateur se décharge brusquement dans la chambre de traitement où se trouve l'aliment à traiter. Si C est la capacité du banc des condensateurs et R la résistance de l'aliment, les solutions de l'équation différentielle liant l'intensité du courant à la différence de potentiel $U_c(t)$ aux bornes du condensateur sont les suivantes :

$$U_c(0) = E \quad \text{Eq (2.3)}$$

$$U_c(t) = E e^{-t/\tau} \quad \text{Eq (2.4)}$$

Où $\tau = RC$: Constante de temps du circuit du dispositif [103] ;

E : tension de claquage.

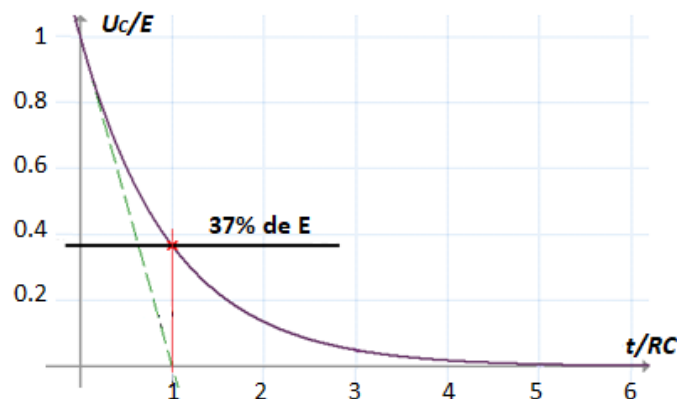


Figure 2.15. Forme d'impulsion générée à la chambre de traitement.

Représentée sur des axes normalisés (Fig 2.15), la variation de la tension aux bornes du condensateur en fonction du temps possède les caractéristiques suivantes :

- Au début de la décharge, U_c est maximale et égale à E (tension appliquée à l'entrée qui représente la tension de claquage),
- La tangente à l'origine de l'exponentielle coupe la valeur limite (ici $U_c = 0$) au temps $t = \tau$,
- $U_c(\tau) = 0,37 E$,
- $U_c(5\tau) = 0,01 E$.

Les oscillogrammes de la forme d'onde délivrés par le générateur d'impulsion utilisé pour quatre valeurs différentes de la capacité et un échantillon de betterave comme une charge sont montrés sur la figure 2.16.

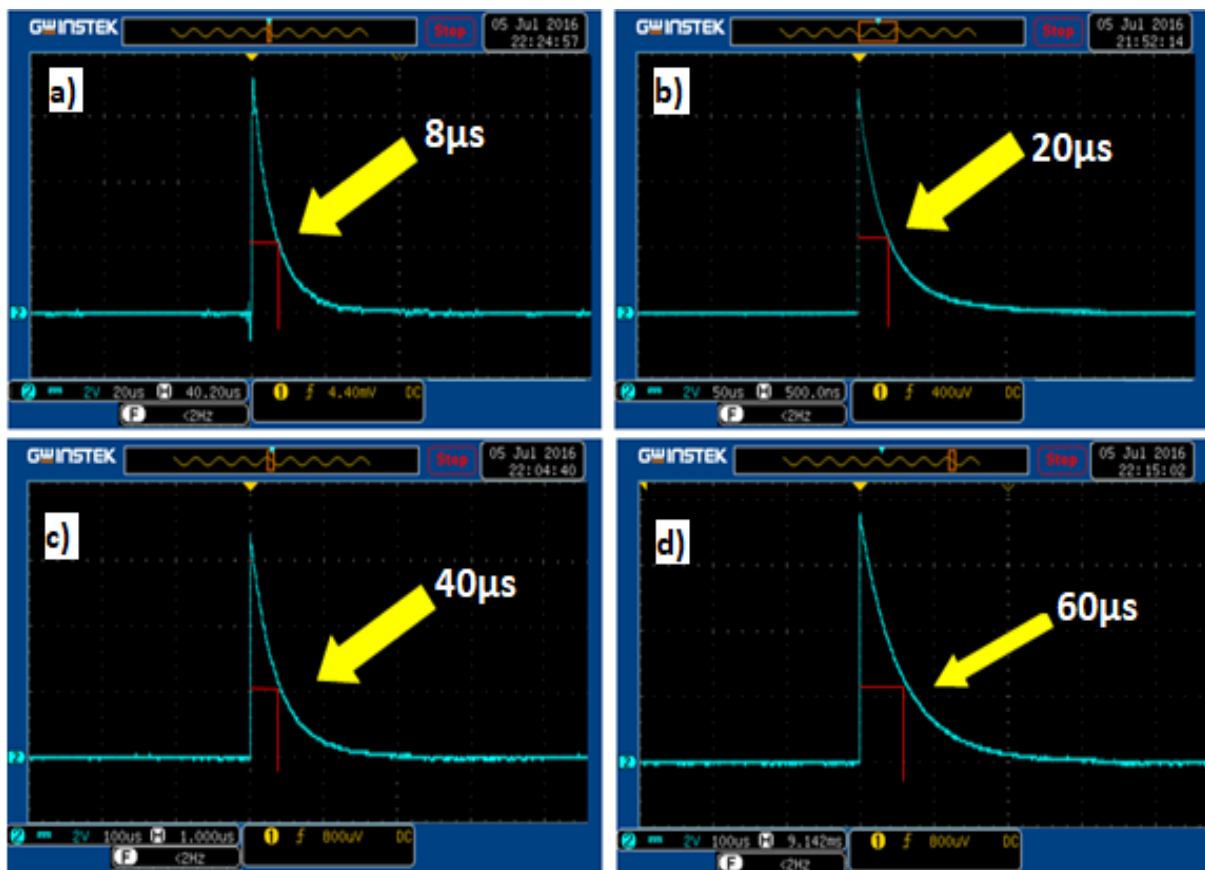


Figure 2.16. Oscillogrammes des impulsions avec différents durées d'impulsions correspondant à des valeurs différentes de la capacité. a. $C = 0,2 \mu\text{F}$, b. $C = 0,4 \mu\text{F}$, c. $C = 0,8 \mu\text{F}$, d. $C = 1,2 \mu\text{F}$.

Les impulsions exponentielles décroissantes présentent une longue queue avec un champ électrique qui diminue progressivement au cours du temps, ce qui non seulement diminue le rendement énergétique, mais également limite la zone de traitement efficace durant la durée d'impulsion τ .

VI. Méthodologie des plans d'expériences

La théorie des plans d'expériences provient de la fusion entre les méthodes expérimentales scientifiques et les outils statistiques. Ronald Aylmer Fisher fut le premier à développer et utiliser cette méthode pour l'agronomie en 1919 [104]. Bien qu'inventée pour l'agronomie, celle-ci fut rapidement utilisée dans d'autres domaines comme la médecine, la chimie, la mécanique, etc.

VI.1. Définitions

a. Plan d'expériences

Un plan d'expériences est l'organisation d'une séquence d'essais expérimentaux pour obtenir le maximum de renseignements avec le minimum d'expériences et la meilleure précision possible sur les réponses calculées par le modèle. L'objectif d'un essai est de lier mathématiquement un effet à une sollicitation. Dans le cadre des plans d'expériences, les sollicitations sont dénommées les « facteurs » et les effets les « réponses ».

Sous une forme mathématique, on peut écrire que la grandeur d'intérêt, Y , que nous appellerons également « réponse », est une fonction de plusieurs variables x_i (variables que nous appellerons aussi « facteurs »). On a :

$$Y = f(X_1, X_2, X_3, \dots, X_n) \quad \text{Eq (2.5)}$$

b. Facteur

Les facteurs sont les grandeurs supposées influencer sur les variations des réponses. Un facteur est défini par une plage sur laquelle la sollicitation est testée. Cette plage est appelée domaine du facteur et est bornée par deux niveaux : Le niveau bas et le niveau haut (Fig 2.17). Par convention, le niveau bas est appelé -1 et le niveau haut +1 [105].

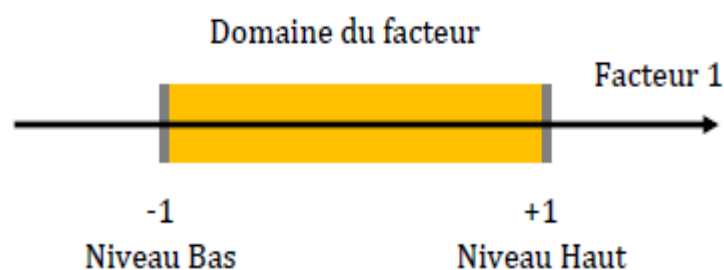


Figure 2.17. Domaine d'un facteur.

c. Réponse

Ce sont les grandeurs étudiées ou grandeurs de sortie. Dans le cadre de processus d'optimisation, la grandeur étudiée dont on recherche les meilleures valeurs est généralement appelée « fonction objectif » ou « fonction réponse ». On définit également « les fonctions contrainte » qui définissent les expériences non réalisables.

Les fonctions objectif et contrainte peuvent être une réponse particulière ou une combinaison de plusieurs réponses du système étudié [106].

d. Espace expérimental

Lorsqu'il y a plus d'un facteur, chaque facteur possède un domaine de variation similaire compris entre -1 et +1. L'ensemble des facteurs crée un espace de dimensions égal au nombre de facteurs choisis. Cet espace est appelé espace expérimental. La réunion de tous les domaines de variation des facteurs définit le domaine expérimental (Fig 2.18).

Dans cet espace expérimental sont définis des points expérimentaux. Si X_i est une coordonnée du facteur i alors, un point d'un espace expérimental de dimension n aura pour coordonnées $(X_1, X_2, \dots, X_i, \dots, X_n)$ [105].

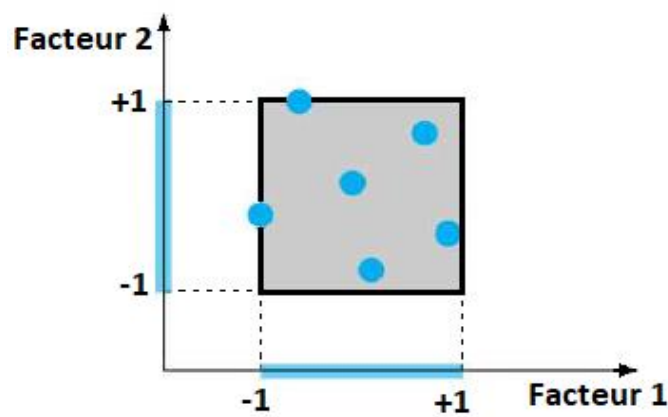


Figure 2.18. Domaine expérimental à 2 dimensions.
Les points expérimentaux sont disposés dans le domaine d'étude défini par l'expérimentateur.

e. Choix des points expérimentaux

Nous allons étudier le cas où nous avons 2 facteurs à 2 niveaux. Le domaine d'étude des facteurs A et B est symbolisé sur la figure 2.19 par un rectangle. La méthode intuitive consiste à bloquer un facteur au milieu de la plage et de faire 2 mesures aux extrémités du domaine et réciproquement pour le 2^{ème} facteur. L'effet de la variable A pourra être calculé à partir de M3 et M4, l'effet de la variable B à partir de M1 et M2. Si σ est l'erreur type sur une mesure, l'erreur sur l'effet de A ou de B sera $\sigma/\sqrt{2}$.

La méthode des plans d'expérience consiste à prendre de mesures aux extrémités du domaine expérimental (Y1, Y2, Y3, Y4). L'effet du facteur A est calculé à partir des 4 mesures. En réalité, l'effet de A est la différence entre la moyenne d'Y1 Y4 et la moyenne d'Y2 Y3. Avec cette méthode tous les points de mesures sont utilisés pour estimer un effet, la précision du calcul est donc bien meilleure. Avec 4 mesures, l'erreur type sur l'effet de A ou de B sera $\sigma/2$.

Grace à cette répartition, il est également possible de calculer l'interaction entre les facteurs, ce qui était impossible auparavant [107].

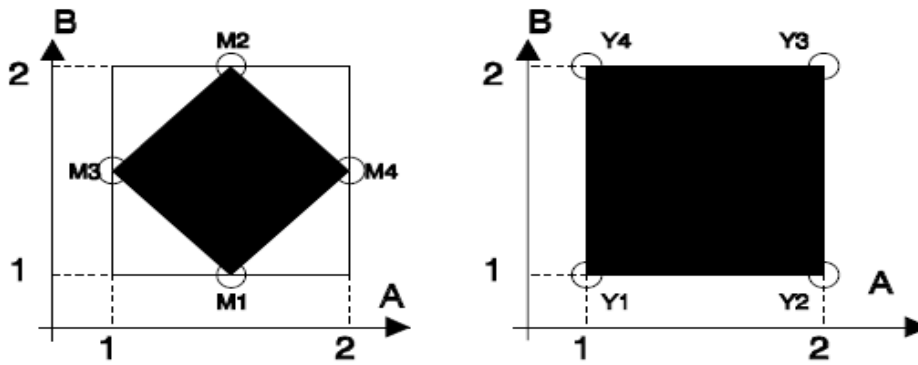


Figure 2.19. À droite, bon choix des points expérimentaux, à gauche, mauvais choix.

f. Notion d'interaction

Une particularité des plans d'expériences est qu'elle s'intéresse au facteur seul mais aussi aux combinaisons possibles de facteurs. Un facteur seul est dit d'ordre 1 et une combinaison de n facteurs est dite interaction d'ordre n [105].

Exemple d'un plan de trois facteurs où toutes les interactions possibles sont analysées.

Celui-ci possède :

- 3 facteurs d'ordre 1 : F1, F2 et F3.
- 3 facteurs d'ordre 2 : F12 et F13 et F23.
- 1 facteur d'ordre 3 : F123.

VI.2. Plans factoriels complets

Il s'agit de plans pour lesquels on étudie k facteurs prenant chacun deux niveaux. Le modèle mathématique adopté a priori est un polynôme prenant en compte la moyenne, les effets de chaque facteur et toutes les interactions entre les facteurs pris deux à deux, trois à trois, quatre à quatre, ..., k à k [108].

$$Y = a_0 + \sum a_i x_i + \sum a_{ij} x_i x_j + \sum a_{ijl} x_i x_j x_l + \dots + \sum a_{ij\dots k} x_i x_j \dots x_k \quad \text{Eq (2.6)}$$

Un plan 2^k comporte 2^k points expérimentaux qui se situent aux 2^k sommets d'un hyper cube de k dimensions. Le modèle mathématique contient 2^k coefficients qui sont les inconnues. L'ensemble des résultats d'un plan 2^k conduit donc à un système de 2^k équations à 2^k inconnues, si l'on ne tient pas compte des erreurs expérimentales. Ce système peut se mettre sous la forme matricielle :

$$Y = Xa \quad \text{Eq (2.7)}$$

Avec :

Y : vecteur ayant pour composantes les réponses de chaque essai, et représenté par une matrice colonne ($2^k, 1$),

α : vecteur ayant pour composantes la moyenne, les effets des facteurs et toutes les interactions, et représenté par une matrice colonne $(2^k, 1)$; ces composantes sont les inconnues que l'on cherche à déterminer,

X : matrice carrée $(2^k, 2^k)$ composée de -1 et +1 suivant les valeurs des niveaux x_i .

VI.3. Plan composite centré

Le PCC est une méthode expérimentale statistique couramment utilisée pour optimiser les procédés alimentaires, chimiques et biologiques [109]. Le PCC est une planification expérimentale factorielle qui contient trois types de points dans un espace dont les bornes sont déterminées par le nombre de variables expérimentales « k » à analyser. Les trois types de points sont les suivants: les points aux extrémités, les points dits « étoiles » et les points du centre. La figure 2.20 illustre l'espace délimité par 2 et 3 variables expérimentales indépendantes. Les variables indépendantes sont des paramètres expérimentaux susceptibles d'influencer la réponse des variables dépendantes. Les variables dépendantes sont les paramètres expérimentaux mesurés lors des expériences d'optimisation.

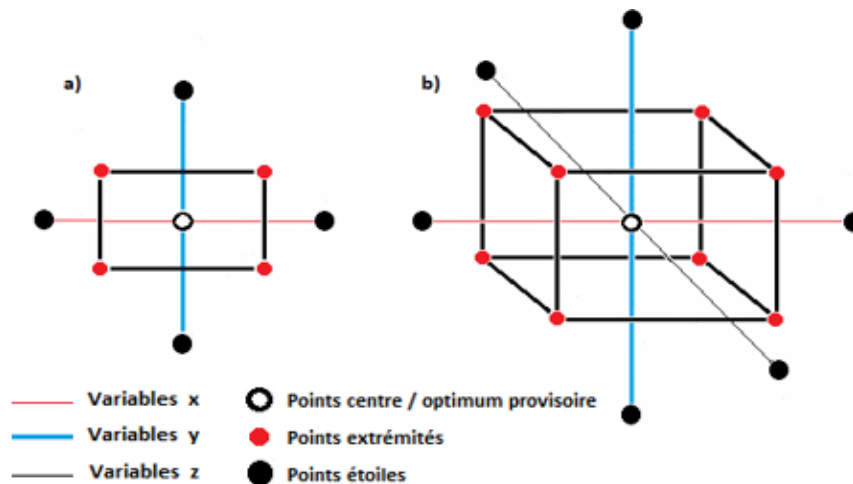


Figure 2.20. Illustration d'un plan composite centré.

a) PCC avec 2 variables indépendantes, b) PCC avec 3 variables indépendantes.

Chacun des points du PCC consiste en une expérience, à l'exception du point central où il peut y avoir des répliques. Le tableau N° 2.3 présente le nombre de points dans un PCC qui dépend du nombre de variables indépendantes [110].

Les points du centre sont localisés à l'endroit où les conditions optimales recherchées devraient se situer. Ils servent à déterminer la précision des expériences. Ils fournissent également des degrés de liberté additionnels pour l'estimation des erreurs, ce qui donne plus de force pour juger si les effets des variables sont significatifs. Les valeurs au point du centre correspondent aux valeurs optimales provisoires. Les points aux extrémités

délimitent l'espace dans lequel la présence des conditions optimales recherchées est soupçonnée. Leur distance des valeurs optimales provisoires est décidée par l'expérimentateur. Les points étoiles se situent à l'extérieur des limites et servent à raffiner l'orientation vers les conditions optimales recherchées. Leur distance par rapport aux valeurs optimales provisoires correspond à celle des points aux extrémités multipliée par la distance axiale u . La valeur de U dépend du nombre de variables indépendantes à analyser [111].

Tableau 2.3. Composantes du plan composite centré.

Nombre de variables indépendantes (k)	Nombre de points			Total
	Extrémités (2^k)	Etoile	Centre	
2	4	4	5	13
3	8	6	6	20
4	16	8	7	31
5	32	10	6	48

VI.4. Logiciel utilisé (MODDE.5)

MODDE de la société Umetrics, est un logiciel spécialisé pour la construction et l'analyse de plan d'expérience. Il permet de bâtir et d'analyser des plans criblage, des plans pour la surface de réponse, etc. pour estimer les modèles, il utilise soit la méthode des moindres carrés usuelle soit la méthode des moindres carrés partiels.

Le programme calcule deux importants critères statistiques qui permettent de valider ou non le modèle mathématique, symbolisé par R^2 et Q^2 . Le premier est appelé la qualité de l'ajustement, et est une mesure de la façon dont le modèle peut être adapté à des données brutes, il varie entre 0 et 1, où 1 indique un modèle parfait et 0 indique aucun modèle. Le deuxième critère est appelé la qualité de prédiction, et estime la puissance prédictive du modèle. Comme R^2 , Q^2 a une limite supérieure 1, mais sa limite inférieure est moins l'infini ($-\infty$). Pour qu'un modèle puisse passer le test de diagnostic, les deux paramètres doivent être élevés, et de préférence non séparés par plus de 0,2 à 0,3 [112].

VII. Conclusion

Cette partie a permis de décrire le système électrique et les méthodes biologiques utilisés pour faire traiter les aliments et quantifier le rendement d'extraction. L'appareillage électrique permet de régler le champ électrique et la fréquence de répétition des impulsions.

En ce qui concerne le protocole opératoire, plusieurs essais ont été effectués permettant de visualiser chaque étape d'une expérimentation. Le choix des paramètres opératoires est basé sur leur dépendance les uns vis-à-vis des autres (amplitude du champ

électrique, nombre d'impulsions et durée d'impulsions). Ainsi, la suite de ce document va s'attacher à décrire, sur des bases expérimentales, l'effet des CEP sur une biomasse.

Dans un premier temps, le but sera d'évaluer qualitativement le rendement d'extraction et la consommation énergétique sur un traitement par CEP en utilisant une nouvelle configuration de la chambre de traitement. La démarche expérimentale devra contribuer à l'élaboration d'un modèle décrivant les phénomènes observés en utilisant la méthode des plans d'expérience. A la suite, des expériences préliminaires seront effectués sur l'extraction des pigments à partir des microalgues marines. Ces objectifs d'étude seront présentés dans le chapitre suivant.

CHAPITRE

3

Chapitre 3 : Etude expérimentale du prétraitement CEP pour l'extraction de jus et de pigments

I. Introduction

Les recherches actuelles s'orientent, principalement, vers le traitement de cellules végétales pour l'extraction de composés aromatiques, de pigments ou de jus. Les principales expériences menées à ce jour visent à évaluer les rendements d'extraction des pigments et des jus tout en maximisant la durée de vie des cellules [5].

L'application d'un prétraitement par CEP améliore les procédés extractifs dans les tissus biologiques. Les travaux précédents sur le pressage combiné avec le CEP ont été généralement limités à des études de faisabilité de ce procédé innovant, appliqué à différents produits biologiques [98] [113]. La plupart des études ont été réalisées avec des chambres de traitement plaque-plaque statique et plus tard en fonctionnement continu [114]. En outre, l'utilisation de nouvelles conceptions des chambres de traitement n'était pas suffisamment élucidée.

Ce chapitre contient deux parties contribuant au développement du procédé dans le cas d'un traitement par CEP à température ambiante.

L'objectif de la première partie est d'élucider à l'échelle laboratoire, l'influence du prétraitement par CEP sur la cinétique d'extraction de jus et de colorant à partir des betteraves rouges en utilisant une nouvelle configuration des chambres de traitement.

L'extraction de jus a été réalisée à partir du pressage des échantillons râpés puis traités par CEP. Les rendements d'extraction et la quantité du colorant obtenus pour les échantillons traités et non traités ont été ensuite comparés. Une modélisation du traitement avec la méthode des plans d'expériences sera abordée dans cette partie, ceci permet d'optimiser le taux d'extraction et d'établir un modèle mathématique exprimant la réponse (quantité de jus et absorbance des pigments) en fonction des facteurs (champ électrique, fréquence de répétition et durée d'impulsion).

La deuxième partie est consacrée à l'amélioration des rendements d'extraction des pigments issus de microalgues marines en utilisant le CEP comme prétraitement. Les résultats ont été obtenus avec l'utilisation de la spectrophotométrie comme méthode de mesure des pigments extraits en variant chaque fois les paramètres du traitement électrique. Cette étude a été effectuée sur des échantillons de la société de production de plants MEKERRA SBA, filiale de groupe HASNAOUI qui active dans le domaine de l'agriculture.

II. Analyse expérimentale des chambres de traitement multi-unités pour le traitement des aliments

Dans le cadre de notre étude, nous avons été amené à analyser expérimentalement l'efficacité d'une nouvelle configuration de chambre de traitement composée de deux ou quatre unités parallèles et contenant plusieurs électrodes « Haute Tension – Terre » placées alternativement afin d'améliorer le traitement par champ électrique pulsé et réduire la consommation d'énergie.

II.1. Procédure expérimentale

Avant traitement et pressage, le produit étudié a été trié, nettoyé et réduit en petits morceaux en utilisant une râpeuse, pour ensuite obtenir une pâte homogène. Avant chaque expérience, la pâte était bien mélangée pour obtenir un mélange homogène.

Ensuite des échantillons de même masse de 80 g ont été utilisés. L'échantillon est introduit dans les chambres de traitement multi-unités pour le traitement par CEP et ensuite placé dans la presse pour l'extraction de jus. Toutes les expériences ont été réalisées en maintenant certains facteurs constants pour toute l'étude, qui sont :

- Fréquence de répétition d'impulsion $f = 1$ Hz,
- Pression constante $P = 50$ kg/cm²
- Durée totale de l'extraction mécanique $t = 300$ s.

Le jus extrait a été filtré à travers un tamis en acier inoxydable et recueilli dans un récipient en plastique placé sous la chambre d'extraction. Le jus a ensuite été analysé en mesurant à la fois sa masse et sa concentration en Bétanine. La masse a été mesurée à l'aide d'une balance électronique de 0,1 mg de précision, et l'absorbance de la bétanine a été mesurée à $\lambda = 530$ nm (longueur d'onde) en utilisant le spectrophotomètre après une dilution avec de l'eau distillée d'un volume 10 fois supérieur à celui correspondant à 5 g de jus.

L'efficacité du traitement par CEP a été comparée expérimentalement entre les trois modèles décrits dans le chapitre 2 « Matériel et méthodes ». Pour chaque modèle, l'effet de la tension appliquée V , du nombre d'impulsions n et de la durée d'impulsion T ont été analysés. La durée d'impulsion a été contrôlée en utilisant une valeur appropriée de la capacité C déduite à partir de la forme d'onde de tension correspondante (Tableau N° 3.1). Dans le cas d'une impulsion exponentielle décroissante, la durée d'impulsion est définie comme le temps nécessaire que prend l'onde de tension pour décroître jusqu'à 37% de sa valeur de crête [115].

Tableau 3.1. Valeurs de la durée d'impulsion en fonction de la capacité correspondante.

C (μF)	0,2	0,4	0,5	0,8	1,2
T (μs)	8	20	24	40	60

La fréquence de répétition a été maintenue constante pour toutes les expériences (1 Hz) en utilisant le régulateur de courant de charge de l'alimentation HT continue utilisée pour le chargement des condensateurs.

La masse de jus extrait m (g), l'absorbance de la Betanine A et l'énergie totale du traitement W (J) ont été considérées comme réponses significatives pour évaluer l'efficacité du traitement par CEP. L'énergie est exprimée par la relation suivante :

$$W = \left(\frac{1}{2}\right) nCV^2 \quad \text{Eq (3.1)}$$

Avec :

n : nombre d'impulsions;

C : capacité totale;

V : tension fournie à la chambre de traitement;

m : masse de l'échantillon [116-117].

II.2. Expériences préliminaires pour la détermination des domaines de variation des facteurs

Un ensemble de 3 sets d'expériences préliminaires a été effectué en considérant les trois modèles de chambre de traitement. Pour chaque modèle, un facteur a été varié tandis que les autres étaient maintenus constants. Le but de ces premières expériences est de déterminer l'intervalle de variation pour chaque facteur, en préparation d'un plan factoriel composite à faces centrées, qui devrait permettre la modélisation et l'optimisation du processus d'extraction, pour lesquelles la quantité de jus et de pigments est maximale et la puissance consommée est minimale.

Pour chaque modèle de chambre, les expériences préliminaires ont été réalisées dans les conditions suivantes :

- Expérience 1 : Varier la tension appliquée V de 1 à 8 kV pour des valeurs constantes du nombre d'impulsion $n = 50$, et une durée d'impulsion $T = 40 \mu\text{s}$.
- Expérience 2 : Varier le nombre d'impulsion n de 20 à 120, pour des valeurs constantes de la tension appliquée $V = 3 \text{ kV}$, et une durée d'impulsion $T = 40 \mu\text{s}$.

- Expérience 3 : Varier la durée d'impulsion T de 8 à 60 μs , pour des valeurs constantes de la tension appliquée $V = 3 \text{ kV}$, et du nombre d'impulsion $n = 60$.

Les résultats de ces expériences en termes de masse de jus extrait m , d'absorbance A et l'énergie totale du traitement W pour chaque modèle de chambre de traitement, en fonction de V , n et T sont illustrés sur les figures 3.1, 3.2 et 3.4 respectivement.

Les résultats de la Figure 3.1 montrent que la masse de jus extrait et la concentration de Betanine obtenues augmentent avec l'augmentation de la tension appliquée à la chambre de traitement [118], et ce pour les trois modèles. Au-delà d'une certaine valeur spécifique de la tension (5kV pour TC₁, 4 kV pour TC₂ et 3 kV pour TC₃), l'effet du traitement par CEP a été inversé.

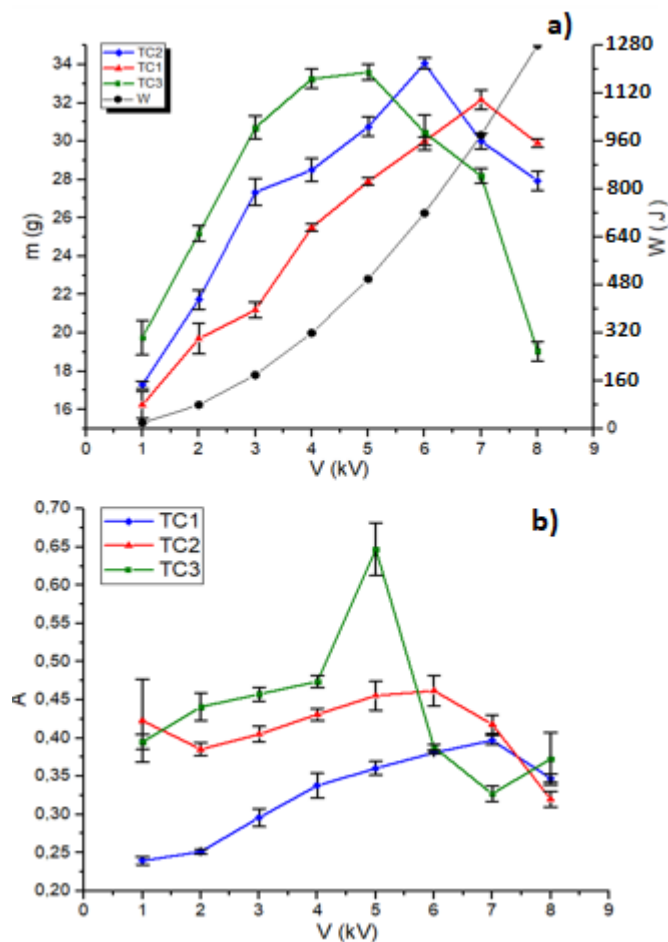


Figure 3.1. Variation de : (a) la masse de jus extrait m et l'énergie W et (b) l'absorbance A en fonction de la tension appliquée V , pour les trois modèles ($n = 50$, $T = 40 \mu\text{s}$).

Le champ électrique présent dans la chambre de traitement E , dépend de la tension appliquée entre les électrodes. Pour une configuration d'électrodes « plaque-plaque » parallèles, le champ électrique est homogène et peut être estimé en divisant la tension V mesurée aux bornes des électrodes par la distance entre électrodes d .

$$E = V/d \quad \text{Eq (3.2)}$$

Les tissus végétaux se ramollissent par un traitement à haute intensité jusqu'à une certaine limite défavorable pour l'extraction. Un ramollissement excessif provoque le compactage et la fermeture des capillaires dans la pâte pressée [119]. De même, la variation de la masse de jus extrait avec l'intensité de champ électrique appliqué a également été signalée dans d'autres études dans lesquelles le rendement d'extraction est relativement faible à des valeurs plus élevées qu'à des valeurs plus faibles de l'intensité du champ électrique [120-125]. Dans une étude précédente, il a été expliqué que la diminution du rendement d'extraction peut être provoquée par la perméabilisation irréversible qui se produit à des champs électriques plus élevés [125].

Le prétraitement est plus efficace pour les modèles TC₂ et TC₃ par rapport au modèle classique TC₁ (qui ne contient que deux électrodes). Pour TC₁, le meilleur traitement a été obtenu à $V = 7$ kV ($m = 31,9$ g, $A = 0,394$ et $W = 980$ J). Cependant, dans les chambres multi-unités, des valeurs plus élevées de m et A ont été obtenues à des valeurs plus faibles de W en comparaison avec TC₁, ($V = 6$ kV, $m = 34,2$ g, $A = 0,452$ et $W = 720$ J pour TC₂; $V = 5$ kV, $m = 33,4$ g, $A = 0,474$ et $W = 500$ J pour TC₃).

L'énergie économisée lors de l'utilisation de chambres multi-unités par rapport à l'énergie consommée par le modèle TC₁ a été estimée en utilisant la relation suivante:

$$W_{eco} = (W_{TC1} - W_{TCi}) / W_{TC1} \quad \text{Eq (3.3)}$$

W_{TC1} : énergie totale consommée par le modèle TC₁.

W_{TCi} : énergie totale consommée par le modèle TC₂ ou TC₃.

Les valeurs des énergies de chaque modèle et le gain en énergie par rapport à TC₁ est représentée sur le tableau N° 3.2.

Tableau 3.2. Points optimaux et économie d'énergie pour chaque modèle.

Modèle	Point optimal						W_{eco}
	V (kV)	T (μ s)	n	W (J)	m (g)	A	
TC ₁	7	40	50	980	31,9	0,394	-
TC ₂	6	40	50	720	34,2	0,452	26,5%
TC ₃	5	40	50	500	33,4	0,474	49%

L'avantage des chambres multi-unités est que, pour une tension donnée, l'amplitude du champ électrique est plus élevée par rapport à la chambre classique en raison des valeurs plus faibles de la distance inter-électrodes. Par exemple, lorsqu'une tension de 6 kV est appliquée aux trois chambres, les amplitudes du champ électrique de TC₁, TC₂ et TC₃ sont respectivement de 1, 2 et 4 kV/cm.

De plus, comme montré à la figure 3.2, pour les trois modèles, la masse de jus extrait et la concentration de Betanine augmente avec le nombre d'impulsions. Le traitement avec les modèles TC₂ et TC₃ est plus efficace qu'avec le modèle classique TC₁. Le meilleur traitement a été obtenu à $n = 100$ impulsions ($m = 36,7$ g, $A = 0,359$, et $W = 360$ J) pour TC₁, tandis que les modèles TC₂ et TC₃, le meilleur traitement a été obtenu à $n = 80$ ($m = 36,2$ g, $A = 0,476$ et $W = 288$ J) et $n = 60$ ($m = 36,2$ g, $A = 0,606$ et $W = 216$ J), respectivement (Fig 3.2). Avec les modèles TC₂ et TC₃, une économie d'énergie de 20% et 40% a été obtenue respectivement par rapport au modèle TC₁.

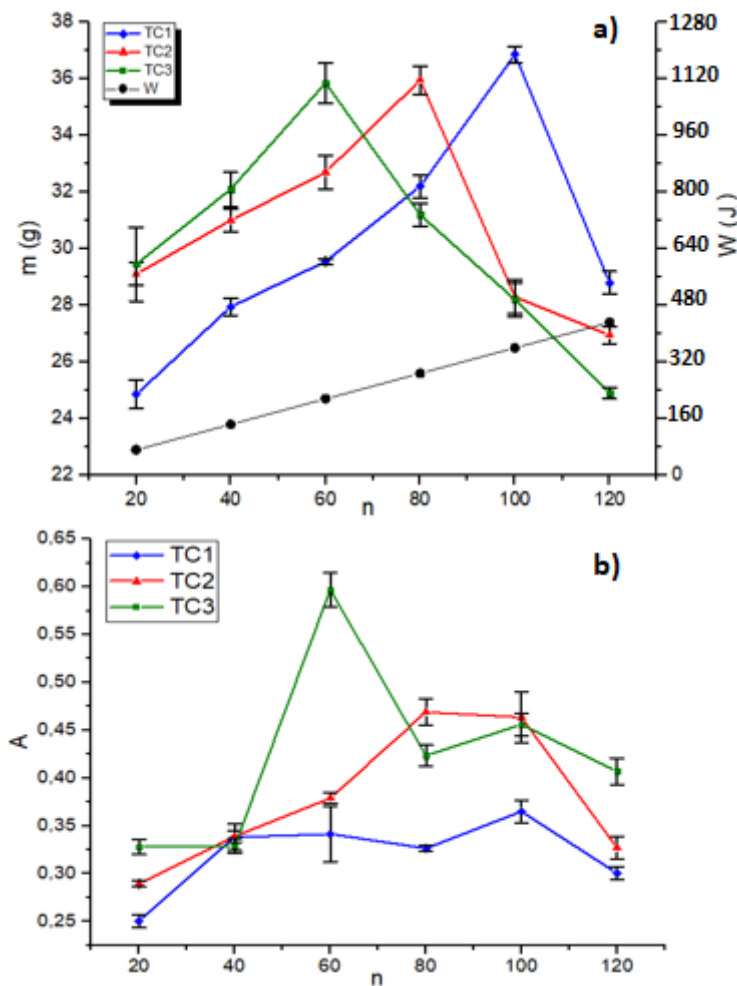


Figure 3.2. Variation de: (a) la masse de jus extraite m et l'énergie W et (b) l'absorbance A en fonction du nombre d'impulsions n , pour les trois modèles ($V = 3$ kV, $T = 40$ μ s).

Les circuits électriques équivalents des trois modèles sont représentés sur la figure 3.3. Bien que les échantillons traités dans chaque chambre aient la même masse, la résistance électrique équivalente pour chaque configuration était différente et a été estimée comme suit:

- TC₁: $R_1 = R$,
- TC₂: $R_2 = R/4$,
- TC₃: $R_3 = R/16$.

Par conséquent, bien que la même tension ait été appliquée à chaque modèle, le courant électrique dans les chambres multi-unités était considérablement plus élevé. Ainsi, si nous supposons $I_1 = i$ est l'intensité du courant dans TC₁, les amplitudes du courant dans les modèles TC₂ et TC₃ seraient respectivement $I_2 = 4i$ et $I_3 = 16i$. Par conséquent, les modèles multi-unités nécessitent un nombre d'impulsions inférieur à celui du modèle TC₁ en raison du circuit électrique modifié pour TC₂ et TC₃.

Les valeurs des résistances mesurées pour les trois modèles sont $R_1 = 88 \Omega$, $R_2 = 40 \Omega$ et $R_3 = 25 \Omega$. La différence avec les valeurs théoriques qui devraient être $R_2 = R/4$ et $R_3 = R/16$ est principalement due à l'effet de la résistance de contact électrode-échantillon [126].

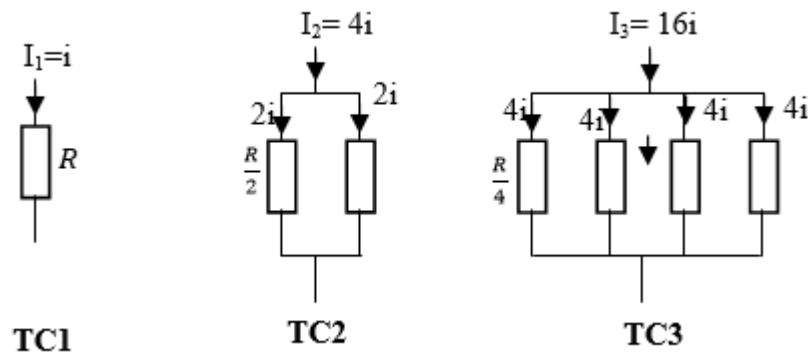


Figure 3.3. Circuits électriques équivalents des trois modèles.

La masse m et l'absorbance A obtenues augmentent avec l'augmentation de la durée d'impulsion pour les trois modèles, et diminuent au-delà d'une valeur déterminée (Fig 3.4). Comme il est indiqué précédemment, le traitement est plus efficace pour les modèles multi-unités par rapport à la chambre classique. Dans TC₁, le meilleur traitement a été obtenu à $T = 60 \mu s$ ($m = 31,4$ g et $A = 0,302$); Cependant, le meilleur traitement a été obtenu à $T = 40 \mu s$ pour les deux modèles multi-unités ($m = 31,4$ g et $A = 0,331$ avec TC₂, $m = 36,2$ g et $A = 0,496$ avec TC₃).

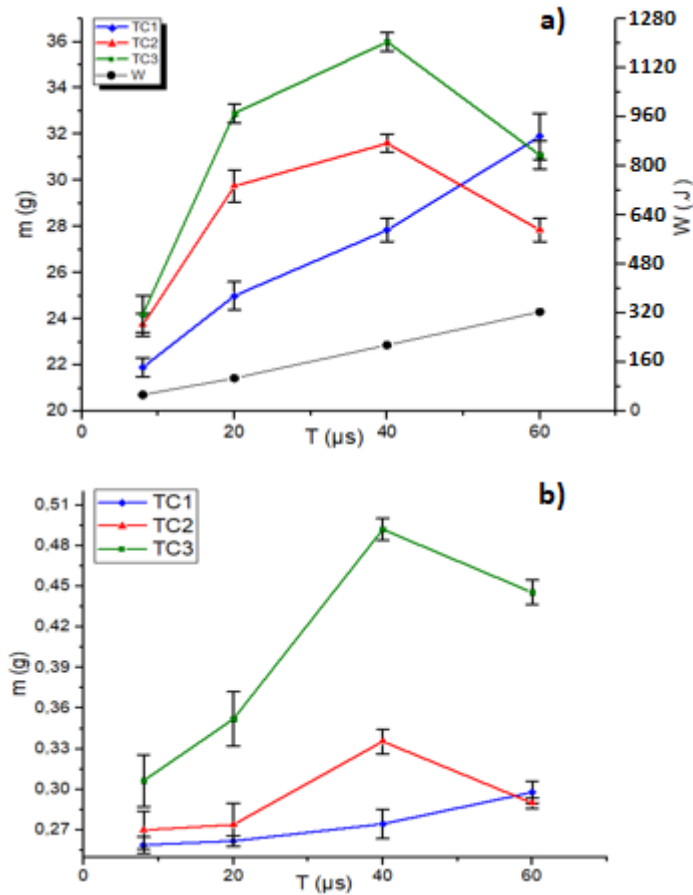


Figure 3.4. Variation de: (a) la masse de jus extrait m , l'énergie W et (b) l'absorbance A en fonction de la durée d'impulsion T , pour les trois modèles ($V = 3$ kV, $n = 60$).

II.3. Modélisation de l'extraction de jus et de pigments par CEP

Les résultats obtenus dans la section précédente ont permis de définir le domaine de variation de V , n et T . Le plan CCF central a été réalisé pour l'étape de la modélisation et l'identification du point optimal du traitement (V_0 , n_0 et T_0), pour chaque modèle de chambre de traitement [127]. Les deux niveaux "max" et "min" sont les limites établies pour chacune des trois variables d'entrée (V_{min} , V_{max}), (n_{min} , n_{max}) et (T_{min} , T_{max}) (Tableau N° 3.3).

Tableau 3.3. Limites de variation des facteurs d'entrée pour chaque modèle de chambre de traitement.

	V (kV)		n		T (μs)	
	V_{min}	V_{max}	n_{min}	n_{max}	T_{min}	T_{max}
TC ₁	6	8	80	120	20	60
TC ₂	5	7	60	100	20	60
TC ₃	4	6	40	80	20	60

Les points centraux: V_c , n_c et T_c pour chaque modèle ont été calculés comme suit:

Modèle TC₁:

$$V_c = (V_{max} + V_{min})/2 = 7 \text{ kV}$$

$$n_c = (n_{max} + n_{min})/2 = 100$$

$$T_c = (T_{max} + T_{min})/2 = 40 \text{ } \mu\text{s}$$

Modèle TC₂:

$$V_c = (V_{max} + V_{min})/2 = 6 \text{ kV}$$

$$n_c = (n_{max} + n_{min})/2 = 80$$

$$T_c = (T_{max} + T_{min})/2 = 40 \text{ } \mu\text{s}$$

Modèle TC₃:

$$V_c = (V_{max} + V_{min})/2 = 5 \text{ kV}$$

$$n_c = (n_{max} + n_{min})/2 = 60$$

$$T_c = (T_{max} + T_{min})/2 = 40 \text{ } \mu\text{s}$$

Le plan CCF qui donne des modèles quadratiques a été adopté [128]. La relation quadratique entre la fonction de sortie à optimiser (réponse) et les variables d'entrée u_i ($i = 1, \dots, k$) (facteurs):

$$y = f(U_i) = C_0 + \sum C_i U_i + \sum C_{i,j} U_i U_j + \sum C_{ii} U_i^2 \quad \text{Eq (3.4)}$$

Avec, C_0 : constante, C_i , C_j , C_{ii} : coefficients du modèle.

Une valeur centrée normalisée peut être définie pour chaque facteur comme suit:

$$x_i = (U_i - U_{ic})/\Delta U_i \quad \text{Eq (3.5)}$$

Où:

$$U_{ic} = (U_{i \text{ max}} + U_{i \text{ min}}) / 2 \quad \text{Eq (3.6)}$$

$$\Delta U_i = (U_{i \text{ max}} - U_{i \text{ min}}) / 2 \quad \text{Eq (3.7)}$$

ΔU_i et U_{ic} sont respectivement le pas de variation et la valeur centrale de facteur i .

Avec ces nouvelles variables, on obtient:

$$y = f(x_i) = a_0 + \sum a_i x_i + \sum a_{i,j} x_i x_j + \sum a_{ii} x_i^2 \quad \text{Eq (3.8)}$$

Avec :

a_0 : valeur constante;

a_i, a_j, a_{ii} : les coefficients du nouveau modèle.

Pour les trois facteurs considérés dans le travail de cette première partie, c'est-à-dire $x_1 = V^*$, $x_2 = n^*$ et $x_3 = T^*$, le modèle quadratique est donné par:

$$y = a_0 + a_1V^* + a_2n^* + a_3T^* + a_{1,2}V^*n^* + a_{1,3}V^*T^* + a_{2,3}n^*T^* + a_{11}V^{*2} + a_{22}n^{*2} + a_{33}T^{*2} \quad \text{Eq (3.9)}$$

La figure 3.5 décrit les expériences réalisées en utilisant Le plan CCF central à trois facteurs. Il se compose de huit expériences situées aux extrémités du cube (points carrés A, B ... H), de six expériences situées au centre des faces du cube (points ronds a, b ... f), et 3 expériences identiques réalisées au point central M. Cette conception se compose de 17 expériences.

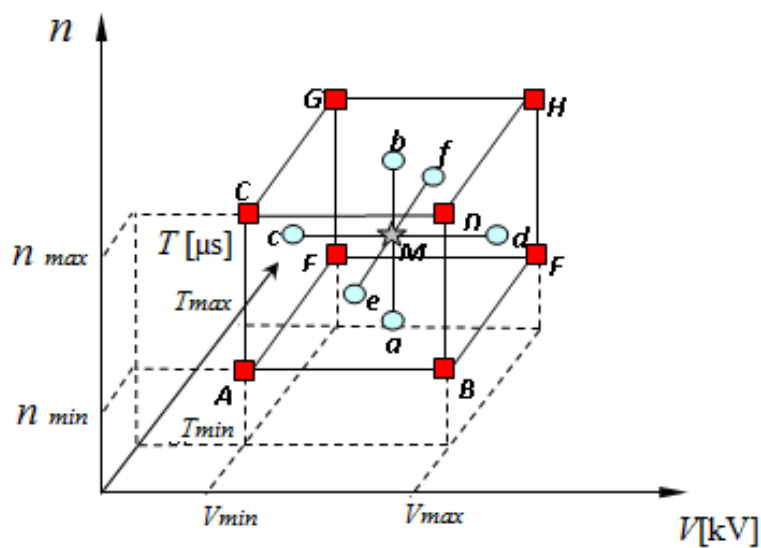


Figure 3.5. Représentation graphique des 17 points expérimentaux du plan CCF à trois facteurs, tension appliquée V (kV), nombre d'impulsion n et durée d'impulsion T (μ s).

Les résultats expérimentaux obtenus sont listés dans les tableaux N° 3.4, 3.5 et 3.6 pour les modèles TC_1 , TC_2 et TC_3 , respectivement.

La qualité prédictive du modèle est satisfaisante puisque les valeurs des coefficients Q^2 et R^2 pour les trois configurations des chambre de traitement sont proches de 100%, conduisent à un modèle mathématique validé. Les modèles mathématiques générés par MODDE 5.0 obtenus selon l'équation 3.9, qui sont liés aux réponses considérées pour l'optimisation de la masse de jus extrait, l'absorbance de la Betanine et la consommation d'énergie, sont représentés dans le tableau N° 3.7.

Tableau 3.4. Résultats du plan CCF (TC₁).

Exp No	V (kV)	n	T (μs)	m (g)	A	W (J)
1	6	80	20	24,6	0,2	576
2	8	80	20	28,1	0,31	1024
3	6	120	20	25,3	0,285	864
4	8	120	20	27,8	0,34	1536
5	6	80	60	26,4	0,295	1728
6	8	80	60	28,6	0,358	3072
7	6	120	60	29	0,355	2592
8	8	120	60	30,1	0,385	4608
9	6	100	40	28,2	0,312	1440
10	8	100	40	30,2	0,342	2560
11	7	80	40	29,3	0,291	1568
12	7	120	40	31,3	0,33	2352
13	7	100	20	29,1	0,245	980
14	7	100	60	30,2	0,292	2940
15	7	100	40	32,1	0,294	1960
16	7	100	40	31,8	0,294	1960
17	7	100	40	31,9	0,294	1960

Tableau 3.5. Résultats du plan CCF (TC₂)

Exp No	V (kV)	n	T (μs)	m (g)	A	W (J)
1	5	60	20	30,3	0,36	300
2	7	60	20	36,7	0,373	588
3	5	100	20	30,7	0,477	500
4	7	100	20	33,3	0,337	980
5	5	60	60	31,8	0,437	900
6	7	60	60	38,2	0,422	1764
7	5	100	60	31,8	0,477	1500
8	7	100	60	33,6	0,344	2940
9	5	80	40	32,5	0,504	800
10	7	80	40	37,1	0,428	1568
11	6	60	40	34,7	0,48	864
12	6	100	40	33,6	0,448	1440
13	6	80	20	34,1	0,434	576
14	6	80	60	35,6	0,464	1728
15	6	80	40	36,7	0,486	1152
16	6	80	40	36,4	0,46	1152
17	6	80	40	37	0,49	1152

Tableau 3.6. Résultats du plan CCF (TC₃)

Exp No	V (kV)	n	T (μs)	m (g)	A	W (J)
1	4	40	20	39,6	0,513	32
2	6	40	20	36,6	0,481	48
3	4	80	20	40,8	0,585	64
4	6	80	20	34,7	0,445	96
5	4	40	60	40,8	0,545	96
6	6	40	60	38,7	0,53	144
7	4	80	60	39,9	0,585	192
8	6	80	60	36,2	0,452	288
9	4	60	40	41,3	0,612	96
10	6	60	40	37,2	0,491	144
11	5	40	40	41,3	0,588	80
12	5	80	40	40,3	0,556	160
13	5	60	20	40,5	0,542	60
14	5	60	60	40,7	0,572	180
15	5	60	40	41,3	0,594	120
16	5	60	40	40,9	0,588	120
17	5	60	40	40,7	0,598	120

Tableau 3.7. Coefficients des modèles mathématiques pour chaque chambre de traitement

Coefficients	TC ₁			TC ₂			TC ₃		
	m (g)	A	W(J)	m	A	W	m	A	W
a ₀ (Cte)	31,43	0,29	1960	36,04	0,48	1152	41,03	0,59	120
a ₁ (V)	1,13	0,028	560	2,18	-0,035	384	-1,9	-0,044	24
a ₂ (n)	0,64	0,024	398,4	-0,87	0,0011	294,4	-0,51	-0,0034	40
a ₃ (T)	0,94	0,03	996	0,59	0,016	588,8	0,41	0,012	60
a _{1,2} (V*n)	-0,26	-0,011	112	-1,05	-0,034	96	-0,59	-0,028	8
a _{1,3} (V*T)	-0,33	-0,009	280	-0,1	-0,0027	192	0,41	0,003	12
a _{2,3} (n*T)	0,46	-0,0035	200	-0,2	-0,015	148	-0,34	-0,01	20
a _{1,1} (V ²)	-1,86	0,032	40	-0,75	-0,02	32	-1,84	-0,033	5e-6
a _{2,2} (n ²)	-0,76	0,016	5,56e-5	-1,40	-0,022	7,44e-5	-0,28	-0,012	5e-6
a _{3,3} (T ²)	-1,41	-0,026	0,00023	-0,70	-0,037	0,0002	-0,49	-0,027	9,5e-6

Le tracé de degré de l'influence de chaque facteur sur la masse de jus extraite pour les trois modèles de chambre de traitement est représenté sur la figure 3.6.

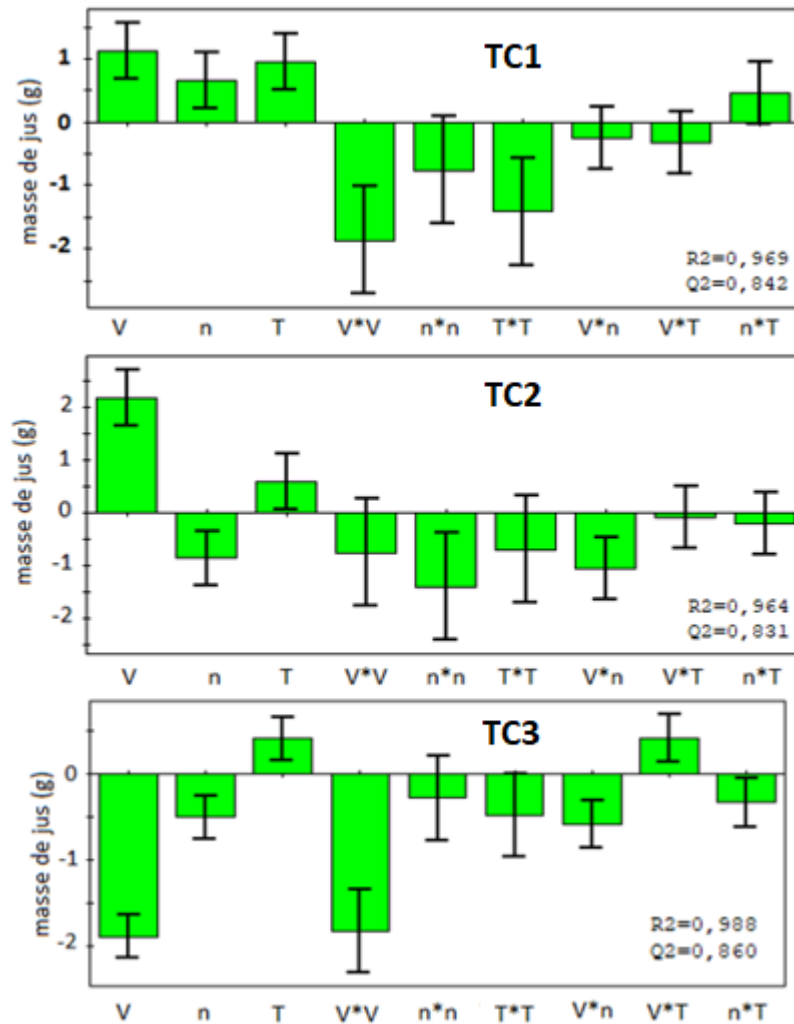


Figure 3.6. Valeurs des coefficients d'effets et des interactions des facteurs sur la masse de jus pour les trois configurations.

Le coefficient ' a_1 ' liés à la tension V est négatif pour TC_3 , indiquant ainsi que de plus petites valeurs de V sont recommandées pour cette chambre. En revanche, le coefficient ' a_1 ' est plus élevé que ' a_2 ' et ' a_3 ' liés aux nombre d'impulsions n et la durée d'impulsion T respectivement, ce qui montre clairement que la tension appliquée et par la suite le champ électrique, est le facteur le plus important et le plus influent sur le rendement de masse de jus extrait. Le nombre d'impulsion avait un effet négatif sur le rendement de jus pour TC_2 et TC_3 , ce qui montre que plus en diminuant la distance inter-électrodes moins d'énergie appliquée sera nécessaire pour effectuer un traitement efficace. Ainsi, l'effet des trois coefficients est significatif dans le traitement par CEP.

Les facteurs de traitement de CEP sont pratiquement proportionnels avec le rendement de jus extrait jusqu'à une valeur de seuil ou une augmentation d'un facteur provoque un excès de l'énergie fournie à l'aliment, ce qui influe négativement par la suite sur le taux d'extraction de jus [15].

La figure 3.7 représente le tracé de degré de l'influence de chaque facteur sur l'absorbance de Betanine.

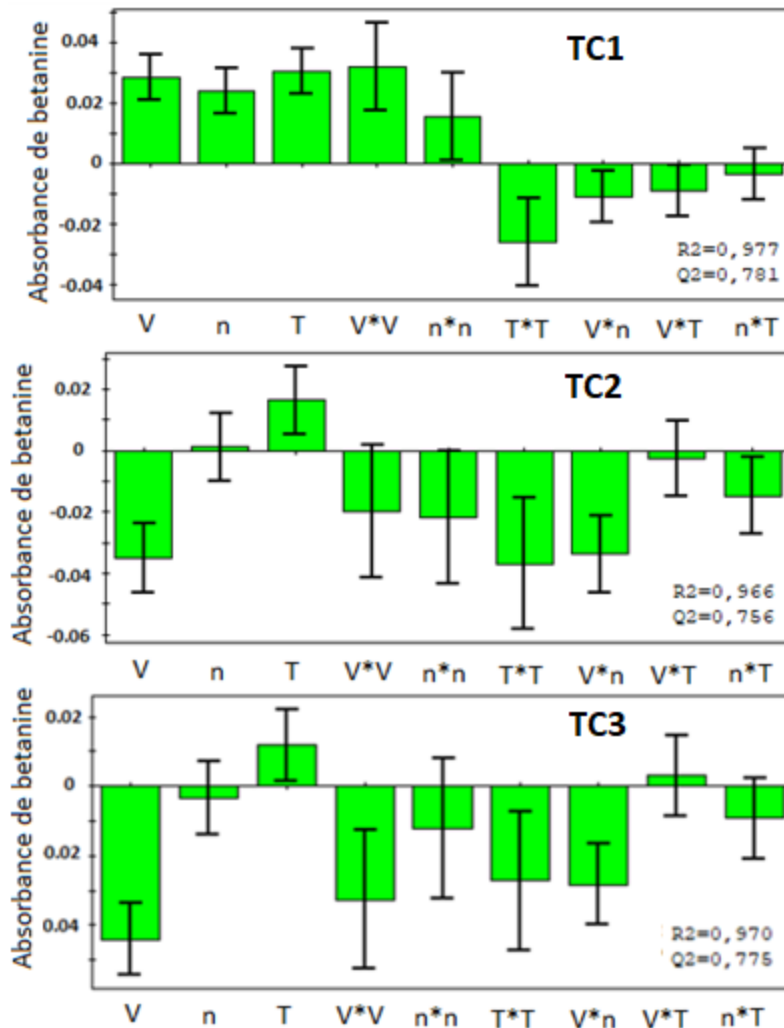


Figure 3.7. Valeurs des coefficients d'effets et des interactions des facteurs sur l'absorbance pour les trois configurations.

Les trois facteurs influent positivement sur l'absorbance pour TC₁. La tension appliquée présente un effet négatif sur l'extraction du pigment pour TC₂ et TC₃ vu la distance réduite entre les électrodes ce qui augmente le champ électrique et rend le traitement inefficace. Le nombre d'impulsion ne présente pas un effet significatif pour les modèles TC₂ et TC₃.

Le tracé des coefficients de chaque facteur sur l'énergie consommée montre que les trois facteurs influent d'une façon considérable sur la consommation d'énergie durant le traitement par CEP. De plus, parmi les trois facteurs analysés, la durée d'impulsion affecte significativement l'énergie W consommée pendant le traitement. Le coefficient ' a_3 ' lié à la durée d'impulsion T est beaucoup plus élevé que ' a_1 ' et ' a_2 '. De plus, en raison des valeurs plus faibles des coefficients ' $a_{1,2}$ ', ' $a_{1,3}$ ' et ' $a_{2,3}$ ' liées aux interactions entre les trois facteurs, aucun effet significatif ne se dégage entre eux (Fig 3.8).

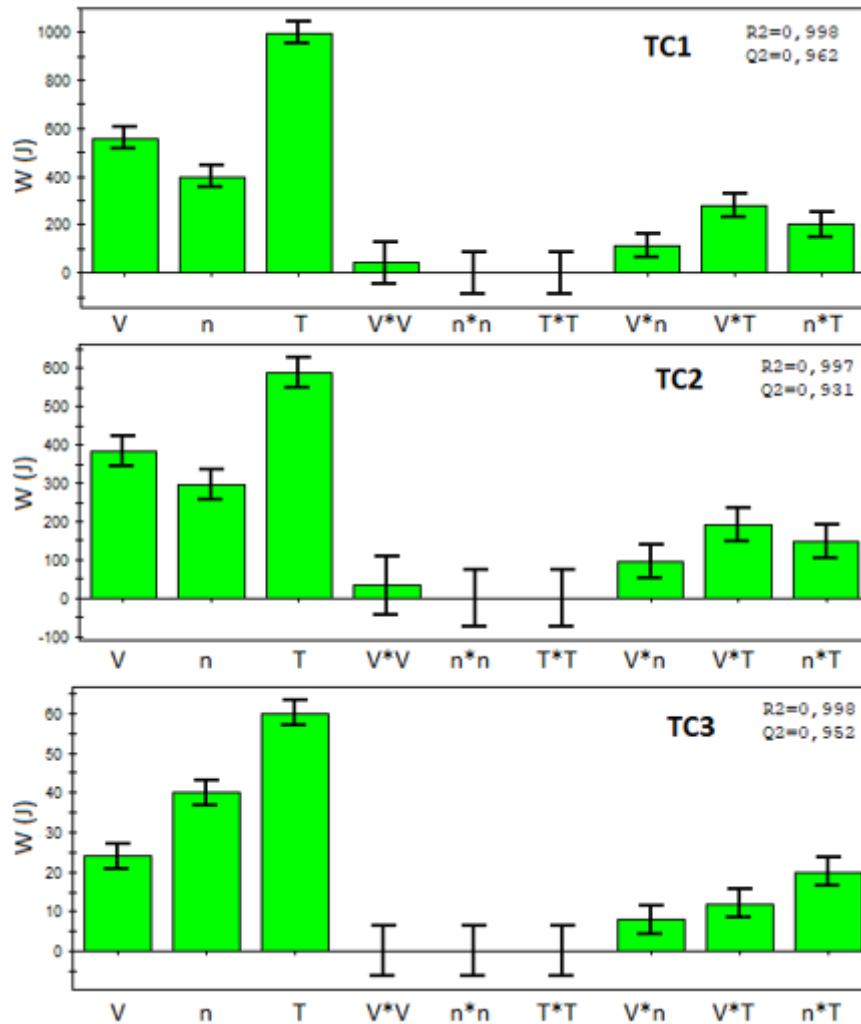


Figure 3.8. Valeurs des coefficients d'effets et des interactions des facteurs sur l'énergie appliquée pour les trois configurations.

MODDE 5.0 offre également la possibilité d'identifier les valeurs optimales des facteurs pour la plus grande quantité extraite de jus et de pigment avec la consommation minimale d'énergie [129]. Il dispose d'un outil d'optimisation pour l'identification du point optimal capable de traiter simultanément plusieurs réponses, affectées par différents coefficients de pondération (Figure 3.9). 'Iter' et log (D) représentent respectivement le nombre d'itérations et le log de la distance globale à la cible. La valeur de log (D) égale à zéro lorsque toutes les réponses sont entre la cible et la limite. Plus la valeur de log (D) est petite, plus le résultat est approprié. Le log (D) devient négatif lorsque les valeurs de toutes les réponses sont plus proches de la cible [112].

Les points optimaux proposés par l'outil optimiseur pour les trois modèles de la chambre de traitement sont présentés dans le tableau N° 3.8. Les résultats obtenus confirment la supériorité du modèle TC₃. Alors que la masse *m* du jus extrait augmente de 31

(TC₁) à 41 (TC₃) correspondant à un taux de variation de 32%, l'énergie consommée W diminue d'un taux de 97% dans le même temps.

	Factor	F	Low Li	High L		Response	Criteria	V	Min	Target	Max
1	tension		4	6	1	masse	Maximize	1	40,94	41,574	
2	impulsions		40	80	2	absorbance	Maximize	1	0,591	0,6077	
3	durée		20	60	3	energie	Minimize	1		23,600	48,40

	1	2	3	4	5	6	7	8
	tension	impulsions	durée	masse	absorbance	energie	iter	log(D)
1	4,0859	75,8419	23,5036	40,9412	0,5913	70,445	5001	0,2689
2	4,1088	75,095	21,6323	40,9014	0,586	64,2759	5000	0,2683
3	4,0562	78,0017	21,5353	40,8468	0,5879	64,9974	5001	0,2684
4	4,0493	71,4148	25,0052	40,9734	0,5919	70,6833	5001	0,2585
5	4,0494	71,4232	24,9983	40,9733	0,5919	70,6715	5000	0,2584
6	4,0347	69,2796	25,9386	40,984	0,592	71,2443	2971	0,2618
7	4,0494	71,4232	24,9983	40,9733	0,5919	70,6715	5000	0,2584
8	4,0494	71,4232	24,9983	40,9733	0,5919	70,6715	5000	0,2584

Figure 3.9. Résultats de l'optimisation par MODDE 5.0 pour la maximisation de la masse de jus et l'extraction de la Betanine et la minimisation de la consommation d'énergie (Modèle TC₃).

Tableau 3.8. Les valeurs optimales des facteurs pour chaque modèle de chambre de traitement.

	V (kV)	n	T (μs)	m (g)	A	W(J)
TC1	7,6	120	40	31	0,36	2811
TC2	6,6	67	42	37,6	0,46	1250
TC3	4	72	25	41	0,59	70

III. Extraction de pigments à partir de microalgues prétraitées par CEP

Les microalgues planctoniques ont non seulement une grande importance dans le fonctionnement des écosystèmes aquatiques, mais aussi un grand potentiel pour la production de composés intéressants pour l'alimentation humaine, l'aquaculture [130], et pour la production de molécules à haute valeur ajoutée dans l'industrie pharmaceutique et cosmétique [131-132].

III.1. Domaines d'application

a) Domaine alimentaire

Grâce à leur bonne valeur nutritionnelle, ces microorganismes sont utilisés dans l'alimentation animale et humaine et dans l'aquaculture [133].

Les microalgues se composent de nombreux pigments tels que la chlorophylle, les caroténoïdes qui sont souvent employés en tant que colorants naturels dans l'industrie alimentaire limitant ainsi l'utilisation des colorants artificiels [134]. D'autres caroténoïdes, notamment l'astaxanthine, la lutéine, la zéaxanthine et la canthaxanthine, sont utilisés comme des antioxydants en aquaculture et en alimentation animale et humaine [135].

b) Domaine cosmétique

Plusieurs espèces de microalgues sont de plus en plus exploitées dans le domaine cosmétique [136], telles que la fabrication des produits de soin capillaire, du visage et de la peau grâce à leur activité antioxydante [133], et la production des protéines qui permettent la réparation des signes de vieillissement de la peau. Par ailleurs, les pigments extraits des microalgues sont également recherchés dans le domaine cosmétique [137].

c) Domaine pharmaceutique

Les microalgues représentent une source intéressante de molécules bioactives et de toxines utilisables dans le développement de nouveaux médicaments. Plusieurs études ont permis de mettre en évidence l'implication des microalgues dans le domaine pharmaceutique par l'identification de nouvelles molécules naturelles [138]. L'utilisation d'extraits algaux à forte teneur en antioxydants, trouve des applications dans l'industrie pharmaceutique pour des thérapies contre certains types d'inflammation [133]. Par ailleurs, les microalgues sont des sources de différentes vitamines qui sont encore à l'état de recherche dans Ce domaine.

d) Domaine énergétique

La valorisation des microalgues peut se traduire par la production de bioénergie sous différentes formes telles que l'électricité et/ou la chaleur par combustion directe de la biomasse et la production de biocarburant ou d'hydrogène par culture de la microalgue [139]. Diverses recherches ont montré le potentiel intéressant la faisabilité technique et commerciale de la production de bio-méthane à partir de la biomasse marine (Fig 3.10). Les rendements en huile produit par les microalgues promettent d'être jusqu'à 30 fois plus grands à ceux du colza (plante potagère) [130].

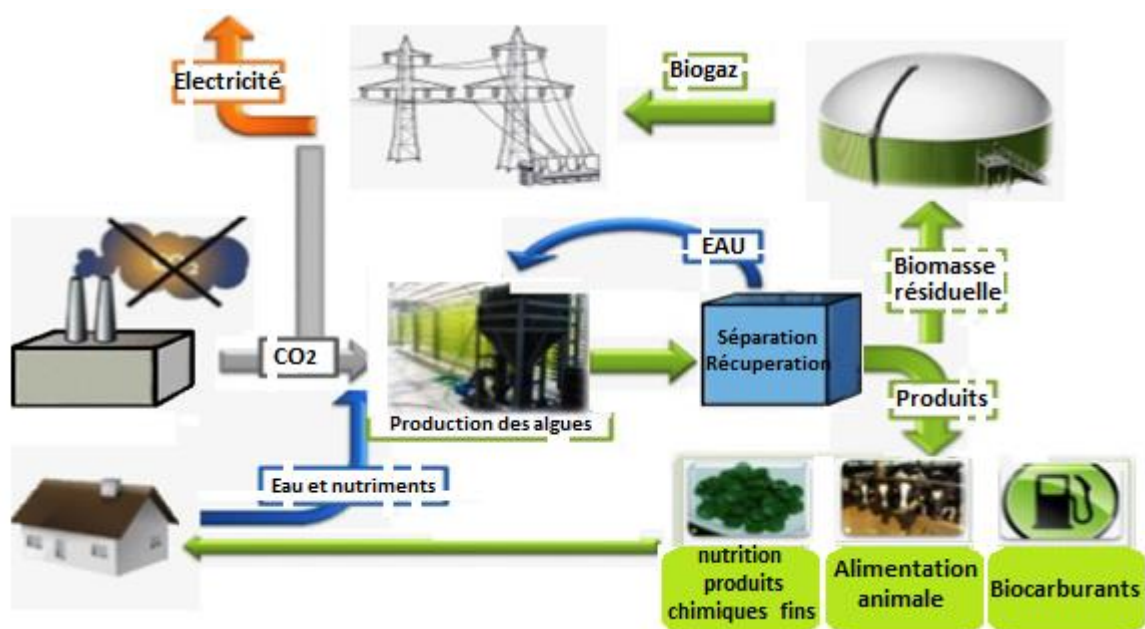


Figure 3.10. Production de biogaz à partir des microalgues [139].

III.2. Extraction des pigments de microalgues marines

Les chlorophylles sont des molécules solubles dans les solvants organiques et conférant la couleur verte aux chloroplastes. Ces molécules impliquées dans les processus d'oxydoréduction photochimique des milieux biologiques assurent d'une part la collecte énergétique des photons, et d'autre part le transfert d'énergie permettant ainsi la transformation du dioxyde de carbone et de l'eau en molécules organiques [141].

A l'origine de la photosynthèse, toutes les algues possèdent de la chlorophylle *a*. Les algues vertes renferment, comme les plantes supérieures et contrairement aux autres algues, de la chlorophylle *b* tandis que les algues rouges possèdent en faible quantité de la chlorophylle *d* [142].

Les caroténoïdes sont constitués de deux classes de composés : les carotènes et les xanthophylles. Les premiers sont des molécules terpéniques pouvant être assimilées à la condensation de chaînes de 20 carbones. Les seconds découlent de l'oxydation progressive des carotènes [143]. Le rôle des caroténoïdes consiste en la protection de l'appareil photosynthétique contre la photo-oxydation.

Les molécules présentes dans les microalgues sont extraites par macération directement dans le solvant. Les microalgues marines sont mises en contact avec le solvant selon le ratio 50 mg de biomasse lyophilisée pour 30 ml d'acétone. L'extraction est réalisée à 20°C, pendant 30 min, sous agitation magnétique, à l'obscurité et sous atmosphère inerte d'argon afin de préserver les pigments photosynthétiques de la photo-oxydation. Après extraction, l'extrait obtenu est séparé des microalgues par filtration sur une membrane PVDF, 0,22 µm. Le filtrat obtenu est ensuite analysé par un spectrophotomètre [130].

Nannochloropsis Gaditana est caractérisée par la présence de la chlorophylle a (pas de chlorophylle b ou c), le β -carotène, la violaxanthine et la vaucheriaxanthine comme principaux pigments [144]. Toutes les souches de *Nannochloropsis* possèdent une composition en pigments similaire [145-146], la violaxanthine et vaucheriaxanthine sont toujours présentes comme principaux caroténoïdes.

Les espèces du genre *Nannochloropsis* présentent une teneur en protéines de 22% [147] et jusqu'à 68% de lipides [148]. Le tableau suivant illustre la teneur en pigment de trois espèces de *Nannochloropsis* après 10 et 20 jours de culture [149].

Tableau 3.9. Proportions relatives des principaux pigments par cellule chez trois espèces de *Nannochloropsis* exprimées en (ng [10⁶ cellules]⁻¹).

Pigments	jour	N. Gaditana	N. Oculata	N. Salina
Violaxanthine	10	37,4	48,9	47,7
	20	31,7	32	28
Astaxanthine	10	6,7	2,6	5,4
	20	12,4	3,4	9,6
Antheraxantine	10	3,5	0,9	3,4
	20	6,1	5,6	5,2
Vaucheriaxanthine	10	46,9	45,3	32,9
	20	22,8	47,2	26,5
Zeaxanthine	10	1	0,8	3,3
	20	4,9	1,8	5,9
Canthaxanthine	10	4,5	1,5	7,3
	20	16,9	4,5	15,9
β -croténe	10	n.d	n.d	n.d
	20	5,2	5,5	8,8
Chlorophylle a	10	92,6	116,4	116,8
	20	89,7	168,6	103,8

III.3. Résultats préliminaires du traitement par CEP

Quatre expériences ont été effectuées pour différentes intensités de champ électrique et nombre d'impulsion. La chambre de traitement plaque/plaque cylindrique avec un diamètre de 25 mm et 5 mm de longueur nous donne un volume de 2454,4 mm³, ce qui permet de travailler avec petites quantités de biomasse contenant 20.5% de matière solides, 79.5% d'eau comprenant 38% de salinité équivalente (Fig 3.11). Les microalgues sont composées d'atomes d'un diamètre moyen de 2,0 – 3,0 μ m (Fig 3.12).

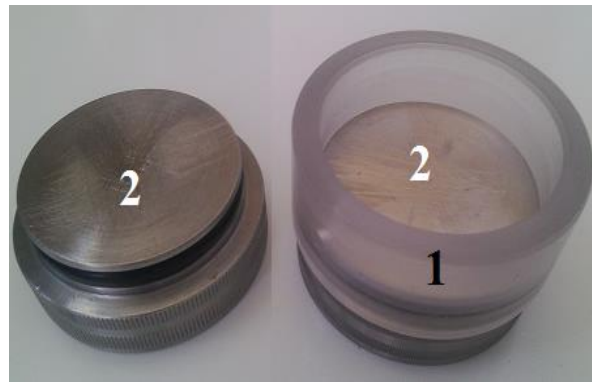


Figure 3.11. Chambre de traitement pour le traitement des microalgues.

1. Isolant en polycarbonate, 2. Électrodes.

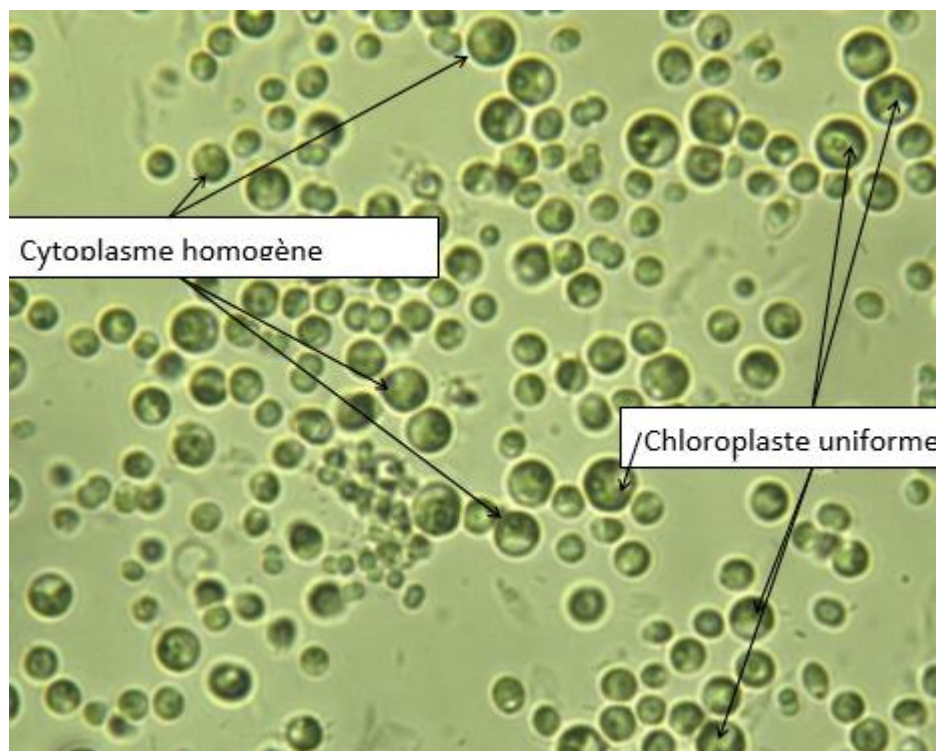


Figure 3.12. Morphologie cellulaire sans l'application du CEP (Microscope photonique 400x).

Le rendement de l'extraction de la fraction pigmentaire (*chlorophylles* et *caroténoïdes*) a été mesuré à l'aide d'un spectrophotomètre. L'acétone est utilisée comme solvant à 95 %. Après une durée d'extraction de 24 h, l'absorbance de lumière visible a été déterminé dans la gamme de longueurs d'onde entre 400 et 700 nm. Le traitement par champ électrique pulsé a été réalisé en utilisant le même générateur d'impulsion utilisé précédemment montré à la figure 3.12, comprenant une alimentation haute tension continue variable, un condensateur de charge et l'éclateur comme l'élément de commutation. Les résultats obtenus après l'application du CEP sur 3 échantillons identiques de microalgues, pour certaines valeurs déterminées de la tension et du nombre d'impulsions, sont reportés au tableau N° 3.10 ci-dessous.

Tableau 3.10. Conditions générales des essais.

	V (kV)	n	T (μ s)	Résidu (g)	*Abs λ 433	*AB λ 633	*Ratio % λ 433	Ratio % λ 633
E ₀ (non traité)	0	0	10	0,0304	16,45	7,65	100	100
E ₁	20	30	10	0,0223	20,21	9,42	22,82	23,03
E ₂	20	60	10	0,0366	15,78	6,85	-21,94	-27,25
E ₃	20	120	10	0,0315	15,44	7,08	-2,17	3,28
E ₄	10	120	10	0,0415	16,34	7,44	5,82	5,16

*Abs λ 433 et Abs λ 633 sont les absorbances mesurées avec la longueur d'onde spécifiée.

*Ratio : représente le gain ou perte de l'absorbance après application du CEP.

D'après le tableau N° 3.10, l'échantillon E₁ a donné le meilleur rendement en pigment. Cela a été obtenu avec un traitement de 20 kV et 30 impulsions de 10 μ s. De même, une légère augmentation a été obtenue avec l'échantillon E₄ en réduisant la tension appliquée (10 kV), mais comme nous avons maintenu un nombre d'impulsions très élevé, le rendement était plus faible par rapport à E₁.

Les échantillons E₂ et E₃ ont perdu leur capacité d'extraction des pigments, il est possible que l'intensité de 20 kV avec une exposition excessive ait brûlé les pigments ou même la paroi cellulaire, ce qui a diminué la capacité d'extraction.

Les spectres d'absorbance des différents échantillons sont illustrés dans la figure 3.13. L'échantillon E₁ a donné une augmentation de rendement de 23% par rapport à l'échantillon non traité. Il est particulièrement remarquable dans les pics de 433 nm (caroténoïdes) et de 663 nm (chlorophylle a).

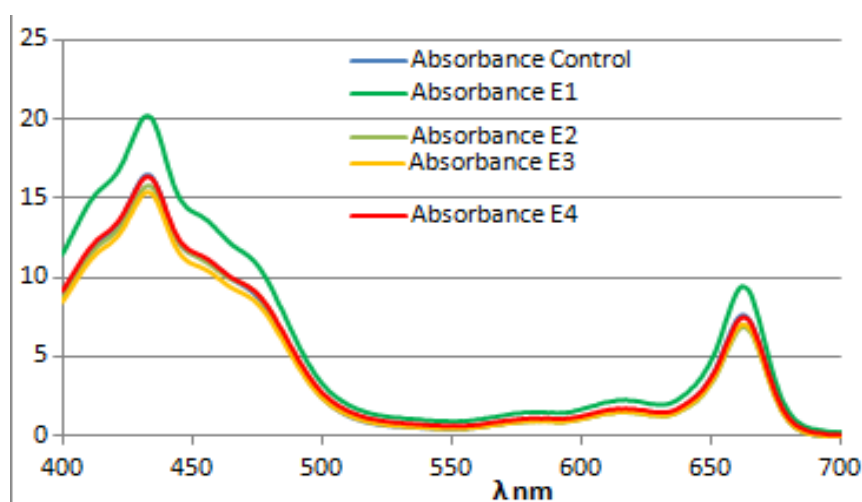


Figure 3.13. Absorbance des pigments rapportée à 1 g de biomasse pour les 5 échantillons.

La morphologie des cellules après traitement pour les quatre échantillons est présentée sur la figure 3.14. Pour l'échantillon E₄, les cellules ont perdu l'uniformité du cytoplasme et du chloroplaste pariétal, permettant une meilleure extraction. Une présence de nombreuses vésicules, blanchâtres à l'intérieur de la cellule et à côté de la paroi cellulaire ont été également remarquées. Par ailleurs, de légères modifications ont été remarquées dans la membrane cellulaire pour l'échantillon E₄ ce qui a donné aussi une augmentation sur le rendement d'extraction.

Pour les échantillons E₂ et E₃, Comme on peut le voir sur la figure, certaines cellules apparaissent moins vertes et moins structurées que les autres. Les cellules traitées ont en effet leur chloroplaste et leur membrane cytoplasmique dégradée mais sans la présence de vésicules blanches, induisant une perte de structure. L'excès d'énergie appliquée et le fort courant traversant l'échantillon les a brûlé, conduisant à une diminution du taux d'extraction.

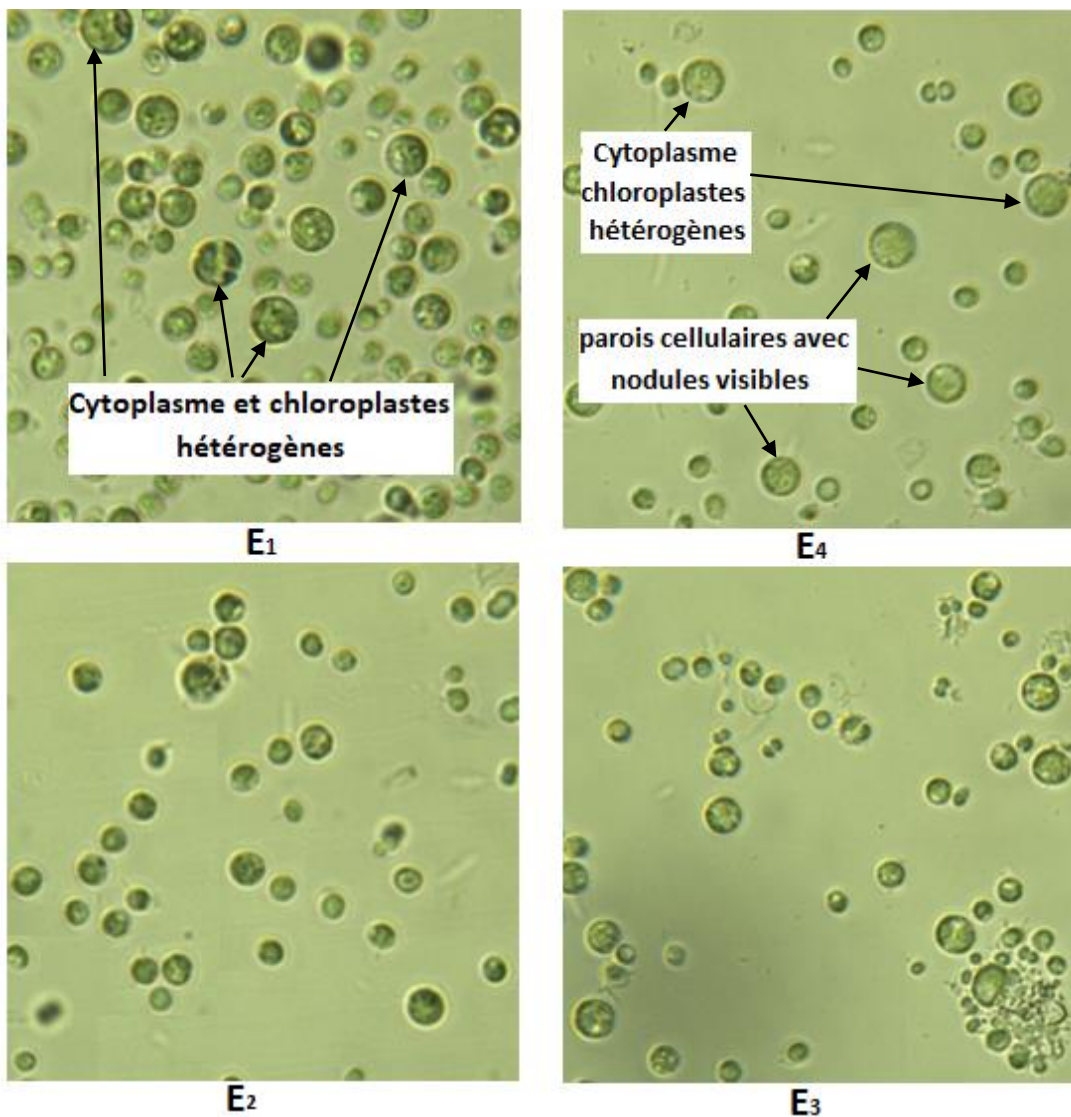


Figure 3.14. Morphologie cellulaire après l'application du CEP.

En dépit d'être une première approximation, les résultats expliqués ci-dessus, nous montre que l'application du champ électrique pulsé permet d'altérer significativement les structures enveloppantes (membranes cellulaires et les parois cellulaires), ce qui est présenté comme une très bonne alternative pour le prétraitement et la maximisation du rendement d'extraction.

IV. Conclusion

Trois chambres de traitement différentes composées d'une (TC₁), deux (TC₂) et trois (TC₃) unités parallèles ont été comparées. Bien que le volume des chambres soit identique, le modèle TC₃ comprenant trois unités, présentait les meilleurs résultats en termes de masse de jus extraite, de quantité de Betanine et de consommation d'énergie. A une même tension (et donc même énergie), le champ électrique des modèles multi-unités (TC₂ et TC₃) est respectivement deux et trois fois plus élevé que celui du modèle mono-unité. De plus, la résistance électrique équivalente des modèles multi-unités diminue considérablement; ainsi, un courant considérablement élevé circule à travers l'échantillon traité par CEP. L'identification du point optimal a confirmé la supériorité des modèles multi-unités, qui offraient des résultats supérieurs en consommant moins d'énergie.

Au terme de ce chapitre, on peut conclure qu'un traitement par champ électrique pulsé permet une meilleure perméabilisation du tissu végétal et facilite donc l'extraction du contenu intracellulaire par pressage (cas de betterave rouge) ou par des solvants (algues marines).

L'étude réalisée a permis de mettre en évidence les impacts positifs de ce traitement. Il a été démontré que le pressage assisté par CEP est un procédé alternatif très promoteur pour remplacer le procédé conventionnel d'extraction en utilisant des méthodes thermiques coûteuses qui influent sur la qualité des extraits. En effet, ce procédé présente ainsi plusieurs avantages. Tout d'abord, il permet de réduire le temps d'extraction, Il en résulte ainsi un gain significatif d'énergie en utilisant une nouvelle configuration de chambre de traitement. L'ensemble des avantages démontrés à l'échelle de laboratoire méritent d'être vérifiés à plus grande échelle pour confirmer le potentiel du nouveau procédé, appréhender les difficultés techniques du transfert d'échelle et affiner l'analyse économique et environnementale.

Les expériences présentées précédemment ont été faites en utilisant une alimentation pulsée classique à commutation mécanique. Le chapitre suivant est consacré à la simulation et la réalisation d'une alimentation pulsée à onde carrée en utilisant des composants à base de semi-conducteur.

CHAPITRE

4

Chapitre 4 : Etude et réalisation d'une alimentation d'impulsion à onde carrée

I. Introduction

Nous nous sommes intéressés au chapitre précédent à l'étude de l'extraction du contenu intracellulaire en utilisant un générateur d'impulsion classique (décharge de condensateur) à commutation mécanique (éclateur). Ce concept est très simple et peu coûteux pour construire et l'impulsion exponentielle décroissante générée peut être utilisée même pour le transfert de gène car elle comprend une partie haute tension pour la perméabilisation et la partie électrophorétique basse tension [150-151]. Cependant, une telle composition d'impulsions avec deux parties haute et basse tension a une très mauvaise flexibilité, car les paramètres électriques de la partie haute tension ne peuvent pas être modifiés sans affecter la partie basse tension et vice versa [152]. De plus, la partie basse tension est habituellement indésirable dans d'autres applications d'électroporation, car elle affecte principalement la viabilité cellulaire [153]. En outre, la fréquence de répétition d'une telle génération d'impulsions est faible en raison de la phase de charge relativement longue.

Pour un meilleur contrôle des paramètres du champ électrique, des générateurs d'impulsions à onde carrée ont été introduits. Le concept est très similaire au concept classique (décharge de condensateur), sauf que la tension générée par l'alimentation de haute tension continue (HTDC) charge constamment le condensateur, et le commutateur de puissance est capable de faire une commutation rapide [154-155]. Dans ce cas, les MOSFETs et les IGBTs sont utilisés comme commutateurs. L'amplitude de l'impulsion est définie par l'amplitude de l'alimentation HTDC variable, tandis que la durée, la fréquence et le nombre d'impulsions sont définis par la séquence de commutation de l'interrupteur rapide. Vu que cette séquence est plus rapide et plus complexe, le système de commande du générateur doit également être plus rapide et plus complexe que le générateur de décharge de condensateur.

De façon générale, les commutateurs permettent de transférer une grandeur électrique donnée (tension, énergie, quantité de charge...) d'une source vers une utilisation mais sans l'amplifier. Dans de nombreuses applications, il faut qu'il y ait amplification, notamment de la tension. Parmi les dispositifs amplificateurs de tension, les générateurs de Marx sont les plus utilisés. Ce chapitre est consacré à une étude et réalisation d'un générateur de Marx à base d'électronique en utilisant l'IGBT comme l'élément de

commutation avec la possibilité de contrôler le système via un logiciel sur micro-ordinateur assurant la programmation de génération des impulsions. Ce projet a été réalisé durant ma formation au laboratoire de pulsed power advanced application research group GIAAPP à Lisbonne en Portugal.

II. Eléments principaux du générateur

II.1. Transistors

Les transistors sont des éléments fondamentaux de l'électronique moderne, ils sont fréquemment utilisés à la fois pour les applications de forte puissance et de faible puissance en tant que commutateur pour la création d'impulsions (Fig 4.1). Deux types de transistors sont couramment utilisés dans les alimentations à découpage et autres générateurs d'impulsions: les MOSFETs (metal oxide semiconductor field effect transistors) et les IGBTs (insulated gate bipolar transistors) [156-157]. Les caractéristiques distinctives du MOSFET pourraient être résumées comme suit:

Avantages :

- Temps de commutation très rapides (temps de montée et de descente en nanosecondes);
- Faible dissipation de puissance;
- Impédance d'entrée élevée;
- Nécessite une faible tension à la grille;
- Fonctionnement à haute fréquence;
- Moins affecté par la température.

Inconvénients :

- Résistance élevée des canaux;
- le courant maximal est limité à des centaines d'ampères;
- Peut être facilement détruit par des tensions élevées, sensibles à l'électrostatique [158].

Tenant compte de toutes ces caractéristiques, les MOSFET sont généralement utilisés pour la formation d'impulsion carrée courte de l'ordre de microseconde dans des charges électrolytiques à haute impédance. Pour la génération d'impulsion de courant élevé, les IGBT sont préférables. Les IGBT offrent les caractéristiques de commutation d'un transistor bipolaire, cependant même comme les MOSFET, ils sont contrôlés en tension [159]. La technologie IGBT offre une capacité de manipulation élevée du courant et de tension par rapport à celle du MOSFET, mais avec des temps de commutation plus lents [160]. Les IGBTs ont aussi l'inconvénient d'avoir une queue de courant relativement longue. Néanmoins en raison de l'aptitude de manipulation à des puissances élevées, Les IGBTs sont généralement

les composants de choix pour les alimentations pulsées, qui travaillent dans la gamme de micro-millisecondes [161].

En résumé, l'utilisation des transistors est préférable pour la formation d'impulsion carrée en électroporation. Un contrôle précis de la durée d'impulsion, une commande précise du commutateur, des gammes de courant de crête flexibles définissent la supériorité de ces technologies de semi-conducteurs par rapport à d'autres types d'interrupteurs [162].

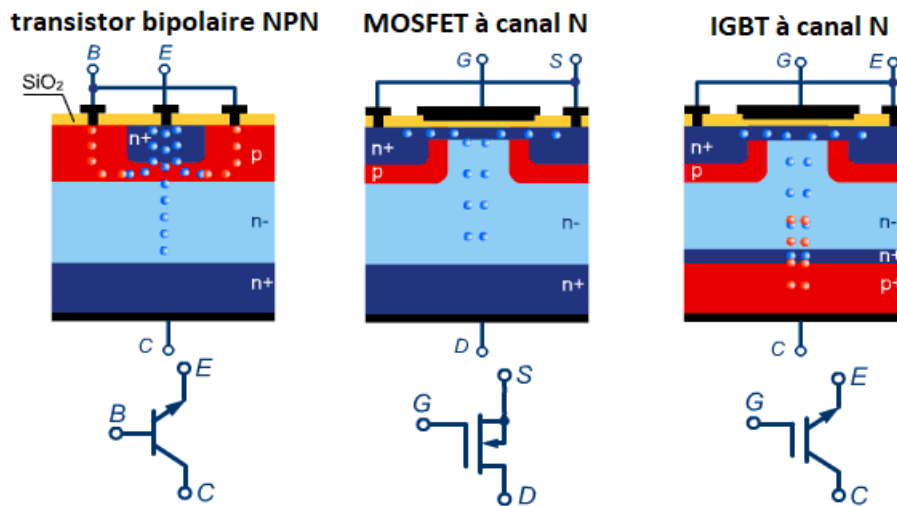


Figure 4.1. Symboles et vue en coupe des trois transistors BJT, MOSFET et IGBT.

II.2. Microcontrôleur

Les signaux de commande peuvent être fournis en utilisant plusieurs méthodes. Un microcontrôleur est un composant tout comme un microprocesseur que l'on doit programmer (en assembleur ou en langage C, le plus souvent) afin qu'il exécute automatiquement des commandes (codes machines). Cependant un microcontrôleur, contrairement à un microprocesseur, est un composant qui regroupe dans sa puce plusieurs modules, dont une mémoire flash pour contenir le programme d'exécution, une mémoire statique pour contenir les constantes, variables et tableaux de travail, une horloge pour cadencer le fonctionnement du microcontrôleur, et des ports d'entrées sorties tri-sates.

Avec l'évolution des microcontrôleurs, on trouve maintenant couramment d'autres modules importants, tels que des convertisseurs analogique numérique (CAN) de 8 et 10 bits, des modulateurs à largeur d'impulsion variable (PWM), des circuits à horloges multiples (Timer0, Timer1 et Timer2) de 8 bits et 16 bits, des modules de communications séries synchrones (SPI et I2C) et asynchrone (USART), etc... S'il est possible d'utiliser un ordinateur sans rien savoir du microprocesseur qu'il contient, il en est tout autrement pour entamer la conception et la réalisation d'un montage à microcontrôleur [163].

II.3. Pilote des transistors (driver)

Les transistors à grille isolée comme les MOSFET ou les IGBT doivent être pilotés par un circuit de commande, appelé « driver ». Ce circuit driver a pour but de fournir et contrôler la charge et/ou la décharge de l'électrode de grille du composant de puissance (pouvant être normalement représentée sous la forme d'une capacité de grille) afin de permettre les changements d'états (passage de l'ouverture à la fermeture ou de la fermeture à l'ouverture) ainsi que permettre le maintien dans un état ouvert ou fermé. Pour les composants MOSFET de puissance, la quantité typique de charge à injecter se situe autour de quelques centaines de pC à quelques nC et la dynamique de charge est ajustée par le driver afin d'impacter sur la dynamique de commutation du composant de puissance [164].

La figure 4.2 montre les différents éléments nécessaires à un driver d'un convertisseur en demi-pont [165]. Comme on peut le voir sur cette figure, les ordres venant de la commande éloignée (microcontrôleur) sont adaptés via différentes fonctions de la commande rapprochée du driver pour être traduit en un signal permettant la commutation de l'interrupteur. C'est la fonction principale du driver.

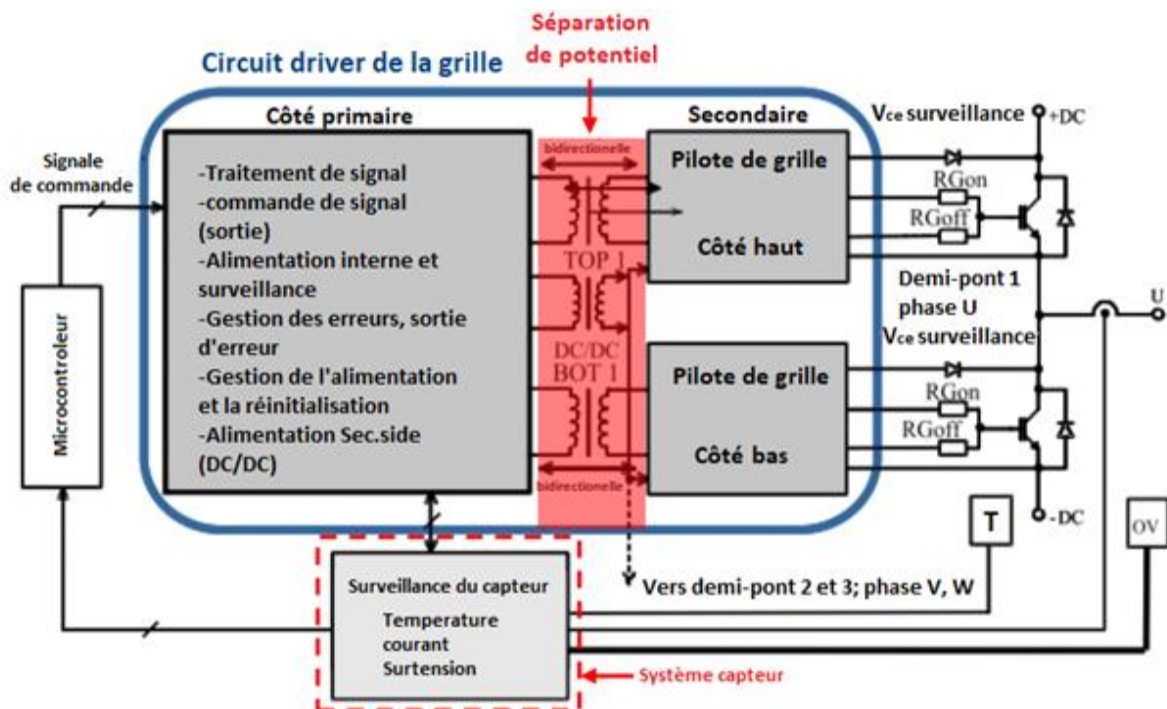


Figure 4.2. Schéma d'un convertisseur en demi-pont.

Des critères de performances vont permettre de dimensionner cette fonction en prenant garde qu'un compromis devra toujours exister entre pertes par commutation et perturbations CEM [166], entre vitesse de commutation et sûreté de fonctionnement. Nous pouvons retrouver les fonctionnalités principales :

-commande rapprochée de la grille

Le driver avec ses circuits de contrôle et de protection crée une interface entre la commande éloignée et le composant de puissance permettant de fournir et gérer l'énergie nécessaire à la grille afin de faire commuter le transistor.

-Fonctions de capteurs et de surveillance pour la protection du composant de puissance

Le driver doit réaliser la protection du composant de puissance en cas de défaut. Cette fonction est principalement basée sur des capteurs permettant de surveiller les états du composant de puissance (courant, tension, température). Cette sécurité est nécessaire pour que l'interrupteur de puissance travaille dans sa zone de caractéristique normale.

- Alimentation flottante du driver ;
- Transfert des ordres à différents potentiels.

Dans de nombreuses applications, une séparation des potentiels est nécessaire entre la commande éloignée et la commande rapprochée. Grâce à celle-ci toutes les connexions sur le côté d'entrée (côté primaire), et toutes les connexions sur le côté de sortie (secondaire) sont séparées électriquement [163].

II.4. L'isolation galvanique (fibre optique)

Dans le cas de circuits de puissances en pont, il arrive fréquemment que les potentiels de la base de plusieurs transistors soient « flottants » (les références de tension sont différentes). Pour piloter les semi-conducteurs de puissance tels que les transistors MOS ou IGBT, il est nécessaire d'utiliser un étage d'isolation galvanique entre le circuit externe de commande générant les ordres de commutation et la commande rapprochée contrôlant de façon optimale la charge et décharge de la capacité d'entrée du composant de puissance.

Les solutions de transfert isolé d'ordres de commutation reposent aujourd'hui majoritairement sur des solutions discrètes, limitant ainsi les possibilités d'intégration dans des structures de conversion avec un nombre élevé de semi-conducteurs à piloter [166].

Le circuit de puissance doit recevoir les signaux de commande sans rompre l'isolation galvanique. Différentes techniques existent : optocoupleur, transformateur d'impulsion, transformateur [167] et fibre optique [168-170]. La fibre optique est généralement utilisée pour assurer des niveaux élevés d'isolation, de plus elle permet la transmission de gros volumes de données logiques (jusqu'à 1Gb/s), (Fig 4.3). Pour les systèmes fonctionnant dans un environnement perturbé sur le plan électromagnétique, ou lorsque la distance entre la carte de commande et le dispositif de puissance est importante, l'isolation par fibre optique offre d'excellentes performances [171].

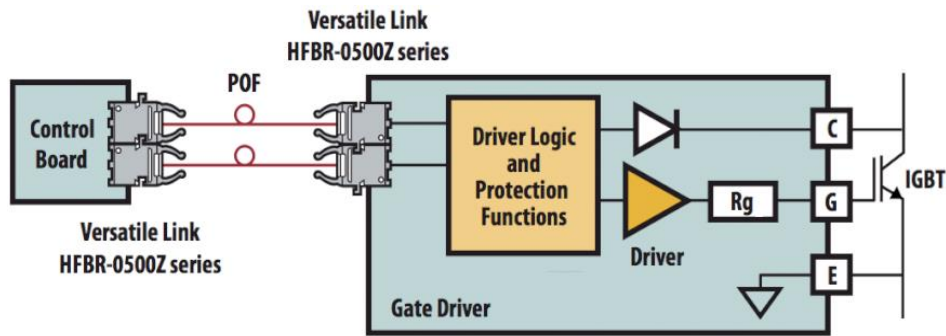


Figure 4.3. Diagramme de commande d'IGBT par fibre optique.

III. Simulation par LTSPICE

LTspice IV est un simulateur gratuit de grande performance basé sur SPICE III, qui possède un module « Schématique » pour éditer des schémas électroniques ainsi qu'un module de visualisation des résultats. Il est basé sur un logiciel standard créé pour simuler des circuits électroniques appelé SPICE (Simulated program with Integrated Circuit Emphasis). Ce logiciel contient plus de 100 modèles d'amplificateurs opérationnels, des modèles de transistors, des portes logiques etc...

Un générateur de Marx est constitué d'un certain nombre de condensateurs qui sont chargés en parallèle à une tension donnée V , puis déchargés en série. Cela produit une tension de sortie de V multipliée par le nombre d'étages de condensateurs (Fig 4.4).

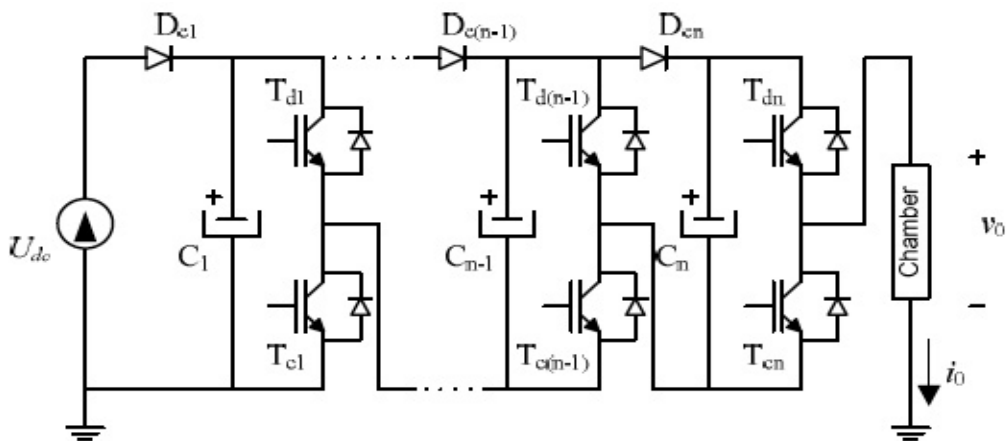


Figure 4.4. Topologie du générateur Marx à impulsion unipolaire positive.

Cette topologie utilise des commutateurs IGBT pour générer des impulsions unipolaires délivrées à la charge. Pour bien comprendre ce mécanisme, une étape de simulation est nécessaire afin de valider son fonctionnement et visualiser sur un intervalle de temps donné, l'évolution de la tension. Les IGBTs ont un inconvénient d'une durée de fermeture et d'ouverture plus longue. Ainsi, des commutateurs avec un temps d'ouverture et fermeture plus rapide doit être sélectionné pour produire une impulsion avec un temps

de montée plus faible. Pour faciliter la simulation, le MOSFET a été utilisé comme l'élément de commutation.

Le schéma de simulation du générateur de Marx à trois étages tracé par le logiciel LTspice est montré dans la figure 4.5.

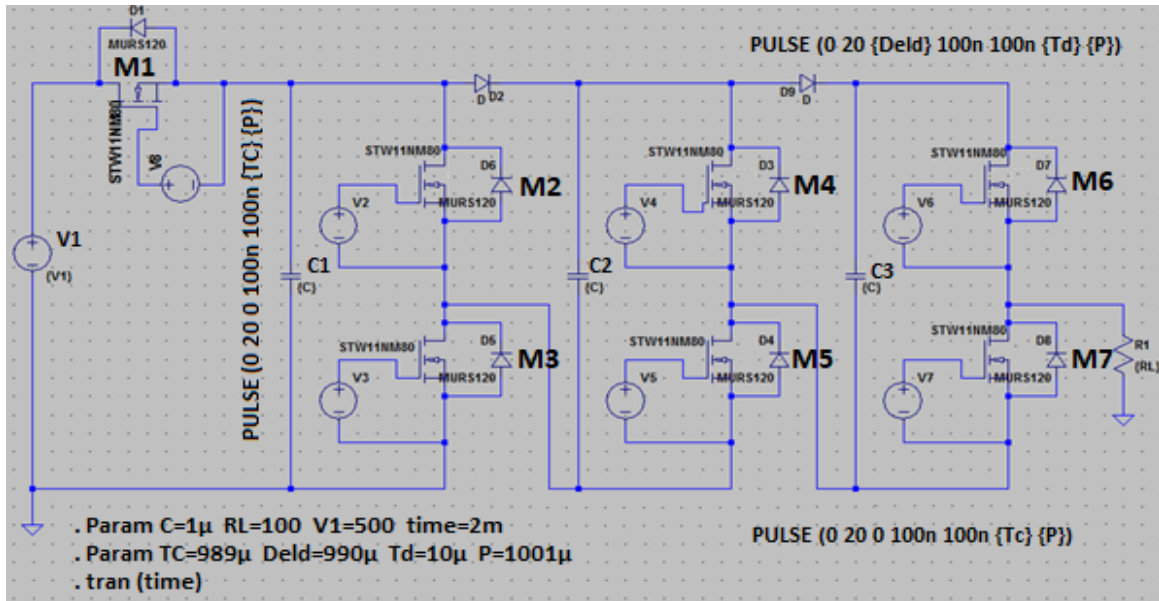


Figure 4.5. Schéma du générateur de Marx positif à trois étages.

Dans chaque étage, un condensateur est connecté à deux commutateurs MOSFET, cela fournit différents chemins pour charger et décharger les condensateurs dans le circuit. Un petit retard doit être appliqué entre deux MOSFETs voisins pour éviter le problème de court-circuit ce qui peut endommager l'interrupteur, c'est-à-dire un courant excessif pendant une courte durée à travers les commutateurs. Le principe de fonctionnement peut être compris avec deux modes de fonctionnement différents, qui sont la charge et la décharge des condensateurs.

Pendant la phase de charge, les condensateurs sont connectés en parallèle avec l'alimentation continue (M1, M3, M5 et M7 fermés, M2, M4 et M6 ouverts), (Fig 4.6.a). Le commutateur M1 est utilisé pour isoler la source pendant le processus d'impulsion. Chaque condensateur obtient une différence de potentiel croissante V_c , créée pendant le chargement. Une fois que la tension aux bornes des condensateurs est égale à la tension d'entrée ($V_c = V$), les condensateurs sont complètement chargés et la phase de charge est terminée [172].

La tension aux bornes du condensateur en fonction du temps est donnée par l'équation 4.1.

$$V_c = V \left(1 - e^{-\frac{t}{RC}} \right) \quad \text{Eq (4.1)}$$

Pour la phase de décharge (M1, M3, M5 et M7 ouverts, M2, M4 et M6 fermés), les condensateurs sont connectés en série, le courant de décharge (I_c) traversant le circuit est le même pour tous les condensateurs car il n'a qu'un seul chemin à suivre (Fig 4.6.b).

La valeur totale de la capacité C_T es alors calculée par :

$$\frac{1}{C_T} = \frac{1}{C_1} + \frac{1}{C_2} + \frac{1}{C_3} \quad \text{Eq (4.2)}$$

En considérant $C_1 = C_2 = C_3$, on a donc : $C_T = C/3$.

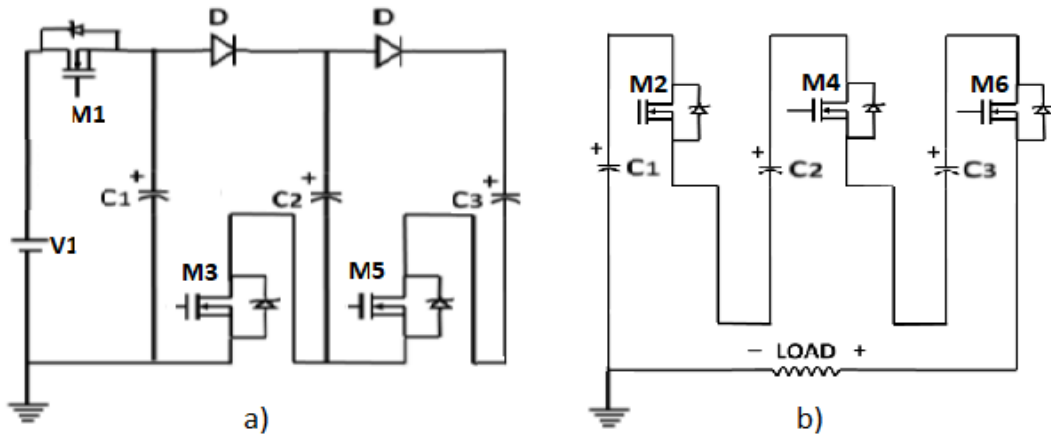


Figure 4.6. Mode de fonctionnement du générateur de Marx.

III.1. Calcul de la chute de tension d'impulsion

Pour une charge résistive, le niveau de la tension finale d'impulsion après un temps t_{on} est calculée comme suit :

$$V_f = e^{-\frac{t_{on}}{R(C/n)}} n V_{dc} \quad \text{Eq (4.3)}$$

Avec :

V_f : Tension finale délivrée à la charge (à la fin d'impulsion).

V_{dc} : Tension initiale du condensateur, celle délivrée par l'alimentation.

n : nombre d'étages.

Pour vérifier cette équation, une simulation par Ltspice IV a été lancée, avec $t_{on} = 10 \mu s$ (durée d'impulsion), $C = 1 \mu F$, $V_{dc} = 400 V$ et $R = 100 \Omega$ (la charge), sachant que le nombre d'étages est égal à trois, le niveau final de la tension après t_d sera:

$$V_f = 3 * 400 e^{-\frac{10\mu}{100\left(\frac{1\mu}{3}\right)}} = 889 V.$$

La chute de tension est donnée alors par:

$$\Delta V = V_i - V_f \quad \text{Eq (4.4)}$$

où V_i représente la tension au début de l'impulsion ($n V_{dc}$).

$$\Delta V = 1200 - 889 = 311 \text{ V.}$$

En comparant ce resultat théorique avec le resultat obtenu par la simulation qui est $\Delta V_{sim} = 307 \text{ V}$ (Fig 4.7.a), nous voyons qu'il existe une bonne concordance.

Prenons maintenant un autre exemple avec : $t_d = 40 \mu\text{s}$, $C = 1 \mu\text{F}$, $V_{dc} = 800 \text{ V}$ et $R = 400 \Omega$, la valeur finale de la tension sera:

$$V_f = 3 * 800 e^{-\frac{40\mu}{400\left(\frac{1\mu}{3}\right)}} = 1778 \text{ V.}$$

$$\Delta V = 2400 - 1778 = 622 \text{ V.}$$

De même, en comparant ce resultat théorique avec le resultat obtenu de la simulation $\Delta V_{sim} = 618 \text{ V}$ (fig 4.7.b), nous voyons qu'il existe aussi une bonne concordance.

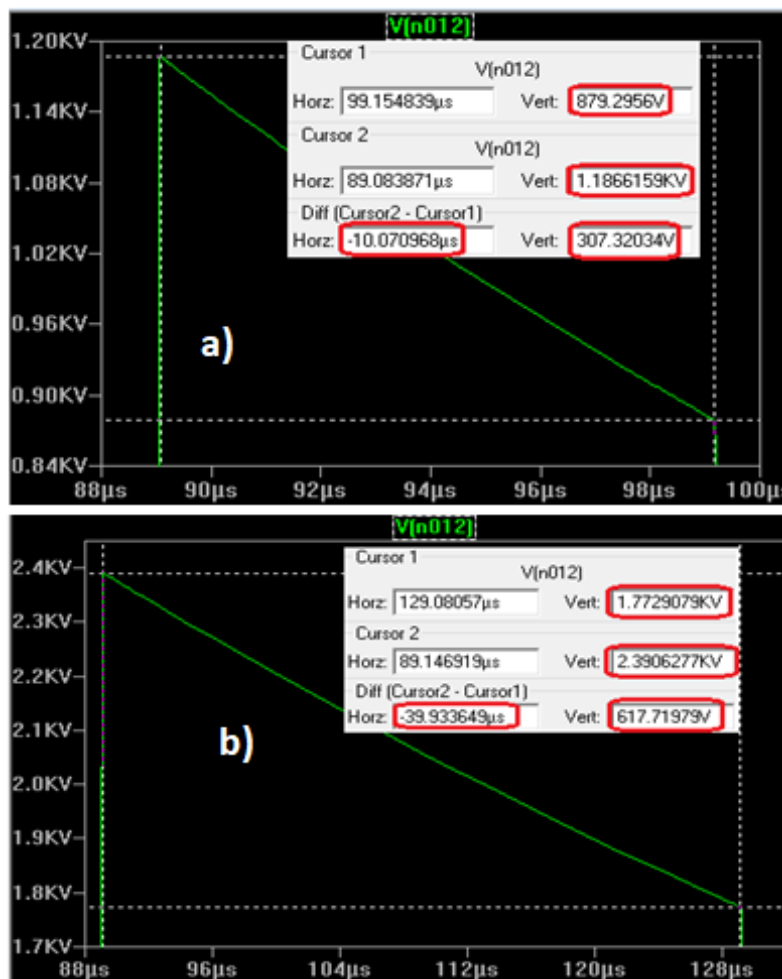


Figure 4.7. Chute de tension obtenue par simulation.

a) $t_d = 10 \mu\text{s}$, $C = 1 \mu\text{F}$, $V_c = 400 \text{ V}$ and $R = 100 \Omega$; b) $t_d = 40 \mu\text{s}$, $C = 1 \mu\text{F}$, $V_c = 800 \text{ V}$ and $R = 400 \Omega$.

III.2. Choix du condensateur

Considérant une charge résistive R , la capacité du condensateur C peut être déterminée en fonction de l'énergie délivrée à la charge, pour une chute de tension requise ΔV_0 (Fig 4.8).

L'énergie totale stockée à l'état initial dans les condensateurs est donnée par:

$$E_C = \frac{1}{2} n C V_{dc}^2 \quad \text{Eq (4.5)}$$

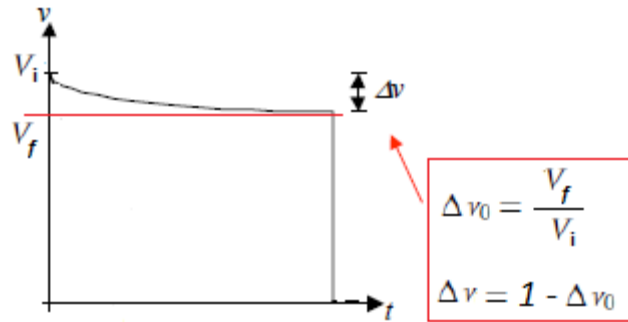


Figure 4.8. Forme d'impulsion et chute de tension.

Pendant le temps de décharge t_{on} , l'énergie fournie à la charge est:

$$E_p = \frac{1}{R_L} (n V_{dc})^2 t_{on} \quad \text{Eq (4.6)}$$

E_f est l'énergie stockée dans le condensateur à la fin de la décharge;

$$E_f = E_C - E_p \quad \text{Eq (4.7)}$$

$$E_f = \frac{1}{2n} C V_f^2 \quad \text{Eq (4.8)}$$

A partir des équations 4.5, 4.6, 4.7 et 4.8, on obtient:

$$\frac{n C V_{dc}^2}{2} - \frac{(n V_{dc})^2 t_{on}}{R_L} = \frac{C (\Delta V_0 n V_{dc})^2}{2n} \quad \text{Eq (4.9)}$$

Avec :

$$\Delta V_0 = \frac{V_f}{n V_{dc}} \quad \text{Eq (4.10)}$$

Ainsi, d'après l'équation 4.8, la valeur de la capacité du condensateur doit satisfaire à la condition suivante:

$$C \geq \frac{2n t_{on}}{R_L (1 - \Delta V_0^2)} \quad \text{Eq (4.11)}$$

Par exemple, avec $t_{on} = 10 \mu s$ et $R = 100 \Omega$, pour obtenir une chute de tension de 5%, la valeur de la capacité doit être supérieure ou égale à $6,15 \mu F$ (Fig 4.9.a).

Avec $t_{on} = 40 \mu s$ et $R = 1000 \Omega$, pour obtenir une chute de tension de 10%, la valeur du condensateur doit être supérieure ou égale à $1,26 \mu F$ (Fig 4.9.b).

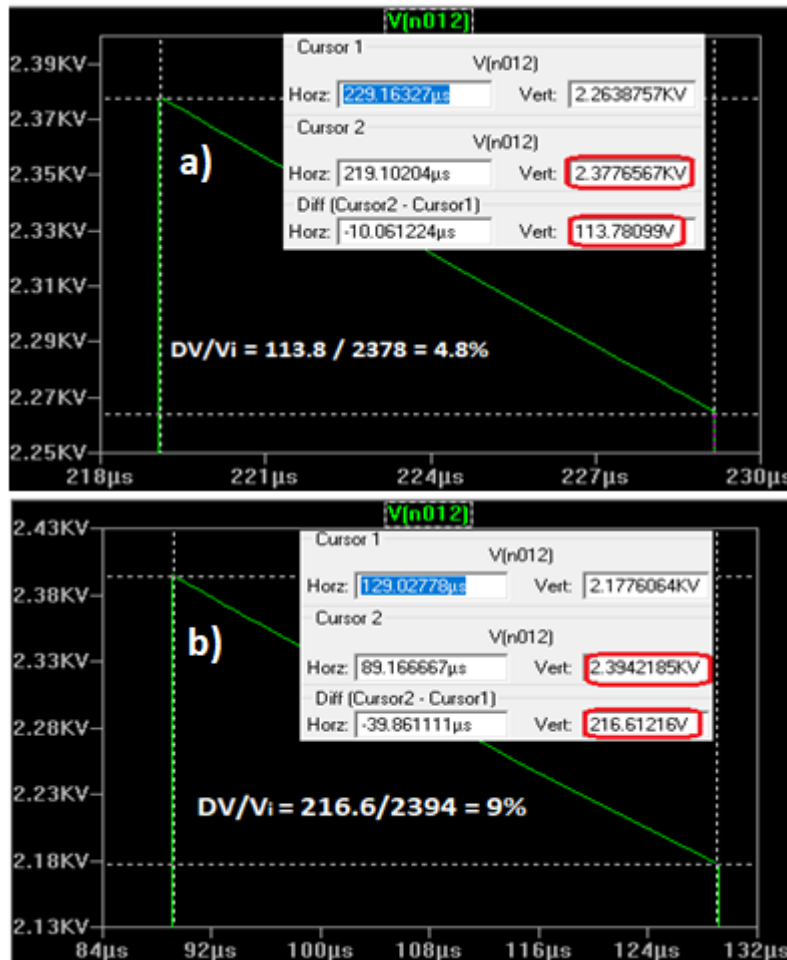


Figure 4.9. Choix du condensateur pour:
a) chute de tension de 5%; b) chute de tension de 10%.

IV. Réalisation et mise en marche de l'alimentation pulsée

Le projet réalisé est un générateur de puissance pulsée de type Marx, la réalisation de ce générateur a été conçue sur deux plaques de circuits imprimés, contenant les deux parties principales du générateur : une partie commande et une partie puissance, connectées entre elles par l'intermédiaire des fibres optiques assurant une isolation galvanique. En cas de défaillance au niveau du circuit puissance (court-circuit, surtension...), le circuit de commande ne risque pas d'être endommagé.

IV.1. Circuit de commande

Le circuit comprend un microcontrôleur de type PIC18F4431 qui a été programmé pour délivrer des signaux de commande pour chaque étage du générateur afin de charger les condensateurs en parallèle et les décharger en série. Ces signaux sont ensuite inversés à travers un inverseur, et transmis au circuit de puissance via les fibres optiques (Fig 4.10).

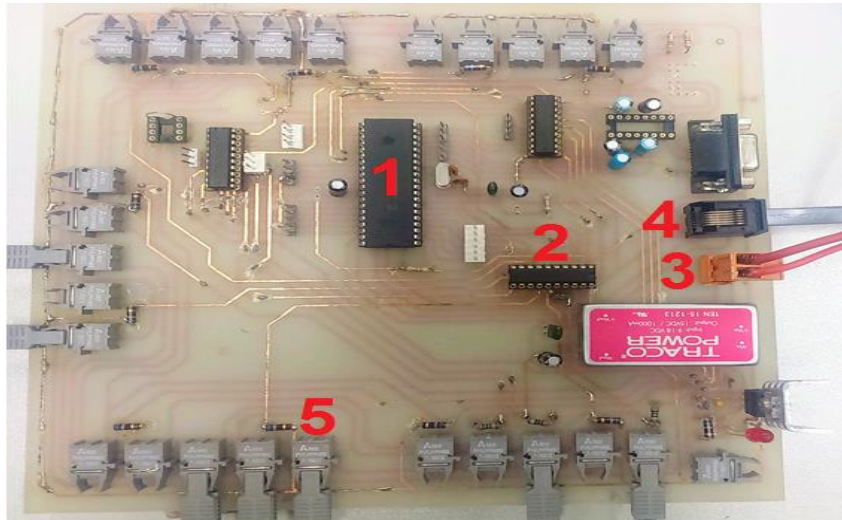


Figure 4.10. Carte de commande :

1. Pic 18F4431, 2. Inverseur, 3. Alimentation continue externe, 4. Fiche de programmeur, 5. Transmetteur à fibre optique.

Le convertisseur DC/DC sert à abaisser la tension continue en provenance de l'alimentation basse tension externe afin d'alimenter le circuit intégré pour la mise en forme des différents signaux fournis par le microcontrôleur, et de séparer la masse issue du circuit de commande des autres masses pour ne pas avoir des problèmes qui peuvent gêner le fonctionnement de cette carte et qui peuvent induire aussi des courts circuits erratiques [173]. Le composant Tracopower TVN 5-2423WI délivrant une tension continue de 15 V a été choisi car il répond bien à nos besoins. Un simple régulateur de tension de type L7805CV a été mis en série avec le Tracopower afin de délivrer les 5V nécessaire pour alimenter le microcontrôleur et les inverseurs.

Afin de choisir un PIC adéquat à notre projet, nous avons pensé à l'utilisation du PIC18F4431 car il possède 36 lignes d'entrées/sorties réparties comme suit :

- port A (8 bits) I/O, Le port B (8 bits) I/O, Le port C (8 bits) I/O, Le port D (8 bits) I/O et Le port E (4 bits) I/O.
- Power control PWM aux nombre de 4 MLI générateurs et 8 canaux de sorties.
- Convertisseur analogiques numériques 10 bits à 9 canaux.
- Quatre TIMERS avec leurs pré-diviseurs, TMR0, TMR1, TMR2, TMR5.
- Deux modules de comparaison et capture CCP1 et CCP2.

- Générateur d'horloge, à quartz (jusqu'à 40 MHz).
- Un module de communication pour la programmation à partir d'un debugger ICD2.

Ce type de microcontrôleurs nous permettra de générer plusieurs signaux et par la suite une possibilité de commander plusieurs interrupteurs à la fois et amplifier le nombre d'étages pour obtenir des impulsions à haute tension.

Le pic18f4431 est programmable à l'aide de l'interface MPLAB IDE, qui fournit un seul environnement intégré (Integrated Development Environment) pour développer des codes pour les microcontrôleurs intégrés, permettant la programmation des PIC avec différents langages de programmation tel que l'assembleur et langage C.

La connexion avec l'ordinateur se fait à travers un module ICD2 connecté sur le circuit de commande par l'intermédiaire d'un connecteur modulaire de type RJ25 (port ICSP). La programmation est faite en code C sur MPLAB avec le compilateur CCS, puis testée et intégrée au programme du PIC par le biais du debugger ICD2. Ce dernier peut être utilisé pour effacer, programmer ou reprogrammer la mémoire du microcontrôleur, pendant que l'appareil est resté connecté avec la carte de commande (Fig 4.11).

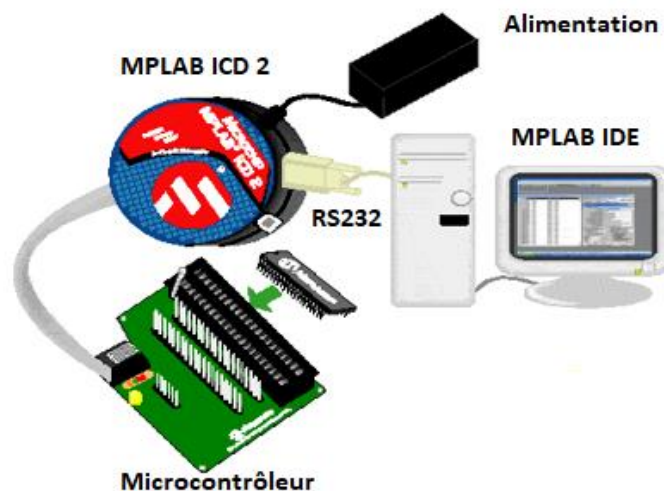


Figure 4.11. Module ICD2 pour le débogage et la programmation du microcontrôleur.

Le programme principal utilisé pour contrôler le générateur Marx à trois étages est présenté sur la figure 4.12. Ce code génère deux signaux de commande avec fréquence de 1 KHz, le premier est délivré sous RB5 et contrôle la charge des condensateurs, par contre, le deuxième est généré sous RD5 et contrôle la décharge des condensateur et par la suite la formation des impulsions, avec un délai de 2 μ s établi entre les deux signaux pour éviter la fermeture en même temps des deux IGBTs voisins et par la suite un court-circuit qui peut provoquer une défaillance instantanée des interrupteurs.

```

#include <18F4431.h>
#include <math.h>
#include <stdlib.h>
#fuses H4,NOWDI,NOBROWNOUT,NOLVP, NOPROTECT
#use delay (clock=4000000)
void init()
{ set_tris_b (0b11000000); //PORTB OUTPUT
  set_tris_d (0b00000000); //PORTD OUTPUT }
void main()
{ output_b (0x00); //INITIALISATION DU PORTB
  output_d (0x00); //INITIALISATION DU PORTD
  while(1)
  { //charging
    output_b (0b00100000); //PORTB.5 = 1
    delay_ms (986); //TEMPS DE CHARGEMENT
    output_b (0b00000000); //PORTB.5 = 0
    delay_us (2); //CREATION D'UN RETARD
    //descharging
    output_d (0b00100000); //PORTD.5 = 1
    delay_us (10); //DECHARGEMENT
    output_d (0b00000000); //PORTD.5 = 0
    delay_us (2); //CREATION D'UN RETARD } }

```

Figure 4.12. Exemple de programme écrit sur le PIC18F4431.

La figure 4.13 montre la forme des deux signaux visualisés à l'aide d'un oscilloscope de type Tektronix TDS2024.

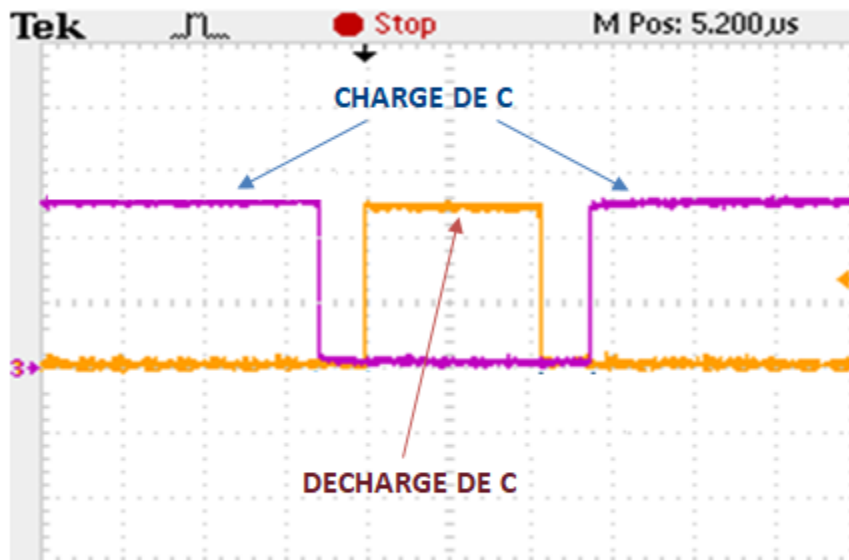


Figure 4.13. Signal de commande.

IV.2. Circuit de puissance

Le circuit de puissance est conçu sur une carte imprimée de dimensions 9x24 cm², contenant des condensateurs haute tension et des IGBTs contrôlés par des drivers. Le driver de type IR2213 a été utilisé car il simplifie la tâche d'amorçage des interrupteurs dont l'émetteur n'est pas relié à la masse du circuit de puissance. Ces circuits intégrés possèdent

un temps de réponse inférieur à 30 ns, en fournissant une tension de 10-20 V pour commander les entrées Grille/Source avec la possibilité de contrôler deux commutateurs IGBT à différents potentiels simultanément.

La commande de l'IGBT supérieur de chaque étage du générateur qui peut fonctionner jusqu'à 1200 V, s'effectue par l'association d'un translateur de tension à générateur de courant (intégré dans le circuit IR2213) et une alimentation flottante de type Bootstrap constituée par une diode et un condensateur de stockage [174]. Le principe et le dimensionnement de ce circuit Bootstrap sont détaillés dans la note d'application [IR2213].

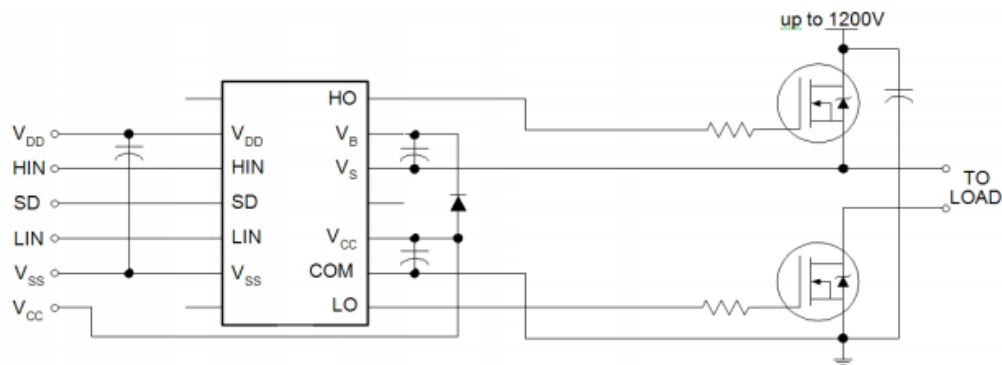


Figure 4.14. Diagramme de connexion typique du driver IR2213.

Chaque étage du générateur doit être alimenté par une basse tension, égale à 15 V pour le Driver et 5 V pour le récepteur de fibre optiques et l'inverseur. Pendant la phase de charge des condensateurs, les étages du générateur ont la même masse ; tandis que pendant la phase de décharge, chaque étage aura une masse différente. Il est donc nécessaire d'alimenter les étages en utilisant une seule alimentation basse tension pour générer ces tensions afin de réduire le volume de générateur et éviter les perturbations CEM en assurant l'isolation entre les étages. Pour résoudre ces problèmes, une technique simple et peu coûteuse dite « String Diode » a été utilisée en se basant que sur les diodes et les condensateurs. Un exemple de fonctionnement est illustré sur la figure 4.15.

Pendant la première phase de charge, les IGBTs Q_2 et Q_4 sont à l'état ON (fermés), les deux étages ont la même masse et sont alimentés par la même alimentation V_{DC} qui chargera en même temps le condensateur C_{string} à travers la diode D_{string} . Durant la deuxième phase (décharge), les IGBTs Q_2 et Q_4 sont maintenant à l'état OFF (ouverts), les deux étages ont des masses différentes et l'alimentation V_{DC} n'alimentera que le premier étage, C_{string} se déchargera en fournissant au deuxième étage la tension nécessaire. Notons que cette technique est faisable seulement pour les générateurs de Marx à onde carrée positive car les mécanismes de charge et décharge fournissent les temps nécessaires pour charger C_{string} et faire alimenter l'étage dans un temps très court avant qu'elle commence à se décharger au-dessous de 15 V.

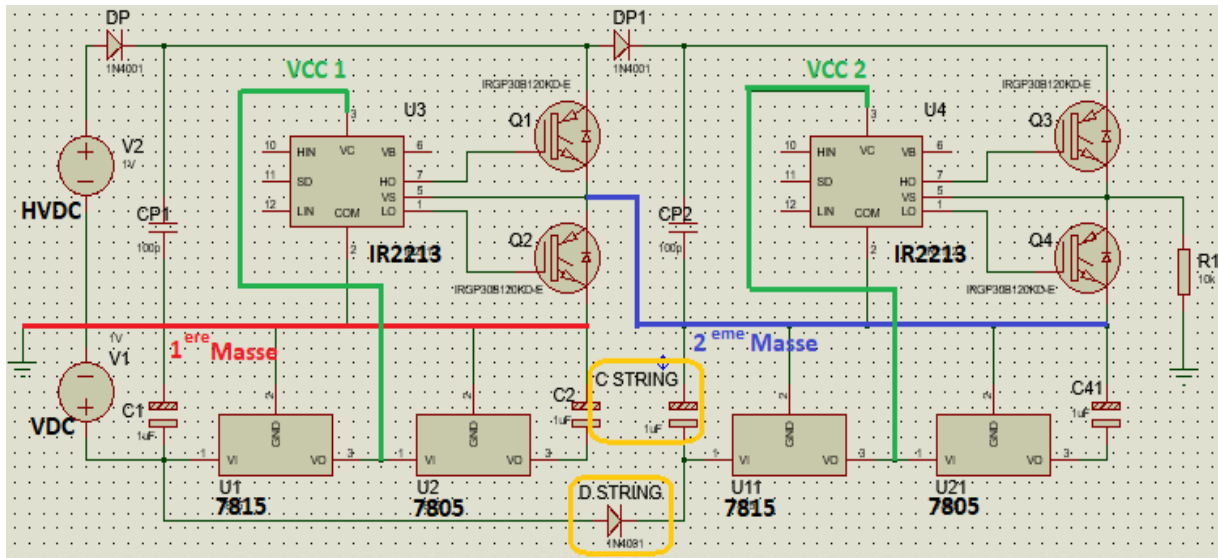


Figure 4.15. Principe de fonctionnement de String Diode (deux étages).

Les signaux contrôlant les IGBTs sont générés par la carte de commande (PIC) aux drivers (IR2213) à travers des fibres optiques de type HFBR-2521Z pour l'insolation afin d'éviter les bruits provenant du circuit de puissance. La figure 4.16 montre les fonctions des connexions de l'émetteur et du récepteur de la fibre optique.

L'émetteur optique convertit la tension appliquée entre l'anode et la cathode en un signal optique en contrôlant une LED d'une longueur d'onde de 660 nm qui pénètre dans le câble à fibre optique. Du côté récepteur, la photodiode convertit les lumières reçues en un courant correspondant. Ce courant entraîne le transistor de jonction bipolaire inclus dans le HFBR-2521Z et génère une différence de potentiel entre V_{out} et la masse. Les pins 1 et 4 fournissent le signal de sortie [175].

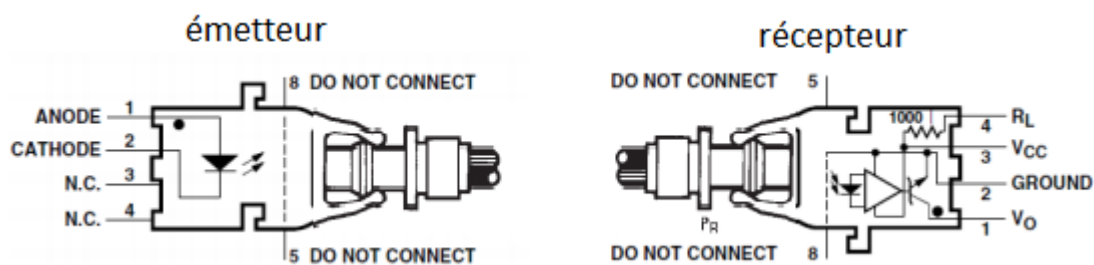


Figure 4.16. Emetteur et récepteur optique HFBR-2521Z.

Au repos, si aucun signal ne provient de la carte de commande, la sortie de signal sera automatiquement 5 V. Pour résoudre ce problème, un inverseur logique de type SN74LS04N a été utilisé.

Le circuit imprimé de la partie puissance a été fait avec le logiciel PROTEUS qui contient deux modules : ISIS pour la simulation et ARES pour le routage manuel (Fig 4.17).

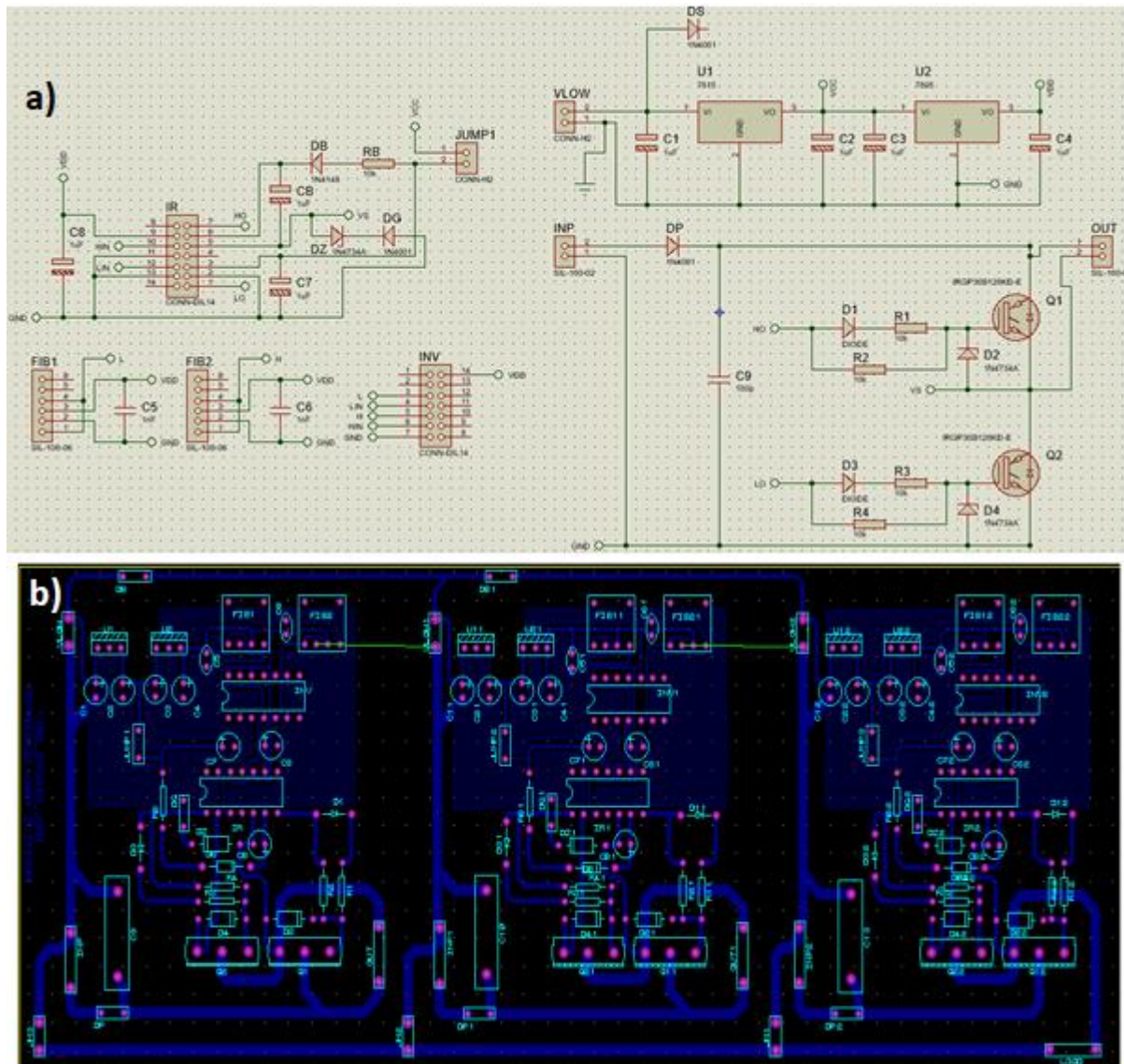


Figure 4.17. Réalisation de la partie puissance :
 a) Diagramme d'un seul étage (ISIS); b) Routage manuel (ARES).

Après avoir construit le PCB, les composants ont été fixés et soudés à la carte comme le montre la figure 4.18.

Les instruments de mesure et les dispositifs utilisés pour mettre en marche le générateur de Marx sont les suivants:

- Carte de commande (MPLAB IDE + MPLAB ICD 2);
- Alimentation HVDC (TDK-Lambda 10 kV);
- Alimentation DC (AX502 Metrix) 30V-2.5A;
- Alimentation DC (GPR-6030) 70V-3.5A;
- Oscilloscope (Tektronix TDS2024).

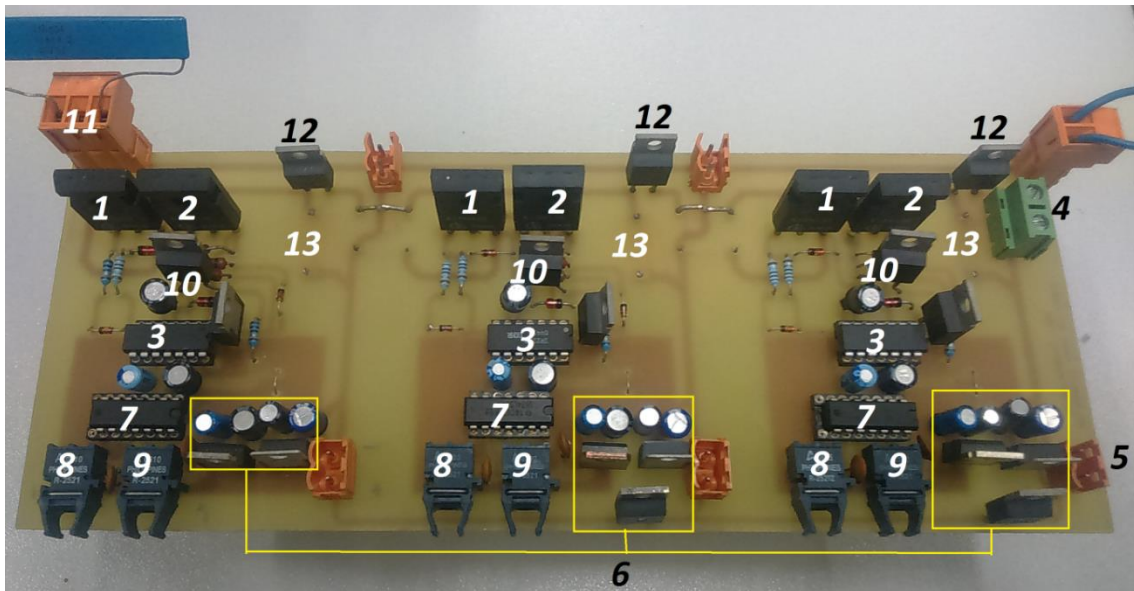


Figure 4.18. Détails de la partie puissance du générateur ;

1. IGBT de charge, 2. IGBT de décharge, 3. IR2213, 4. Alimentation HVDC, 5. Alimentation basse tension, 6. String diode système, 7. SN74LS04N, 8, 9. Récepteurs fibre optique, 10. Condensateur Bootstrap, 11. Sortie de signal, 12. Diode haute tension, 13. Condensateur haute tension (se trouve dans le côté bas).

Le circuit de puissance réalisé permet d'atteindre une tension maximale de 1,2 kV par étage. Pour des raisons de sécurité, le générateur Marx a été testé avec une tension maximale de 1 kV. Les trois étages du générateur délivrent des impulsions carrées positives avec une multiplication de la tension d'entrée par le nombre d'étages.

La figure 4.19 montre un exemple d'impulsion de 10 μ s, pour une tension d'entrée de 500 V, une fréquence de 1 kHz et une charge de 1 k Ω . La multiplication de tension par trois nous donne une impulsion haute tension égale à 1,5 kV.

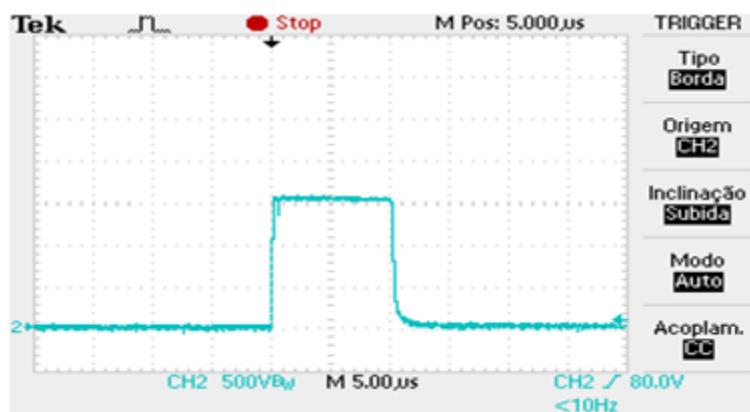


Figure 4.19. Oscillogrammes de la forme d'onde d'impulsion (1,5 kV, 10 μ s).

V. Etude de circuit réalisé

V.1. Influence de la fréquence de répétition

L'incapacité de l'alimentation représente la limitation de la source continue à recharger rapidement à nouveau le condensateur pour créer la même impulsion que les précédentes.

Les impulsions représentées sur la figure 4.20 sont obtenues pour une même valeur de la capacité $C = 1 \mu\text{F}$ et une charge $R = 1 \text{ k}\Omega$, avec différentes fréquences (50 Hz, 1 kHz et 2.5 kHz) et une durée d'impulsion de $100 \mu\text{s}$ pour mieux faire apparaître la différence.

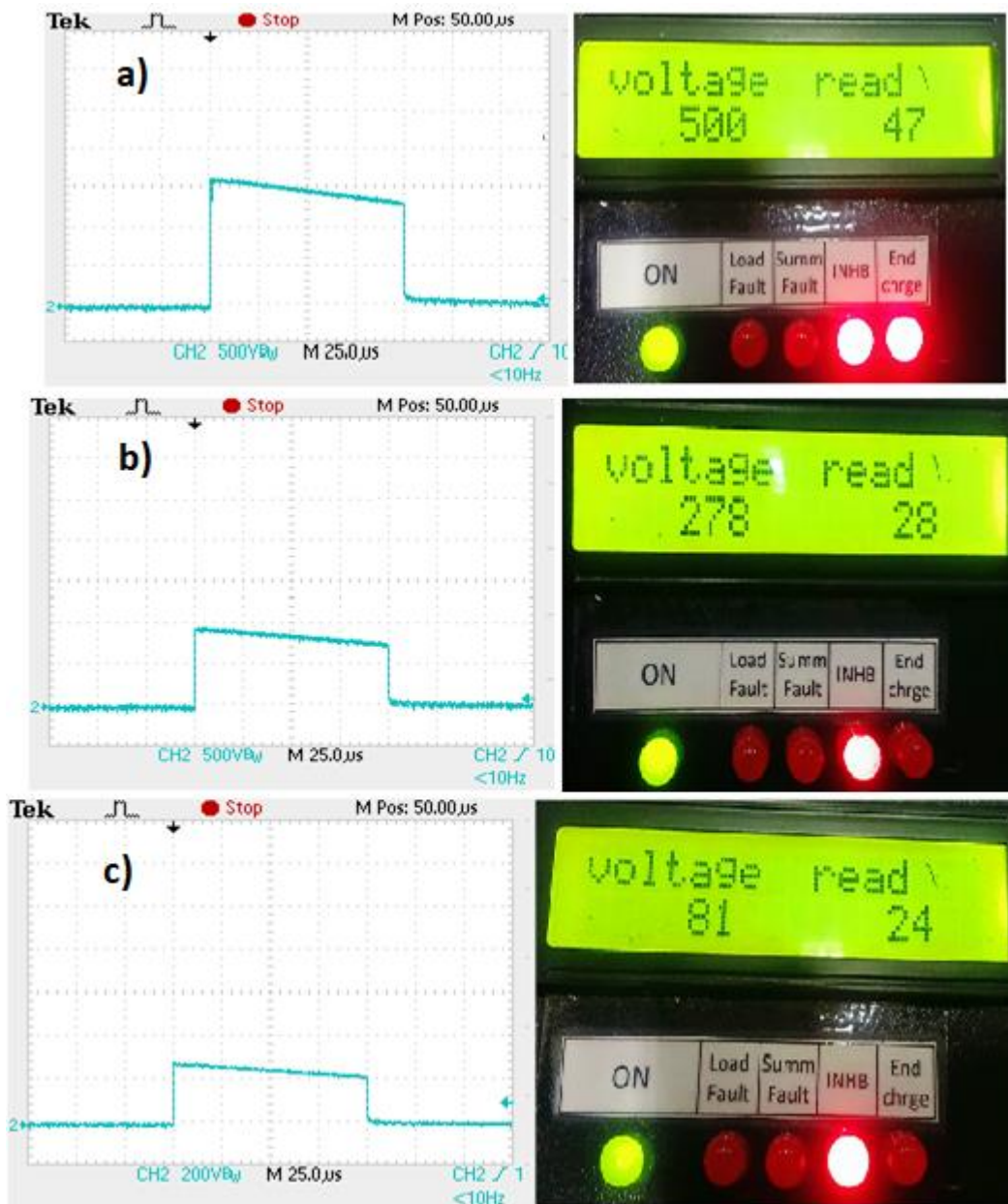


Figure 4.20. Oscillogramme des impulsions, pour : $R = 1 \text{ k}\Omega$, $C = 1 \mu\text{F}$;

a) $f = 50 \text{ Hz}$, b) $f = 1 \text{ kHz}$, c) $f = 2 \text{ kHz}$.

Pour une fréquence de 50 Hz, le temps de chargement des condensateurs est important, l'alimentation aura l'énergie nécessaire pour charger les condensateurs comme indiqué sur la figure, une tension d'entrée de 500 V a été atteinte et la LED «end charge» est allumée (Fig 4.20.a).

Augmentons maintenant la fréquence à 1 KHz. Le temps de chargement des condensateurs diminue, l'alimentation n'a pas assez de puissance pour charger complètement les condensateurs, la tension d'entrée est limitée à 278 V et la LED «end charge» est éteinte (Fig 4.20.b).

Appliquons une fréquence de 2,5 kHz, donc le temps de chargement diminue encore plus, l'alimentation n'a pas assez de puissance pour charger complètement les condensateurs, la tension d'entrée est limitée à 81 V et la LED «end charge» est éteinte (Fig 4.20.c).

Lorsque nous utilisons la haute fréquence, l'alimentation n'a pas suffisamment de temps pour recharger le condensateur. Dans ce cas, la puissance de l'alimentation HT nécessaire doit être plus grande pour un chargement accéléré, nous avons besoin dans ce cas d'une alimentation de grande puissance.

V.2. Étude de la chute de tension de l'impulsion

La chute de tension de l'impulsion représente la diminution de la tension d'entrée au cours de la délivrance de l'impulsion. Ce paramètre représente un critère d'évaluation important de la qualité du générateur d'impulsion, le meilleur générateur étant celui qui présente une chute de tension minimale [15].

D'après les équations discutées dans la partie simulation, concernant la chute de tension, et si on prend l'exemple suivant : $C = 1 \mu\text{F}$, $V_{dc} = 500 \text{ V}$, $n = 3$ étages, $R = 500 \Omega$, $t_{on} = 30 \mu\text{s}$:

$$E_c = \frac{1}{2} n C V_{dc}^2 = \frac{1}{2} 3 \times 10^{-6} \times 500^2 = 0,375 \text{ J};$$

$$E_p = \frac{1}{R_L} (n V_{dc})^2 t_{on} = \frac{1}{500} (3 \times 500)^2 \times 30 \times 10^{-6} = 0,135 \text{ J};$$

$$E_f = E_c - E_p = 0,375 - 0,135 = 0,24 \text{ J};$$

$$E_f = \frac{1}{2n} C V_f^2 \rightarrow V_f = \sqrt{\frac{E_f 2n}{C}} = \sqrt{\frac{0,24 \times 2 \times 3}{10^{-6}}} = 1200 \text{ V};$$

$$\Delta V = V_i - V_f = 1500 - 1200.$$

La chute de tension va être égale donc à 300V (Fig 4.21.a).

On prend un autre exemple avec : $C = 1 \mu\text{F}$, $V_{dc} = 300 \text{ V}$, $n = 3$ étages, $R = 1000 \Omega$ et $t_{on} = 30 \mu\text{s}$, on va trouver dans ce cas : $E_c = 0,135\text{J}$, $E_p = 0,0243\text{J}$, $E_f = 0,1107 \text{ J}$ et par la suite $V_f = 815 \text{ V}$. La chute de tension va être égale à 85 V (Fig 4.21.b).

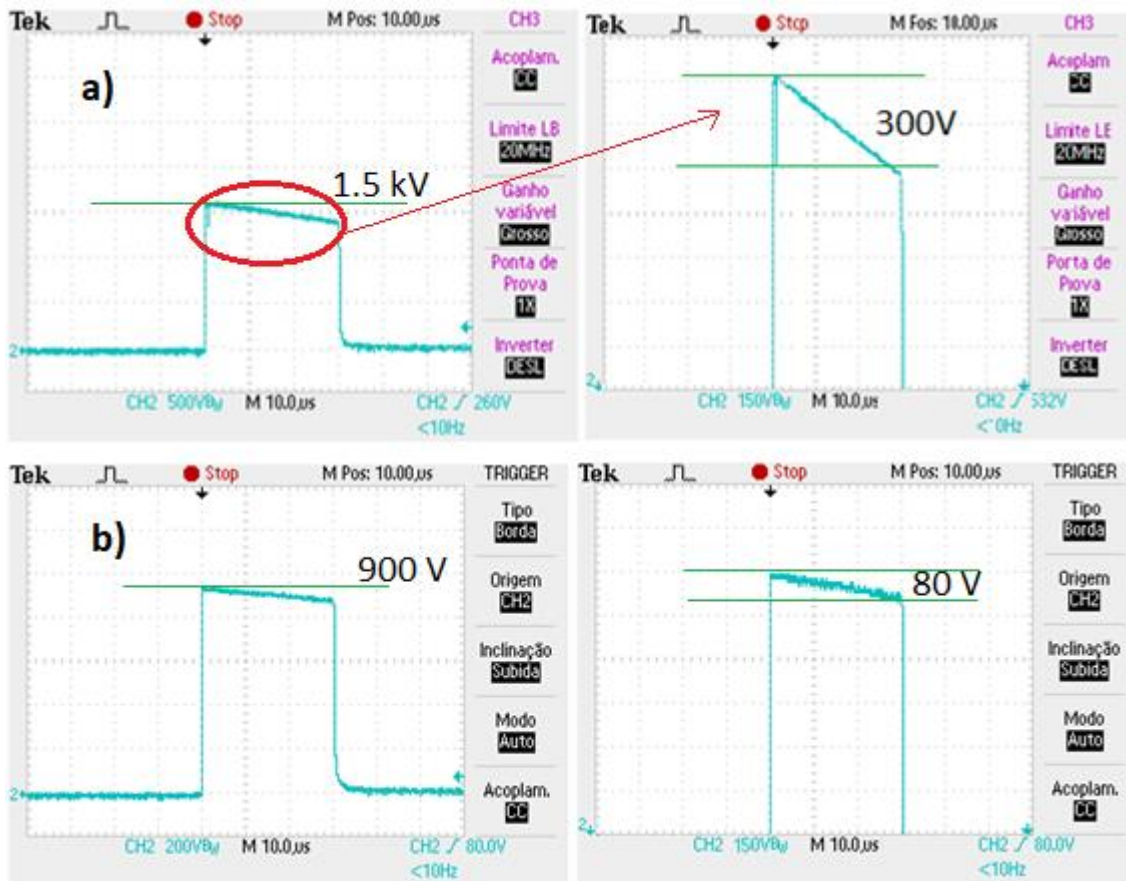


Figure 4.21. Oscillogramme de l'impulsion pour :

a) $C = 1 \mu\text{F}$, $R = 500 \Omega$, $V_{dc} = 500 \text{ V}$ et $t_{on} = 30 \mu\text{s}$; b) $C = 1 \mu\text{F}$, $R = 1000 \Omega$, $V_{dc} = 300 \text{ V}$ et $t_{on} = 30 \mu\text{s}$.

V. 3. Fonctionnement a multi-niveaux

L'un des avantages de cette topologie de générateurs Marx est la possibilité d'obtenir différentes formes d'onde d'impulsion. Habituellement, les signaux de commande sont les mêmes pour tous les étages, ce qui nous donne par la suite une impulsion de forme carrée.

Si nous mettons un temps de retard entre les signaux de commande contrôlant les décharges des condensateurs pour chaque étage, on peut avoir différentes formes d'impulsion. Trois exemples d'opération sont montrés ci-dessus, notons que le signal de charge est le même pour tous les trois étages.

Dans le premier cas, les trois signaux de décharge ont la même durée mais ne démarrent pas en même temps. Le deuxième étage est retardé de $2 \mu\text{s}$ et le troisième de $4 \mu\text{s}$ par rapport au premier étage. Les signaux de commande et la forme d'onde de l'impulsion sont représentés dans la figure 4.22.

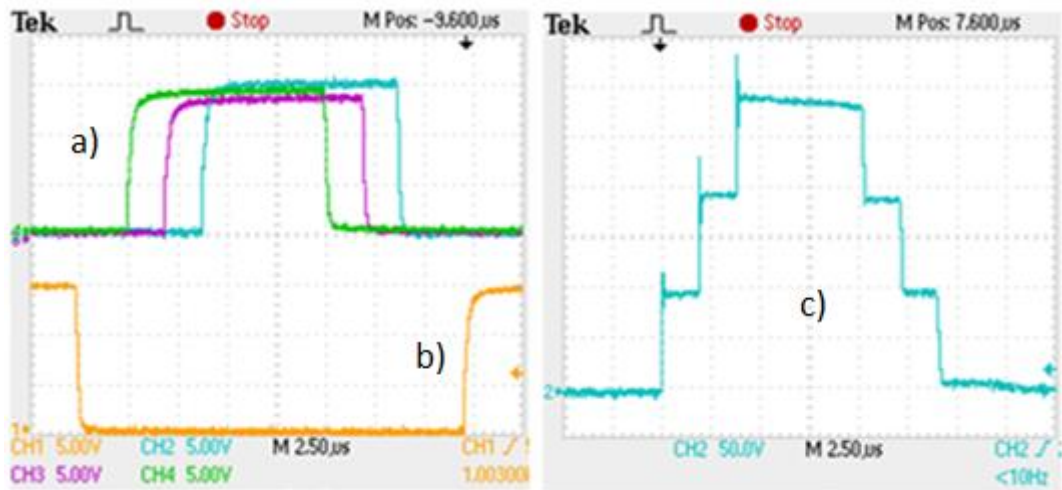


Figure 4.22. Fonctionnement à multi-niveaux. a. Signaux de décharge, b. Signal de chargement, c. Forme d'impulsion obtenue.

Dans le 2^{ème} cas, les trois signaux de décharge commencent avec un retard de 2μs entre eux, et terminent en même temps.

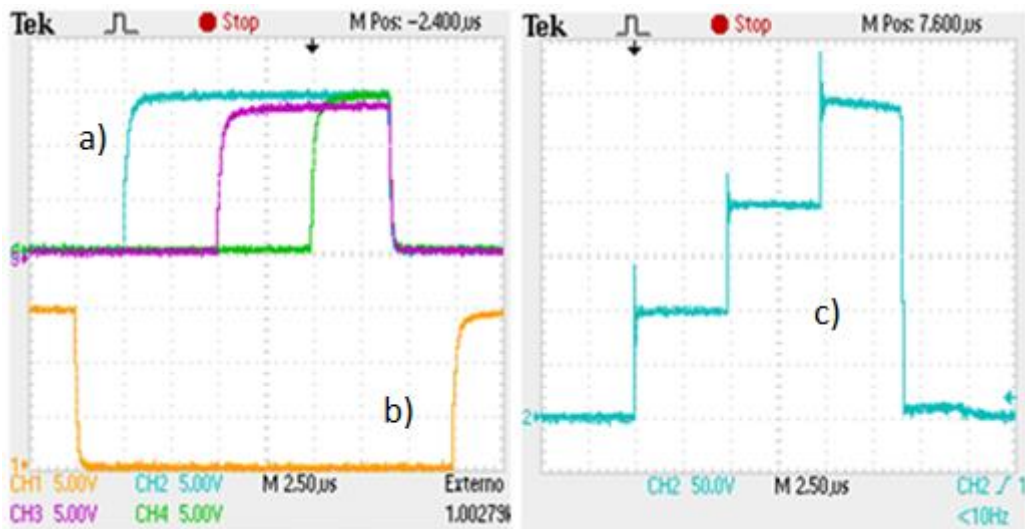


Figure 4.23. Fonctionnement à multi-niveaux (2^{ème} cas). a. Signaux de décharge, b. Signal de chargement, c. Forme d'impulsion obtenue.

Pour le 3^{ème} cas, les trois signaux démarrent en même temps et terminent avec un retard de 2μs entre eux.

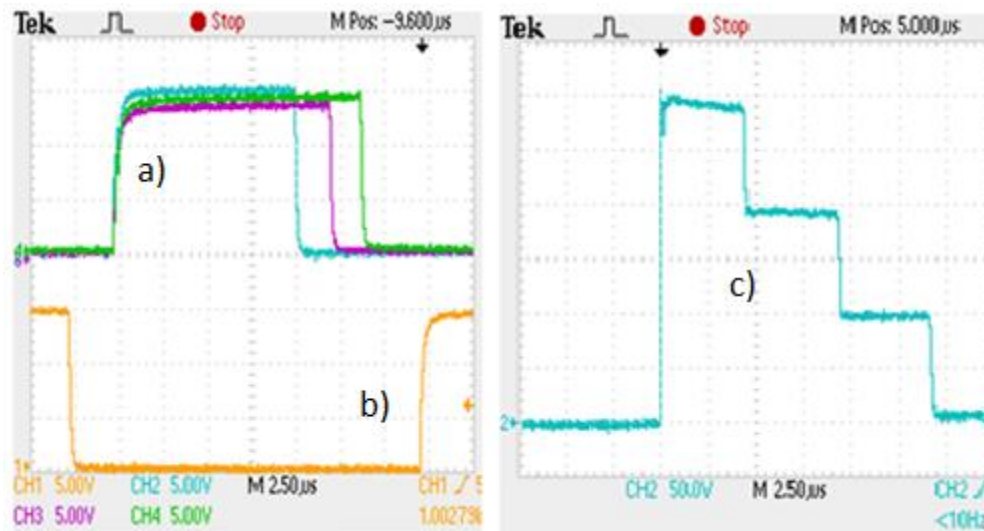


Figure 4.24. Fonctionnement à multi-niveaux (3^{ème} cas). a. Signaux de décharge, b. Signal de chargement, c. Forme d'impulsion obtenue.

VI. Conclusion

Le générateur Marx conventionnel pour les applications pulsées haute tension utilise des composants de puissance passifs (inductances ou résistances) pour alimenter les condensateurs de stockage d'énergie. Cette technique présente certains inconvénients tels que le coût, la taille, les pertes de puissance et le fonctionnement à fréquence limitée. Ainsi, le taux de répétition des impulsions de sortie est limité. La solution de ce problème consiste à remplacer les espaces vides par des commutateurs d'électronique de puissance à semi-conducteurs. Le développement de commutateurs à semi-conducteurs économiques, compacts, à haute tension et à enclenchement rapide facilite la construction de générateurs de Marx économiques, à longue durée de vie et haute tension, capables de reproduire des impulsions élevées

Nous avons présenté dans ce chapitre la conception et la simulation d'un générateur de Marx qui génère des impulsions positives de forme carrée avec trois étages capables de fournir des impulsions à haute tension jusqu'à 3,6 kV en utilisant des dispositifs à semi-conducteurs tels que des IGBTs qui supportent une tension de 1,2 kV ainsi que des diodes et des condensateurs de 1 µF.

La réalisation de ce générateur a été effectuée en plusieurs phases, plusieurs techniques d'alimentation et d'isolation ont été décrites et utilisées pour la réalisation du générateur (bootstrap, String diode et fibres optiques). Nous avons ainsi décrit la programmation de microcontrôleurs avec le logiciel MPLAB IDE en utilisant les langages C, la conception d'un circuit imprimé à trois étages en utilisant le logiciel ARES, le démarrage du générateur Marx et l'étude des propriétés du générateur (limitation de puissance, chute de tension, fonctionnement multi-niveaux).

CONCLUSION GENERALE

Conclusion générale et perspectives

Le CEP présente une technologie innovante qui permet de modifier la structure cellulaire des tissus biologiques avec une consommation énergétique relativement faible et sans affecter la qualité des produits extraits. La synthèse bibliographique a souligné les avantages des champs électriques pulsés, comme prétraitement, pour améliorer la séparation solide liquide à l'échelle laboratoire, pilote et industrielle. Cette technologie pourrait être utilisée dans plusieurs branches de l'industrie agro-alimentaire : extraction des jus de fruits, extraction des pigments, pasteurisation des liquides.

La réduction des coûts énergétiques ainsi que l'identification de nouvelles voies pour faciliter les procédés d'extraction, semblent des solutions intéressantes à explorer.

L'étude et la mise en œuvre d'une nouvelle configuration des chambres de traitement pour l'extraction par pressage à partir de la betterave rouge ont été présentées et décrites. Une consommation énergétique du traitement électrique en utilisant une chambre de traitement à multi-unités a été réduite jusqu'à 49% par rapport à une chambre classique plaque-plaque. Par ailleurs, nous nous sommes intéressés à l'application du CEP comme prétraitement pour l'extraction des pigments à partir des microalgues marine, déjà très utilisées dans les secteurs pharmaceutiques, cosmétiques ou agroalimentaires. Le but du travail présenté dans cette partie était de voir l'impact de champ électrique pulsé sur le rendement en pigment. Une augmentation considérable a été remarquée avec un traitement de 20 kV, 30 impulsions et une durée d'impulsion de 10 μ s.

Malgré tous les résultats déjà obtenus, il faut rester conscient des limites des essais réalisés à l'échelle de laboratoire en discontinu et sur de petites quantités. L'ensemble des avantages démontrés à l'échelle laboratoire méritent d'être vérifiés à l'échelle pilote pour confirmer le potentiel du nouveau schéma de valorisation, appréhender les difficultés techniques du transfert d'échelle et affiner l'analyse économique et environnementale.

Dans le domaine agroalimentaire, on assiste aujourd'hui à une utilisation de plus en plus croissante des champs électriques pulsés de courte durée avec des impulsions de forme carrée permettant de contrôler et maîtriser le traitement. Les travaux menés dans le quatrième chapitre consistaient donc à développer et caractériser des sources électriques dédiées à la génération d'impulsions ultracourtes possédant une forte intensité. Le travail présenté dans le quatrième chapitre a été effectué dans le cadre d'une bourse PNE dont l'objectif premier était l'acquisition du savoir et de la technique pour la réalisation d'un générateur d'impulsions haute tension. Cette section décrit la conception et le fonctionnement d'un générateur de Marx réalisé au sein du laboratoire « Pulsed Power

Advanced Application Research Group, GIA2P2 », qui génère des impulsions avec la possibilité de modifier tous les paramètres de signal. Ce travail a été bénéfique, c'était une excellente occasion pour comprendre de nombreux langages de programmation ainsi que des méthodes modernes utilisées dans la réalisation des circuits imprimés.

En conclusion, le travail effectué dans le cadre de cette thèse s'inscrit dans un effort de recherche pour le développement de la technologie des CEP. L'extraction des milieux intracellulaires assistés par le CEP est un procédé prometteur, capable d'augmenter le rendement d'extraction, de réduire le temps du pressage et d'améliorer la qualité des extraits.

Perspective d'avenir :

Afin de compléter ce travail de thèse, plusieurs études supplémentaires devraient être mises en œuvre, notamment :

➤ Sur le plan scientifique :

- 1) Approfondir la compréhension du mode d'action du CEP et de leurs actions sur la structure cellulaire, notamment les cellules animal afin d'essayer d'autres applications industrielles telles que la pasteurisation.
- 2) Approfondir les connaissances concernant l'électronique de puissance, afin de réaliser de nouvelles conceptions des générateurs pulsés.
- 3) Combiner le traitement par CEP avec d'autres types de traitements modérés (chimique, enzymatique).

➤ Sur le plan technologique :

- 1) Tester et valider les nouvelles configurations des chambres de traitement utilisées dans ce travail à une échelle plus importante (pilote semi-industriel).
- 2) Concevoir d'autres alimentations électroniques de haute tension délivrant des impulsions bipolaires.
- 3) Utiliser le générateur de Marx réalisé pour des applications en agroalimentaire.
- 4) Recueillir des informations sur les consommations énergétiques des installations avec une comparaison multi-échelles.
- 5) Application du CEP pour l'extraction des huiles essentielles.

REFERENCES

Références bibliographiques

- [1] Ho. S. Y, Mittal. G. S, Cross. J. D. 1997. Effects of high field electric pulses on the activity of selected enzymes. *Journal of Food Engineering*, 31, 69–84.
- [2] Barbosa-Canovas. G. V, Pierson. M. D, Zhang. Q.H. 2000. Pulsed electric fields. *J. Food Sci*, 65, 65–79.
- [3] Vorobiev. E, Lebovka, N. 2010. Enhanced extraction from solid foods and biosuspensions by pulsed electrical energy. *Food Eng. Rev*, 2, 95–108.
- [4] Zhang. Q, Barbosa-Canovas. C. V, Swanson. B. G. 1995. Engineering aspects of pulsed electric field pasteurization. *J Food Eng.* 25, 261–281.
- [5] Touya. G. 2003. Contribution à l'étude expérimentale des décharges électriques dans l'eau et des ondes de pression associées Réalisation d'un prototype industriel 100kJ pour le traitement de déchets par puissances électriques pulsées. Thèse de Doctorat. Université de Pau et des Pays de l'Adour.
- [6] Pethig. R, Kell. D.B. 1987. The passive electrical properties of biological systems: their significance in physiology, biophysics and biotechnology. *Phys. Med. Bio*, 32(8), 933–970.
- [7] Castro. A. J, G. V. Barbosa-Canovas, B. G. Swanson. 1993. Microbial inactivation of foods by pulsed electric fields. *J. food processing preservation*, 17, 47–73.
- [8] Flaumenbaum. B. L. 1968. Anwendung der Elektropasmolyse bei der Herstellung von Fruchtsäften, *Fluss Obst*, 25, 19–22.
- [9] Heinz. V, Knorr. D. 2001. Developments in pulsed electric field processing-European HELP project. Proceedings of international seminar on electric field processing, the potential to a make a difference, Gloucestershire, UK.
- [10] Silve. A. 2011. Nouveaux dispositifs pour l'application contrôlée d'impulsions électriques nanosecondes et pour la détection de leurs effets sur les cellules : Nouveaux résultats et hypothèses sur les paramètres contrôlant l'électroperméabilisation des cellules biologiques. Thèse de doctorat. Médecine humaine et pathologie. Université Paris Sud - Paris XI.
- [11] Winter. A. 2011. Impact of pulsed electric fields (PEF) on postpermeabilization Processes in plant cells. Thèse de doctorat. Faculty III - Process Sciences, Technical University of Berlin.
- [12] Altunakar. B. 2007. Food preservation by pulsed electric fields and selected antimicrobials. Thèse de doctorat. Department of Biological Systems Engineering, WASHINGTON STATE UNIVERSITY.
- [13] Sitzmann. V. 1990. High voltage pulse techniques for food preservation. G. W. Gould. *New methods for food preservation*. London, UK. Blackie Academic and Professional, 236–252.
- [14] Barsotti. L. 2000. Effets des champs électriques pulsés sur les caractéristiques biochimiques et physico-chimiques de constituants et structures protéiques alimentaires. Thèse de doctorat. Génie des Procédés, Université de Montpellier II.
- [15] Bellebna. Y. 2014. Contribution à l'étude de l'application du champ électrique pulsé dans le domaine agroalimentaire. Thèse de doctorat. Département d'Électrotechnique, Université Djillali Liabes, Sidi bel-abbes.
- [16] Praporscic. J. 2005. Influence du traitement combiné par champ électrique pulsé et chauffage modéré sur les propriétés physiques et sur le comportement au pressage de produits végétaux. Thèse de

- doctorat. Génie des Procédés Industriels et Développement durable. Université de technologie Compiègne.
- [17] Aguilera. J. M, Stanley. D. W. 1999. *Microstructural Principles of Food Processing and Engineering*. 2 ed. Aspen Publishers. Gaithersburg, 432 pages.
- [18] Bowes. B. G. 1996. *Atlas en couleur. Structure des plantes*, Institut National de la Recherche Agronomique, Paris, France, 37–56.
- [19] Shynkaryk. M. 2007. *Influence de la perméabilisation membranaire par champ électrique sur la performance de séchage des végétaux*. Thèse de doctorat. Génie des Procédés Industriels. Université de technologie Compiègne.
- [20] Lazarenko. B. R, Fursov. S. P, Scheglov. Y. A, Bordiyan. V. V, Ciobanu. V. G. 1977. *Electroplasmolysis*, Cartea Moldoveneasca, Chisinau.
- [21] Singer. S. J, Nicolson. G. L. 1972. The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science*, 175, 720–731.
- [22] Fogolari. F, Brigo. A, Molinari. H. 2002. The Poisson-Boltzmann equation for biomolecular electrostatics: a tool for structural biology. *J. Mol. Recognit.* 15 (6), 377–392.
- [23] Robert. D, Vian. B. 1994. *Eléments de biologie cellulaire* (pages: 428). Paris France: DOIN Editions.
- [24] Shechter. E. 1997. *Biochimie et biophysique des membranes* (pages: 481). Paris, DUNOD.
- [25] Kohler. S. 2013. *Contribution au développement et à la dosimétrie multi-échelles de dispositifs pour l'exposition de cellules biologiques à des impulsions électriques nanosecondes et subnanosecondes de haute intensité*. Thèse de doctorat. École doctorale n°521- Sciences et Ingénierie pour l'Information, Mathématiques, Université de Limoges.
- [26] Fromm. J, Lautner. S. 2007. Electrical signals and their physiological significance in plants. *Plant, Cell & Environment*, 30(3), 249–257.
- [27] Shechter. E. 2004. *Biochimie et biophysique des membranes - Aspect structuraux et fonctionnels*, 2ème édition. DUNOD.
- [28] Weaver. J. C, Chizmadzhev. Y. A. 1996. Theory of electroporation: a review. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*. 41, 135–160.
- [29] Zimmermann. U. 1986. Electrical breakdown, electropermeabilization and electrofusion. *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, 105, 176–256.
- [30] Teissié. J, Rols. M. P. 1993. An experimental evaluation of the critical potential difference inducing cell membrane electropermeabilization. *BIOPHYS. J*, 65(1), 409–413.
- [31] Neumann. E, Sowers. A. E, Jordan C. A. 1989. *Electroporation and electrofusion in cell biology*, Plenum Press, New York.
- [32] Tsong. T. Y. 1992. Time sequence of molecular events in electroporation. *Guide to electroporation and electrofusion*. Academic Press, New York, 47–62.
- [33] Kinoshita. K, Hibino. M, Itoh. H, Shigemori. M, Hirano. K, Kirino. Y, Hayakawa. T. 1992. Events of membrane electroporation visualized on a time scale from microsecond to seconds. In: D.C. Chang, B. M. Chassy, J. A. Saunders, A. E. Sowers (EDS), *Guide to electroporation and electrofusion*, Academic Press, New York, 29–46.

- [34] Kotnik. T, Miklavcic. D, Slivnik T. 1998. Time course of transmembrane voltage induced by time-varying electric fields—a method for theoretical analysis and its application, *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 45, 3–16.
- [35] Escoffre. J. M, Portet. T, Wasungu. L, Teissié. J, Dean. D, Rols. M. P. 2009. What is (still not) known of the mechanism by which electroporation mediates gene transfer and expression in cells and tissues. *Mol. BIOTECHNOL*, 41 (3), 286–295.
- [36] Grimi. N. 2009. Vers l'intensification du pressage industriel des agro-ressources par champs électriques pulsés : étude multi-échelles. Thèse de Doctorat. Génie des Procédés Industriels et Développement durable. Université de technologie Compiègne.
- [37] Knorr. D, Angersbach. A, Eshtiaghi. M. N, Heinz. V, Lee. D. U. 2001. Processing concepts based on high intensity electric field pulses. *Trends in Food Science and Technology*, 12, 129–135.
- [38] Gabriel. B, Teissié. J. 1997. Direct observation in the millisecond time range of fluorescent molecule asymmetrical interaction with the electropermeabilized cell membrane. *Biophysical journal*, 73, 2630–2637.
- [39] Kanduser. M, Miklavčič. D. 2008. Electroporation in biological cell and tissue: an overview. In: VOROBIEV. E, LEOVKA. N. (Eds), *Electrotechnologies for Extraction from Food Plants and Biomaterials*, Springer Science, New York, 1–37.
- [40] Susil. R, Šemrov. D, Miklavčič. D. 1998. Electric field induced transmembrane potential depends on cell density and organization. *Electro and Magnetobiology*, 17, 391–399.
- [41] Pavlin. M, Pavselj. N, Miklavcic. D. 2002. Dependence of induced transmembrane potential on cell density, arrangement, and cell position inside a cell system. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 49, 605–612.
- [42] Valic. B, Golzio. M, Pavlin. M, Schatz. A, Faurie. C, Gabriel. B, Teissié. J, Rols. M. P, Miklavčič. D. 2003. Effect of electric field induced transmembrane potential on spheroidal cells: theory and experiments. *European Biophysics Journal*, 32, 519–528.
- [43] Lebovka. N. I, Bazhal. M. I, Vorobiev. E. 2000. Simulation and experimental investigation of food material breakage using pulsed electric field treatment, *Journal of Food Engineering*, 44, 213–223.
- [44] Bazhal. M, Vorobiev. E. 2000. Electrical treatment of apple cossettes for intensifying juice pressing, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 1668–1674.
- [45] De Ménorval. M. A. 2013. Etude de la perméabilisation de la membrane plasmique et des membranes des organites cellulaires par des agents chimiques et physiques. Thèse de Doctorat. Ecole doctorale: Innovation thérapeutique : du fondamental à l'appliqué (ED425). Université Paris-Sud.
- [46] Schoenbach. K. H, Beebe. S. J, Buescher. E. S. 2001. Intracellular effect of ultrashort electrical pulses. *Bioelectromagnetics*, 22 (6), 440–448.
- [47] Schoenbach. K. H. 2004. Ultrashort electrical pulses open a new gateway into biological cells. *Proceedings of the IEEE*, 92, (7), 1122–1137.
- [48] Abidor. I. G. 1979. Electric Breakdown of Bilayer Lipid-Membranes .1. Main experimental facts and their qualitative discussion. *Bioelectroch Bioener*, 6, 37.
- [49] Bazhal. M, Vorobiev. E. 2000. Electrical treatment of apple cossettes for intensifying. Juice pressing, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 1668–1674.

- [50] Fincan. M, Devito. F, Dejmek. P. 2004. Pulsed electric field treatment for solid–liquid extraction of red beetroot pigment, *Journal of Food Engineering*, 64 (3), 381–388.
- [51] Tamra. A. 2017. Spectroscopie diélectrique Hyper-Fréquence de cellules individualisées sous électroporation. Thèse de Doctorat. ED GEET: Micro et Nanosystèmes. Université Toulouse 3 Paul Sabatier.
- [52] Pucihar. G, Mir. L. M, Miklavcic. D. 2002. The effect of pulse repetition frequency on the uptake into electropermeabilized cells in vitro with possible applications in electrochemiotherapy. *Bioelectrochemistry*, 57, 167–172.
- [53] Loeffler. M. J. 2006. Generation and application of high intensity pulsed electric fields, in: RASO. J, HEINZ. V (Eds). *Pulsed Electric Fields Technology for the Food Industry. Fundamentals and Applications*. Springer Science + Business Media, LLC, New York, USA. 27–72.
- [54] Kotnik. T, Mir. M. L, Flisar. K, Puc. M, Miklavčič. D. 2001. Cell membrane electropermeabilization by symmetrical bipolar rectangular pulses. Increased efficiency of permeabilization. *Bioelectrochemistry* 54, 83–90.
- [55] Kotnik. T, Pucihar. G, Rebersek. M, Miklavcic. D, Mir. L. M. 2003. Role of pulse shape in cell membrane electropermeabilization. *Biochim. Biophys. Acta*, 1614 (2), 193–200.
- [56] Fox. M, Esveld. D, Valero. A, Luttgé. R, Mastwijk. H, Bartels. P, Berg. A, Boom. R. 2006. Electroporation of cells in microfluidic devices: a review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 385 (3), 474–485.
- [57] Jeyamkondan. S, Jayas. D. S, Holley R. A. 1999. Pulsed electric field processing of foods: A review. *J. Food Prot.* 62, 1088–1096.
- [58] Góngora-Nieto. M. M, Pedrow. P. D, Swanson. B. G, Barbosa-Cánovas. G. V. 2003. Energy analysis of liquid whole egg pasteurized by pulsed electric fields. *Journal of Food Engineering*, 57, 209–216.
- [59] Teissié. J, Eynard. N, Gabriel. B, Rols. M. 1999. Electropermeabilization of cell membranes. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 35 (1), 3–19.
- [60] Barbosa-Cánovas, G.V., Gongora-Nieto, M.M., Pothakamury, U.R., Swanson, B.G. 1999. *Preservation of foods with pulsed electric fields*. Academic Press, San Diego, 197.
- [61] Brianceau. S. 2015. Vers une amélioration quantitative et qualitative de l'extraction des composés phénoliques du marc de raisin rouge à l'aide d'Electrotechnologies. Thèse de Doctorat. Génie des Procédés Industriels et Développement Durable. Université de technologie Compiègne.
- [62] Mhemdi. H, Grimi. N, Bals. O, Lebovka. N, Vorobiev. E. 2013. Effect of apparent density of sliced food particles on the efficiency of pulsed electric field treatment. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 18, 115–119.
- [63] Pucihar. G, Kotnik. T, Kanduser. M, Miklavcic. D. 2001. The influence of medium conductivity on electropermeabilization and survival of cells in vitro. *Bioelectrochemistry*, 54, 107–15.
- [64] Friedrich. U, Stachowicz. N, Simm. A, Fuhr. G, Lucas. K, Zimmermann. U. 1998. High efficiency electrotransfection with aluminum electrodes using microsecond controlled pulses. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 47(1), 103–11.
- [65] Lose. F, Eynard. N, Teissié. J. 1998. Direct monitoring of the field strength during electropulsation. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 47, 119–127.
- [66] Zimmermann. U, Scheurich. P. 1981 High frequency fusion of plant protoplasts by electric fields. *Planta*, 151, 26–32.

Références bibliographiques

- [67] Novickij. V. 2015. Development of high power square wave electroporators. Thèse de doctorat. Vilnius Gediminas Technical University. Saulėtekio al. 14, lt-10223 Vilnius, Lituanie.
- [68] Jeyamkondan. S, Jayas. D. S, Holley. R. A. 1999. Pulsed electric field processing of foods: A review. *J. Food Prot*, 62, 1088–1096.
- [69] Almohammed. F. 2017. Application des électrotechnologies pour une valorisation optimisée de la betterave à sucre dans un concept de bioraffinerie. Thèse de doctorat. Génie des Procédés Industriels et Développement durable. Université de technologie Compiègne.
- [70] Gachovska. T. K, Ngadi. M. O, Raghavan. G. S. V. 2006. Pulsed electric field assisted juice extraction from alfalfa. *Canadian biosystems engineering*, 48.
- [71] Bac. J. 2005. Contribution à l'étude et à la réalisation commutateurs et de générateurs haute tension transitoires. Thèse de doctorat. Université de PAU.
- [72] Pecastaing. L. 2001. Conception et réalisation d'un système de génération d'impulsions haute tension ultra brèves Application aux radars larges bandes. Thèse de doctorat. Université de Pau et des Pays de l'Adour.
- [73] Fiala, A., Wouters, P.C., van den Bosch, E., Creyghton, Y.L.M., 2001. Coupled electrical-fluid model of pulsed electric field treatment in a model food system. *Innov. Food Sci. & Emerg. Technol*, 2, 229–238.
- [74] Zhang, Q., Barbosa-Canovas, G. V., Swanson, B. G. 1995. Engineering aspects of pulsed electric field pasteurization. *Journal of Food Engineering*, 25, 261–281.
- [75] Puértolas. E, López. N, Condón. S, Álvarez. L, Raso. J. 2010. Potential applications of PEF to improve red wine quality, *Trends in Food Science & Technology*, 21 (5), 247–255.
- [76] Petit. B, Ritz. M, Federight. M. 2002. Nouveaux traitements physiques de conservation des aliments : revue bibliographique, *Revue Méd. Vét*, 153 (10), 653–664.
- [77] Hu. Q. 2008. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances, *Plant J. Cell Mol. Biol*, 54 (4), 621–639.
- [78] Zbinden. M. 2013. Pulsed electric field (PEF) as an intensification pretreatment for greener solvent lipid extraction from microalgae, *Biotechnol. Bioeng*, 110 (6), 1605–1615.
- [79] Haberl. S, Miklavcic. D, Sersa. G, Frey. W, Rubinsky. B. 2013. Cell membrane electroporation-Part 2: the applications, *Electrical Insulation Magazine, IEEE*, 29 (1), 29–37.
- [80] Heinz. V, Alvarez. L, Angersbach. A, Knorr. D. 2001. Preservation of liquid foods by high intensity pulsed electric fields - basic concepts for process design, *Trends in Food Science & Technology*, 12 (3), 103–111.
- [81] Vega-Mercado. H, Martin-Belloso. O, Qin. B, Chang. F, Gongora-Nieto. M. M, Barbosa-Canovas. G. V, Swanson. B. G. 1997. Non-thermal food preservation: Pulsed electric fields, *Trends in Food Science & Technology*, 8 (5), 151–157.
- [82] Saulis. G. 2010. Electroporation of cell membranes: The fundamental effects of pulsed electric fields in food processing, *Food Engineering Reviews*, 2 (2), 52–73.
- [83] Amiali. M, Ngadi. M. O, Smith. J. P, Raghavan. G. S. V. 2006. Synergistic effect of temperature and pulsed electric field on inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enteritidis* in liquid egg yolk, *Journal of Food Engineering*, In press.

- [84] Lanoisellé. J. L, Nonus. M, Arrayan. R, Amarante. P. 2004. Inactivation of microorganisms in liquid foods using Moderate Electric Field Pulses, International Congress on Engineering and Food, 9, Montpellier, France.
- [85] Jayaram. S, Castle. G.S.P, Margaritis. A. 1992. Kinetics of sterilization of *Lactobacillus brevis* cells by the application of high voltage pulses, *Biotechnol. Bioeng*, 40, 1412–1420.
- [86] Raso. J, Calderon. M. L, Gondora. M, Barbosa-Canovas. G. V, Swanson. B. G. 1998. Inactivation of mold ascospores and conidiospores suspended in fruit juices by pulsed electric fields. *Food Sci. Technol*, 3, 668–672.
- [87] Clark, J. P. 2006. Processing-Pulsed Electric Field Processing. *Food Technology-Chicago*, 60 (1), 66–67.
- [88] Valli. K. 2011. Extraction of Bioactive Compounds from Whole Red Cabbage and Beetroot using Pulsed Electric Fields and Evaluation of their Functionality. Thèse de doctorat. Food Science & Technology, université de Nebraska-Lincoln.
- [89] Azeredo, H. M. C. 2009. Betalains: properties, sources, applications, and stability: A review. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(12), 2365–2376.
- [90] Henry. B. S 1996. Natural Food Colours. In: Hendry GAF, Houghton JD (Eds.), *Natural Food Colorants*, 40–79. London: Chapman & Hall.
- [91] Pennington N. L, Baker C. W. 1990. *Sugar, a User's Guide to Sucrose*, Van Nostrand Reinhold, New York, USA.
- [92] Person. J, Lando. D, Mathieu. D. 2011. *Algues, filières du futur, livre turquoise*. Éditeur Adebitech, Romainville.
- [93] Sumi Y. 2009. *Microalgae Pioneering the Future -Application and Utilization*, Life Science Research Unit, quarterly review 34.
- [94] Wen. Z, Johnson. M. B. 2009. *Microalgae as a feedstock for biofuel production*, Virginia Cooperative Extension Publication, 442–886.
- [95] Becerra Celis. G.P. 2009. Proposition de stratégies de commande pour la culture de microalgues dans un photobioréacteur continu. Thèse de doctorat, Ecole supérieure d'électricité, Gif-sur-Yvette (France).
- [96] Hibberd. 1981. Notes on the taxonomy and nomenclature of the algal classes Eustigmatophyceae and Tribophyceae (Synonym Xanthophyceae). *Botanical journal of the Linnean society*, 82, 93–119.
- [97] Fawley. 2007. Observations on the Diversity and Ecology of Freshwater Nannochloropsis (Eustigmatophyceae), with Descriptions of New Taxa. *Protist*, 158, 325–336.
- [98] Bouzrara H. 2001. Amélioration du pressage de produits végétaux par champ électrique pulsé. Cas de la betterave à sucre. Thèse de doctorat. Génie des Procédés Industriels, Université de Technologie de Compiègne, Compiègne, France.
- [99] Raimbault. P, LANTOINE. F, NEVEUX. J. 2004. Dosage rapide de la chlorophylle *a* et des phéopigments *a* par fluorimétrie après extraction au méthanol. Comparaison avec la méthode classique d'extraction à l'acétone. *Océanis* 30 (2), 189–205
- [100] Jacobsen. T.R. 1978. A quantitative method for the separation of chlorophylls *a* and *b* from phytoplankton pigments by high pressure liquid chromatography. *Mar. Sci. Communic*, 4 (1), 33–47.
- [101] Anita. H. 2015. Caractérisation de pigments sur des peintures de chevalet par méthodes optiques non invasives. Thèse de doctorat. Matériaux. Université de Cergy Pontoise.
- [102] Gachovska, T. K, Adedeji, A. A, Ngadi, M, Raghavan, G. V. S. 2008. Drying Characteristics of Pulsed Electric Field-Treated Carrot. *Drying Technology*, 26, 1244–1250.

- [103] Novickij. V. 2015. Development of high power square wave. Thèse de Doctorat, Vilnius Gediminas Technical University, Lituanie.
- [104] Varet. S. 2010. Développement de méthodes statistiques pour la prédiction d'un gabarit de signature infrarouge. Thèse de doctorat. Mathématiques appliqués, université de Toulouse.
- [105] Turgis. F. 2013. Amélioration de la fiabilité d'un système complexe, application ferroviaire : Accès voyageurs. Thèse de doctorat. Sciences Pour l'Ingénieur (SPI), université de Valenciennes et du Hainaut Cambrésis.
- [106] Vivier. S. 2002. Stratégies d'optimisation par la méthode des plans d'expériences et application aux dispositifs électrotechniques modélisés par éléments finis. Thèse de doctorat. Université des sciences et technologies de Lille.
- [107] Gillon. F. 1997. Modélisation et optimisation par plans d'expériences d'un moteur a commutations électroniques. Thèse de doctorat. Université des sciences et technologies de Lille.
- [108] Benabboun. A. 2016. Contribution à l'étude de la séparation des particules fines pour application dans l'industrie alimentaire. Thèse de doctorat. Département d'Électrotechnique, Université Djillali Liabes, Sidi bel-abbes.
- [109] Ismail. A, Linder. M, Ghoul. M. 1999. Optimization of butylgalactoside synthesis by β -galactosidase form *Aspergillus oryzae*. *Enz. Microbiol. Technol*, 25, 208–213.
- [110] Box. G .E. P, Hunter. W. G, Hunter. J. S. 1978. *Statistics for experimenters: An introduction to design, data analysis and model building*. John Wiley & Sons, New York, États-Unis.
- [111] Burkert, J. F. M, Maugeri. F, Rodrigues. M. I. 2004. Optimization of extracellular lipase production by *Geotrichum sp.* using factorial design. *Bioresource Technol*, 91, 77–84.
- [112] MODDE 5.0. 1999. "User guide and tutorial", Umetrics.
- [113] Vorobiev. E, Andre. A, Bouzrara. H, Bazhal. M. 2000. Procédé d'extraction de liquide d'un matériau cellulaire, et dispositifs de mise en œuvre du dit procédé, Brevet français N° 0002159 du 22.02.00.
- [114] Toepfl. S, Heinz. V, Knorr. D. 2005. Overview of Pulsed Electric Field Processing for Food. *Emerging Technologies for Food Processing*, 4, 69–97.
- [115] Raso. J, Frey. W, Ferrari. G, Pataro. G, Knorr. D, Teissie. T, Miklavčič. D. 2016. Recommendations guidelines on the key information to be reported in studies of application of PEF technology in food and biotechnological processes. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 37, 312–321.
- [116] Bellebna. Y, Bermaki. H, Semmak. A, Chaker. A, Tilmatine. A. 2017. Study and analysis of new pulsed electric field treatment chamber configurations for food extraction. *Turkish journal of electrical engineering & computer sciences*, 25, 4149-4159.
- [117] Bellebna. Y, Bermaki. H, Semmak. A, Chaker. A, Tilmatine. A. 2017. Experimental modelling the application of pulsed electric field for enhancement of betanin and juice extraction using rsm technique. *Carpathian Journal of Food Science & Technology*, 9 (1), 27-35.
- [118] Bobinaitė. R, Pataro. G, Lamanauskas. N, Šatkauskas, Viškelis. P, Ferrari. G. 2015. Application of pulsed electric field in the production of juice and extraction of bioactive compounds from blueberry fruits and their by-products. *Journal of Food Science and Technology*, 52 (9), 5898–5905.

- [119] Jaeger. H, Schulz. M, Lu. P, Knorr. D. 2012. Adjustment of milling, mash electroporation and pressing for the development of a PEF assisted juice production in industrial scale. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 14, 46–60.
- [120] Puértolas. E, López. N, Condón. S, Álvarez. I, Raso. J. 2010. Potential applications of PEF to improve red wine quality. *Trends in Food Science & Technology*, 21 (5), 247–255.
- [121] Loginova. K. V, Vorobiev. E, Bals. O, Lebovka. N. I. 2011. Pilot study of countercurrent cold and mild heat extraction of sugar from sugar beets, assisted by pulsed electric fields. *Journal of Food Engineering*, 102 (4), 340–347.
- [122] Bai. Y, Li. C, Zhao. J, Zheng. P, Li. Y, Pan. Y, Wang. Y. 2013. A high yield method of extracting alkaloid from *Aconitum coreanum* by pulsed electric field, *Chromatographia*, 76 (11-12), 635–642.
- [123] Schilling. S, Alber. T, Toepfl. S, Neidhart. S, Knorr. D, Schieber. A, Carle. R. 2007. Effects of pulsed electric field treatment of apple mash on juice yield and quality attributes of apple juices. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8 (1), 127–134.
- [124] Brito. P. S, Canacsinh. H, Mendes. J. P, Redondo. L. M, Pereira. M. T. 2012. Comparison between monopolar and bipolar microsecond range pulsed electric fields in enhancement of apple juice extraction. *IEEE Transactions on Plasma Science*, 40 (10), 2348–2354.
- [125] Guderjan. M, Töpfl. S, Angersbach. A, Knorr. D. 2005. Impact of pulsed electric field treatment on the recovery and quality of plant oils. *Journal of Food Engineering*, 67 (3), 281–287.
- [126] Semmak. A, Bellebna. Y, Bermaki. H, Miloudi. K, Belhassaini. H, Tilmatine .A. 2017. Experimental investigation of a multi-unit square PEF treatment chamber for food processing. *Carpathian journal of food science and technology*, 9 (4), 131–141.
- [127] Taguchi. G. 1987. *System of experimental designs*. Kraus international publications, new york.
- [128] Medles. K, Tilmatine. A, Miloua. F, Bendaoud. A, Younes. M, Rahli. M, Dascalescu. L. 2007. Set point identification and robustness testing of electrostatic separation processes. *Ieee transactions on industry applications*, 43 (3), 618–626.
- [129] Bellebna. Y, Bermaki. H, Semmak. A, Tilmatine .A. 2016. Experimental design for enhancement of betanin in beet juice using pulsed electric field. *Bulletin of the transilvania university of Braşov, Series II: Forestry, wood Industry, agricultural food engineering*, 9 (58), No.2.
- [130] Ben Amor Ben Ayed. H. 2015. *Etude et optimisation de la bioaccumulation de magnésium dans les microalgues «Chlorella vulgaris»*. Thèse de doctorat. Génie des procédés, école centrale SUPELEC paris.
- [131] Spolaore. P, Joannis-Cassan. C, Duran. E, Isambert. A. 2006. Commercial applications of microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 101, 8796.
- [132] Brennan. L, Owende. P. 2010. Biofuels from microalgae-A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14, 557–577.
- [133] Pulz. O, Gross. W. 2004. Valuable products from biotechnology of microalgae, Minireview. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 65, 635–648.
- [134] Gordon. H. T, Bauernfeind. J. C. 1982. Carotenoids as food colorants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 18–59.

- [135] Lorenz. R. T, Cysewski. G. R. 2000. Commercial potential for Haematococcus microalgae as a natural source of astaxanthin. Trends biotechnology, 18, 160–167.
- [136] Stolz. P, Obermayer. B. 2005. Manufacturing microalgae for skin care. Cosmetics Toiletries, 120, 99–106.
- [137] Del Campo. J. A, Moreno. J, Rodríguez. H, Vargas. M. A, Rivas. J, Guerrero. M. G. 2000. Carotenoid and phosphorus ions from synthetic wastewater by the microalgae *Chlorella vulgaris* coimmobilized in alginate beads with the microalgae growth- promoting bacterium *Azospirillum brasilense*. Water Research, 36, 2941–2948.
- [138] Hoppe. H. A. 1979. Marine algae and their products and constituents in pharmacy. In: Hoppe HA, Levring T, Tanaka Y (eds), Marine Algae in Pharmaceutical Science. Walter de Gruyter, Berlin -New York, 25–119.
- [139] Carlsson. A. S, Van Beilen. J. B, Möller. R, Clayton. D. 2007. Micro-and macro-algae: utility for industrial applications, In: Bowles D, editor. Outputs from the EPOBIO project. UK: CPL Press. 82.
- [140] Powell. E, Mapiour. M. L, Evitts. R. W, Hill. G. A. 2009. Growth kinetics of *Chlorella vulgaris* and its use as a cathodic half cell. Bioresource Technology, 100 (1), 269–274
- [141] Ruiz. G. 2005. Extraction, Détermination structurale et Valorisation Chimique de Phycocolloïdes d'Algue Rouges. Thèse de doctorat. Limoges, Faculté des Sciences et Techniques.
- [142] Virginie. P. 2011. Recherche bioguidée de molécules anticancéreuses issues de microalgues marines. Thèse de doctorat. Sciences agricoles, Université de La Rochelle.
- [143] Jeffrey. S. W, Mantoura, R. F. C, Wright. S. W. 1997. Phytoplankton pigments in oceanography. UNESCO publishing.
- [144] Lubian. L. M, Montero. O, Moreno-Garrido. I, Huertas. E, Sobrino. C, Gonzales del Valle. M, Parés. G. 2000. Nannochloropsis as source of commercially valuable pigments. Journal of applied phycology, 12 (3-5), 249-255.
- [145] Antia. N. J, Bisalputra. T, Cheng. J. Y, Kalley. J. P. 1975. Pigments and cytological evidence for reclassification of *Nannochloropsis oculata* and *Monallantus salina* in the Eustigmatophyceae. Journal of phycology, 11, 339-343.
- [146] Owens. T. G. Gammagher. J. C, Alberte. R. S. 1987. Photosynthetic lightarvesting function of violaxanthine in *Nannochloropsis* spp. Journal of phycology, 23, 79-85.
- [147] Volkman. J. K, Brown Malcom. R, Dunstan. G. A, Jeffrey. S. W. 1993. The biochemical composition of marine microalgae from the class Eustigmatophyceae. Journal of phycology, 29, 69-78.
- [148] Chisti. Y. 2007. Biodiesel from microalgae. Biotechnology Advances, 25 (3), 249-306.
- [149] Mekdade. L. 2017. Etude d'extraits moléculaires de microalgues: effets sur les cellules cancéreuses. Thèse de doctorat. Département de biotechnologie, faculté des sciences de la nature et de la vie, université d'Oran 1.
- [150] Satkauskas. S, Bureau. M. F, Puc. M, Mahfoudi. A, Scherman. D, Miklavcic. D, Mir. L. M. 2002. Mechanisms of in vivo DNA electrotransfer: Respective contributions of cell electropermeabilization and DNA electrophoresis. Mol Ther, 5(2), 133–140.

- [151] Kanduser. M, Miklavcic. D, Pavlin. M. 2009. Mechanisms involved in gene electrotransfer using high- and low-voltage pulses—An in vitro study. *Bioelectrochemistry*, 74(2), 265–271.
- [152] Reberšek. M, Miklavčič. D. 2010. Concepts of electroporation pulse generation and overview of electric pulse generators for cell and tissue electroporation. *Advanced electroporation techniques in biology and medicine*, Str, 323–339.
- [153] Danfelter. M, Engstrom. P, Persson. B. R, Salford. L. G. 1998. Effect of high voltage pulses on survival of Chinese hamster V79 lung fibroblast cells. *Bioelectrochem Bioenerg*, 47(1), 97–101.
- [154] Tokmakci. M. 2006. A high-voltage pulse generation instrument for electrochemotherapy method. *J Med Syst*, 30, 145–151.
- [155] Bertacchini. C, Margotti. P. M, Bergamini. E, Lodi. A, Ronchetti. M, Cadossi. R. 2007. Design of an irreversible electroporation system for clinical use. *Technol Cancer Res Treat*, 6(4), 313–320.
- [156] Bortis. D. 2007. Active gate control for current balancing in parallel connected IGBT modules in solid state modulators. *Pulsed Power Conference, 16th IEEE International*, 1323–1326.
- [157] Dongdong. W. 2010. All-Solid-State Repetitive Pulsed-Power Generator Using IGBT and Magnetic Compression Switches. *IEEE Transactions on Plasma Science*, 38(10), 2633–2638.
- [158] Jun. W. 2008. Characterization, Modeling, and Application of 10-kV SiC MOSFET. *Electron Devices. IEEE Transactions on Plasma Science*, 55(8), 1798–1806.
- [159] Nawaz. M. 2013. Dynamic Characterization of Parallel-Connected High-Power IGBT Modules. *IEEE Energy Conversion Congress and Exposition (ECCE), Denver, Colorado*, 4263–4269.
- [160] Jong-Hyun. K. 2007. High Voltage Marx Generator Implementation using IGBT Stacks. *Dielectrics and Electrical Insulation, IEEE Transactions on Plasma Science*, 14(4), 931–936.
- [161] Stirke. A. 2014. Electric field-induced effects on yeast cell wall permeabilization. *Bioelectromagnetics*, 35(2), 136–144.
- [162] Novickij. V. 2015. Development of high power square wave electroporators. Thèse de doctorat. *Electrical and Electronic Engineering, Université technique de Vilnius Gediminas*.
- [163] BIGONOFF. 2001. *La programmation des PICs. Livre. Révision 6*.
- [164] Duc Ngoc. T. 2015. *Circuit de pilotage intégré pour transistor de puissance. Thèse de doctorat. Energie électrique, Université Grenoble Alpes*.
- [165] Herzer .R. 2010. *Integrated driver circuit solutions. IEEE Integrated Power Electronics Systems (CIPS), 6^{ème} Conférence International*.
- [166] Costa. F, Rojat. G. 1999. *CEM en électronique de puissance - Sources de perturbations, couplages, SEM. Techniques de l'ingénieur, Outils d'analyse en électronique de puissance et métrologie*.
- [167] Vasic. D, Costa. F. 2011. *Applications des éléments piézoélectriques en électronique de puissance. Techniques de l'ingénieur, D3235*.
- [168] Lefebvre. S, Multon. B. 2002. *Commande des semi-conducteurs de puissance : principes. Techniques de l'ingénieur, D3231*.

Références bibliographiques

- [169] Multon. B, Lefebvre. S. 2002. Commande des semi-conducteurs de puissance : contextes. Techniques de l'ingénieur, D3230.
- [170] Multon. B, Lefebvre. S. 2003. MOSFET et IGBT : circuits de commande. Techniques de l'ingénieur, D3233.
- [171] Pez. M. Comparaison des liaisons optiques et électriques. Techniques de l'ingénieur, E3680.
- [172] Canacsinh. H, Silva. J. F, Pinto. S, Redondo. L. M, Santana. J. 2012. Solid-State Bipolar Marx Converter with Output Transformer and Energy Recovery. In: Camarinha-Matos L.M., Shahamatnia E., Nunes G. (eds) Technological Innovation for Value Creation, 372, 403–410.
- [173] Sarrazin. B. 2006. Optimisation d'une chaîne de traction pour véhicule électrique. Thèse de doctorat. Energie électrique, Université de Grenoble.
- [174] Manseur. M. 2011. Contribution à l'étude d'un système de bio-télémesure intracorporelle par gélule ingérable. Thèse de doctorat. École doctorale des sciences pour l'ingénieur, université bordeaux 1.
- [175] Rulander. B. A. 2016. Galvanic vestibular stimulator for FMRI research. Thèse de doctorat. Electrical and computer engineering, université des sciences appliquées de Mannheim.

Résumé

L'électroporation est un procédé physique qui consiste à appliquer des impulsions de champ électrique pour perméabiliser de manière transitoire ou permanente la membrane plasmique. Depuis le début du siècle dernier, l'application de champs électriques pulsés (CEP) est étudiée dans divers domaines : l'alimentaire, le médical, l'environnement. L'introduction des champs électriques pulsés à l'échelle industrielle pour la transformation de la matière végétale en jus repose sur une amélioration de nos connaissances des effets de cette technologie sur la qualité des jus, les bénéfices quantitatifs et énergétiques.

La première partie de ce travail a pour but l'amélioration quantitative du procédé, une étude paramétrique d'optimisation d'extraction a été faite en utilisant une nouvelle configuration des chambres de traitement. La méthode des plans d'expérience a été également appliquée pour identifier le meilleur traitement. La seconde partie est consacrée à la réalisation d'une alimentation haute tension délivrant des impulsions électriques de forme carrée, avec la possibilité de contrôler le signal.

الملخص

النفاذية الكهربائية هي عملية فيزيائية تتمثل في تطبيق نبضات المجال الكهربائي لخلق ثغرات بصفة مؤقتة أو دائمة على مستوى الغشاء البلازمي للخلية النباتية. منذ بداية القرن الماضي، تم دراسة تطبيق المجالات الكهربائية النبضية في مجالات مختلفة: الغذاء، الطب، البيئة.

يعتمد إدخال المجالات الكهربائية النبضية على نطاق صناعي لتحويل المادة النباتية إلى عصير على تحسين معرفتنا بآثار هذه التكنولوجيا على جودة العصائر، والفوائد الكمية والطاقوية.

يهدف الجزء الأول من هذا العمل إلى التحسين الكمي للعملية. تم إجراء دراسة تحسين بارامترية لاستخراج العصير باستخدام تكوين جديد من غرف المعالجة، كما تم تطبيق طريقة التصميم التجريبي لتحديد أفضل معالجة. الجزء الثاني مخصص لصناعة مولد طاقة عالي الجهد يولد نبضات كهربائية مربعة الشكل، مع إمكانية التحكم في عوامل إشارة.