

Remerciements :

Avant de commencer je tiens à tracer ces quelques lignes pour exprimer mes sincères remerciements à l'ensemble des personnes qui ont contribué, directement ou indirectement, à l'aboutissement de ce travail de recherche.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Monsieur Mbarki Mohamed, mon directeur de thèse, qui m'a toujours apporté son soutien tout au long de ces années d'études. Merci pour cette confiance sans faille, pour les encouragements dans les moments difficiles comme dans les bons, et d'avoir toujours cru en moi.

Mes chers remerciements à Madame Souad Salmaoui de m'avoir accueillie dans son laboratoire de recherche, de m'avoir guidée dans mon travail et d'avoir partagé toute son expertise scientifique avec moi. Je la remercie également pour son encadrement au quotidien, son soutien permanent et pour la richesse de nos discussions.

J'exprime ma profonde reconnaissance à Monsieur Oussama Abdelkhalek pour son accueil au sein de son laboratoire de recherche, pour sa confiance, sa patience, sa sympathie et pour son dévouement. Je le remercie aussi d'avoir accepté d'être le coordonnateur de ce travail de recherche.

Je souhaite remercier chaleureusement Monsieur Hassan Mounir, Directeur Général Délégué de la SUTA qui a accepté de m'accueillir au sein de la société. Je remercie également Monsieur Hassani Abderahim, Directeur de la SUTA, pour son aide remarquable, sa bonne humeur et pour avoir mis à ma disposition tous les moyens humains et techniques afin de mener à bien les tâches qui m'incombaient. Je le remercie aussi pour ses conseils avisés, son soutien inconditionnel et sa présence dans ma soutenance en tant que membre du jury. Je remercie par la même occasion tout le staff de la sucrerie SUTA (Mr EL Moujahid (Ex Directeur de la SUTA), Mr Otmani, Mr Ghanim, Mr Zakaria, Mme Bauche, Mr Akdi, Mme Toufiki) d'avoir honoré nos tables rondes et d'avoir assisté à toutes les réunions concernant l'état d'avancement du projet.

Je souhaite remercier aussi l'ensemble des membres du jury. Merci au Professeur Abdelaziz Bouklouse (Faculté de Médecine et Pharmacie de Rabat) d'avoir accepté de présider mon jury de thèse. Mes remerciements vont également aux Professeurs : Pr Mohammed Bensalah

(Faculté des Sciences et Techniques, Béni Mellal), Pr Mohamed Berkani (Faculté des Sciences et Techniques , Béni Mellal) et Pr Hassan CHAAIR (Faculté des Sciences et Techniques , Mohammedia) qui ont accepté d'être rapporteurs de ce travail.

Un Merci très sincère et affectueux à mon Mari Mr Otmani Manar pour son amour, sa patience, ses déplacements, ses conseils, ses encouragements, sa présence et ses sacrifices. Je te suis très reconnaissante, et je ne te remercierai jamais assez pour ton amabilité et ton aide précieuse. A mes enfants Nour et Taha Iskandar, mes perles adorées, qui m'ont permis de trouver la force et le courage d'avancer et qui ont partagé avec moi cette aventure. Je vous aime énormément.

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération à mes merveilleux parents (Mr Alami Mohamed et Madame Jamila ghazi touri) pour les sacrifices qu'ils ont consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien, les prières et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagnera toujours. Merci également à mes sœurs (Kika et Meryem), mon frère Sidradi, mes beaux-frères (Hatim, Simohamed et Zakaria), ma belle-sœur (Hajar), ma nièce (Layla)mes neveux (Ahmed Salim, Oussama diae et Ahmed Riad), mes tantes adorées (Souad, Bahia) et mon oncle (Omar) pour leurs encouragements et prières.

Je ne saurais oublier mes collègues doctorants, post-doctorants et stagiaires que j'ai eu la chance de rencontrer durant ces années. Je tiens à les remercier pour les échanges, les discussions animées et la bonne humeur. Les moments partagés avec eux font partis des meilleurs souvenirs de cette période doctorale.

Et enfin, je dédie ce travail à la mémoire de ma grande mère Haja Najia EL Mernissi, ma belle-mère Haja Rabiaa Dirhoussi et ma belle-sœur Haja Fadwa Amrani. Que Dieu ait leurs âmes dans sa sainte miséricorde.

Résumé :

Les pulpes de betterave, coproduits de l'industrie sucrière et issues du dernier stade d'épuisement en sucre de la betterave par diffusion dans l'eau chaude, constituent une source polyvalente et précieuse en fibres et en autres constituants qui lui confèrent des propriétés uniques adaptées à un large éventail de ruminants et de non-ruminants. Les pulpes constituent aussi une solution pour pallier les déficits alimentaires en périodes estivales surtout dans les régions où les ressources culturelles classiques sont moins abondantes et la production de betteraves est importante.

En effet, la pulpe peut subir des variations significatives de sa composition biochimique pendant sa conservation. D'ailleurs, les résultats trouvés dans ce travail ont permis de confirmer que le séchage a fait baisser les teneurs des constituants pariétaux de la pulpe (ADF, NDF, ADL, cellulose et hémicellulose), les MAT, la MG et les CPT par rapport à la pulpe sortie presse. Par contre l'ensilage a permis de maintenir presque les mêmes valeurs le long du stockage (périodes T3, T6 et T12). Les résultats ont confirmé aussi que la pulpe ensilée est assez riche en Ca et en Mg, par contre, elle en est moins en P, la teneur en protéine est légèrement faible par rapport à d'autres aliments comme les tourteaux de soja. En revanche, la richesse des protéines en acides aminés essentiels en particulier méthionine, cystéine, lysine et thréonine confère à la pulpe ensilée une forte valeur nutritionnelle mais, au-delà d'une année de stockage dans les balles de 450 Kg et les sacs de 50 Kg, ces teneurs ont chuté avec absence totale de la lysine. Sa richesse en ADF, en ADL, en cellulose et en hémicellulose et sa faible teneur en lignine lui confère une bonne digestibilité chez les ruminants. Les composés polyphénoliques quant à eux sont très présents dans la pulpe ensilée ce qui la rend riche en molécules d'intérêts bioactives. D'autre part l'ensilage de la pulpe réalisé suivant les deux modes (balles de 450 Kg et sacs 50 Kg) a subi une excellente qualité fermentaire manifestée par l'absence d'acides butyrique et propionique (inférieur à 0,1%), par un taux d'acide lactique supérieur à 5% malgré le léger dépassement du taux d'acide acétique (2,9 contre la norme de 2 %).

Chaque échantillon de pulpe a été contrôlé selon une méthode analytique adéquate et fiable afin de garantir des résultats satisfaisants, qui serviront de base à la prise de décisions. A cet égard, une nouvelle méthode a été développée dans ce travail combinant la chimométrie et la spectroscopie infrarouge pour l'identification et le dosage d'un ensemble de constituants de la pulpe. Les modèles PCR ou PLSR ont révélé les meilleurs modèles d'étalonnage pour prédire la teneur en matière grasse et les teneurs en acides aminés des échantillons de pulpe sans aucune manipulation destructrice de l'échantillon, aucun gaspillage ni de temps ni de réactifs et sans aucune pollution de l'environnement.

Mots-clés: Pulpe de betterave sucrière, ensilage, séchage, temps de conservation, composition biochimique, spectroscopie infrarouge, chimométrie

Abstract:

Sugar beet pulp, a co-product of the sugar industry and from the last stage of sugar depletion of beet by diffusion in hot water, is a versatile and valuable source of fiber and other constituents that give it unique properties suitable for a wide range of ruminants and non-ruminants. Pulps are also a solution to reduce food deficits in summer periods, especially in regions where traditional cultural resources are less abundant and beet production is important.

Indeed, the pulp can undergo significant variations in its biochemical composition during its storage. Moreover, the results found in this work have confirmed that drying has decreased the contents of the parietal constituents of the pulp (ADF, NDF, ADL, cellulose and hemicellulose), MAT, MG and CPT compared to the pressed pulp. Silage, on the other hand, made it possible to maintain almost the same values along the storage (T3, T6 and T12 periods). The results also confirmed that the ensiled pulp is quite rich in Ca and Mg, however, it is less in P, and the protein content is slightly low compared to other foods like soybean meal. On the other hand, the richness of proteins in essential amino acids, in particular methionine, cysteine, lysine and threonine, gives the ensiled pulp a high nutritional value, but beyond one year of storage in bales of 450 kg and bags of 50 Kg, these contents dropped with total absence of lysine. Its richness in ADF, ADL, cellulose and hemicellulose and its low lignin content gives it good digestibility in ruminants. As for polyphenolic compounds, they are very present in the ensiled pulp, which makes it rich in molecules of bioactive interest. On the other hand the ensilage of the pulp made according to the two modes (bales of 450 kg and bags of 50 Kg) underwent an excellent fermentative quality manifested by the absence of butyric and propionic acids (less than 0.1%), with a lactic acid content higher than 5% despite slightly exceeding the level of acetic acid (2.9 against the standard of 2%).

Each pulp sample was tested using an adequate and reliable analytical method to ensure satisfactory results, which will serve as a basis for decision making. In this regard, a new method has been developed in this work combining chemometrics and infrared spectroscopy for the identification and determination of a set of constituents of the pulp. The PCR or PLSR models revealed the best calibration models to predict the fat content and amino acid contents of the pulp samples without any destructive manipulation of the sample, no waste of time, no reagents, and no environmental pollution.

Keywords: Sugar beet pulp, silage, drying, storage time, biochemical composition, infrared spectroscopy, chemometrics

Avant-propos

Ce travail s'est déroulé dans le cadre d'une convention d'étude et de recherche entre :

- **La faculté sciences et techniques de Béni Mellal** représenté par les professeurs:
 - Pr Abdelkhalek OUSSAMA : Laboratoire de Spectrochimie Appliquée et Environnement SAE.
 - Pr Souad SALMAOUI : Laboratoire de Valorisation des Agro-Ressources LVAR.
 - Pr Mohamed MBARKI : Laboratoire Transdisciplinaire des Sciences Analytiques pour le Développement Durable LTASSD.

- **La SUTA : Sucrierie raffinée de Tadla**, qui a assuré en partie le financement de ce projet de thèse. C'est une filiale de la Cosumar, située à Ouled Ayad région de Béni Mellal.

Représentée par :

- Mr Hassan MOUNIR Directeur Général Délégué

Et l'équipe de recherche :

- Mr Abdrahim HASSANI : Directeur Général de la SUTA.
- Mr Ali El MOUJAHID : EX Directeur de la SUTA
- Mr Manar OTMANI: Chef de service fabrication arrière à la SUTA.

Les travaux soumis dans ce manuscrit de thèse ont donné lieu à la rédaction de cinq articles scientifiques dont quatre sont publiés et un soumis. Trois autres articles sont en cours d'élaboration.

Ces travaux ont également été valorisés scientifiquement par des communications dans des congrès internationaux :

Publications acceptées et publiées :

- **Alami Lamiae**, Salmaoui Souad, Abdelkhalek Oussama, Ali El Moujahid, Abderrahim Hassani, Otmani Manar and Mohamed Mbarki. *HPLC analysis and Study of the evolution of the amino acids contents in sugar beet pulp during silage*. International Journal of Innovation and Applied Studies. ISSN 2028-9324 Vol. 16 No. 3 Jun. 2016, pp. 496-502.
- **Alami Lamiae**, Salmaoui Souad, Abdelkhalek Oussama, Ali El Moujahid, Abderrahim Hassani, Otmani Manar and Mohamed Mbarki. *Evolution of fermentation parameters of ensiled sugar beet pulp during storage*. Chemistry and Materials Research. ISSN 2224- 3224 (Print) ISSN 2225- 0956(Online). Vol.9 No.1, 2017. P. 60-67.
- **Alami Lamiae**, Terouzi.Wafa, Salmaoui Souad, Ali El Moujahid, Abderrahim Hassani, Otmani Manar , Mohamed Mbarki and Abdelkhalek Oussama. *The use of ATR-FTIR coupled with chemometric tools for Prediction of fat content in sugar beet pulp*. Asian Academic Research Journal of Multidisciplinary. ISSN : 2319 – 2801 Vol. 4, Issue . 2 February. 2017, p. 10-21.
- **Alami Lamiae**, Mohamed Mbarki, Abdelkhalek Oussama, Ali El Moujahid, Abderrahim Hassani, Otmani Manar and Salmaoui Souad. *Effect of conservation technic and storage period on the fiber content: NDF ADF ADL for sugar beet pulp*. International Journal of Advances in Scientific Research and Engineering. E – ISSN : 2454 - 8006. Vol. 4, Issue 6. June – 2018.

Publications soumises :

- **Alami Lamiae**, wafa Terouzi, Salmaoui Souad, Abdelkhalek Oussama, Ali El Moujahid, Abderrahim Hassani, Otmani Manar and Mohamed Mbarki. *Prediction of Amino acids content in sugar beet pulp by ATR-FTIR coupled with multivariate analysis*. Article soumis au journal « Spectroscopy Letters » .

Publications en cours:

- **Alami Lamiae**, Salmaoui Souad, Abdelkhalek Oussama, Ali El Moujahid, Abderrahim Hassani, Otmani Manar and Mohamed Mbarki. *Biochemical analysis of ensiled and dehydrated sugar beet pulp.*
- **Alami Lamiae**, Salmaoui Souad, Abdelkhalek Oussama, Ali El Moujahid, Abderrahim Hassani, Otmani Manar and Mohamed Mbarki. *Effect of the storage time and technique on biochemical composition of ensiled sugar beet pulp.*

Communications dans des congrès internationaux :

- **Lamiae Alami** , S. Salmaoui, A. Oussama, A. El Moujahid, A. Lhassani, M. Otmani, M. Mbarki, 2016 . Evolution of the amino acids content in sugar beet pulp during silage. Third Symposium on Analytical Chemistry for Sustainable Development - ACS D 2016. 11-12 May 2016 , Marrakech, Maroc. *Communication Orale.*
- **Lamiae Alami** , A. Oussama, A. El Moujahid, A. Lhassani, M. Otmani, M. Mbarki, S. Salmaoui, 2016. Evaluation of fermentation quality of by-products in sugar industry. 5^{ème} Colloque International " Environnement et Développement Durable". 10 -15 Octobre 2016. Rabat, Maroc. *Communication par affiche.*
- **Lamiae Alami** , A. Oussama, W.Trouzi, S. Salmaoui, M. Mbarki, 2014. Caractérisation de la composition chimique de la betterave sucrière de Tadla par Infrarouge. La première Rencontre Internationale de Chimie Moléculaire, Chimiométrie & Applications (RICMCA 2014). 29-30 Mai 2014. Béni Mellal, Maroc. *Communication par affiche.*
- **Lamiae Alami** , A. Amhoud, H. Bouzid, A.Hassib and M. Mbarki, 2013. Impact study of factors influencing the quality of sugar beet. The Second Symposium on Analytical Chemistry for Sustainable Development - ACS D 2013. 7-9 May 2013 , Marrakech, Maroc. *Communication par affiche.*
- **Lamiae Alami** , A. Oussama, W.Trouzi, S. Salmaoui, M. Mbarki, 2014. Etude de l'effet de la date de récolte sur la qualité de la betterave , application de l'analyse exploratoire. La première Edition des journées Doctoriales sous le thème : Recherches Scientifiques, Innovation et Développement .10-11 Juin 2014. Béni Mellal, Maroc. *Communication par affiche.*

SOMMAIRE

| | |
|---|-----------|
| LISTE DES ABREVIATIONS : | 11 |
| LISTE DES FIGURES : | 12 |
| LISTE DES TABLEAUX : | 12 |
| INTRODUCTION GENERALE : | 13 |
| PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE : | 17 |
| Introduction : | 18 |
| Chapitre 1 : Betterave et Industrie Sucrière..... | 20 |
| Introduction : | 20 |
| I. Betterave sucrière : | 20 |
| I.1. Histoire du sucre dans le monde : | 20 |
| I.2. Origine et culture : | 22 |
| I.3. Données statistiques sur la betterave..... | 25 |
| I.3.1. A l'échelle mondiale : | 25 |
| I.3.2. A l'échelle nationale : | 25 |
| II. Processus de fabrication de sucre à la Société SUTA..... | 26 |
| II.1. Présentation de la sucrerie SUTA : | 26 |
| II.2. Etapes d'extraction du sucre de betterave : | 26 |
| III. Coproduits de l'industrie sucrière : | 29 |
| III.1. Définitions : | 29 |
| III.2. Coproduits générés : | 32 |
| III.2.1. Feuilles et collets : | 32 |
| III.2.2. Ecumes : | 33 |
| III.2.3. Mélasse : | 34 |
| III.2.4. Pulpes : | 35 |
| Conclusion : | 35 |
| Chapitre 2 : Pulpes de Betterave..... | 36 |
| Introduction : | 36 |
| I. Données sur la pulpe de betterave : | 36 |
| I.1. Composition de la pulpe : | 36 |
| I.2. Données statistiques sur la pulpe : | 37 |
| I.3. Utilisations des pulpes : | 38 |
| I.3.1. Utilisations alimentaires:..... | 38 |
| I.3.2. Utilisations non alimentaires:..... | 41 |
| II. Modes de valorisation de la pulpe de betterave : | 44 |
| II.1. Conservation par séchage : | 45 |
| II.2. Conservation par ensilage : | 48 |
| II.2.1. Etapes d'évolution de l'ensilage : | 52 |

| | |
|--|-----------|
| II.2.2. Additifs d'ensilage :..... | 57 |
| II.2.3. Types de silo :..... | 59 |
| Conclusion :..... | 62 |
| Chapitre 3 : Méthodes d'analyse et de contrôle :..... | 63 |
| Introduction :..... | 63 |
| I. Introduction à la Spectroscopie infrarouge :..... | 63 |
| I.1. Spectroscopie Moyen infrarouge (MIR):..... | 66 |
| I.2. Spectroscopie infrarouge à Transformée de Fourier :..... | 67 |
| I.3. Réflexion totale atténuée ATR: | 67 |
| II. Chimiométrie : | 68 |
| II.1. Prétraitements mathématiques appliqués aux spectres : | 69 |
| II.2. Méthodes chimiométriques | 70 |
| II.3. Validation croisée totale : | 73 |
| II.4. Validation externe : | 73 |
| III. Application de la combinaison Chimiométrie-Spectroscopie infrarouge : | 74 |
| Conclusion :..... | 74 |
| Conclusion : | 75 |
| Liste des références: | 76 |
| DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE : | 86 |
| Introduction :..... | 87 |
| Méthodologie adoptée :..... | 88 |
| Chapitre 1 : Evaluation de la qualité des pulpes de betteraves :..... | 92 |
| Introduction:..... | 93 |
| I. Effet du mode de conservation, de la période de stockage et de la quantité conservée sur la composition biochimique de la pulpe de betterave sucrière. | |
| 1. Introduction :..... | 95 |
| 2. Matériels et méthodes :..... | 96 |
| 3. Résultats et discussion :..... | 108 |
| 4. Conclusion :..... | 114 |
| 5. Références :..... | 114 |
| II. Effet de la technique de conservation et du temps de stockage sur la teneur en fibre: NDF, ADF, ADL de la pulpe de betterave sucrière : | |
| 1. Introduction :..... | 116 |
| 2. Matériels et méthodes :..... | 117 |

| | |
|---|------------|
| 3. Résultats et discussion : | 120 |
| 4. Conclusion : | 127 |
| 5. Références : | 127 |
| III. Evolution des teneurs en acides aminés dans la pulpe ensilée de betterave à sucre durant le stockage. | |
| 1. Introduction : | 129 |
| 2. Matériels et méthodes : | 131 |
| 3. Résultats et discussion : | 132 |
| 4. Conclusion : | 138 |
| 5. Références : | 138 |
| IV. Evolution des paramètres fermentaires de la pulpe de betterave sucrière ensilée le long du stockage | |
| 1. Introduction : | 141 |
| 2. Matériels et méthodes : | 144 |
| 3. Résultats et discussion : | 145 |
| 4. Conclusion : | 152 |
| 5. Références : | 153 |
| Conclusion : | 189 |
| Chapitre 2 : Méthodes de Contrôle et de Prédiction de la composition des pulpes..... | 158 |
| Introduction : | 159 |
| I. Prédiction de la teneur en acides aminés de la pulpe de betterave sucrière par ATR-FTIR couplée à l'analyse multivariée : | |
| 1. Introduction : | 160 |
| 2. Matériels et méthodes : | 161 |
| 3. Résultats et discussion : | 163 |
| 4. Conclusion : | 173 |
| 5. Références : | 173 |
| II. Utilisation de l'ATR-FTIR couplée aux méthodes chimiométriques pour prédire la teneur en matière grasse des pulpes de betterave sucrière : | |
| 1. Introduction : | 176 |
| 2. Matériels et méthodes : | 177 |
| 3. Résultats et discussion : | 180 |
| 4. Conclusion : | 187 |
| 5. Références : | 187 |
| Conclusion : | 190 |
| CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES : | 191 |
| ANNEXES : | 197 |

LISTE DES ABBREVIATIONS :

| | |
|--------------------|---|
| ACP | : Analyses en composantes principales |
| ADF | : Fibre au détergent acide |
| ADL | : Lignine au détergent acide |
| AGV | : Acides gras volatils |
| ANOVA | : Analyse de la variance |
| ARS | : Service de recherche en agriculture |
| ATR | : Réflexion totale atténuée |
| CAMO | : Computer Aided Modeling |
| Ca | : Calcium |
| Cd | : Cadmium |
| CE | : Commission Européenne |
| CPT | : Composés phénoliques totaux |
| Cu | : Cuivre |
| FID | : Détection d'ionisation à flamme |
| FT-IR | : Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier |
| GC | : Chromatographie gazeuse |
| HPLC | : Chromatographie liquide à haute performance |
| ICUMSA | : Commission internationale pour les méthodes d'analyse uniformes du sucre. |
| LOD | : Limite de détection |
| MAT | : Matières azotées totales |
| MG | : Matière grasse |
| MIR | : Spectroscopie moyen infrarouge |
| MS | : Matière sèche |
| MSC | : Correction Multiplicative de diffusion |
| NDF | : Fibre au détergent neutre |
| OPA | : O-phthalaldéhyde |
| Pb | : Plomb |
| PC1 | : Composante principale 1 |
| PC2 | : Composante principale 2 |
| PCR | : Régression sur composantes principales |
| PDI | : Protéines digestibles dans l'intestin |
| PLA | : Acide Polylactique |
| PLS | : Régression des moindres carrés partiels (partial least square) |
| R^2 | : Coefficient de détermination. |
| RE | : Erreur relatif de prédiction en % |
| RMSEC | : Erreur quadratique d'étalonnage |
| RMSEC _v | : Erreur quadratique de validation croisée |
| RMSEP | : Erreur standard de prédiction |
| Sig | : Significative |
| SNV | : Déviation normale standardisée |
| TP | : Taux protéique moyen |
| UFL | : Unité formant lait |
| UFV | : Unité formant viande |
| Zn | : Zinc |

LISTE DES FIGURES :

Figure. 1 : Schéma de la betterave sucrière

Figure. 2 : Logigramme des processus sucrerie de betterave chez la SUTA (COSUMAR)

Figure. 3 : Représentation schématique du phénomène de diffusion.

Figure. 4 : Schéma illustrant la production de déchets et de sous-produits (résidus).

Figure. 5 : Pulpe de betterave sucrière humide pressée

Figure. 6 : pulpe de betterave sucrière déshydratée (séchée) : pellets

Figure. 7 : Ensileuse de 450 Kg de pulpes de betterave en balles rondes.

Figure. 8 : Machine à ensilage de pulpes de betterave en sacs de 50 Kg sous vide.

Figure. 9 : (a) silo tour en polyester, (b): silo tour en métal, (c) : silo couloir,
(d) : silo boudin, (e) : balles d'ensilage.

Figure. 10 : (a) Silo de pulpe surpressée avec couverture d'escourgeon (orge),
(b) Silo de pulpe surpressée avec couverture de radicelles de betterave.

Figure. 11 : Une partie du spectre électromagnétique montrant la relation entre les longueurs d'onde, l'énergie, les fréquences et les techniques spectroscopiques.

Figure. 12 : Modèle simple d'une molécule diatomique.

Figure. 13 : Modes de vibrations moléculaires.

LISTE DES TABLEAUX :

Tableau.1 : Caractéristiques des feuilles et collets.

Tableau 2 : Composants de la pulpe de betterave sucrière.

Introduction Générale

La crise énergétique, la diminution des ressources mondiales en matières premières et les lois concernant la protection de l'environnement dans le cadre d'un développement durable sont les axes qui ont donné de plus en plus beaucoup d'intérêts à la valorisation des déchets et des co-produits industriels.

Les coproduits industriels disponibles au Maroc offrent une potentialité de développement très large. La valorisation des coproduits issus des procédés alimentaires est devenue un gage de compétitivité et un levier d'innovations propice pour les industries. Les coproduits valorisés peuvent avoir plusieurs destinations, ils peuvent être utilisés comme une source renouvelable d'énergie, une source de production de nombreux composés chimiques, incluant le biogaz, le charbon actif. Ils peuvent être utilisés aussi dans les procédés de fabrication de la pâte à papier et dans les procédés de production de bio-produits. Ainsi, leur valorisation permettra d'une part, de fournir des substrats alternatifs et d'autre part de résoudre le problème de pollution engendré par la non utilisation effective de ces résidus.

En effet, les coproduits constituent un ingrédient de choix pour le secteur de l'alimentation animale mais généralement ils sont déséquilibrés sur le plan de leur composition chimique et donc de leur valeur alimentaire (énergie, azote, minéraux). Ils ne peuvent donc pas être distribués seuls mais nécessitent une complémentation adaptée afin d'obtenir une ration équilibrée pour le type de production envisagée (lait, viande, entretien). Une étude analytique s'avère donc nécessaire afin de mieux les intégrer dans les rations animales.

Dans le processus de valorisation des coproduits de la filière sucrière, l'utilisation des pulpes de betterave est particulièrement utiles aux éleveurs. Les pulpes sont issues du dernier stade d'épuisement en sucre de la betterave par diffusion dans de l'eau chaude. Ces dernières peuvent être utilisées telles quelles après pressage, pulpes pressées humides. Pour assurer leur stabilité pour de longues durées, ces dernières subissent un séchage ou un ensilage.

En effet, les pulpes humides sont rapidement employées par le monde agricole, elles sont particulièrement appréciées pour leurs qualités principalement pour l'alimentation des ruminants. Elles pourront alors servir à une alimentation animale plus diversifiée : bovins, ovins, chèvres, lapins, chevaux... .

Les pulpes pressées humides à 26 % MS sont soit utilisées en l'état, soit conservées sous forme d'ensilage ou encore séchées sous forme de pellets. Cependant, la technique de séchage a plus d'inconvénients que d'avantages. Elle ne favorise pas l'économie de l'énergie fossile

(consommation énorme du fuel), ne respecte pas l'environnement (dégagement de gaz du au séchage), ne participe pas à l'amélioration du revenu de l'agriculteur car le prix des pellets est élevé par rapport au prix de la pulpe humide vrac et par rapport à la pulpe ensilée (1216 Dh/T, 300 Dh/T et 450 Dh/T respectivement). En plus la valeur nutritive des pulpes ainsi que leurs composition chimique est dépendante des conditions et des techniques de conservation.

C'est dans ce contexte que les présents travaux de recherche ont été abordés afin de contribuer dans la valorisation des pulpes de betteraves, coproduits de l'industrie de transformation de la betterave sucrière et disponibles généralement en grandes quantités sur une période estivale limitée (d'Avril à Aout).

Objectifs de la thèse :

En fait il y a deux objectifs visés dans la présente étude :

1^{er} objectif :

La connaissance de la valeur nutritive de la pulpe étant donné que c'est un aliment destiné aux animaux afin de garantir une valorisation optimale de ce produit et veiller à l'équilibre de la ration totale et aussi de permettre aux animaux de réaliser de bonnes performances zootechniques. Ainsi les points ciblés sont :

- L'étude de la composition chimique de la pulpe de betterave sucrière sous ses trois formes : humide ensilée et déshydratée
- L'étude de l'influence du temps de conservation par ensilage et du procédé d'ensilage sur la composition chimique de la pulpe de betterave ensilée et sur les paramètres fermentaires.

2^{ème} objectif :

L'évaluation de la qualité des pulpes par une technique d'analyse rapide, fiable et robuste qui est la spectrométrie dans le moyen infrarouge couplées aux outils chimiométriques qui permettent d'appréhender rapidement la qualité et de comparer de manière pertinente les différents constituants de la pulpe autrement dit qui permettent de construire une empreinte digitale de la pulpe.

Dans ce cadre, les travaux réalisés sont présentés dans ce mémoire divisé en deux parties :

La première partie de ce manuscrit est dédiée à l'étude bibliographique concernant l'importance du secteur de la transformation de la betterave sucrière et la valorisation de ses coproduits. Divisé en trois chapitres, cette partie débute par une présentation de la betterave sucrière, son historique, ses origines et s'achève par l'enchaînement des étapes d'extraction du sucre au niveau de la Sucrierie SUTA.

Dans le deuxième chapitre, nous avons porté plus d'intérêt à la pulpe de betterave, puisque c'est le fond de notre étude, étant donné qu'elle possède des qualités nutritionnelles et énergétiques importantes pouvant concurrencer d'autres produits de valeurs existants.

Le dernier chapitre de la première partie répertorie l'intérêt du couplage des méthodes spectroscopiques aux outils chimométriques, dans le développement des méthodes rapides, non destructives, moins coûteuses et fiables répondant aux exigences et aux besoins spécifiques des industries.

La deuxième partie de ce mémoire a été consacrée à la partie expérimentale. Elle est répartie en deux volets.

Le premier volet étudie la composition biochimique de la pulpe influencée par la technique de conservation, la durée d'ensilage et le mode de stockage, aussi d'évaluer sa qualité fermentaire.

Le deuxième volet quant à lui, expose une alternative aux analyses classiques habituelles, basée sur le couplage de la spectroscopie moyen infrarouge et la chimométrie. Une méthode permettant de prédire en un temps record la composition de la pulpe de betterave.

Enfin, ce manuscrit se termine par la présentation de la conclusion générale et des perspectives dégagées du déroulement des activités de recherche.

Partie 1 : Etude Bibliographique



Introduction :

Au regard de la pénurie constante des matières premières énergétiques et alimentaires, la valorisation des déchets, des sous-produits ou encore des coproduits constitue une des premières étapes de l'engagement environnemental des entreprises agroalimentaires dans la démarche de développement durable.

En Outre, la valorisation des coproduits, issus d'un processus de fabrication ne représentant pas l'objet principal de l'activité envisagée, représente une option économique attrayante pour les entreprises, puisqu'elle permet de réduire ou éliminer leurs coûts de disposition des résidus, tout en générant un deuxième revenu.

A l'instar d'autres industries, l'industrie sucrière constitue une composante essentielle de la politique du développement du secteur agricole Marocain. La culture de la betterave à sucre est devenue très performante au niveau de la région de Tadla Azillal et représente à ce jour une part importante de la production nationale.

Les Sucrieries Raffineries Du Tadla (SUTA) est une filiale du groupe Cosumar depuis 1966. Il s'agit d'une entreprise citoyenne et dynamique qui s'est engagée dans la préservation des ressources naturelles, la biodiversité et l'optimisation de sa consommation énergétique.

Son respect de l'environnement dans le cadre d'un développement durable de la région de Tadla lui ont permis d'être considérée comme un pionnier en matière de valorisation des coproduits.

En effet, l'activité d'extraction de sucre de betterave chez la SUTA permet d'extraire le sucre et de le conditionner sous différentes formes à savoir : lingot, pain, granule 1 Kg, 2 Kg et 50 Kg. D'ailleurs, la production actuelle en sucre a atteint 150 000 tonnes soit 30% de la production nationale. Egalement, elle permet de générer une multitude de coproduits à savoir: la mélasse, les pellets, la pulpe pressée vrac et la pulpe pressée ensilée objet du présent mémoire.

La partie bibliographique expose dans son premier chapitre l'histoire de la betterave sucrière, ses origines et sa culture depuis la préparation du sol jusqu'au dernier stade qui est l'arrachage au champ y compris le cycle végétatif, le mode de semis, le mode d'irrigation, les besoins nutritifs et la technique d'arrachage. Elle se poursuit par la mise en évidence de l'enchaînement des différentes étapes d'extraction du sucre à partir de la betterave dans la

sucrerie (cas de la SUTA : filiale de la COSUMAR) et par les richesses dont la betterave sucrière dispose en plus du sucre. En effet, elle a de quoi surprendre, des ressources intéressantes sous forme de coproduits générés du procédé d'extraction du sucre et qui disposent de champ d'applications variés.

Dans le deuxième chapitre, nous avons porté plus d'intérêt à la pulpe et ses différentes voies de valorisation alimentaires et non alimentaires. Nous avons évoqué aussi le mode de conservation des pulpes humides, fraîches, une fois sorties des presses avec 24 à 30 % de matière sèche. En effet il y en a deux, le premier est le séchage qui consiste à une déshydratation des pulpes de façon à les rendre sèches totalement vidées de leur eau avec à peu près 90 % de matière sèche, qui sont ensuite transformées en bâtonnets appelées pellets et conditionnés en sacs. Le deuxième mode est l'ensilage qui est une technique de conservation des pulpes pressées en anaérobiose faisant appel aux bactéries lactiques pour une meilleure acidification du milieu jusqu'à un pH de stabilité assurant ainsi une bonne conservation de la valeur nutritive des pulpes.

Le troisième et le dernier chapitre de la partie bibliographique répertorie les principales méthodes d'extraction et d'analyse de l'information obtenues à partir des analyses chimiques et des spectres moyens infrarouges par l'intermédiaire des outils mathématiques et statistiques de la chimiométrie qui est une science récente dont le but est de décrire, de classer et de prédire des caractéristiques ou des variables chimiques. Les méthodes spectroscopiques sont largement utilisées pour l'analyse quantitative et qualitative des produits agro-alimentaires, et une fois couplées aux outils chimiométriques, elles permettent de développer des méthodes rapides, non destructives, moins coûteuses et fiables qui répondent aux exigences et aux besoins spécifiques des industries.

Chapitre 1 : Betterave et Industrie Sucrière :

Introduction :

Dans ce chapitre, on expose l'histoire de la betterave sucrière, son origine et sa culture. On décrit aussi l'enchaînement des différentes étapes d'extraction du sucre depuis la réception des betteraves jusqu'au stade de conditionnement du sucre tout en citant les coproduits générés dans chaque étape.

I. La betterave sucrière : historique, origine et culture:

I.1. Histoire du sucre dans le monde :

La saveur sucrée a toujours exercé sur l'homme un attrait instructif et l'histoire du sucre se confond avec celle de la nature qui, généreuse, a mis à notre disposition des milliers de plantes et de fruits contenant des substances sucrées. Dans le monde la plupart des aliments proviennent de 150 espèces végétales cultivées. Le sucre (nom commun le saccharose) est obtenu seulement à partir de deux cultures, la canne et la betterave [1].

La canne à sucre était connue et utilisée dès la plus haute antiquité par les habitants du golfe de Bengale. Les peuples d'occident apprirent l'existence de la canne à sucre 325 ans avant Jésus Christ. A cette époque la betterave était toujours ignorée. La canne à sucre a été produite en grandes quantités dans les régions tropicales pendant de nombreux siècles et continue à dominer l'offre mondiale de sucre. En revanche, la betterave à sucre est une culture relativement nouvelle, apparaissant dans les régions tempérées au XIXe siècle et s'est largement répandu dans le vingtième siècle [1].

Dès 1575, Olivier de Serres, signalait la richesse de la betterave en sucre mais il ne poussa pas loin ses constatations qui tombèrent dans l'oubli. En 1747, le chimiste Allemand Marggraf, réussissait à extraire du sucre de la betterave et à le solidifier. En 1786, son disciple, Frédéric Achard, d'origine française, porte le procédé sur le plan industriel et installe en Silésie de petites sucreries de betteraves avec le soutien financier du gouvernement prussien. Toutes les gazettes de l'époque mentionnent la nouvelle et l'Angleterre, fort intéressée à l'échec des expériences, offre à Achard une grosse somme d'argent pour arrêter à ses débuts l'industrie du sucre de betterave. Celui-ci refusa avec indignation. Mais le rendement est trop faible, la qualité du sucre médiocre et le prix de revient relativement, par rapport au sucre de la canne, très élevé [1].

Pendant le blocus continental, la France Napoléonienne cherche à tirer du sucre d'une plante européenne. De nombreux savants se penchent sur les expériences de Marggraf. En 1800, Chaptal annonce la divulgation d'essais décisifs sur la betterave. En 1807, la lutte économique franco-anglaise s'aggrave et Napoléon répond par le blocus continental [1].

En 1811, des scientifiques français présentaient deux pains de sucre issus de la betterave. Napoléon fut si impressionné qu'il décréta que 32 000 hectares de terres devaient immédiatement être dédiés à la betterave et qu'il subventionna la construction de sucreries. Quarante sucreries virent ainsi le jour en quelques années, essentiellement dans le nord de la France, mais aussi en Allemagne, en Autriche, en Russie et au Danemark [3].

A la fin du Blocus Continental, le sucre de canne réapparut et plusieurs pays stoppèrent la production de betterave. Le gouvernement français, au contraire, soutint le développement de meilleures variétés et de meilleures techniques d'extraction [3]. D'ailleurs un décret impérial en 1812 instituait des bourses à des chimistes de l'école de pharmacie et des licences pour la fabrication du sucre de betteraves [2]. En 1850, la France produit 75000 tonnes de sucre, en 1875 sa production atteint 450000 tonnes, en 1890 le sucre de la betterave couvre les trois cinquièmes de la consommation mondiale et en 1900 le monde consomme 8 millions de tonnes de sucre et en produit environ 9 millions de tonnes [1].

De 1890 à 1914, canne et betterave se partagent le monde, au prix d'une âpre concurrence, des facteurs techniques, économiques et politiques déplacent tour à tour l'équilibre au profit de l'une ou de l'autre plante. La concurrence s'établit sur le plan international. Une première entente internationale scellée par la convention de Bruxelles (1903) réglemente les productions respectives de sucre de betterave et de canne. Et depuis 1950, la part de la canne oscille aux alentours de 60 %. Canne et Betterave ne sont plus concurrentielles mais complémentaires, toutes deux concourant au même objectif : faire face à la croissance des besoins mondiaux en sucre [2].

En 1972, l'ICUMSA (International Commission Unification Méthodes Analyse Sucrière) et le conseil de la communauté Européenne (CEE) a défini la qualité type du sucre blanc et l'attribution des points Européens qui interviennent dans le classement commercial des sucres blancs en plusieurs catégories. En 2010 les deux plantes sucrière industrielles représentent environ 75 % de la production mondiale de sucre à partir de la canne et 25% à partir de la betterave [2].

I.2. Origine et culture :

La betterave sucrière est une plante supérieure de la famille des chénopodiacées, ordre des *centrospermes*, classe des *dicotylédones*, genre *Beta*, espèce *Beta vulgaris*. C'est une plante bisannuelle ce qui signifie que son cycle végétative dure deux ans, au cours de la première année du cycle, appelée période végétative, la plante se développe et accumule un stock de sucre dans sa racine. La deuxième année correspond à la phase reproductive pendant laquelle la plante puise dans ses réserves pour produire des fleurs et des graines. Lors d'une culture de betteraves dédiée à la production de sucre, les plantes sont récoltées après la première année [4].

Au Maroc la campagne sucrière de betterave commence à partir du début du mois de Mai et se termine vers fin Aout de chaque année. L'extraction du sucre se fait après un cycle de 220 à 240 jours après la levée (semis, germination et sortie des premières feuilles), suivant la variété, les conditions de culture et les conditions climatiques (pluies, températures et ensoleillement) [2].

La betterave est constituée d'une racine de forme conique blanche ou grise où se trouve le sucre, un sillon saccharifère, un collet et des feuilles [5], comme illustré dans la Figure 1.

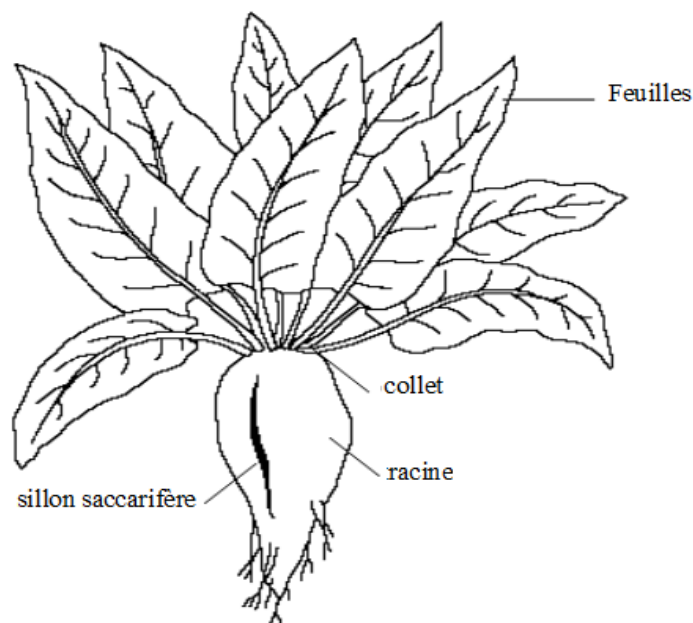


Figure 1 : Schéma de la betterave sucrière (Source : INRA . 2012 [5])

Les rendements exprimés en tonne de racine à l'hectare (50 à 80 T/ha soit exprimés en sucre extractible 12 à 14 T/ha) dépendent des variétés, des conditions écopédologiques (sol, climat, ensoleillement,...) et des techniques culturales (travail du sol, apports d'engrais composition et stades d'apport, nombre d'irrigation, désherbages, traitements phytosanitaire).

La culture de la betterave n'est pas réalisée de manière continue sur une parcelle, mais en rotation avec d'autres types de cultures comme les céréales [6]. Les fourrages et les maraîchages aussi peuvent constituer un excellent précédent cultural. Il faut éviter tout de même un précédent cultural de betterave ou des cultures de la même famille de la betterave et respecter l'assolement : triennal ou quadriennal [2].

En Belgique, la culture de la betterave est intégrée dans un cycle de rotation comprenant généralement la culture de la betterave, suivie de blé, d'une autre tête de rotation telle que la pomme de terre puis du blé avant de recommencer avec la betterave [7].

En Europe, la préparation des terres et l'ajustement de la teneur en azote commence dès l'hiver précédant le semis : un labour ou une décompactations est réalisé, suivi de la préparation du lit de semences à l'aide du passage de machines adaptées. Au printemps, mi-mars ou début avril, les graines sont déposées avec des semoirs de précision dans le sol à 2 ou 3 cm de profondeur et régulièrement espacées de 45 cm. Après quelques semaines, un binage est réalisé pour supprimer les mauvaises herbes. La récolte est généralement réalisée à l'automne, mécaniquement, à l'aide d'une machine comportant une effeuilleuse à l'avant et une arracheuse à l'arrière [4,7].

Au Maroc La préparation du sol commence dès la fin d'été précédant le semis au mois de Septembre: un labour moyen ou profond de 30 à 50 cm est réalisé, cette opération a pour but le retournement du sol ce qui permettra l'enfouissement des germes des champignons et les graines des mauvaises herbes en profondeur. Suivi d'une pré-irrigation (10 à 15 jours avant les labours : 800 m³/ha) dont l'avantage est la lutte contre les mauvaises herbes, l'améliore de l'activité microbienne et des réserves hydriques et enfin facilite les travaux du sol. La deuxième étape après le labour est la préparation du lit de semences en Octobre à l'aide du passage de machines adaptées. En automne, Octobre, Novembre et Décembre, les graines sont déposées dans le sol suivant le type de semence et le mode de semis (manuel ou mécanique) et sont régulièrement espacées de 50 cm. 8 à 15 jours après le semis (selon le climat), vient l'étape de la levée, c'est dans cette phase qu'on fait les traitements phytosanitaires et les resemis (un 2^{ème} semis) en cas d'une levée hétérogène. Après, vient

l'étape du binage (c-à-d deux arrosage) qui dépend de la structure du sol et dont le but est d'aérer le sol et d'économiser l'eau [2].

Pour leurs besoins nutritionnels, les terres exigent la présence de fertilisants qui sont nécessaires à une croissance optimale de la betterave et représentent le deuxième facteur le plus important influençant le rendement après les conditions climatiques [8].

Les quantités d'engrais à appliquer sont généralement dépendantes du type de sol, de la capacité de la plante à capter ces matières, du contenu préalable dans le sol ainsi que des cultures présentes auparavant. En plus des apports N, P et K habituels, d'autres éléments sont également indispensables au bon déroulement de la culture de la betterave comme le bore, une carence en bore entraîne une dégénérescence du collet « maladie du cœur de la betterave ».

L'engrais azoté peut être appliqué sous forme liquide avec une solution d'urée et de nitrate d'ammoniaque ou uniquement du nitrate d'ammoniaque [7]. Mais la dose d'azote reste sujette à toute augmentation en cas de fortes précipitations ou d'une mauvaise irrigation afin d'éviter l'hétérogénéité de la croissance de la betterave au sein de la même parcelle.

L'engrais potassique peut être appliqué sous la forme sulfate ou chlorure [9].

Il faut noter aussi que les quantités d'engrais appliquées ont diminué au fil des années et que cela est appelé à continuer. Cette diminution n'engendre pas d'effet négatif sur la betterave, le rendement en sucre ayant continué d'augmenter au fil du temps [10].

Pour l'irrigation, elle est fonction des besoins de la plante (7000 à 8000 m³/ha) et de la disponibilité de la ressource eau. Les irrigations d'appoints sont: Après semis, après levée et après tubérisation mais il faut maintenir le sol en état humide à partir du grossissement de la racine (stade tubérisation) et d'arrêter l'irrigation 15 à 20 jours avant l'arrachage.

La betterave a une demande absolue en eau sans quoi le rendement de production chute. Mais une alternative à l'irrigation existe et qui consiste à l'utilisation de variétés de betterave sucrière avec une tolérance à la sécheresse, pratique usuellement répandue dans les régions semi-arides pour résoudre le problème d'approvisionnement en eau [11,12,13].

Le dernier stade est l'arrachage qui consiste à extraire les racines en enlevant les feuilles, les collets et la terre attenante. Les feuilles sont laissées sur les champs où elles sont incorporées dans le sol permettant d'augmenter les nutriments pour la culture suivante [6].

L'arrachage peut être manuel, consistant à soulever les betteraves à l'aide des fourches tractées, effeuillage et décolletage à l'aide des faucilles et mise en tas des betteraves décolletées ; ou de préférence mécanique, qui consiste à un effeuillage, un décolletage, un soulèvement du sol, un décrottage et enfin un chargement sur remorque. Et il faut tout de même éviter le séjournement (au-delà de 12 h) dans ce stade [2]. La récolte des betteraves est soumise à un planning qui permet d'éviter le maximum de pertes en sucre lors du stockage [7].

1.3. Données statistiques sur la betterave :

1.3.1. A l'échelle mondiale :

L'Organisation Internationale du Sucre (ISO) table, pour 2017/18, sur une production mondiale de sucre en hausse de 7 %. Elle atteindrait un record, à 179,3 Mt, contre 167,8 Mt la campagne passée. Une augmentation entraînée par l'Inde (+ 4,5 Mt à 25 Mt), l'Union Européenne (+ 15,9 Mt à 18,6 Mt), la Thaïlande et la Chine. La consommation mondiale devrait quant à elle ne s'accroître que de 1,8 % à 174,7 Mt. Après deux années consécutives de déficit (3,86 Mt en 2016/17), l'ISO table sur un excédent de 4,6 Mt pour 2017/18. Ceci pourrait, selon l'organisation, peser sur les prix qui ont déjà perdu 33 % de leur valeur depuis le début de l'année. De son côté, F.O.Licht estime la production mondiale à 193 Mt, pour un excédent de 5,4 Mt [14].

1.3.2. A l'échelle nationale :

La superficie emblavée en betterave à sucre a connu une augmentation de l'ordre de 4% pour atteindre environ 61.000 ha pendant la campagne 2015/ 2016 contre 58.00 ha la campagne précédente [15].

La production totale de la betterave à sucre au titre de la campagne 2015/2016 a atteint 4.2 millions Tonnes, soit une augmentation de 17 % par rapport à la production de l'année écoulée [15] et le rendement moyen de la betterave à sucre est passé de 61 à 71 T/ha soit une augmentation de 16% par rapport à la campagne précédente [15].

A l'échelle régionale, la production moyenne obtenue dans le périmètre de Tadla au titre de la campagne 2015/2016 est d'environ 813.000 T soit 26% des réalisations. La superficie semis est de l'ordre de 13.040 Ha en 2015/2016 contre 11.200 Ha en 2009/2010 [16].

II. Processus de fabrication du sucre à la société SUTA :

Une fois récoltées, les betteraves sont acheminées vers l'industrie de transformation en sucre. En fonction de l'implantation de cette unité, les distances parcourues données dans la littérature sont généralement importantes, allant de 80 à 100 km pour des études réalisées au Royaume-Uni [17,18] ou aux Pays-Bas [19]. Conscient de l'impact environnemental du transport, des chercheurs [20] donnent quant à eux un rayon d'approvisionnement de maximum 50 km. Cette valeur est en accord avec les statistiques européennes de 2009 présentant une distance moyenne de 44 km [10] tout comme avec l'étude française sur les biocarburants qui situe la distance de transport entre 20 et 60 km [21]. Le moyen de transport utilisé est le camion ou le tracteur avec benne lorsque les distances sont assez courtes [7]. En fonction du pays envisagé, les distances de transport peuvent donc varier de manière significative.

II.1. Présentation de la sucrerie SUTA :

La SUTA entreprise citoyenne et engagée dans le respect de l'environnement et le développement durable de la région de Tadla est un pionnier en matière de valorisation des coproduits.

La sucrerie est une industrie de séparation, qui permet d'isoler le sucre des autres constituants de la betterave grâce à la succession de plusieurs opérations unitaires.

II.2. Etapes de fabrication de sucre

L'enchaînement des étapes d'extraction du sucre à savoir : la réception, le lavage, l'extraction, l'épuration, l'évaporation, la cristallisation et enfin le séchage et le conditionnement, sont représentés dans la figure 2, les coproduits générés sont colorés en jaune.

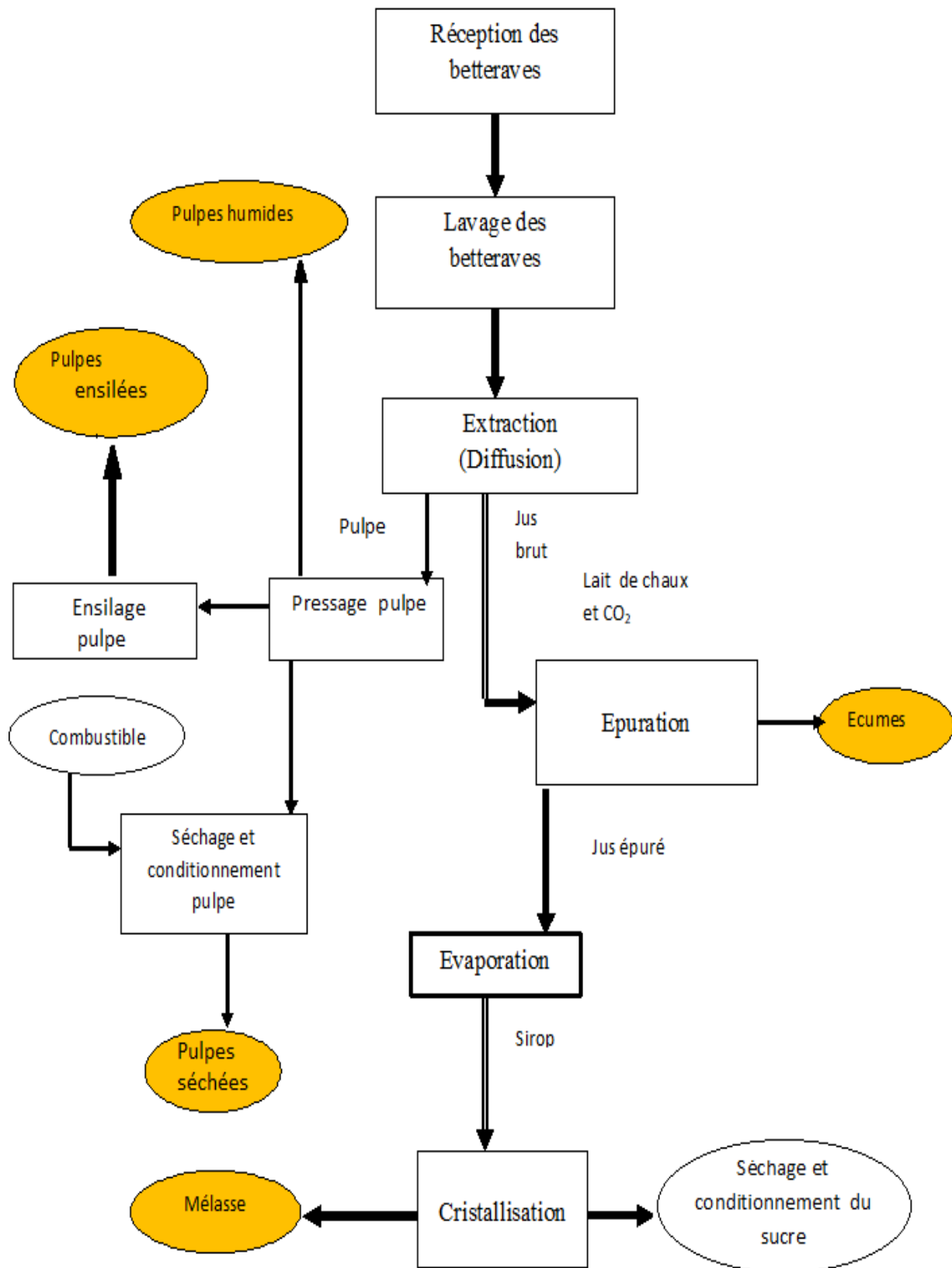


Figure.2 : Logigramme des processus sucrerie de betterave à la SUTA (COSUMAR)

II.2.1. Réception et lavage :

Une fois arrivées à l'usine de transformation, les betteraves sont transportées par convoyeurs ou par canaux d'eau pour atteindre l'installation de lavage permettant d'éliminer les impuretés extérieures et de les débarrasser de la terre qui les recouvrent et de séparer les feuilles et les pierres.

II.2.2. Extraction :

Les betteraves propres sortant du lavoir tombent dans la coupe racines dont les couteaux découpent les racines en fines lanières assez rigides appelés cosettes, ce qui permet ainsi une extraction favorable du jus par diffusion. L'extraction du sucre à partir des cellules de betterave se fait par l'opération de transfert des composés solubles de la matière première vers l'eau chaude (70-80°C) à contre-courant afin de dénaturer la membrane ectoplasmique des cellules (figure), c'est ainsi que les matières solubles du jus de betterave passent en solution à travers la membrane cellulosique perméable selon les lois de diffusion.

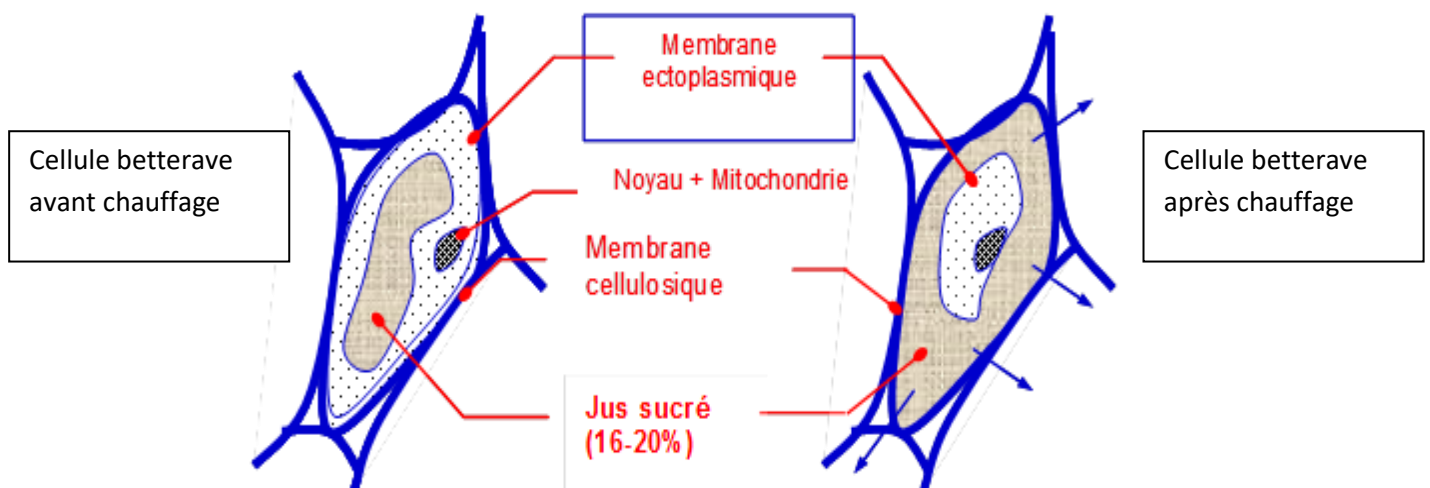


Figure.3 : Représentation schématique du phénomène de diffusion. (Source : Technologie sucrière. Processus des sucreries de betterave [2].)

II.2.3. Epuration du jus de diffusion :

Le jus obtenu après la diffusion est une solution diluée de couleur noir-grisâtre, opalescent à environ 15 % M.S. (ou 15° Brix). Ce jus acide (pH = 6) contient, outre l'eau :

- 13 à 14 % de sucre
- 1 à 2 % d'impuretés : organiques (protéines, pectines, autres sucres, acides organiques, colloïdes) et minérales : sels de Na^+ , K, Ca, Mg, etc...

Ces impuretés peuvent être enlevées en ajoutant de la chaux suivie de deux carbonatations successives qui précipitent la chaux en excès à l'aide du dioxyde de carbone. La solution restante après filtration est dénommée jus fin [6].

II.2.4. Evaporation et cristallisation :

Les étapes ultimes de concentration consistent en « évaporation » et « cristallisation ». L'évaporation permet de concentrer le jus de 13 -14 % de M.S. jusqu'à obtenir un sirop à une concentration proche de la saturation, soit 68.5 g de M.S/ 100 g.

La cristallisation permet de séparer les impuretés contenues dans le sirop dans cette opération on élimine le saccharose sous forme de cristaux alors que les impuretés restent concentrées dans le liquide pour donner en final une solution résiduelle épuisée : la mélasse.

II.2.5. Séchage et conditionnement du sucre:

Ces deux étapes parachèvent le traitement du principal composant de manière telle que :

- Le séchage permet d'éliminer une grande partie de l'eau contenue dans le sirop qui entoure le sucre.
- Le conditionnement quant à lui permet le stockage et l'emballage du sucre sous différentes formes.

III. Génération des coproduits :

En effet, l'activité d'extraction de sucre de betterave permet de générer une multitude de coproduits à savoir: les feuilles et collets, la mélasse, les écumes, la pulpe sous ses différentes formes : séchée dont on attribue le nom de pellets, pressée vrac et pressée ensilée objet du présent mémoire.

III.1. Définitions :

Diverses appellations sont utilisées pour désigner les résidus obtenus après la transformation des végétaux dans des processus dans lesquels ils sont impliqués d'où la nécessité de mettre le point sur quelques définitions.

Conformément à l'article 3 de la directive 2008/98/CE du Parlement Européen et du Conseil du 19 novembre 2008 relative aux déchets [22] on entend par:

- **Déchets** : toute substance ou tout objet dont le détenteur se défait ou dont il a l'intention ou l'obligation de se défaire.
- **Bio-déchets** : les déchets biodégradables de jardin ou de parc, les déchets alimentaires ou de cuisine issus des ménages, des restaurants, des traiteurs ou des magasins de vente au détail, ainsi que les déchets comparables provenant des usines de transformation de denrées alimentaires.
- **Traitement** : toute opération de valorisation ou d'élimination, y compris la préparation qui précède la valorisation ou l'élimination.
- **Valorisation** : toute opération dont le résultat principal est que des déchets servent à des fins utiles en remplaçant d'autres matières qui auraient été utilisées à une fin particulière, ou que des déchets soient préparés pour être utilisés à cette fin, dans l'usine ou dans l'ensemble de l'économie.
- **Recyclage** : toute opération de valorisation par laquelle les déchets sont retraités en produits, matières ou substances aux fins de leur fonction initiale ou à d'autres fins. Cela inclut le retraitement des matières organiques, mais n'inclut pas la valorisation énergétique, la conversion pour l'utilisation comme combustible ou pour des opérations de remblayage.
- **Élimination** : toute opération qui n'est pas de la valorisation même lorsque ladite opération a comme conséquence secondaire la récupération de substances ou d'énergie. Parmi les opérations d'élimination on compte :
 - le dépôt sur ou dans le sol ;
 - le traitement en milieu terrestre ;
 - l'injection en profondeur ;
 - le lagunage ;
 - la mise en décharge spécialement aménagée ;
 - le rejet dans le milieu aquatique, sauf l'immersion ;
 - l'immersion, y compris enfouissement dans le sous-sol marin ;
 - le traitement biologique aboutissant à des composés ou à des mélanges qui sont éliminés selon un des procédés indiqués auparavant ;
 - le traitement physico-chimique aboutissant à des composés ou à des mélanges qui sont éliminés selon l'un des procédés indiqués auparavant (par exemple, évaporation, séchage, calcination) ;

- l'incinération à terre ;
- l'incinération en mer ;
- le regroupement ou mélange préalablement à l'une des opérations indiquées auparavant ;
- le reconditionnement préalablement à l'une des opérations indiquées auparavant ;
- le stockage préalablement à l'une des opérations indiquées auparavant (à l'exclusion du stockage temporaire, avant collecte, sur le site de production des déchets).

- **Sous-produit** : Dans l'article 5 de la même directive, un sous-produit est défini comme une substance ou un objet issu d'un processus de production dont le but premier n'est pas la production dudit bien peut être considéré comme un sous-produit et non comme un déchet au sens de l'article 3 que si les conditions suivantes sont remplies:

- l'utilisation ultérieure de la substance ou de l'objet est certaine;
- la substance ou l'objet peut être utilisé directement sans traitement supplémentaire autre que les pratiques industrielles courantes;
- la substance ou l'objet est produit en faisant partie intégrante d'un processus de production;
- l'utilisation ultérieure est légale, c'est-à-dire que la substance ou l'objet répond à toutes les prescriptions pertinentes relatives au produit, à l'environnement et à la protection de la santé prévues pour l'utilisation spécifique et n'aura pas d'incidences globales nocives pour l'environnement ou la santé humaine [23].

- **Coproduits** : Le terme "coproduit" n'est pas défini dans la réglementation française, de même que le terme "sous-produit". La définition et l'utilisation du terme "coproduit"; relève plutôt d'un consensus entre les professionnels. Dès lors que le produit est valorisé, il sera nommé "coproduit". C'est une matière, intentionnelle et inévitable, créée au cours du même processus de fabrication et en même temps que le produit principal. Le produit fini principal et le coproduit doivent tous les deux répondre à des spécifications de caractéristiques, et chacun est apte à être utilisé directement pour un usage particulier.

Par opposition, le sous-produit est inévitable mais il a des qualités nutritionnelles variables.

Une préparation ou un traitement sont parfois nécessaires avant valorisation [24].

Les termes correspondant aux diverses définitions sont représentés de façon schématique dans la Figure 4 en y apportant quelques modifications.

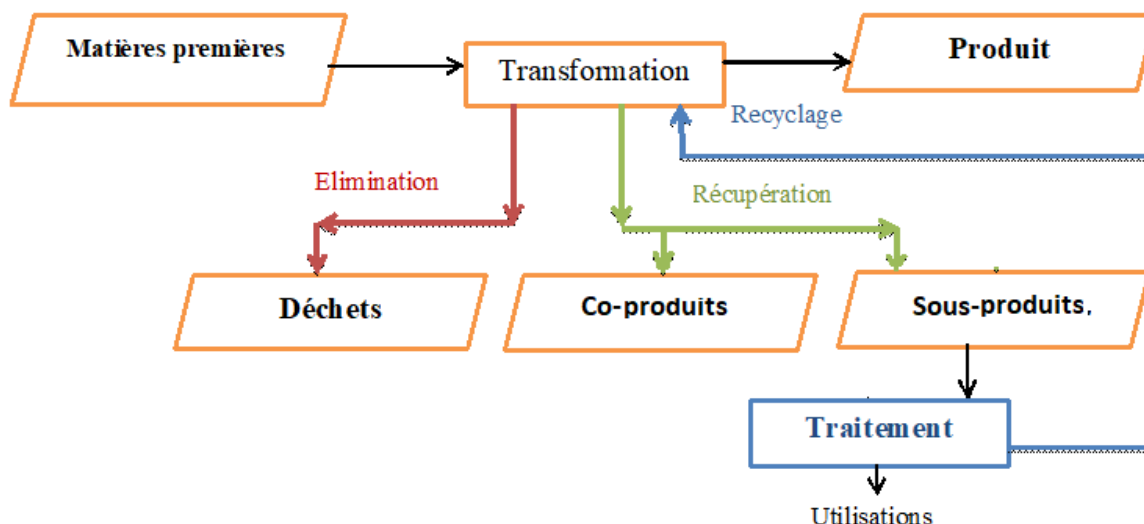


Figure. 4 : Schéma illustrant la production de résidus (déchets, sous-produits et Coproduits)

(Source : Cristina-Gabriela Grigoras 2013 [24])

Selon leurs natures et leurs qualités intrinsèques, ces productions ‘induites’ peuvent être valorisées dans l’alimentation des animaux. Ils deviennent dès lors coproduits et acquièrent le statut de matières premières.

On demande généralement aux coproduits d’avoir des qualités nutritionnelles définies (en terme de valeurs énergétique et protéique...) pouvant concurrencer les aliments ordinairement utilisés pour le rationnement, d’être sains et sûrs, sous-entendu non dangereux pour l’animal et le consommateur. Il faut également qu’ils soient issus de processus ‘transparents’, dans le sens où tous les adjuvants de production doivent être connus.

III.2. Coproduits générés :

La betterave sucrière a de quoi surprendre, en plus de ses richesses en sucre elle possède en effet d’autres ressources intéressantes, sous forme de coproduits (feuilles, collets, écumes, mélasse et pulpes) issus du procédé d’extraction du sucre et qui disposent de champs d’application variés.

III.2.1. Feuilles et collets :

Lors de la récolte de la betterave pour la production de sucre, seules les racines sont utilisées. Les feuilles et les collets de betterave peuvent être récupérés et connaître une valorisation soit par restitution au sol, soit incorporation dans la ration des ruminants. Etant riches en acide oxalique (2 à 3 % de la MS), ils peuvent entraîner des troubles rénaux ou une hypocalcémie [26] . Il s’agit d’un produit dont la composition est variable surtout en ce qui concerne la

teneur en minéraux. Sa teneur en potassium est élevée et tandis que son pourcentage en cellulose est faible [27].

La quantité de feuilles produites est non négligeable elle peut constituer une source importante de protéines et en particulier de rubisco. Ce complexe protéique se retrouve dans beaucoup de plantes telles que la luzerne, les pois, les herbes, etc. Il possède des qualités nutritionnelles importantes qui pourraient sans doute concurrencer les protéines du soja [28].

Outre cet aspect, le jus des feuilles après extraction possède aussi des molécules intéressantes. D'autres possibilités existent donc pour les feuilles autres que de les laisser sur champ [29].

Les caractéristiques des feuilles et des collets sont présentées dans le Tableau.

Tableau.1 : Caractéristiques des feuilles et collets.

| Caractéristique | Unité | Feuille & Collet | |
|--------------------|-----------|------------------|------|
| | | Propre | Sale |
| Matière sèche | % | 17 | 17 |
| Matières minérales | % MS | 24 | 28 |
| MAT6 | % MS | 15 | 13 |
| Cellulose brute | % MS | 15 | 11 |
| Calcium | g/kg MS | 11 | 13 |
| Phosphore | g/kg MS | 2 | 2 |
| Potassium | g/kg MS | 30 | 30 |
| Sodium | g/kg MS | 8 | 8 |
| UFL | par kg MS | 0,87 | 0,79 |
| UFV | par kg MS | 0,85 | 0,76 |

(Source : Besancenot & al. [27])

III.2.2. Ecumes :

Les écumes sont composées d'environ 23 % d'oxydes de calcium. Elles possèdent des qualités agronomiques qui en font un amendement calcique couramment utilisé [26].

Ce sont les Carbonates de chaux provenant de la purification du jus avec de la chaux vive (CaO) et du dioxyde de carbone (CO₂). Elles sont principalement composées de carbonate de calcium précipité ainsi que d'éléments minéraux et des matières organiques issus de la betterave sucrière. Les écumes sont commercialisées comme amendement du sol en raison de leur action neutralisante sur les sols acides et de leurs facultés à améliorer la structure des sols.

III.2.3. Mélasse :

La mélasse est le résidu sirupeux recueilli lors du raffinage du sucre. La teneur en matières sèches se situe entre 70 et 76 %. La teneur en cellulose brute et en matières grasses est faible. Elle contient des sucres totaux, essentiellement du saccharose, à hauteur de 59 à 70 % de la matière sèche. La moitié de la matière organique du « non sucré » de la mélasse correspond à des matières azotées totales solubles (8 à 15 % de la MS) dont une majeure partie se trouve sous forme de bétaine (5 à 7 % de la MS) [10].

La mélasse est couramment utilisée dans l'alimentation des ruminants et des chevaux, en mélange avec de la paille ou d'autres aliments cellulosiques tels que le son, ou comme liant dans les rations complètes ou encore pour favoriser l'ingestion d'aliments peu appétibles (foins moyens, paille...).

Diverses fermentations industrielles de la mélasse permettent de produire des acides : acide glutamique, acide citrique, acide lactique, acide oxalique, acide malique, acide acétique ainsi que des antibiotiques, etc. L'acide citrique est utilisé en alimentaire mais aussi comme base pour des détergents et des produits pharmaceutiques. La mélasse est aussi utilisée pour la production de levures de boulangerie ou comme substitut pour la production de levures, d'acides aminés ou de protéines [26].

L'utilisation de la mélasse de la betterave sucrière est très flexible. Elle peut être incorporée dans les aliments composés du bétail en quantité limitée (moins de 10%) comme liant et/ou comme apport d'énergie. C'est un aliment qui est très rapidement, et complètement, fermenté dans le rumen. Elle peut constituer la base de la ration pour les ruminants à raison de plus de 70% de la ration [30] mais dans ce cas la conduite des animaux est différente et la gestion du troupeau doit être assurée avec beaucoup de soin. Une quantité minimum de fourrages grossiers est alors vitale pour assurer le fonctionnement physique normal du rumen [31].

Cependant, il n'a jamais été possible d'incorporer d'aussi hauts niveaux de mélasse dans la ration des vaches laitières que dans celle des bovins à l'engraissement. La raison en est que des rations à fortes proportions de mélasse produisent une quantité insuffisante de glucose et de précurseurs du glucose (peu de propionate et beaucoup de butyrate) dans les produits terminaux de la digestion ruminale [32]. La mélasse qui est un excellent support de l'urée de comme source d'azote non protéique pour les ruminants peut être facilement utilisée comme complément alimentaire et distribuée aux petits paysans quand elle est présentée sous de blocs

multi-nutritionnels [33,34]. La mélasse a été aussi souvent utilisée comme facteur de réussite des ensilages. En fait cette utilisation ne peut se justifier que pour des ensilages réalisés en conditions difficiles ou comportant un pourcentage très élevé de légumineuses [35].

III.2.4. Pulpes :

Lors de la transformation de la betterave en sucre apparaissent les pulpes de betteraves.

La pulpe, constituée par les cossettes de betterave, est obtenue après épuisement du sucre à l'eau chaude à une température de 70°C. Elle se caractérise par une teneur en MS très faible, de l'ordre de 10 à 12 %, et par une température élevée atteignant 55 à 60°C. La pulpe est souvent considérée comme un aliment à part entière et non de remplacement faisant partie du système alimentaire au même titre que l'ensilage de maïs. C'est pourquoi la pulpe est pressée en vue d'éliminer une partie de l'eau qu'elle contient et de faciliter son transport et sa conservation par ensilage [36]. Une augmentation de la matière sèche des pulpes pressées garantit une qualité sanitaire et une présence réduite en spores butyriques.

La température de la pulpe est un bon critère d'appréciation de sa qualité. Le pH de la pulpe pressée à la sortie de l'usine est compris entre 5 et 5,5. La pulpe contient peu de sucres solubles, 5 % en moyenne avec des extrêmes de 0,4 à 11 %. Il faut donc tirer parti rapidement de ces sucres résiduels pour garantir l'acidification lactique de la masse ; celle-ci, favorisée par la température, se fait très vite dans les 48 heures suivant la mise en silo [37].

Conclusion :

La betterave est une plante très riche en nutriments en l'occurrence le sucre qui représente le produit fini objet de l'industrie sucrière. Le procédé suivi débute par la réception de la betterave et va jusqu'au séchage du sucre en passant par l'extraction, l'épuration, l'évaporation, la cristallisation. En plus du sucre, cette industrie engendre d'autres coproduits: écumes, feuilles, mélasse et pulpes, dont les domaines d'utilisation sont vastes.

Chapitre 2 : Pulpes de betterave :

Introduction :

Les pulpes de betterave représentent un coproduit de valeur pour l'industrie sucrière. De par leur faible teneur en lignine et élevée en cellulose, elles sont utilisées principalement dans l'alimentation animale sous ses différentes formes : pressées, séchées, ensilées.

I. Données sur la pulpe de betterave :

I.1. Composition de la pulpe :

La pulpe surpressée a une composition relativement stable mais qui peut toutefois varier selon l'origine géographique et les années [38].

Elle présente une teneur moyenne en matière sèche de l'ordre 19 à 32% à la sortie des presses, les valeurs mesurées de cellulose présente très peu de variations autour d'une valeur moyenne de 20%. Les analyses plus fines de fractionnement montrent que l'ensemble des parois végétales des pulpes surpressées correspondent à plus de la moitié de la MS (NDF environ 52%), mais les teneurs en lignine sont très faibles de l'ordre de 2% conférant à cette parois une bonne digestibilité. Le taux des sucres résiduels dans la pulpe de betterave est de 3 à 5% de MS. Les teneurs en MG sont très faibles de l'ordre de 1% de la MS. La teneur en matières minérales présente une moyenne observée se situant entre 6.5 et 13.5% de la MS.

Comparativement aux autres aliments disponibles pour le rationnement des ruminants, la pulpe apparaît comme un aliment riche en calcium : elle peut avoir entre 10 à 30 g/Kg de MS. En revanche la pulpe de betterave est très pauvre en phosphore, en zinc et cuivre et assez bien pourvues en potassium, sodium, manganèse et magnésium. La teneur en soufre est de l'ordre de 1 g/Kg de MS [39]. Les constituants de la pulpe sont présentés dans le Tableau 2 ainsi que les valeurs nutritives associées.

Tableau 2 : Composants de la pulpe de betterave sucrière.

| Caractéristique | Unité | (Besancenot <i>et al.</i> , 1988) [40] | (Legrand, 2005) |
|--------------------|-----------|---|-----------------|
| Matière sèche | % | 22 | |
| Matières minérales | % MS | 9 | |
| MAT | % MS | 10 | 1,6 |
| Cellulose brute | % MS | 20 | 21 |
| Calcium | g/kg MS | 15 | 1 |
| Phosphore | g/kg MS | 1 | 0,1 |
| Potassium | g/kg MS | 8 | 0,5 |
| Sodium | g/kg MS | 1 | 1 |
| Matières grasses | % MS | 1,5 | 1 |
| Magnésium | g/kg MS | 1,5 | 0,25 |
| Soufre | g/kg MS | 2 | |
| Manganèse | mg/kg MS | 50 | |
| Cuivre | mg/kg MS | 5 | |
| Zinc | mg/kg MS | 19 | |
| Aluminium | mg/kg MS | 700 | |
| UFL | par kg MS | 1,01 | 1,040 |
| UFV | par kg MS | 0,99 | 1,114 |

I.2. Données statistiques sur la pulpe :

En Belgique, la pulpe de betterave appartient à l'agriculteur betteravier. Si l'on considère qu'un hectare de betterave produit aujourd'hui plus de 65 t/ha de racines, cela signifie que, parallèlement à la production de sucre brut (> 10 t/ha), le betteravier produit, sur la même surface et sans frais directs supplémentaires, un aliment de grande valeur pour le bétail. En effet, un hectare de betterave produit également plus de 33 t de pulpe humide (> 10 % de MS), ou plus de 13,5 t de pulpe surpressée (22 % de MS) ou plus de 3,3 t de pulpe séchée (\pm 90 % de MS). La Belgique produit actuellement plus de 240.000 t de pulpe humide, plus de 1.200.000 t de pulpe surpressée et plus de 35.000 t de pulpe séchée, soit un total d'environ 330.000 t de matière sèche de pulpe par an. La tendance actuelle est à l'augmentation de la part produite sous la forme de pulpe surpressée [38].

Le développement de la pulpe surpressée est allé de pair avec la réduction des quantités de pulpe à sécher, et donc avec la réduction des coûts énergétiques en sécherie.

I.3. Utilisations des pulpes :

Les voies d'utilisation de la pulpe de betterave sont vastes, elles peuvent être destinées aux animaux sous forme d'aliment, comme elles peuvent avoir des débouchés non alimentaires.

I.3.1. Utilisations alimentaires de la pulpe de betterave:

La pulpe de betterave est considérée par la grande majorité des éleveurs utilisateurs comme un excellent aliment du fait de son grand intérêt alimentaire (argument souvent mis en avant par les éleveurs laitiers), de sa bonne conservation par ensilage et de son appétence. Enfin, son effet galactogène est un atout indéniable. C'est un aliment qui a fait l'objet de nombreux travaux d'étude et d'essais zootechniques. Il est donc très bien connu, tant par sa composition, que par sa valeur alimentaire et son mode d'utilisation dans le rationnement des ruminants.

Les pulpes de betterave contiennent de la cellulose permettant de remplacer l'utilisation de céréales pour l'alimentation animale [40,7], aussi elles sont composées d'hémicelluloses et de pectines.

Le taux de cellulose brute des pulpes est important, la teneur en lignine et en matières azotées est relativement faible et varie entre 1,5 et 2,5 %. La pulpe de betterave surpressée est riche en calcium mais dépourvue de carotène et de vitamine A ; ses teneurs en phosphore, cuivre, manganèse et zinc sont faibles.

a. Utilisation par les vaches laitières :

La pulpe de betterave pressée est un aliment galactogène car son introduction dans une ration stimule la production laitière et peut améliorer les performances laitières.

De nombreux essais zootechniques [41] indiquent que la pulpe de betterave permet d'obtenir de bonnes performances laitières avec un régime contenant 7 à 8 kg de MS de pulpe en association avec un ensilage de maïs (ou de graminées), on constate généralement une augmentation de la production de lait brut et une baisse du taux butyreux de l'ordre de 2 à 3 points, par rapport à une ration sans pulpe. Avec des apports dépassant 10 kg MS de pulpe, il n'est pas rare de voir le taux butyreux chuter à 3%, voire en dessous. Le taux protéique est généralement bon, de l'ordre de 3,3 à 3,4 %.

D'ailleurs de manière à connaître les effets de la pulpe de betterave pressée sur les performances zootechniques des vaches laitières, plusieurs études ont été réalisées :

L'étude de Heuchel V. & al. [42] qui a montré que suite à un régime alimentaire composé de deux rations: une ration témoin composée d'ensilage de maïs à volonté + 1 kg de foin de prairie (+ complémentation concentrée énergétique et azotée) et une ration expérimentale composée d'ensilage de maïs à volonté + 1 kg de foin de prairie + 6 kg de MS de pulpe de betterave pressée de bonne qualité et bien conservée, les vaches recevant la ration "ensilage de maïs + pulpe pressée" ont produit 2,8 kg de lait en plus par jour (lait brut moyen = 23,6 kg/jour) avec un taux protéique moyen supérieur de 2,7 g/kg (TP moyen = 31,7 g/kg).

L'étude de Morel d'Arleux F.& al. [43], dont l'objectif était de comparer les effets d'un apport de pulpe de betterave pressée à environ 22 % de MS sur l'ingestion et les performances de vaches laitières en phase descendante de lactation. Le régime était à base d'ensilage de maïs de bonne qualité (34 % de MS) distribué avec ou sans pulpe. Deux lots de 15 vaches Prim'Holstein ont été suivis pendant 105 jours.

L'apport de pulpe de betterave n'a pas modifié l'ingestion totale : 19,5 kg MS/j/vache pour le lot "Ensilage de maïs seul" vs. 19,7 kg MS/j/vache pour le lot "Ensilage de maïs + Pulpe".

Et comme résultat, la production laitière du lot recevant de la pulpe (26,4 kg/j/vache) est supérieure de 3 kg/j/vache à celle du lot "Ensilage de maïs seul".

Une autre étude de Morel d'Arleux F. & al. [44], qui a prouvé encore une fois l'effet galactogène de la pulpe pressée puisque dans cette expérience les vaches recevant une ration constituée d'ensilage de maïs et de pulpes surpressées ont produit plus de lait en moyenne que les vaches ne recevant que de l'ensilage de maïs : + 5,2 kg/jour (avec une production moyenne de 32,1 kg/jour). Aussi le taux protéique moyen obtenu par les vaches du lot "ensilage de maïs + pulpes surpressées" s'établit à 30,2 g/kg et est supérieur de + 0,7 g/kg à celui réalisé par le lot "ensilage de maïs".

Les résultats montrent également que les besoins énergétiques des vaches du lot "ensilage de maïs + pulpes surpressées" ont été correctement couverts alors que les animaux du lot "ensilage de maïs" ont subi une sous- alimentation énergétique d'environ 2,5 UFL/jour. Ces résultats peuvent expliquer les écarts de production laitière et de TP entre les deux lots.

b. Utilisation par les vaches allaitantes :

La pulpe de betterave est un aliment riche en énergie et peu encombrant, est facilement surconsommée par les vaches allaitantes. L'énergie de la pulpe pressée provient des hydrates de carbone de la paroi et des contenus cellulaires, qui se dégradent lentement et de manière constante dans la panse [45].

Toutefois il faut bien rationner la pulpe dans un régime alimentaire, son ingestion doit être limitée à 5 kg MS/jour/vache. Sa distribution doit s'accompagner d'un apport de fourrage grossier distribué à volonté (paille) et d'un complément azoté (azote non protéique type urée), vitaminique et minéral [46].

c. Utilisation par les ovins (cas des brebis) :

Si les brebis sont à l'entretien, l'objectif est d'apporter environ 0,75 à 0,80 UFL/jour et 60 à 65 g de PDI, ce qui peut être satisfait par un apport de 2,5 kg de pulpe surpressée et 0,4 - 0,5 kg de foin de luzerne [46].

En fin de gestation, les recommandations alimentaires s'élèvent à 1 à 1,2 UFL/jour et 100 à 130 g de PDI, suivant le format des brebis et leur prolificité. Les consommations journalières de pulpe de betterave pressée sont rationnées à 1 kg de MS. Du foin ou de la paille doivent également être distribués à raison de 0,5 kg/jour environ. On préférera un foin de luzerne qui contribuera à la complémentation azotée de ce type de ration. La distribution de 0,4 à 0,5 kg de concentré contenant 0,1 à 0,3 kg de tourteau suivant la prolificité est conseillée [46].

Les besoins des brebis en lactation sont beaucoup plus élevés : entre 1,5 et 2,3 UFL/jour et 200 à 270 g de PDI/jour suivant le mode d'allaitement. Les consommations de pulpe de betterave pressée sont généralement comprises entre 1 et 1,2 kg de MS/jour, soit 5 à 6 kg brut/jour. Au cours du second mois, lorsque l'appétit de la brebis est maximum, des distributions de plus de 6 kg brut de pulpe sont possibles. Ces rations doivent être complétées avec du foin (de luzerne de préférence) à raison de 1 à 1,5 kg/j. Un apport de concentré au cours du second mois est conseillé : 0,5 à 0,8 kg/j dont 0,1 à 0,3 kg de tourteau en fonction du nombre d'agneaux allaités [46].

d. Utilisation par les caprins :

La pulpe de betterave surpressée peut représenter 30 % de la MS totale ingérée, quel que soit l'état physiologique des chèvres [46]. C'est le seul aliment riche en cellulose qui n'entraîne

pas de refus de la part des chèvres. Très appétente, elle est en effet consommée sans difficulté et ne fait pas l'objet d'un tri.

L'acidose, due à une production trop élevée d'acides dans le rumen, survient fréquemment chez la chèvre. Elle est favorisée par une consommation importante d'aliments concentrés riches en amidon et en sucres. Parce qu'elle est riche en cellulose lentement dégradée, la pulpe limite ces risques et contribue à une meilleure valorisation de la ration [47].

e. Utilisation par les lapins :

La bonne valorisation de la pulpe de betterave pour la croissance du lapin, par rapport à des sources de fibres moins digeste, a été remarquée dès 1980 par Franck et Seroux [48]. Des études menées sur les lapins [49] et [50] ont montré l'apport bénéfique et énergétique de la pulpe de betterave et les résultats d'ingestion et de croissance ont permis de vérifier le bon statut physiologique des animaux, ainsi que le bon niveau d'ingestion des aliments à base de pulpe durant les expériences.

f. Utilisation par bovins à l'engraissement :

L'étude de l'utilisation de pulpe de betterave en substitution des céréales a permis d'augmenter nettement la production de viande tant du point de vue quantitatif que qualitatif. Ceci est probablement à relier à un meilleur fonctionnement ruminal dû à la substitution d'un fort taux de céréales dans la ration par des pulpes de betterave [51].

Introduire de la pulpe sèche dans les rations a conduit à des performances comparables à celles obtenues avec des céréales. La croissance est ainsi maintenue et l'indice de consommation n'est pas modifié. En plus, par la qualité de l'énergie qu'elle fournit, la pulpe sèche, lorsqu'elle représente une part importante de la ration, améliore la composition des carcasses qui présentent alors un pourcentage de gras plus faible.

Cette bonne qualité des viandes est un avantage certain pour l'éleveur qui pourra par la suite mieux valoriser sa production.

I.3.2. Utilisations non alimentaires de la pulpe de betterave :

Les pulpes peuvent être valorisées pour leur contenu « matière » ou « énergétique » : elles peuvent être utilisées comme apport sur les champs, être séchées et utilisées pour produire de la chaleur, transformées par digestion anaérobie en méthane pouvant à son tour servir de

combustible pour l'installation ou encore être utilisées pour la production d'hydrogène [52,20,40,53].

a. Traitement des eaux par adsorption:

Des études ont été menées pour évaluer les propriétés adsorbantes de la pulpe pour le traitement des eaux. Il semble que la quantité de cations adsorbés dépend du métal, elle est très faible pour le nickel mais plus importante pour le cuivre et le plomb [54]. L'étude de la fixation de cations métalliques divalents (Ca^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} et Zn^{2+}) par la pulpe de betterave native et modifiée a été entreprise par [55,56,57] afin d'évaluer les potentialités d'utilisation comme résine échangeuse d'ions dans le secteur de la dépollution des eaux chargées en métaux lourds. Sa teneur élevée en pectines (polysaccharide anionique) confère à la pulpe de betterave une importante capacité d'échange cationique.

b. Ressources lignocellulosique pour matériaux de construction:

L'utilisation de ressources lignocellulosiques à savoir la pulpe de betterave sucrière connaît à l'heure actuelle un indéniable regain d'intérêt pour l'élaboration de matériaux de construction appelé les agrobétons [58]. Leurs propriétés isolantes et plastifiantes les rendent intéressantes pour le domaine du bâtiment [59].

Des chercheurs d'Amiens ont montré qu'il est possible de remplacer le sable fin dans du béton ou des panneaux isolants acoustiques (murs anti-bruits le long des routes) par des pulpes de betterave. Le mélange se fait à froid avec des pulpes fraîches, ce qui permet un traitement à faible coût [60].

c. Fabrication du papier :

Les pulpes de betterave améliorent les propriétés mécaniques et optiques du papier. L'idée de l'utilisation de la pulpe de betterave dans l'industrie papetière ne date pas d'hier puisque de nombreux auteurs ont cherché et innové dans ce volet [61,62].

La valorisation de la pulpe de betterave dans le monde papetier offre donc des débouchés industriels intéressants [63].

d. Absorbant :

Une autre application des pulpes de betterave consiste en litière pour chats.

Elles peuvent également servir d'élément absorbant dans les langes jetables pour bébé ou dans les litières d'animaux de compagnie [38].

e. Biopolymère :

Aux Etats-Unis, des chercheurs soutenus par l'ARS (Agricultural Research Service) ont trouvé de combiner la pulpe avec du PLA dans une extrudeuse double vis pour proposer un nouveau matériau composite, thermoplastique et biodégradable. Le taux d'incorporation peut même être poussé jusqu'à 50% pour l'obtention d'un matériau qui aura des propriétés mécaniques similaires au polystyrène ou au polypropylène dans des applications d'emballage alimentaire (barquettes opaques, pots de yaourt). Les chercheurs affirment que cette association permet de proposer un polymère à un coût inférieur à celui du PLA pur.

L'ARS est une agence de recherche américaine fondée en 1953 et gérée par le département américain de l'agriculture (USDA) [64,65].

La transformation des constituants des végétaux en matériau permet de définir une nouvelle classe de biocomposites, les agromatériaux, caractérisés par le fait qu'ils sont constitués d'un mélange d'une matrice biodégradable formée de biopolymères (amidon, protéines, pectines, hémicelluloses, lignines, etc...) et de fibres végétales plus ou moins raffinées (fibre lignocellulosique, cellulosique). Cette transformation met en jeu trois étapes principales de procédé : le fractionnement mécanique ou thermomécanique des fibres brutes, la thermoplastification des biopolymères, et l'assemblage ou le mélange des deux fractions. Les deux premières étapes peuvent menées séparément sur les ingrédients extraits des matières premières végétales, avant leur assemblage, ou simultanément, in situ dans une matière première qui contient des fibres et les biopolymères.

Cette dernière stratégie a été développée avec succès pour l'obtention de différents types d'agromatériaux grâce à la mise en œuvre de la technologie bi-vis. Les agromatériaux de type thermoplastique, obtenus à partir de pulpe de betterave en sont un exemple particulièrement significatif [66].

f. Production de la bioénergie :

L'épuisement des combustibles fossiles non renouvelables est une problématique future internationale. Le recours aux énergies renouvelables (l'énergie solaire, l'énergie éolienne, la bioénergie, l'hydroélectricité, l'énergie des vagues et l'énergie géothermique) a pour objectif de limiter la dépendance actuelle aux ressources fossiles, minimiser la production de déchets et des émissions de dioxyde de carbone [67,68].

La bioénergie provient directement de la biomasse, une ressource d'énergie dérivée des déchets carbonés de diverses activités humaines et naturelles, comme les arbres morts, les

cultures abandonnées, les sous-produits de l'agriculture et les principales pièces de déchets ménagers. La façon la plus populaire d'utiliser la biomasse est la combustion. Aux États-Unis la biomasse constitue également la seule alternative renouvelable pour le carburant de transport liquide [69].

Les produits les plus utiles de la biomasse comprennent le méthane, le méthanol, l'éthanol et d'autres biocarburants. Parmi eux, le méthanol peut être utilisé pour fabriquer d'innombrables produits industriels et de consommation comme les textiles synthétiques, les plastiques recyclables et le biodiesel et ainsi de suite. De nouvelles applications pour le méthanol se retrouvent tout le temps.

La valorisation énergétique de la pulpe de betterave sucrière autant que bioénergie précieuse productrice du méthanol d'une manière économiquement faisable a bien été montré dans la littérature et l'étude de wang [70] on est la preuve. Et ce grâce à sa teneur en pectine (groupement de polysaccharides étroitement associés des parois cellulaires primaires et des régions intercellulaires) dont la caractéristique dominante est une chaîne linéaire d'unités d'acide D-galacturonique à liaison α - (1,4) dans lesquelles des proportions variables des groupes acides sont présentes sous la forme d'esters méthoxy (méthyliques)[71].

La pulpe de betterave sucrière sèche contient 55% ~ 62% de pectine qui contient à son tour 9% ~ 10% de groupe latéral méthyle. Les groupes latéraux méthyle sont estérifiés avec des groupes acide carboxylique dans la pectine. Par conséquent, l'hydrolyse du groupe ester donne du méthanol [72].

Selon la CGB (Confédération Générale des planteurs de Betteraves 2015 en France) la pulpe de betterave produit plus de 600 m³ de biogaz par tonne de matières organiques [73].

IV. Valorisations de la pulpe de betterave :

Dites "fraîches", ou "humides", les pulpes sont rapidement employées par le monde agricole, principalement pour l'alimentation des ruminants. Les pulpes pressées peuvent être consommées en l'état, impérativement dans les 48 heures. En effet, à la sortie des presses, la pulpe encore chaude est instable et commence à fermenter, ces fermentation consomment d'abord les sucres solubles puis les matières celluloses, dégageant au bout de 2 à 3 jours, en milieu aérobie, des odeurs nauséabondes et entraînant un échauffement de la masse. Les pulpes est alors difficilement consommable [46].

Les pulpes pressées avec 24 à 30 % de matière sèche sont destinées à l'ensilage pour une conservation plus longue. Enfin, les pulpes déshydratées, ou pulpes sèches, c'est-à-dire totalement vidées de leur eau avec 90 % à peu près de matière sèche, sont transformées en bâtonnets ou granulés simples à manipuler appelées pellets et conditionnés en sacs.



Figure.5 : Pulpes de betterave sucrière humide pressée
(Source : la sucrerie : SUTA)

IV.1. Conservation par séchage :

Le séchage des aliments est l'une des plus anciennes méthodes de conservation. La déshydratation a toujours su occuper une place particulière. Elle se distingue par la simplicité de sa réalisation, de la facilité et de la durée importante de stockage qu'elle engendre. Bien qu'elle soit vieille, cette méthode souffre souvent de la mauvaise qualité du produit fini. Les modifications texturales engendrées par l'opération peuvent souvent être couplées à des dégradations chimiques, thermochimiques ou enzymatiques (oxydation, réactions de Maillard...) ou microbiologiques (fermentation...). Le contenu nutritionnel peut également être affecté. Des lipides se dégradent, des protéines deviennent plus difficilement assimilables, des vitamines disparaissent, des fonctionnalités antioxydantes diminuent. En revanche, cette technique de conservation permet d'augmenter leur durée de vie des produits, de diminuer leur coûts de transport et de faciliter leur manutention et leurs transformations ultérieures [74,75].

La méthode la plus utilisée dans l'industrie pour la déshydratation est le séchage à l'air chaud, avec différents types de séchoirs [74,75]. En fonction des caractéristiques de la matière

première et du produit final certaines conditions sont nécessaires pour réaliser le séchage et divers paramètres interviennent dans la qualité du produit sec.

a. Description de la technique de séchage à la SUTA :

Les pulpes sortent des presses fortement hydratées, leur humidité est variable, en fonction des capacités des presses à pulpe et des caractéristiques physiques des pulpes qui changent avec la qualité de la betterave et les conditions de conduite de la diffusion (adjuvant de pressage, température, le pH, le découpage,...). Cette humidité varie entre 70 et 90 %.

Dans le séchage, la pulpe humide est brassée par un courant parallèle de gaz chaud qui permet de la débarrasser d'une quantité importante d'eau. La pulpe est séchée à un taux de matière sèche de 87 à 88 %. A ces matières sèches, la pulpe peut se conserver dans les conditions ambiantes à l'abri des dégradations biochimiques.

Les pulpes pressées prennent la forme de pellets cylindriques de 18 ou 22 mm de diamètre et 50 à 80 mm de longueur, par passage dans des presses à pellets équipées de filières, ce qui permet une réduction de volume. Les densités apparentes des pellets est de 0.6. D'où une réduction des coûts de stockage et de transport.

Les pellets à la sortie des presses d'agglomération, sont refroidis et ensachés généralement dans des sacs en polyéthylène de 50 kg environ à l'ensachage.



Figure.6 : pulpe de betterave sucrière déshydratée (séchée) : pellets.

(Source : la sucrerie SUTA)

Les pellets sont utilisés pour l'alimentation animale, en particulier aux ruminants. L'unité fourragère de la pulpe est d'environ 0,9 (1kg d'orge équivalent à 0,9 kg de pellets). Les combustibles utilisés sont soit du fuel lourd N°2, l'antracite et le charbon gras, le gaz méthane,.... L'industrie de séchage est une grande consommatrice d'énergie, l'obtention d'une tonne de pulpe sèche nécessite la consommation de 1500 à 2000 thermies, suivant les moyens d'économie d'énergie installés et l'optimisation de la conduite des fours à pulpe.

b. Four à pulpe :

Le four à pulpe classique est constitué essentiellement par :

- Une chambre de combustion appelée foyer garni de briques réfractaires, équipée de système de pulvérisation ou d'injection dans le cas des combustibles liquides ou gaz, ou d'une grille mobile pour les combustibles solides.
- Un ventilateur d'air de combustion
- Un tambour rotatif calorifugé, équipé de chicanage interne pour la dispersion et l'avancement de la pulpe. (sècheur).
- Un ventilateur de tirage entraînant les pulpes sèches et les gaz chauds vers la sortie.
- Cyclones de séparation gaz et pulpe et cyclones de dépoussiérage.
- Circuit d'extraction de la pulpe sèche sortie four, soit en pneumatique soit par vis d'Archimède.
- Des équipements de contrôle, de régulation et de sécurité.
- Les sécurités sont installées pour préserver le four contre l'incendie, sécurité d'excès de température foyer et sortie pulpe, sécurité d'arrêt de ventilateur. Si malgré toutes ces sécurités un incendie se déclarait il y a arrêt d'alimentation du combustible avec les ventilateurs d'air et l'injection de vapeur à l'entrée et à la sortie du tambour pour étouffer le feu.

c. Atelier de conditionnement :

L'atelier de conditionnement est constitué par :

- Malaxeurs et vis d'Archimède de distribution de la pulpe sèche.
- Presses à pellets.
- Refroidisseur à pellets et cyclones de dépoussiérage..
- Equipements de pesage, d'ensachage et de couture de sacs.

Bilan succinct d'une sécherie :

Pour suivre l'évolution du rendement des fours, des bilans matière et thermique sont faits régulièrement pour maîtriser la consommation du combustible et minimiser les pertes de pulpe par les brûlés et assurer la conservation des pellets.

d. Types de sécheurs :

Différents types de sécheurs peuvent être utilisés :

- Sécheurs classiques à foyer haute température (900 à 1000 °C), avec recyclage des fumées sortie fours, jusqu'à 30 % donnant un gain de 5 à 6 % fuel.
- Sécheurs classiques à foyer haute température, avec recyclage des gaz de chaudières (185 à 200 °C) qui remplacent l'air de dilution, ce qui permet un gain jusqu'à 6 % .
- Sécheurs avec détente de la vapeur HP, si énergie électrique disponible.

Pour l'économie d'énergie, on peut procéder comme suit :

- Sécheurs utilisant les eaux chaudes du processus.
- Pré séchage solaire.
- La récupération de la chaleur sensible des pulpes sèches.

IV.2. Conservation par ensilage :

L'ensilage se définit comme la conservation du matériel humide (organique alimentaire) par une acidification anaérobie due à l'action de microorganismes [75,76]. L'agence Française de sécurité sanitaire des aliments AFSSA [36] définit l'ensilage comme étant à la fois :

- La technique de conservation des aliments par voie humide, faisant appel à l'anaérobiose et à une fermentation acidifiante à dominante lactique afin de minimiser les pertes de matière sèche, de valeur alimentaire et d'éviter le développement de micro-organismes indésirables.
- Le produit fini, stabilisé grâce à un pH acide et variablement conditionné (silo taupinière, silo couloir, silo boudin ou balles enrubannées).

Le but de l'ensilage est de minimiser les pertes en matière sèche et en valeur nutritive, mais aussi d'éviter le développement d'une population microbienne indésirable productrice de composés dont l'ingestion par l'animal aurait des conséquences néfastes sur sa santé. L'ensilage est une fermentation anaérobie qui se réalise à température ambiante. Elle fait intervenir des bactéries lactiques qui se développent en produisant de l'acide lactique.

L'acidification rapide du milieu stoppe le développement des microorganismes pétrifiants, et l'anaérobiose interdit la croissance des champignons aérobies [77].

a- Description de la technique de d'ensilage à la SUTA :

Au niveau de la SUTA l'ensilage de la pulpe pressée s'effectue par le biais de deux machines : une capable d'ensiler une quantité de 450 Kg sous forme de balles rondes de pulpe et l'autre ensile une quantité de 50 Kg en sacs.

- Pour la machine à balle (450 Kg), (figure 7) elle est de marque AGRONIC MR 810, elle offre une grande capacité de production de balles rondes de pulpe qui sont faciles à manipuler et à transporter. Elle produit entre 40 et 50 balles par heure. Il nécessite une faible puissance, de sorte qu'il peut être utilisé avec un tracteur d'une puissance allant jusqu'à 70 chevaux. Le recouvrement individuel des balles est généralement réalisé par la machine qui fait pivoter la balle sur un plateau tournant. L'opérateur commence par fixer l'extrémité du film plastique sous la corde lieuse, procède à l'enrubannage, puis libère la balle en coupant le film plastique. L'idéal est que le plastique adhère le plus possible aux balles et que celles-ci soient solides, c'est-à-dire qu'elles n'aient pas tendance à s'affaisser. Il est recommandé d'envelopper chaque balle d'au moins 4 couches de film plastique pour un entreposage à court terme et d'au moins 6 couches si on doit les conserver à long terme.



Figure.7 : Ensileuse de 450 Kg de pulpes de betterave en balles rondes.

(Source : la sucrerie SUTA)

Ce type d'ensileuse est équipé d'un filet à balle ronde, et d'un film dont les caractéristiques sont les suivantes :

➤ Filet à balles rondes :

Dimensions : 1,05 m * 2000 m,

Couleur : Transparent

Longueur tube : 1080 mm;

Diamètre intérieur tube : 76,5 mm,

Diamètre bobine : 240 mm,

Composition : 100% HDPE,

Nombre de chainettes : 42,

Allongement à la rupture min : 18 %,

Résistance minimum : 240 Kg

➤ Film autocollant :

Dimensions : 0,500 m * 0,025 m * 1800 m

Matière : Polypropylène

Couleur : BLANC

Type : autocollant en rouleaux

- Pour la machine de 50 Kg, (figure 8) c'est une machine qui permet de conditionner la pulpe dans des sacs sous vide assurant sa fraîcheur dès le premier jour. C'est une machine économique assurant la facilité de transportation et permettant de réduire les coûts de main-d'œuvre. Elle offre un stockage écologique et propre et une logistique avancée de stockage. Son degré de compression élevé permet d'économiser de l'espace. Grâce à cette machine, les aliments peuvent être conservés longtemps sans se détériorer Quelles que soient les conditions climatiques.

Pour ce type d'ensileuse l'ensachage se fait dans des sacs dont les caractéristiques sont les suivantes :

Matière du film à sac : Polyéthylène basse densité PEBD

Couleur : Blanc

Dimensions : Longueur 990 mm Largeur 725 mm Epaisseur 0.15 mm.



Figure.8 : Machine à ensilage de pulpes de betterave en sacs de 50 Kg sous vide.

(Source : la sucrerie SUTA)

Les techniques d'ensilage sont développées empiriquement depuis des siècles, pour le stockage et la conservation, dans un état voisin du frais, des produits agricoles d'origine animale ou végétale. Sur le terrain, il est possible de reconnaître les bons ensilages des mauvais grâce à leur aspect. Un bon ensilage doit conserver la couleur initiale du substrat avec une odeur fruitée et aigrelette un peu comparable à celle de la choucroute [78]. Une couleur brune, accompagnée d'une odeur de tabac ou de caramel, indique une aération excessive ; il s'agit souvent d'un ensilage non nocif mais ayant chauffé et perdu une partie de sa valeur alimentaire. Certains ensilages insuffisamment tassés prennent parfois une odeur prononcée de vinaigre : il s'agit alors d'un excès de fermentation acétique, qui peut parfois rendre le produit peu appétant voire toxique s'il est consommé en grande quantité [78].

Le processus d'ensilage peut être assimilé à un système à trois composants : substrat végétal - enzymes - bactéries, dans lequel chaque élément joue un rôle spécifique et primordial dans la réussite ou l'échec des ensilages [79].

- Le substrat végétal contient des sucres pariétaux (cellulose, hémicellulose, pectine) et des sucres de réserve (amidon et fructosanes principalement), dont la présence et la teneur dépendent de l'espèce végétale et des conditions culturales.
- Les enzymes végétales, parfois bactériennes et souvent fongiques, constituent un arsenal enzymatique polysaccharolytique pouvant dépolymériser la paroi végétale. Elles libèrent ainsi des glucides solubles dans la masse à ensiler. Ces glucides, de

degré de polymérisation variable, pourront être métabolisés par les bactéries lactiques.

- Les bactéries, qui se développent dans la masse du produit à ensiler, métabolisent les glucides solubles et produisent, dans le cas des bactéries lactiques, principalement de l'acide lactique, conservateur naturel de l'ensilage mais aussi des bactériocines telle que la nisine [79].

IV.2.1. Etapes de l'évolution de l'ensilage :

Le processus d'ensilage se divise en quatre étapes [80,81,82,83] qui sont la phase aérobie, la phase de fermentation, la phase de stabilité anaérobie et la phase d'alimentation.

a. Phase aérobie

La phase aérobie (présence d'air) débute avant l'ensilage et se poursuit jusqu'à l'épuisement de l'air après la fermeture du silo. Les cellules du tissu végétal continuent à développer leur activité métabolique et à respirer aussi longtemps qu'elles disposent de l'oxygène retenu dans la masse du fourrage et que la teneur en eau est suffisante [36].

Durant cette phase, les deux activités physiologiques les plus importantes sont la respiration et la protéolyse. La respiration est la réaction métabolique qui utilise l'oxygène pour transformer les sucres en gaz carbonique (CO₂) et en eau tout en produisant de la chaleur. Les réactions d'hydrolyse concernent principalement les glucides de réserve. Les glucides simples disponibles (glucose et fructose) vont constituer un combustible de choix pour les réactions de respiration selon le modèle classique : $(C_6 H_{12} O_6)_n + n O_2 \rightarrow n CO_2 + n H_2O + \text{chaleur}$

Le dégagement de chaleur et l'épuisement de l'oxygène entraînent une désorganisation cellulaire avec éclatement des lysosomes (vésicules intra cellulaires riches en hydrolases) [36].

Cette réaction se poursuivra tant et aussi longtemps qu'il y aura de l'oxygène et un substrat. En plus de leur valeur nutritionnelle, les sucres solubles sont aussi le substrat des bactéries lactiques, il faut donc limiter ce processus [84].

La respiration se poursuit dans le silo et elle a deux effets :

- La perte de matière sèche : Les pertes de matière sèche seront très variables selon la densité du fourrage (compaction), la vitesse de remplissage, la fermeture étanche et la consolidation (type de silo) [84].

- L'augmentation de la température dans le silo et le dégagement de la chaleur lors de la respiration: Cette augmentation accélère la respiration et les autres activités enzymatiques comme la protéolyse.

La respiration n'a pas que des effets néfastes, elle est nécessaire pour créer les conditions anaérobies dans le silo. Cependant, moins il y a d'oxygène dans le silo et de renouvellement d'oxygène, plus les conditions anaérobies sont atteintes rapidement. Il faut donc remplir et fermer rapidement le silo de façon étanche. Lorsque le silo est bien étanche, c'est l'interaction entre la température dans le silo, le contenu en matière sèche et la maturité de la plante qui permettra d'éliminer plus ou moins rapidement l'oxygène. Si le silo est bien étanche, l'élimination de l'oxygène prendra de quelques heures à une journée selon la matière sèche des fourrages [83].

Il n'y a pas que la respiration qui se poursuit durant cette phase; il y a aussi la protéolyse. La protéolyse est l'hydrolyse des protéines par les protéases de la plante, ce qui a pour effet de solubiliser l'azote en chaînes plus ou moins longues (peptides) et en acides aminés libres.

L'azote ainsi solubilisé est donc plus facilement attaqué par les microorganismes. Lorsque les microorganismes utilisent les acides aminés comme substrat, il y a production d'azote ammoniacal ($N-NH_3$). Tout comme la respiration, ce phénomène est inévitable mais il faut le limiter [78].

La mort de la cellule va intervenir progressivement et altère la perméabilité sélective des membranes. Une partie du contenu des cellules peut ainsi s'écouler et accroître les pertes de matière sèche contenue dans les jus [36].

La combustion précoce des sucres intervient donc au détriment du développement de la fermentation lactique anaérobie, principal moteur de l'acidification du fourrage [36].

Dans la masse fourragère ainsi transformée et de façon synchrone, les micro-organismes vont entrer en action selon leurs possibilités de développement et les caractéristiques du milieu.

b. Phase de fermentation :

La phase de fermentation ne débute que lorsque les conditions anaérobies sont atteintes. Les microorganismes aérobies dont la prolifération a été maximale durant la phase aérobie sont maintenant inhibés. Ce sont les microorganismes anaérobies facultatifs et stricts (se développant seulement en absence d'oxygène) qui peuvent maintenant se développer dont les

bactéries lactiques, les entérobactéries, les bactéries butyriques et les levures (capables de fermenter les sucres en absence d'oxygène). À l'exception des bactéries lactiques, les autres groupes doivent être inhibés à cause de leurs effets néfastes sur la valeur nutritionnelle des fourrages et/ou des pertes de matière sèche qu'ils amènent durant l'entreposage et/ou lors de l'ouverture du silo [84].

Les entérobactéries sont les premières à prendre le relais car elles sont aérobies facultatives. Leur activité fermentaire, qui s'exerce au détriment des glucides solubles, génère avec un rendement médiocre de l'acide acétique (qui induit un début d'acidification), des alcools et du gaz carbonique. Au bout de 24-48 heures, les streptocoques et les *Leuconostoc* prennent le relais, mais la disparition totale de l'oxygène et la baisse du pH induite par l'accumulation d'acide acétique les font disparaître après 72 heures maximum [36].

L'inhibition des entérobactéries et des bactéries butyriques se fera principalement grâce à leur sensibilité au pH acide; un pH inférieur à 4,5 permet d'inhiber les entérobactéries alors qu'un pH de 4,3 et moins est nécessaire pour les bactéries butyriques. Toutefois, le pH qui inhibe les bactéries butyriques varie en fonction de la matière sèche. Plus la matière sèche est élevée, plus le pH pour inhiber les bactéries butyriques est élevé [85].

Les bactéries butyriques proviennent de la contamination par le sol. Elles sont présentes dans l'ensilage sous forme de spores, elles peuvent germer sous réserve d'une humidité suffisante (supérieure à 70 %) et d'une acidité faible (pH > 4,4). Leur développement se fait à partir des éléments nutritifs initiaux résiduels (sucres, acides aminés, protéines...) mais aussi au détriment des produits de fermentation [36].

Un ensilage butyrique est caractérisé par des quantités d'acide butyrique supérieures aux quantités d'acide lactique, des quantités d'azote ammoniacal dépassant 10 % de l'azote total et un pH supérieur à 5 [36].

Une fermentation butyrique a une triple conséquence défavorable [36]:

- Perte de valeur nutritive par catabolisme massif des constituants azotés : désamination des acides aminés en acides α cétoniques et ammoniac, décarboxylation des acides aminés en amines biogènes (putrescine, cadavérine...), réduction/oxydation des acides aminés en acides gras volatils, gaz carbonique et ammoniac.

- Diminution de l'acidité du milieu : deux molécules de lactate ne restituent qu'une seule molécule d'acide butyrique plus du gaz carbonique avec élévation concomitante du pH, ce qui ne peut qu'accélérer le processus vers des fermentations indésirables.
- Détérioration des qualités organoleptiques (appétence) et sanitaire du fourrage.

Les levures sont peu sensibles au pH atteint durant l'ensilage et la plupart pourront se développer entre un pH de 3 et 8. Elles sont plus résistantes à la pression osmotique (matière sèche élevée) que les bactéries lactiques [84]. Elles sont donc très difficiles à contrôler, plus particulièrement dans les ensilages de maïs et les ensilages préfanés qui contiennent beaucoup de sucres solubles résiduels. Ces microorganismes sont surtout nuisibles pour la stabilité aérobie (chauffage), bien qu'ils ne soient pas les seuls [86].

Lorsque les conditions anaérobies sont atteintes, les bactéries lactiques se développent rapidement. Les bactéries lactiques sont soit :

- Homofermentaires, c'est-à-dire qui ne produisent que de l'acide lactique à partir du glucose et du fructose avec une efficacité supérieure à 90 %. C'est le cas notamment de *Lactobacillus plantarum* et de *Lactobacillus casei* [36].
- Hétérofermentaires qui, avec les mêmes substrats, produisent à côté de l'acide lactique (rendement inférieur à 45 %) de l'acide acétique, de l'éthanol, de l'hydrogène et du gaz carbonique. Cela concerne essentiellement des germes du genre *Leuconostoc*, mais aussi certains lactobacilles (*Lactobacillus brevis*) [36].

L'acide lactique est meilleur que l'acide acétique pour abaisser le pH, c'est pourquoi il est important que la population de bactéries lactiques soit homofermentaire. Pour se développer et produire de l'acide lactique, les bactéries lactiques ont besoin de sucres. La quantité de sucres solubles doit être suffisante et ils doivent être disponibles. La quantité de sucres nécessaire est reliée au type de fermentation (homofermentaire ou hétérofermentaire) et à la matière sèche du fourrage ensilé [87].

c. Phase de stabilité anaérobie

La phase de stabilité anaérobie est caractérisée par une faible activité microbienne si le silo est bien étanche à l'air et que le pH est descendu suffisamment bas pour inhiber le développement des spores butyriques. Si le pH de stabilité anaérobie n'a pas été atteint, les bactéries butyriques saccharolytiques (utilisant des sucres) se développeront en utilisant

l'acide lactique pour produire de l'acide butyrique et le pH augmentera. Avec un pH plus élevé, les bactéries butyriques protéolytiques (utilisant les acides aminés) seront plus actives et il y aura utilisation des acides aminés, ce qui se traduira par une augmentation de l'azote ammoniacal avec la production d'amines qui donnent aux ensilages des odeurs si particulières. Il peut aussi y avoir production d'acide acétique et d'acide propionique. C'est durant cette phase que le développement des levures est possible puisque le pH ne permet pas d'inhiber le développement de ces microorganismes [87].

- Moisissures :

Une soixantaine d'espèces de champignons a été isolée des ensilages, mais très peu peuvent effectivement se développer au sein du fourrage bien conservé. On admet en effet classiquement qu'elles sont aérobies strictes et qu'aucun développement mycélien notable ne peut se réaliser du fait du tassement initial de la masse fourragère et de l'anaérobiose qui en découle [36].

- Levures

Les levures ne sont actives dans la phase initiale d'ensilage que sous réserve de disposer de sucres solubles (glucose) qu'elles transforment en alcools et gaz carbonique. La concurrence très forte des entérobactéries puis des bactéries lactiques limite normalement cette prolifération même si cette fermentation peut se poursuivre à bas niveau en phase anaérobie.

Pour l'essentiel l'oxygénation du fourrage relance l'activité des levures qui dans ces conditions peuvent attaquer des substrats plus divers et en particulier les acides organiques (succinique, citrique, lactique). Ces levures étant très tolérantes vis-à-vis des pH acides, il est clair que l'étanchéité insuffisante du silo d'ensilage constitue un des facteurs très favorables à leur croissance et à leur multiplication. La présence simultanée dans un ensilage de levures utilisant l'acide lactique et de bactéries oxydant l'éthanol caractérise ainsi une certaine instabilité du fourrage dans sa phase finale de conservation [36].

Il est important que les silos d'ensilages (ou autres formes d'entreposage) soient inspectés régulièrement pour en obstruer les perforations avec un bon ruban adhésif.

d. Phase d'alimentation

Durant la phase d'alimentation, une partie plus ou moins importante du produit ensilé est exposée à l'air. C'est une période critique pour la stabilité aérobie (chauffage). Plusieurs facteurs interagissent les uns avec les autres. La stabilité aérobie est principalement dépendante du nombre d'organismes aérobies présents dans l'ensilage au moment de la

reprise. Toutefois, les conditions environnementales influencent grandement l'intervalle entre l'ouverture et l'observation du chauffage. La stabilité aérobie est réduite, c'est-à-dire que les ensilages chauffent plus rapidement, lorsque les températures ambiantes sont chaudes, les sucres résiduels sont élevés, le pH est élevé et que les quantités d'acides organiques provenant de la fermentation (acide acétique et acide butyrique) sont faibles. L'humidité est aussi un facteur important. Les microorganismes aérobies se développent plus rapidement lorsque la matière sèche est faible mais l'augmentation de température est plus lente dans les ensilages humides que dans les ensilages préfanés [87].

IV.2.2. Les additifs d'ensilage :

En règle générale, si la pulpe de betterave pressée a des caractéristiques physico-chimiques corrects et si les règles d'ensilage sont respectées, la fermentation est réalisable sans additif et donc l'emploi d'un conservateur ne se justifie pas. Mais toutefois dans certains cas les additifs sont utiles (pulpes pauvres en sucres, ensilage trop humide, bactéries naturelles en nombre insuffisant, etc.).

Les quatre principales catégories de produits utilisés comme additifs pour l'ensilage sont [88] :

a. Acides :

L'acide propionique constitue l'ingrédient principal de plusieurs produits commerciaux enregistrés comme additifs pour les fourrages ou comme inhibiteurs de moisissures à cause de ses propriétés anti-microbiennes [89,90,91,92,93] .

L'acide formique est surtout utilisé comme contrôleur de la fermentation dans les ensilages à haute teneur en eau, il est utilisé comme inhibiteur de fermentation, à cause de ses propriétés acidifiantes [94,95,96].

b. Produits sucrés :

L'addition de sucres peut améliorer la conservation d'un ensilage dont la teneur en sucres solubles est trop faible pour atteindre le pH de stabilité anaérobie, mais n'est d'aucune utilité pour les ensilages possédant une quantité adéquate de sucres solubles. En fait, une addition adéquate de mélasse permet de faire baisser le pH plus rapidement et de diminuer la production d'azote ammoniacal dans les ensilages humides, alors que dans les ensilage préfanés ou demi-secs, ce traitement n'a d'effet que sur le pH final de l'ensilage. Pour faire

augmenter la teneur en sucres solubles du fourrage de 1% sur une base de M.S., il faut ajouter 4 litres de mélasse par tonne de fourrage humide (25% de M.S) [88].

c. Enzymes

Les enzymes augmentent de façon indirecte la teneur du fourrage en sucres solubles utilisables par les bactéries lactiques. S'il est possible d'augmenter assez rapidement la concentration en sucres solubles, il devrait s'ensuivre un abaissement plus marqué du pH et une meilleure conservation de l'ensilage. Cependant l'efficacité des enzymes est difficile à prédire puisqu'elle est influencée par plusieurs facteurs (type de plante, maturité, matière sèche et pH) [97,98,99,100].

d. Inoculants bactériens

Le but visé par l'addition d'inoculants bactériens est de fournir des bactéries homolactiques plus efficaces que les bactéries naturelles pour convertir les sucres solubles en acide lactique.

L'utilisation de ces produits devrait donc provoquer une acidification plus rapide ou un pH final plus bas, ce qui permet généralement d'inhiber les microorganismes indésirables et l'activité enzymatique indésirable. Cependant les sucres solubles doivent être présents en quantité suffisante et rapidement disponibles pour que l'inoculation soit efficace [97]. Certains inoculants contiennent non seulement des bactéries productrices d'acide lactique mais aussi des bactéries du genre *Propionibacterium* produisant de l'acide propionique à partir de l'acide lactique produit par la fermentation, dans le but d'améliorer la stabilité aérobie mais ces bactéries sont généralement inefficaces sauf si la fermentation lactique est lente [101].

On trouve aussi sur le marché des inoculants contenant une espèce particulière de bactéries productrices d'acide lactique désignée sous le nom de *Lactobacillus buchneri* qui permettrait d'améliorer la stabilité aérobie de l'ensilage. En effet il a été démontré que l'utilisation de *Lactobacillus buchneri* comme inoculant permet de réduire la croissance et la survie des levures et d'améliorer la stabilité aérobie des ensilages [101,102,103,104,105,106]. Cet effet proviendrait de l'inhibition des levures suite à la transformation de l'acide lactique en acide acétique et en 1,2- propanediol (propylène glycol) qui est lui-même transformé en acide propionique et en 1- propanol sous certaines conditions [107,108].

e. Ammoniac et urée

L'ammoniac agit aussi comme agent de conservation à cause de ses propriétés antimicrobiennes. Cependant le pH final est généralement un peu plus élevé que dans l'ensilage non traité à cause de l'effet tampon de l'ammoniac. Le traitement à l'ammoniac améliore aussi la stabilité aérobie de l'ensilage, cependant l'effet semble variable et grandement influencé par la teneur en matière sèche de l'ensilage [88]. Le traitement à l'urée influence la fermentation de façon moins prononcée puisque seulement une faible proportion de l'urée (25-30%) est transformée en ammoniac. Donc il élève moins le pH, active moins la fermentation et inhibe moins l'augmentation de la solubilité de la protéine pendant la fermentation [109].

IV.2.3.Types de silo :

La pulpe pressée de betterave est ensilée en grandes quantités pour servir de nourriture aux bétails pendant de nombreux mois, en hiver et jusqu'en été. La technique ou le procédé de conservation de la pulpe par ensilage présente actuellement plusieurs variantes (figure.9) toutes conçues pour conserver des aliments de qualité à un coût minimal.

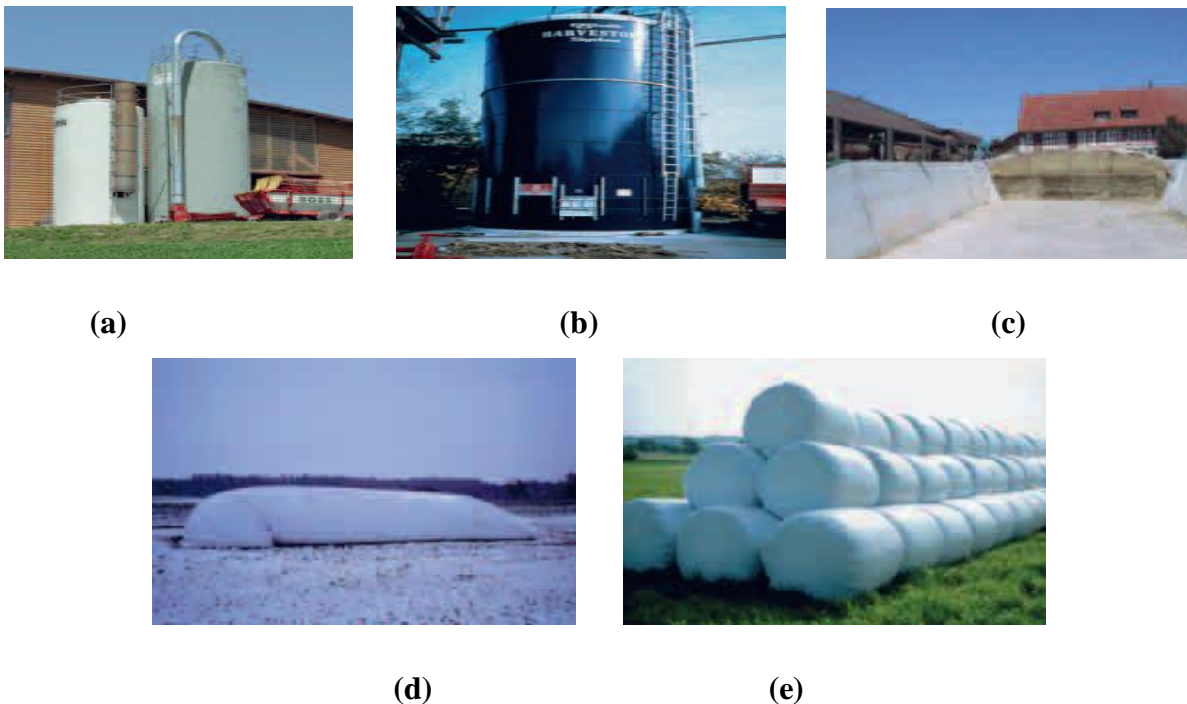


Figure. 9 : (a) silo tour en polyester, (b): silo tour en métal, (c) : silo couloir, (d) : silo boudin, (e) : balles d'ensilage

En plus des considérations techniques et économiques, on doit tenir compte de l'environnement et des facteurs humains. La protection de l'eau, la gestion des déchets et la

sécurité des animaux et des personnes sont quelques-unes des préoccupations à inclure dans le choix d'un système d'entreposage des ensilages [110].

a. Silo couloir :

Il a une capacité de plusieurs centaines de tonnes selon l'infrastructure installée. Le silo couloir est relativement simple de construction. Le remplissage demande de la main d'œuvre pour le tassage et la couverture (en comparaison d'un silo tour par exemple) mais la reprise est facile et généralement bien adapté aux outils de désilage présents dans les exploitations. Ce type de silo présente aussi l'intérêt d'une certaine souplesse sur le volume stocké : on peut « sur-remplir » le silo en cas de rendement supérieur. Les silos couloirs permettent également l'affouragement en libre-service.

b. Silo taupinière :

Il a une capacité de plusieurs centaines de tonnes selon la place disponible. Le silo taupinière peut être une solution en cas de manque de stockage dans un silo couloir ou alors pour réaliser un silo tampon par exemple. Le principal inconvénient est la reprise, notamment en conditions hivernales. L'étanchéité et la densité sont généralement moins bonnes que dans un silo couloir d'où une moins bonne conservation. Ce type de silo reste néanmoins très peu onéreux et peut bien correspondre à la gestion des excédents de fourrage [111].

c. Silo tour :

Il est peu présent, il offre de nombreux avantages : moins de perte ; meilleure conservation ; plus forte densité de l'ensilage (pas de tassage à réaliser) ; pas de bâchage du silo ni de débâchage hebdomadaire ; facilité pour gérer le stockage; besoin en place limité par rapport à un silo couloir.

Par contre, il y a des risques d'accidents plus élevés (gaz notamment). La reprise est permise par des systèmes de désilage positionnés au-dessus ou en-dessous de la colonne de fourrage. Pour bien stocker le fourrage dans les silos tours, il faut viser un taux de MS minimum de 32%MS afin de limiter les écoulements par les jus. Ce type de silo est adapté pour des grands volumes. Prévoir un bon socle de béton [111].

d. Silo boudin :

Il peut être une alternative dans certaines situations : silo de transition, silo tampon, silo sur un autre site de l'exploitation. Les avantages sont : meilleure conservation (herméticité du boudin), moins d'échauffement à la reprise car permet d'avancer plus vite, reprise facilitée (au

godet). Les inconvénients principaux sont la gestion de la bâche (quantité à éliminer) ainsi que le coût de la technique [111].

e. Grosses balles :

La conservation en grosses balles remontent au début des années 80 [112,113,114,115]. Au paravent on l'a considéré comme une technique marginale à cause de problèmes concernant la manipulation des grosses balles, la qualité des films plastiques,... etc. La plupart de ces problèmes ont été résolus. L'ensilage de grosses balles est d'ailleurs devenue une pratique fort répandue [116,117,118,119]. Les résultats d'une étude réalisée [120] pour diagnostiquer la qualité de la pulpe de betterave conservée par ensilage en grosses balles ont prouvé que la structure des pulpes conservées était semblable à celle des pulpes fraîches et qu'aucun des échantillons analysés ne présentait d'acide butyrique et leur qualité était excellente.

Les balles enrubannées ne peuvent pas être déplacées durant l'entreposage sans déchirer l'emballage. Il faut donc choisir un emplacement propre, bien drainé, sans roche ou autre objet de surface qui pourrait déchirer le plastique.

f. Couverture végétale :

De nombreux fermiers progressistes ont abandonné l'utilisation de bâches plastiques et de lest pour recouvrir leur silo de pulpe surpressée. Certains utilisent une couche de purée déclassée de pomme de terre ou de marc de chicorée. D'autres utilisent une couche de radicules de betterave (figure. 10 (b)),ensemencée ou non d'une céréale. D'autres encore sèment simplement une céréale d'hiver (figure.10 (a)), directement à la surface de la pulpe ensilée [121]. Cette technique séduit ceux qui l'ont essayée. Ils mettent en avant des gains de pénibilité, de temps, et des aspects environnementaux [122].



Figure .10: (a) Silo de pulpe surpressée avec couverture d'escourgeon (orge),
(b) Silo de pulpe surpressée avec couverture de radicules de betterave.

(Source IRBAB [121])

Avantages de la couverture végétale [121] :

- Plus de bâches plastiques à mettre au-dessus du silo, à enlever au désilage et à évacuer..
- La vapeur d'eau contenue dans la pulpe à la sortie de presse peut s'évacuer librement et complètement hors du silo. De ce fait, plus aucune moisissure n'apparaît dans les couches supérieures du silo (là où l'excès de vapeur d'eau s'accumule comme c'est souvent le cas dans les silos de pulpe surpressée, refermés trop rapidement avec des bâches plastiques).
- Pour autant que l'on avance d'au moins 1 m/semaine, pas de développement de moisissures sur le front d'avancement.
- Pas de risque de développement de moisissures comme observé directement sous la bâche de fermeture, lorsque des poches d'air sont présentes.
- Au désilage, l'entièreté du front d'avancement est prélevée, couverture végétale comprise.

Conclusion

De nombreux points d'attention doivent être maîtrisés tout au long du processus sucrier pour produire, de façon régulière, une pulpe de qualité capable de concurrencer les autres aliments de bétail existants sur le marché.

Les pulpes de betterave possèdent des richesses importantes et disposent d'une composition chimique variable (éléments minéraux, fibres, sucres, matière azotée totale) dépendante des différentes périodes et des conditions de conservation. Aussi sont-elles utilisées principalement en alimentation animale. Il faudra donc prendre en compte que la pulpe est un produit instable, d'où la mise en place des techniques de conservation à savoir le séchage et l'ensilage. Toutefois, cette dernière technique d'ensilage, en plus qu'elle soit économique, elle permet de préserver au mieux la qualité nutritive des pulpes. Elle consiste en une fermentation en milieu anaérobique ce qui permet d'abaisser le pH et par conséquent entraver la prolifération des flores putréfiantes. Les modes d'ensilage sont comportant des atouts dont il va falloir tirer parti mais aussi des inconvénients dont il faudra tenir compte.

Chapitre 3 : Méthodes d'analyses et de Contrôle :

Introduction :

Dans ce chapitre on interpelle le couplage entre la spectroscopie infrarouge et la chimiométrie comme étant une nouvelle méthode d'analyse et de contrôle utilisée dans différents domaines afin de prédire, de doser et d'identifier un ensemble de constituants.

I. Introduction à la Spectroscopie infrarouge :

La spectroscopie infrarouge est un moyen de diagnostic permettant de déterminer la nature des liaisons chimiques présentes dans une molécule [123].

En effet, l'expérience montre que certaines fréquences de vibration, dites « fréquences de groupe », sont caractéristiques de la présence d'un groupement chimique dans la molécule étudiée. La théorie mécanique des vibrations permet de prévoir l'existence des fréquences de groupe à partir des ordres de grandeur des différents types de constante de force [124]. Ainsi, la spectroscopie infrarouge est un très puissant moyen de caractérisation pour identifier des groupements moléculaires et obtenir de nombreuses informations microscopiques sur leur conformation et leurs éventuelles interactions [125].

Les techniques spectroscopiques peuvent être considérées comme des réponses d'absorption d'énergie en fonction de la fréquence du rayonnement concerné [126,127] (figure 11)

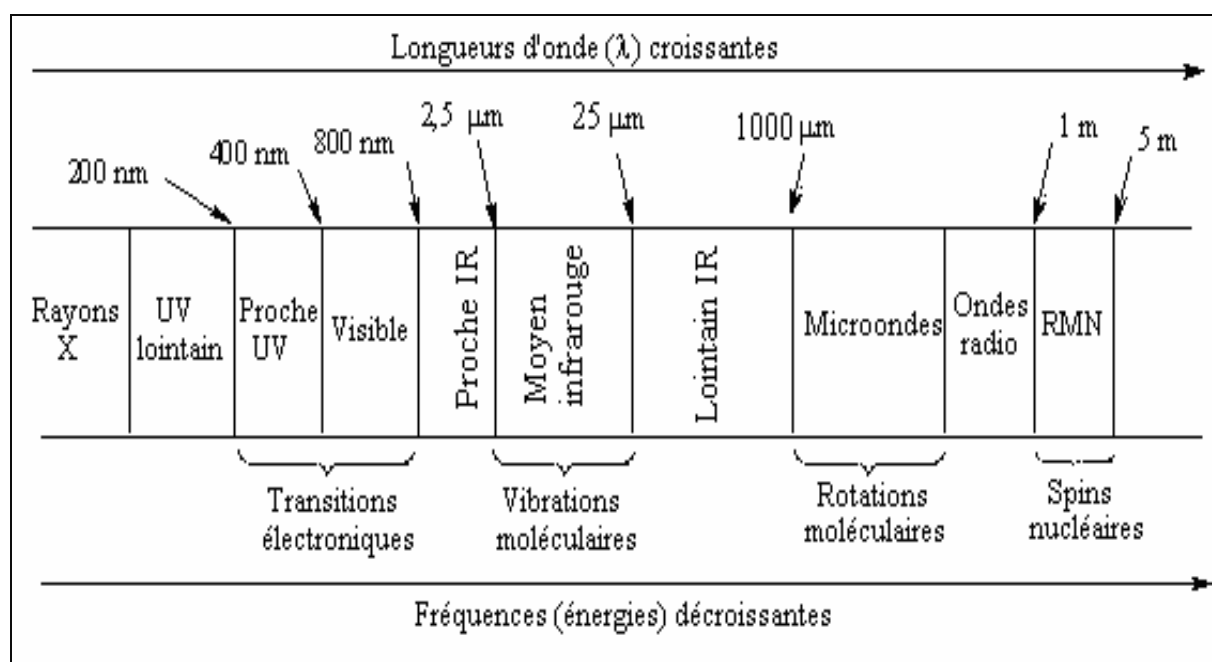


Figure .11 : Une partie du spectre électromagnétique montrant la relation entre les longueurs d'onde, l'énergie, les fréquences et les techniques spectroscopiques.

Domaine infrarouge de 0,8 μm à 1000 μm , divisé en 3 catégories :

- proche infrarouge : 0,8 à 2,5 μm ; 12500 - 4000 cm^{-1}
- moyen infrarouge : 2,5 à 25 μm ; 4000 - 400 cm^{-1}
- lointain infrarouge : 25 à 1000 μm ; 400 - 10 cm^{-1}

Les méthodes spectroscopiques sont largement utilisées pour l'analyse qualitative et quantitative de composés de produits agroalimentaires [127,128].

a. principe :

La spectroscopie infrarouge est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé. Il y a absorption lorsque l'énergie des photons incidents correspond à celle d'une transition permise entre deux niveaux d'énergie vibrationnelle des groupements chimiques caractéristiques des molécules du matériau. Toutes les vibrations ne donnent pas lieu à une absorption, cela va dépendre aussi de la géométrie de la molécule en particulier de sa symétrie. Pour qu'une vibration soit active, il faut qu'elle entraîne une variation du moment dipolaire de la molécule [129].

b. théorie vibrationnelle :

Dans les molécules, les atomes sont liés entre eux par des énergies de liaison, caractéristiques de chaque type de liaison. Ces énergies de liaisons sont sensibles aux radiations électromagnétiques (faisceaux infrarouge) qui vont provoquer des vibrations dans la molécule (déformation, rotation, étirement, etc.), en absorbant une partie de l'énergie de rayonnement. On obtient donc des bandes d'absorption caractéristiques des vibrations. En faisant défiler les longueurs d'ondes, on obtient ainsi le spectre complet de toutes les vibrations du produit analysé [130].

c. Fréquence de vibration.

On peut modéliser une molécule diatomique par deux sphères de masses m_1 et m_2 représentant les deux atomes, et un ressort de raideur k (constante de force généralement en N.m^{-1}), symbolisant la liaison chimique. C'est l'oscillateur harmonique, (Figure 12) [131,132].

Si on écarte les deux sphères d'une valeur x_0 par rapport à la distance d'équilibre, et qu'on relâche le système, celui-ci se met à osciller avec une période qui est fonction de la constante de raideur du ressort k et des masses m_1 et m_2 . La fréquence de vibration de l'oscillateur harmonique est donnée par la loi de Hooke [132] :

$$\nu_h = 1/2\pi * \sqrt{k/\mu} \quad \text{avec } \mu = \frac{m_1 * m_2}{m_1 + m_2}; \mu \text{ est la masse réduite}$$

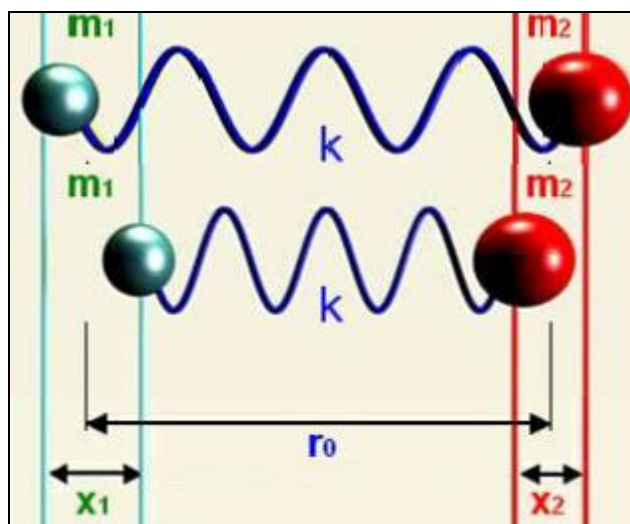


Figure. 12 : Modèle simple d'une molécule diatomique. (Source [126])

↳ Les types de vibration.

La majorité des vibrations fondamentales des molécules organiques se trouve dans le moyen IR, les deux principaux types de vibration sont représentés dans la figure 13, [130,131] :

- Les vibrations d'élongation correspondant à l'étirement d'une liaison A - B, notée ν_{AB} (stretching). Il s'agit de vibration ayant lieu le long de l'axe de la liaison. Il y a deux types : élongations symétriques et élongations antisymétriques [130,131,132].

- Les vibrations de déformation (ou flexion) correspondant à la variation d'un angle de valence, notée δ_{AB} (bending). Ce sont des vibrations caractérisées par une modification de l'angle de liaison. Il y a deux types :

- Les déformations dans le plan : rotation plane asymétrique (rocking), et cisaillement symétrique (scissoring) [130,131].
- Les déformations hors du plan : balancement symétrique (wagging), et torsion asymétrique (twisting) [130,131,132].

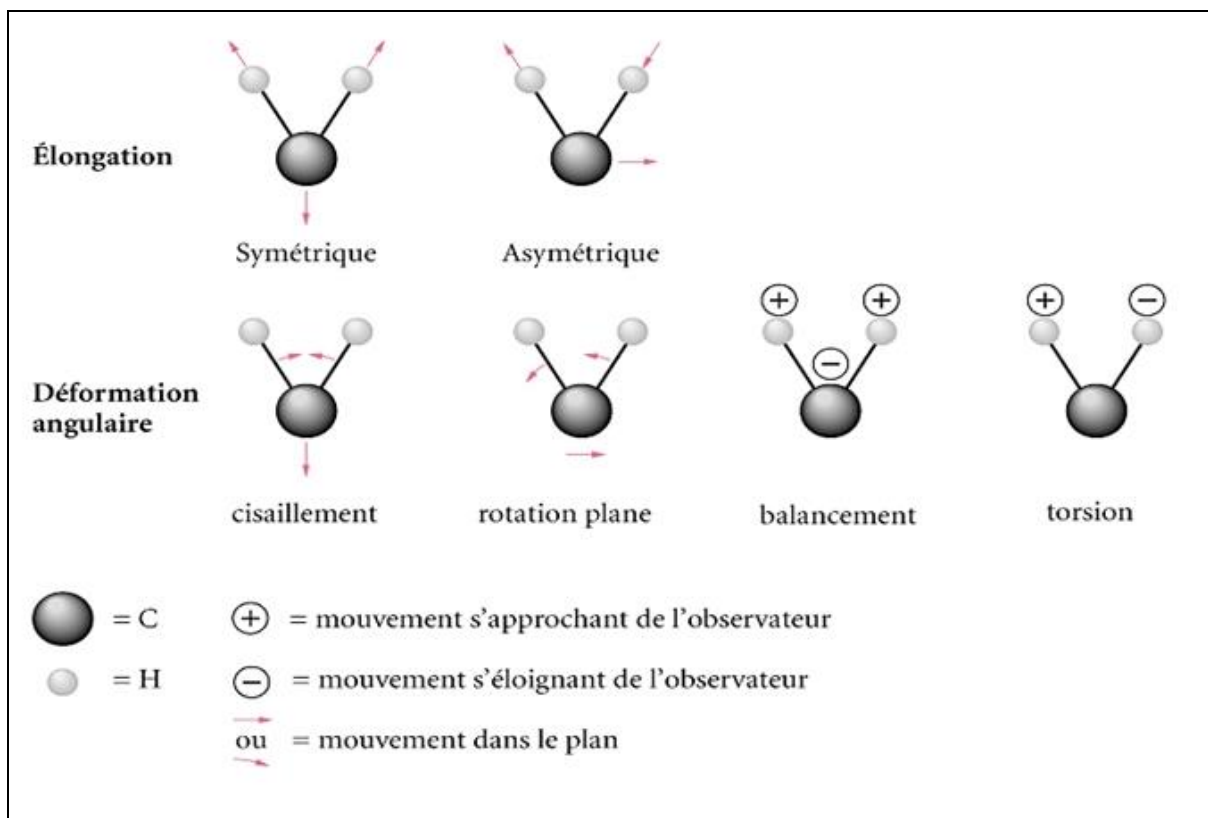


Figure. 13 : Modes de vibrations moléculaires. (Source [133])

Les transitions vibrationnelles de déformation sont de plus faible énergie que les transitions vibrationnelles d'élongation [126,125].

En spectroscopie infrarouge, on s'intéresse aux différentes vibrations des liaisons. En général, quand les signaux sont bien définis et non superposés, on peut à partir de l'intensité du signal calculer une concentration. Mais parfois on peut tomber sur des situations critiques où les matrices sont complexes et par conséquent les signaux ne sont pas bien séparés et l'identification ainsi que la quantification des différents composants ne sont plus évidents. D'où la nécessité d'utiliser des méthodes d'extraction d'information rapide telles les méthodes chimiométriques.

I.1. Spectroscopie Moyen Infrarouge (MIR):

La spectroscopie MIR est caractérisée par une résolution fine des pics qui lui confère plusieurs avantages. Tout d'abord, la finesse des raies permet d'identifier facilement le type de liaison rencontré et même de quantifier un composé en fonction de l'intensité des signaux. Un autre avantage important des spectres MIR est qu'ils apportent des informations sur l'état physicochimique de différents composants comme la cristallinité, l'oxydation, ou encore la

phase, qui peuvent être utiles pour étudier les changements causés par le traitement ou le stockage [126].

Le développement des applications MIR en agroalimentaire est récent, suite à l'apparition d'appareils basés sur la transformée de Fourier et de nouveaux dispositifs de présentation des échantillons plus pratiques [135]. Plusieurs problèmes d'authentification ont été étudiés par ce type de méthode ; par exemple la quantification des adultérants de l'huile d'olive [136], ou encore la discrimination des différents types de fruits dans les purées [137] ou les confitures [138], et enfin la discrimination des différentes variétés de café [139,140]. Au niveau du contrôle qualité de la production, une étude polonaise [141] s'est intéressée à l'évolution de la teneur en phospholipides lors de la production d'huile de colza.

I.2.Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier :

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF), en anglais Fourier transform infrared spectroscopy - FTIR) [134] est une technique de mesure pour l'acquisition de spectres infrarouges. Au lieu d'enregistrer la quantité d'énergie absorbée lorsque la fréquence de lumière infrarouge varie (monochromateur), la lumière infrarouge passe au travers d'un interféromètre. Après avoir traversé l'échantillon, le signal mesuré est un interférogramme. Après que le signal a subi une transformée de Fourier, on obtient un spectre identique à celui obtenu par une spectroscopie infrarouge conventionnelle (dispersive).

Les spectromètres IRTF sont moins chers que les spectromètres conventionnels, la construction d'interféromètres étant plus facile que celle de monochromateurs. De plus, la mesure d'un spectre est plus rapide en IRTF car l'information à toutes les fréquences est collectée simultanément (une mesure au moyen d'un appareil dispersif dure par exemple une demi-heure ; elle dure deux minutes avec un appareil IRTF). Cela permet à de nombreux échantillons d'être analysés et moyennés ensemble, ce qui améliore la sensibilité. En raison de ces nombreux avantages, la très grande majorité des spectromètres infrarouges modernes sont des instruments IRTF.

I.3.Réflexion Totale Atténuée (ATR) :

Dans la méthode ATR, le faisceau infrarouge est dirigé vers un cristal transparent en IR et avec un indice de réfraction n_2 élevé (diamant, Ge,...). Le principe de l'ATR se base sur une approximation de la loi de Descartes-Snell. Le faisceau IR est réfléchi à l'interface

échantillon-cristal puis dirigé vers le détecteur. Afin que le détecteur reçoive un signal, il faut que l'échantillon soit en contact intime avec le cristal. Du fait des conditions de continuité du champ électrique, la réflexion n'est pas totale et est perturbée par la formation d'une onde progressive appelée onde évanescente. A chaque réflexion, le faisceau pénètre de quelques micromètres dans l'échantillon, ce qui provoque des absorptions partielles : c'est la réflexion totale atténuée. Les ondes évanescentes se désintègrent rapidement lorsqu'elles se déplacent travers l'échantillon.

Le principal avantage de la spectroscopie ATR-FTIR (Attenuated Total Reflectance – Fourier Transform Infrared) est qu'elle permet d'étudier tant des films minces que des poudres, des polymères ou des liquides, le tout avec une préparation d'échantillon minime. Grâce à l'utilisation de différents accessoires, la caractérisation de matériaux absorbants dans les hautes longueurs d'onde tels que des caoutchoucs et certains polymères peuvent être mesurés dans des conditions très variées (température, milieu acide...).

II. Chimométrie :

La chimométrie est l'application des outils mathématiques, en particulier statistiques, et informatiques pour optimiser les procédures d'obtention et de traitement de données de la chimie analytique, afin d'en extraire le maximum d'informations pertinentes. Cette science fait l'objet de nombreuses revues générales [142,143]. Elle a trois objectifs principaux [128].

- Le premier est la description des données sous forme synthétique, c'est le cas des statistiques élémentaires ou des méthodes descriptives comme l'analyse en composantes principales (ACP) [144].
- Le second objectif est la prédiction soit de valeurs continues comme avec la régression PLS [145], soit de classe comme avec une analyse discriminante [146].
- Enfin, son dernier objectif est la planification des expériences [147] pour en tirer le meilleur parti, autrement dit avoir le maximum d'information avec le minimum des essais.

La chimométrie se base sur des modèles qui sont soit linéaires, soit non linéaires. Dans un modèle linéaire, l'hypothèse de départ est que l'information cherchée peut être extraite à partir de combinaisons linéaires des variables de départ, le cas le plus simple étant la régression linéaire [148]. Dans les modèles non-linéaires, le modèle prédictif est sous la forme

d'un réseau d'unités connectées entre-elles [128]. L'exemple type de ce modèle est le réseau de neurone [149].

La classification des méthodes chimiométriques peut aussi se faire sur le mode de construction du modèle. On parle de modèle supervisé ou non, selon qu'il utilise des connaissances autres que les données acquises de façon expérimentale. L'ACP par exemple est une méthode non-supervisée. Les méthodes supervisées utilisent, en général, des connaissances sur une collection d'échantillons étalons qui permettent de créer le modèle avant de prédire des données sans information annexe. Un exemple classique est la méthode PLS.

II.1. Prétraitements mathématiques appliqués aux spectres :

Ces prétraitements interviennent avant d'établir un modèle prédictif dont le but d'améliorer le signal et de condenser les données pour en extraire les informations pertinentes. Parmi ces prétraitements on cite :

- Données centrées : qui consiste à soustraire de chaque valeur de la matrice la valeur moyenne de sa variable [150].
- Données centrées normées : qui consiste à soustraire à chaque valeur de la matrice la valeur moyenne de sa variable et on divise le résultat par l'écart type de la variable [150].
- Centrage par colonne : qui consiste à soustraire la valeur moyenne pour chaque colonne et pour chaque longueur d'onde [151].
- Centrage par ligne : qui consiste à soustraire les moyennes des lignes de la matrice X de données originales pour réduire les fluctuations de ligne de base dans les spectres [152].
- Dérivée : qui permet de réduire la dérive de la ligne de base, de séparer plus clairement les bandes d'absorption et de mettre en évidence certaines parties de l'information spectrale.
- Correction Multiplicative de diffusion (MSC) : qui améliore la linéarité de la relation existante entre l'absorbance et la concentration.
- Déviation normale standardisée (SNV) : qui s'applique à chaque spectre pris séparément sans référence à l'ensemble des échantillons d'étalonnage.

De nombreuses études ont montrés que l'utilisation des prétraitements SNV et MSC permet d'améliorer le résultat des analyses quantitatives [153].

II.2.Méthodes chimiométriques :

Le choix de la méthode d'analyse est tributaire de l'objectif de l'étude, il peut s'agir d'une analyse qualitative, qui concerne l'attribution et la classification des échantillons dans différents groupes suivant une propriété d'intérêt et les Y sont codés de manière discrète, comme il peut s'agir d'une analyse quantitative où Y contiennent des valeurs continues comme les valeurs d'une concentration.

II.2.1. Méthodes non supervisées :

On les appelle aussi méthodes exploratoires qui consistent à décrire les données spectrales sans utilisation des connaissances à priori. L'analyse en composantes principales ACP est la technique la plus utilisée car elle est souvent un point de départ dans un processus d'exploration des données [154,155]. Elle a pour objectif de réduire autant que possible la dimensionnalité des données.

L'ACP permet de déterminer les caractéristiques principales des spectres, de les comparer entre elles et de mettre en évidence des liens entre les variables descriptives (les absorbances aux différentes longueurs d'ondes) [153].

Mathématiquement l'ACP consiste à calculer des combinaisons linéaires des variables de départ donnant de nouvelles composantes, appelées composantes principales qui contiennent la plus grande partie de la variabilité de la matrice de données originales [156]. Quand les données de départ sont des spectres tels que le spectre infra rouges, les vecteurs propres associés aux composantes principales sont équivalents à des spectres de produits purs, et les coordonnées factorielles sont analogues à des concentrations [157].

II.2.2. Méthodes supervisées :

Ces méthodes prédictives permettent de prédire au mieux, suite à la construction d'un modèle d'étalonnage, des valeurs d'une ou plusieurs variables quantitatives (concentrations par exemple) à partir des spectres mesurés sur de nouveaux échantillons par le biais des techniques statistiques multidimensionnelles comme les régressions PLS et PCR.

a. PLS : Régression au sens des moindres carrés partiels (Partial Least Squares) :

La régression PLS est une procédure qui permet de modéliser la relation entre m variables

« explicatives » $\mathbf{X}_1, \dots, \mathbf{X}_m$, prises sur n échantillons, dans la matrice $\mathbf{X}(n, m)$ et j variables « endogènes », $\mathbf{Y}_1, \dots, \mathbf{Y}_j$, dans la matrice $\mathbf{Y}(n, j)$. Cette approche, qui fût introduite pour la première fois par Wold en 1966 [151,152], présente l'avantage, par rapport à la régression linéaire multiple classique, d'accepter plus de variables explicatives que d'échantillons. De plus, lorsqu'il y a beaucoup de variables on risque d'obtenir un modèle sur-ajusté, c'est-à-dire modélisant une partie du bruit. Correctement utilisée, la régression PLS permet d'éviter ce phénomène, car étant une régression séquentielle, on peut arrêter le processus de régression avant de modéliser l'erreur. De plus, elle permet de s'affranchir des problèmes de multicollinéarité qui gênent la régression linéaire multiple.

La régression PLS classique est un cas particulier de la méthode NIPALS (Non-linear Iterative Partial Least-Squares). NIPALS est un algorithme proposé par H.Wold [162] est qui à l'origine du développement de la PLS. A chaque étape, l'information expliquée par la variable latente trouvée est soustraite à la matrice \mathbf{X} jusqu'à ce que la variance liée à l'information soit totalement expliquée et qu'il ne reste plus que le bruit [163,164]]. La différence majeure entre la régression PLS et la régression PCR (régression sur Composantes Principales) est que les composantes PLS sont optimisées pour être les plus prédictives de \mathbf{Y} , contrairement aux composantes principales. Le modèle est le suivant :

$$\mathbf{Y}(n, j) = \mathbf{X}(n, m) \cdot \mathbf{B}(m, j) + \mathbf{E}(n, j) \quad \text{Equation 1.}$$

où $\mathbf{E}(m, j)$ est la matrice des écarts.

Remarque :

Dans notre étude, la matrice $\mathbf{X}(n, m)$ représente les spectres des échantillons et la matrice $\mathbf{Y}(n, j)$ représente les concentrations à prédire.

La méthode PLS est depuis longtemps utilisée, principalement dans les domaines des industries chimiques, pétrolières et agroalimentaires [165].

b. PCR : Régression en composantes principales :

La régression en composantes principales PCR est constituée de deux étapes [153]. Tout d'abord les données spectrales sont traitées par ACP. Ensuite une régression MLR est appliquée aux données issues de l'ACP, avec des coordonnées factorielles comme variables prédictives.

Comme les données spectrales sont centrées, la constante de régression est nulle. L'équation de prédiction s'écrit de façon matricielle par :

$$Y_{\text{étalonnage}} = T_{\text{étalonnage}} \cdot b \quad \text{Equation : 2}$$

Avec T les nouvelles coordonnées de dimensions (m,a), a est le nombre de composantes principales sélectionnées et b le vecteur des coefficients.

Ensuite les coefficients sont utilisés sur les données du lot de validation. La matrice spectrale $X_{\text{validation}}$ est projetée dans l'espace à a dimensions de l'ACP puis les concentrations sont calculées :

$$T_{\text{validation}} = X_{\text{validation}} \cdot P_{\text{étalonnage}} \quad \text{Equation : 3}$$

$$Y_{\text{validation}} = T_{\text{validation}} \cdot b \quad \text{Equation : 4}$$

Les avantages de la PCR sont nombreuses, d'un côté l'ACP supprime les colinéarités spectrales et d'un autre côté elle ne demande pas de sélections de longueurs d'ondes à priori.

c. Développement d'une méthode d'analyse :

Le développement des applications analytiques se déroule en plusieurs étapes : [166]

La collecte d'un ensemble de produits représentatifs : Sélection des échantillons adéquats, représentatifs des composés à analyser

Enregistrement des spectres de la collection complète : Recueil des données (Analyses constantes et reproductibles nécessaires).

Etablissement d'un modèle prédictif par l'application de méthodes statistiques multidimensionnelles, après création d'une collection d'étalonnage (de calibration) et une de validation : Application d'une modélisation chimiométrique qui va permettre d'optimiser les jeux d'étalonnage, d'assurer la robustesse de la méthode et éventuellement assurer son transfert sur d'autres appareils.

Etape de prédiction qui se fait par l'application du modèle sur un ensemble d'échantillons inconnus : Vérification de la méthode (robustesse, précision, exactitude, spécificité) afin de s'assurer de sa fiabilité [167].

d. Evaluation de la qualité du modèle :

Un modèle peut être évalué par la méthode de validation croisée interne ou par la méthode de validation croisée externe. Lorsqu'on fait appel à la validation croisée interne, on ne se sert que des données du lot de calibration. On exclut du modèle à tour de rôle une donnée

(méthode LOO pour leave one out) ou plusieurs (méthode LMO pour leave many out) [168]. On construit à chaque fois un modèle avec toutes les données d'entrée moins celle(s) qui a (ont) été écartée(s) puis on teste le modèle sur cette (ces) donnée(s).

II.3. Validation croisée totale :

Avec validation croisée totale, les mêmes échantillons sont utilisés à la fois pour l'élaboration et les tests du modèle [169].

Pour évaluer la qualité du modèle, l'erreur quadratique de validation croisée, notée $RMSEC_V$ est exprimée par:

$$RMSEC_V = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_{icv} - y_i)^2}{n}} \quad \text{Equation : 7}$$

y_i : la concentration observée

\hat{y}_{icv} : la concentration prédite par validation pour l'échantillon retiré

n : le nombre d'échantillons testés dans le jeu d'étalonnage.

Et le coefficient de détermination R^2_{CV} correspondant au carré du coefficient de corrélation et il est exprimée par :

$$R^2_{cv} = \frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_{icv} - \bar{y})^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2} \quad \text{Equation : 8}$$

II.4. Validation externe :

Elle permet de tester le modèle d'étalonnage [170,171] sur un groupe d'échantillon externe qui n'est pas combinés dans l'élaboration du modèle d'étalonnage. Les valeurs de Y prédites sont ensuite comparés aux valeurs de Y observées. Au cours de cette étape, différents indicateurs statistiques sont calculés :

- Le coefficient de détermination de prédiction :

$$R^2_p = \frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - \bar{y})^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2} \quad \text{Equation: 9}$$

- L'erreur standard de prédiction (Root Mean Square Error of Prediction)

$$\text{RMSEP} = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^m (y_j - y'_j)^2}{n}}$$

Equation: 10

- L'erreur relative de prédiction en % (ER%)

$$\text{ER \%} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - y_i)^2}{\sum_{i=1}^n (y_i)^2}} * 100$$

Equation: 11

- La limite de détection LOD :

$$\text{LOD} = \text{RMSEP} * 3$$

Equation : 12

III. Applications de la combinaison chimométrie-spectroscopie infrarouge :

Dans le MIR, tout composé organique possède une signature qui lui est propre. C'est pourquoi cette technique est très souvent utilisée pour caractériser un échantillon. L'étude des spectres permet de tirer à la fois deux types d'informations, soient des informations qualitatives ou quantitatives. Le développement des applications du moyen infrarouge couplé aux méthodes chimométriques en agroalimentaire a connu une remarquable évolution prouvée par beaucoup de chercheurs. D'ailleurs plusieurs travaux ont été entamés :

- Dans le domaine du lait et ses dérivés [172]
- Dans le domaine des huiles : dosage des acides gras et des matière grasse [173], adultération des huiles, classification...
- Dans l'estimation des paramètres nutritionnels et énergétique [174].
- Discrimination des saucisses et de jambon chinois [175]..

Dans le même sens, notre étude vise à développer d'autres applications de la spectroscopie infrarouge couplée à la chimométrie pour le contrôle qualité des pulpes de betterave sucrière.

Conclusion :

En bref, les champs d'utilisation de la chimométrie couplée aux techniques spectroscopiques dans le secteur agroalimentaire sont vastes. De plus en plus les industries s'intéressent à cette nouvelle discipline capable d'analyser quantitativement et qualitativement les produits. Capable de classier et de prédire leurs teneurs en différents constituants en un laps de temps quelque soit le nombre et la variabilité de l'échantillon et quelque soit la complexité des spectres IR-TF et l'impossibilité de les visualiser à l'œil nu.

Conclusion :

Le choix de la technique de conservation est important, le choix du mode de conditionnement est important, les analyses à faire pour juger la qualité de la pulpe sont aussi importantes.

En effet, toute décision avancée sur la composition chimique d'un coproduit et sur sa valeur nutritive est d'une grande importance, car elle est liée directement à la santé animale et à leurs performances zootechniques. A cet effet, chaque échantillon de pulpe doit être contrôlé selon une méthode analytique adéquate et fiable afin de garantir des résultats satisfaisants. Le choix de la méthode d'analyse est primordial : une analyse rapide, fiable, sans réactifs et sans pollution est un défi qui est possible grâce aux techniques spectroscopiques couplées à la chimiométrie.

En effet, la combinaison : chimiométrie / spectroscopie infrarouge a prouvé avec le temps et avec son large domaine d'utilisation qu'elle est une méthode de contrôle de premier niveau , une méthode fiable et capable de faire l'identification et le dosage d'un ensemble de constituants grâce à ces outils efficaces et performants capables de mettre au point des méthodes analytiques et de juger avec précision la fiabilité des résultats de mesure et de construire l'empreinte digitale des pulpes et ce en un temps rapide et un coût minime.

II. Liste des références:

- [1] A. Philip Draycott. Sugar Beet. Formerly of Broom's Barn Research Station, Bury St Edmunds, Suffolk, UK ; 2006. p 1-8 / p 9-25.
- [2] Karim Driss .2011 . Technologie sucrière. Processus des sucreries de betterave, de canne à sucre et de la raffinerie. Séminaire - d'initiation et perfectionnement - organisé à la COSUMAR du 16 au 22 Mars 2011.
- [3] The Sugar Beet Crop: Science into Practice, eds Cooke D. A. & Scott R. K. xix + 675 pp. London: Chapman and Hall, World Crop Series ;1993. ISBN 0 412 25130 2.
- [4] SEDA. La filière betteravière - Portrait et culture ; 2006, from http://www.labetterave.com/la_filiere_betteraviere/portrait_et_culture/12/index.html. Speichim Bioéthanol. Technip Speichim.
- [5] INRA. "Betterave." HYPP Zoologie Retrieved ; 2012.
- [6] CIBE & CEFS. Environmental report, beet growing and sugar production in Europe; 2003. CIBE Paris, France & CEFS, Brussels, Belgique.
- [7] Bodson, B. . La culture de la betterave – Caractéristiques ; 2012.
- [8] Potarzycki, J. & L. Lewicka . Yielding efficiency of multicomponent fertilizers in sugar beet cultivation. Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roslin (222) ; 2002. p 111-118.
- [9] Institut Technique de la Betterave . Culture de la betterave sucrière 2011.
- [10] CIBE & CEFS. The EU Beet and Sugar Sector: A model of environmental sustainability; 2010. CIBE Paris, France & CEFS, Brussels, Belgique.
- [11] Tognetti, R., M. Palladino, A. Minnocci, S. Delfine & A. Alvino . "The response of sugar beet to drip and low-pressure sprinkler irrigation in southern Italy." Agricultural Water Management 60(2); 2003. p 135-155.
- [12] Bloch, D. & C. Hoffmann. Drought stress as affecting yield and quality development of different sugarbeet genotypes. Zuckerindustrie 129(10); 2004 .p 727-734.
- [13] Qi, A. & K. W. Jaggard. Partitioning climatic drought into effects of water stress and hot temperature in the UK. Sugar Industry / Zuckerindustrie 131(6); 2006. p 412-415.
- [14] : Organe Mensuel de la Confédération des Betteraviers Belges. 51ième Année N° 535. Février 2017
- [15] Ministère de l'agriculture et de la pêche maritime. Agriculture en chiffre 2016 Edition ; 2017. p 15-16.
- [16] : Ministère de l'agriculture et de la pêche maritime. Situation de l'Agriculture Marocaine-N°10 ; Décembre 2012 p 116-119
- [17] Elsayed, M. A., R. Matthews & N. D. Mortimer. Carbon and energy balances for a range of biofuels options, Resources Research Unit Sheffield Hallam University; 2003.
- [18] Mortimer, N. D., M. A. Elsayed & R. E. Horne. Energy and greenhouse gas emissions for bioethanol production from wheat grain and sugar beet. Final report for British Sugar plc. Sheffield, Resources Research Unit School of Environment and Development, Sheffield Hallam University:180; 2004.

- [19] Langeveld, H., G. van de Ven, S. de Vries, L. van den Brink & C. de Visser. Ethanol from sugar beet in The Netherlands: energy production and efficiency. 8th European IFSA Symposium, Clermont-Ferrand, France ; 2008.
- [20] Ballerini, D. & J.-L. Lemarchand. Le plein de biocarburants? Enjeux et réalités, Technip. ; 2007.
- [21] BIO Intelligence Service. Analyses de Cycle de Vie appliquées aux biocarburants de première génération consommés en France - Rapport final, ADEME ; 2010.
- [22] Parlement Européen. Directive 2008/98/CE du Parlement Européen et du Conseil du 19 novembre 2008 relative aux déchets et abrogeant certaines directives (Texte présentant d'intérêt pour l'EEE). Journal Officiel de l'Union européenne. L,(312) ; 2008. p 3-30.
- [23] Link, A., Balaguer, F., Goel, A. Cancer chemoprevention by dietary polyphenols: Promising role for epigenetics. *Biochemical Pharmacology*. 80, (12) ; 2010. p 1771-1792.
- [24] Les coproduits d'origine végétale des industries agroalimentaires », 2000, Ademe Editions, 76 pages.
- [25] Cristina-Gabriela Grigoras. Valorisation des fruits et des sous-produits de l'industrie de transformation des fruits par extraction des composés bioactifs. Thèse de Doctorat. Agricultural sciences ; 2012.
- [25] Novak, M.H .Valorisations non alimentaires des co-produits de la transformation de la Betterave sucrière. Document réalisé dans le cadre du projet Farr-Wal MHN-01 ; 2004.
- [26] Besancenot, J.-M., H. N Boeuf, M. Cheverry, P. Chapouto & F. Morel d'Arleux. Les sous-produits en alimentation animale - Guide de l'utilisation, ITEB & D.G.E.R. ; 1988.
- [27] Sandra Belboom. Évaluation de l'impact environnemental de la production de bioéthanol à partir de canne à sucre, betterave ou froment par analyse du cycle de vie. Comparaison des utilisations biocarburant et bioplastique. Thèse de doctorat ; 2012.
- [28] Destain, J., M. L. Fauconnier, V. Graff, M. H. Novak & L. Paquot Nouveaux produits, nouvelles technologies : voir autrement la betterave dans un concept de bio-raffinage, GXABT - AGROBIOPOLE Wallon - VALBIOM.
- [29] Besancenot, J.-M., H. N Boeuf, M. Cheverry, P. Chapouto & F. Morel d'Arleux. Les sous-produits en alimentation animale - Guide de l'utilisation, ITEB & D.G.E.R. ; 1988.
- [30] PRESTON, T.R. and WILLIS, M.B. Intensive beef production (2nd edition) Pergamon Press Oxford ; 1974.
- [31] PRESTON, T.R. Validity of feeding standards and development of feeding systems based on crop residues and agro-industrial by-products. In: Better use of crop residues and agro-industrial by-products in animal feeding: Research guidelines-1.State of knowledge. Animal production and Health Paper. No 50 FAO Rome ; 1985. p 179-213.
- [32] LENG, R.A. and PRESTON, T.R. Sugarcane for cattle production: present constraints, perspectives and research priorities. *Tropical Animal Production* 1;1976.p 1-22
- [33] SANSOUCY,R.. The Sahel : Manufacture of molasses-urea blocks. *World Animal Review* 57; 1986. p 40-48.
- [34] SANSOUCY,R., AARTS,G. and LENG,R.A. Molasses-urea blocks as a multinutrient supplement for ruminants. In: Sugarcane as feed. FAO Animal production and health paper No 72 FAO Rome ; 1988. p 263-279.
- [35] Sansoucy R. Problèmes généraux de l'utilisation des sous - produits agro- indus triels en alimentation animale dans la région méditerranéenne. Fourrages et sous-produits

- méditerranéens. Zaragoza : CIHEAM ; Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens; n. 16 ;1991. p 75- 79
- [36] Sandrine Valentin. AFSSA (Agence française de sécurité sanitaires des aliments) . Bonnes pratiques de fabrication de l'ensilage pour une meilleure maîtrise des risques sanitaires ISBN 2-11-095445-0 ; 2004
- [37] Corrot G.. Pulpes surpressées ensilées : étude de la contamination butyrique, essai d'amélioration de la qualité. Etude ITEB ; 1989.p 67.
- [38] Legrand, G.. Le bon usage de la pulpe surpressée. Collection les Guides Techniques de l'IRBAB. Ed ; 2005.
- [39] Panagiotopoulos, J. A., R. R. Bakker, T. de Vrije, K. Urbaniec, E. G. Koukios & P. A. M. Claassen. "Prospects of utilization of sugar beet carbohydrates for biological hydrogen production in the EU." Journal of Cleaner Production 18 Supplement ; 2010. S9-S14.
- [40] Dulphy J. - P. , Bony J. , Andre Eu J. . Utilisation des pulpes de betteraves surpressées par les vaches laitières. Bulletin Technique CRZV de Theix - INRA, 34 ; 1978. p 15 - 21.
- [41] Heuchel V. , Besancenot J.. Intérêt de l'association d'un ensilage de pulpes surpressées de betteraves sucrières à un ensilage de maïs dans un régime pour vaches laitières. Incidence sur le taux protéique du lait, sur la quantité de lait produite et sur la qualité butyrique du lait. Compte-rendu d'essai hiver 1988-1989. Maison de l'Elevage d'Ile de France, CEZ Rambouillet, USICA, ITEB ; 1990.
- [42] Morel d'Arleux F. , Besancenot J., Galloo J., Le Liboux P.. Utilisation de pulpes de betteraves surpressées par les vaches laitières en complément d'ensilage de maïs. Institut de l'Elevage, Maison de l'Elevage d'Ile de France, C.E.Z. de Rambouillet ; 1993.
- [43] Morel d'Arleux F., Besancenot J., Galloo J. , Lecomte B.. Utilisation de pulpe de betterave surpressée ou déshydratée par les vaches laitières en complément de maïs - Effets sur la production laitière et les taux. Compte-rendu d'essai n° 94091. Institut de l'Elevage, Maison de l'Elevage d'Ile-de-France, CEZ de Rambouillet ; 1994
- [44] Alain Morel. Un aliment riche en énergie. Production animale. REVUE UFA · 6 ; 2013.
- [45] François Morel d'Arleux. Comité nationale des coproduits. Coproduits de la betterave. Fiche coproduit 09. 149, Rue de Bercy – 75595 Paris Cedex 12 ; 2000.
- [46] SEDA. USECA Union des Sociétés d'Intérêt Collectif Agricole de Transformation des Pulpes de Betteraves ; 29, rue de Général Foy 75008, PARIS. 2011.
- [47] FRANCK Y., SEROUX M., 1980. Utilisation de la pulpe de betterave déshydratée par le lapin à l'engraissement. In: WRSA (Ed), Proc.2d of World Rabbit Congress, 16-18 avril, Barcelone, Vol. 2; 1980. p 167-175.
- [48] T. Gidenne , P. Aymard, C. Bannelier, D. Coulmier, A. Lapanouse. Valeur nutritive de la pulpe de betterave déshydratée chez le lapin en croissance. 12èmes Journées de la Recherche Cunicole ; 27-28 novembre 2007, Le Mans, France.
- [49] De Blas J.C., Carabano R.. A review on the energy value of sugar beet pulp for rabbits. World Rabbit Sci., 4 ; 1996. p 33-36.
- [50] Decruyenaere V., Coulmier D., Stilmant., Parache P., Baronheid C. Impact de l'incorporation des pulpes de betterave déshydratées extrudées dans les rations de finition de taurillons : qualité des carcasses et des viandes (n°088). Centre Wallon de Recherches agronomiques; 2006.

- [51] Malça, J. & F. Freire. "Renewability and life-cycle energy efficiency of bioethanol and bio-ethyl tertiary butyl ether (bioETBE): Assessing the implications of allocation." *Energy* 31(15); 2006. p 3362-3380.
- [52] Pfeffer, M., W. Wukovits, G. Beckmann & A. Friedl. "Analysis and decrease of the energy demand of bioethanol-production by process integration." *Applied Thermal Engineering* 27(16) ; 2007. p 2657-2664.
- [53] Zacaria Reddad, Clère Gérente, Yves Andrès, Marie-Christine Ralet, Jean-François Thibault, Pierre le Cloire. Ni(II) and Cu(II) binding properties of native and modified sugar beet pulp. *Carbohydrates Polymers* . 49; 2001. p 23-31.
- [54] A. Özer and F. Tümen. Cu(II) adsorption from aqueous solutions on sugar beet pulp carbon *The European Journal of Mineral Processing and Environmental Protection* .Vol.5, No.1, 1303-0868; 2005. pp. 26-34
- [55] Dronnet, V.M., Renard, C.M.G.C., Axelos, M.A.V., Thibault, J.F., Binding of divalent metal cations by sugar –beet pulp. *Carbonhydrate Polymers*, 34; 1999. p 73-82.
- [56] Reddad, Z., Gerente, C., Andres, Y., Cloirec, P.L., Adsorption of several metal ions onto a low-cost biosorbent : Kinetic and equilibrium studies. *Environ. Sci. Technol.* 36 ; 2002. p 2067-2073.
- [57] P. Monreal, L.B. Mboumba-Mamboundou, R.M. Dheilly, M. Queneudec, Evaluation de l'efficacité des traitements physicochimiques sur les performances mécaniques des bétons lignocellulosiques confectionnés à partir de pulpes de betterave, Actes du congrès Orgagec 08 ,Marne-la-Vallée , le 27-29 Août ; 2008 from : http://www.orgagec.com/communicationsf0222010/doc_7.pdf (15/09/10)
- [58] Vroman I. Panorama des agro-ressources en industrie. Quelle place pour les espèces fourragères?, *Fourrages*, 203 ; 2010. p 183-188.
- [59] *Agra Valor* 106 ; 2003.
- [60] Maderova.M, Misovec.P & Krkoska.P. "Modification of rheological properties of kraft pulp stock with pectin". *Vyskum.Pr.Odboru Papiera Celulozy*, Vol.1 ; 1973. pp37-40
- [61] Wong.E & Bregola.M. "Use of sugar beet pulps in manufacturing paper or paper-board". *Brevet d'invention Fr Pat 2 744 735* ; 1997.
- [62] Géraldine Champon. Effet de l'addition de charges végétales issues de déchets celluloses (pulpe de betterave sucrière) –Amélioration des caractéristiques mécaniques et optiques des papiers. Vol. 59 - n°2 ; Juin/Juillet 2005 ATEP.
- [63] Sylvie Latieule. Un biopolymère à base de pulpe de betterave. *Formule verte* ; 2013.
- [64] Pierre Monsan . flash news. White Biotechnologie, center of excellence. N°6 ; 2013.
- [65] Rouilly, A.. Nouveaux agro-matériaux composites à matrice protéique ou polysaccharidique : étude du fractionnement, de la transformation et de la mise en forme par extrusion bi-vis et injection moulage de la pulpe de betterave et du tourteau de tournesol, INP Toulouse. Thèse de doctorat; 2002.
- [66] Kamm B.. Production of platform chemicals and synthesis gas from biomass. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 46; 2007. p 5056-5058.
- [67] Wiloso E.I., Heijungs R. & De Snoo G.R.. LCA of second generation bioethanol: a review and some issues to be resolved for good LCA practice. *Renewable Sustainable Energy Rev.*, 16; 2012. p 5295-5308.

- [68] U.S. Department of Energy. Available at <http://www.eere.energy.gov/biomass/> accessed September 26; 2005.
- [69] Quanzeng Wang . Biomethanol Conversion from Sugar Beet Pulp: Biofuel from Agricultural Byproducts. Oct 15; 2008
- [70] Stephen, A.M.. Food Polysaccharides and Their Applications. New York: Marcel Dekker, Inc; 1995.
- [71] Quanzeng Wang. Biomethanol conversion from sugar beet pulp. Thèse de doctorat ; 2006.
- [72] Eric Allain. Les synthèse de France AgriMer / L'observatoire national des ressources en biomasse – Évaluation des ressources disponibles en France ; édition décembre 2015.
- [73] Vaughan, J.G., Judd, P.A., The Oxford Book of Health Foods, Oxford University Press; 2003. p 61.
- [74] Burtea G., Folosirea energiei solare la deshidratarea legumelor și fructelor, Editura Ceres, București; 1990.
- [75] McCullough ME.. Silage and silage fermentation. Feedstuffs 49 ; 1977. p 49–52.
- [76] Mathieu M.. La luzerne aujourd'hui. Edition France Agricole ; 1994. p83
- [77] Mc Donald P., Henderson A.R., Heron S.I.E.. The biochemistry of silage (2nd Edition) Chalcombe Publications, 13 Highwoods Drive, Marlow Borton, Marlow, BUCKS SL7 3PU; 1991.
- [78] Duthil J.. La production fourragère. collection d'enseignement agricole. Deuxième édition revue et augmentée. j.bailliere et fils, éditeurs 19 rue haute feuille – Paris – VI ; 1967. pp 28 6 - 294.
- [79] Bertin G., Hellings P.H., Paper presented in Symp L'ensilage: nouveaux aspects biologiques, Paris; 18 Jan 1985. p. 59
- [80] Z.G. Weinberg*, Y. Chen. Effects of storage period on the composition of whole crop wheat and corn silages. Animal Feed Science and Technology 185; 2013. p 196– 200
- [81] Weinberg, Z.G., Muck, R.E.. New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. FEMS Microbiol. Rev. 19; 1996. p 53–68.
- [82] Pahlow, G., Muck, R.E., Driehuis, F., Oude Elferink, S.J.W.H.. Microbiology of ensiling. In: Buxton, D.R., Muck, R.E., Harrison, J.H. (Eds.), Silage Science and Technology. Agronomy Monograph 42. American Society of Agronomy, Madison, WI, USA; 2003. pp. 31–93, Chapter 2.
- [83] Muck, R.E.. The role of silage additives in making high quality silage. Pages 106-116 in Silage Production from Seed to Animal, NRAES-67. Northeast Regional Agric. Engng. Service, Ithaca, New-York; 1993.
- [84] McDonald, P. , N. Henderson et S. Heron. The biochemistry of silage. Deuxième édition. Chalcombe Publications; 1991. p 340.
- [85] Wieringa, G.W.. Influence of moisture and nutrient content of forage plants on fermentation processes. Proceedings of the 3rd General Meeting of the European Grassland Federation, Braunschweig, Allemagne; 1969.p 133-137
- [86] Muck, R.E.. Factor affecting bunk life of silages. Pages in Proceedings of the N.S. Forage Council Conference Forage – Seeding to Feeding. A.H. Freeden (édit.). Nouvelle Écosse ; 1993. p 163-174.

- [87] Carole LAFRENIÈRE .Comment conserver une bonne récolte sous forme d'ensilage. Colloque sur les plantes fourragères «L'ensilage : du champ à l'animal»; le 17 et 18 novembre 1998.
- [88] André Amyot. Les additifs pour le foin et l'ensilage : mode d'action et recommandations d'utilisation pour chaque type de produit; 2003. p 7-13 .
- [89] Amyot A.. Fermentation et stabilité aérobie de l'ensilage de luzerne traité à l'acide propionique. Journée d'information scientifique sur les fourrages. CPVQ. Sainte-Foy, Québec ; 1995.
- [90] Cottyn, B. G., C. V. Boucque et F. X. Buysse.. La valeur de l'acide propionique et de l'acide formique en tant que produits pour ensilage et leur influence sur l'ingestion alimentaire chez les génisses. Revue de l'agriculture 4(avril) ; 1972. p 623-639.
- [91] Amyot A.. Dose d'acide propionique permettant de stabiliser un silo non scellé. Demi-journée d'information scientifique sur les fourrages. CPVQ (publication VT 031). 26 février. Notre-Dame-du-Bon-Conseil, Québec ; 1999.
- [92] Amyot, A.. Les additifs et la stabilité aérobie de l'ensilage. Rapport final. Projet de recherche #R-1105-95-093. Institut de recherche et de développement en agroenvironnement. Centre de Deschambault ; 1999. p 65.
- [93] Amyot A.. Qualité de conservation et stabilité aérobie de l'ensilage de balles rondes traité à l'acide propionique tamponné. Demi-journée d'information scientifique sur les fourrages. CPVQ (publication VU 045). 25 février. Victoriaville, Québec ; 2000. p 52-53.
- [94] McDonald, P., N. Henderson and S. Heron.. The biochemistry of silage. Deuxième édition, Chalcombe Publications ; 1991. 340 pages.
- [95] Amyot, A.. Effet de l'acide formique, d'un inoculant bactérien et de la mélasse sur la fermentation de l'ensilage de luzerne. Agrosol 13 (1); 2002. p 35-46
- [96] Randby, Å. T. . The effect of some acid-based additives applied to wet grass crops under various ensiling conditions. Grass and Forage Science. 55; 2000. p 289-299.
- [97] Muck, R. E. and L. Kung.. Effects of silage additives on ensiling. in Silage : Field to feedbunk, NRSAES-99. Northeast Regional Agric. Engng. Service, Hershey, Pennsylvania ; 1997. p 187-199
- [98] Demarquilly, C.. Utilisation des conservateurs: quand et pourquoi les utiliser. Résultats zootechniques obtenus avec des ensilages d'herbe préparés avec des conservateurs efficaces. Symposium international sur l'ensilage d'herbe, Rouyn-Noranda, ; Avril 1990. p. 93-106.
- [99] Merry, R. J., D. E. Beever and M.K. Theodorou.. Additives - Their potential for improving the nutritive value of silages. Proceedings of silage technology and management workshop, Truro, Nova Scotia; 29 and 30 March 1989. p 44-73.
- [100] Jacobs, J.L. and A. B. McAllan.. Enzymes as silage additives. 1.Silage quality, digestion, digestibility and performances in growing cattle. Grass and Forage Science 46; 1991. p 63-75.
- [101] Lafrenière, C., R. Berthiaume, R. Drapeau, et A. Amyot.. Comment conserver une bonne récolte sous forme d'ensilage. Colloque sur les plantes fourragères – L'ensilage : du champ à l'animal, CPVQ. 17 et 18 novembre, Alma et Sherbrooke ; 1998. p. 57-108.

- [102] Driehuis, F., S. J. W. H. Oude Elferink and P. G. Van Wikselaar.. Anaerobic lactate degradation in maize silage inoculated with *Lactobacillus buchneri* inhibits yeast growth and improves aerobic stability. *J. Appl. Microbiology*, 87 ; 1999. p 583-594.
- [103] Driehuis, F., S. J. W. H. Oude Elferink and P. G. Van Wikselaar.. *Lactobacillus buchneri* can improve aerobic stability of laboratory and farm scale whole crop maize silage but does not affect feed intake and milk production of dairy cows. Proceedings of the the 12th Int. silage conference. Pauly, T. (ed.). Uppsala, Sweden; 1999. p 264-265.
- [104] Ranjit, N. K. and L. Kung, Jr.. The effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum*, or a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of corn silage. *J. Dairy Sci.* 83 ; 2000. p 526-535.
- [105] Ranjit, N. K., C. C. Taylor and L. Kung.. Effect of *Lactobacillus buchneri* 40788 on the fermentation, aerobic stability and nutritive value of maize silage. *Grass and Forage Sc.* 57; 2002. p 73-81.
- [106] Kung, L. Jr., N. K. Ranjit, J. M. Robinson and R. C. Charley.. Inoculation with *Lactobacillus buchneri* improves the aerobic stability of barley silage. Proceedings of the the 12th Int. silage conference. Pauly, T. (ed.). Uppsala, Sweden; 1999. p 272-273.
- [107] Oude Elferink, S. J. W. H., F. Driehuis, J. Krooneman, C. Gootschal and S. F. Spoelstra.. *Lactobacillus buchneri* can improve the aerobic stability of silage via a novel fermentation pathway : the aerobic degradation of lactic acid to acetic acid and 1,2-propanediol. Proceedings of the the 12th Int. silage conference. Pauly, T. (ed.). Uppsala, Sweden; 1999. p 266-267.
- [108] Driehuis, F., S. J. W. H. Oude Elferink and P. G. Van Wikselaar.. Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria. *Grass and Forage Science*, 56 ; 2001. p 330-343.
- [109] Amyot A.. Utilisation de différentes sources d'azote alimentaire pour compléter l'ensilage de maïs en production bovine 1. Profil de fermentation et qualité de l'ensilage traité avec de l'ammoniaque ou de l'urée lors de la récolte. Rapport final. Projet de recherche #110114. Institut de recherche et de développement en agroenvironnement. Centre de Deschambault ; 2000. 34 pages.
- [110] SAVOIE PHILIPPE. Colloque sur les plantes fourragères l'ensilage du champs à l'animal. Bibliothèque nationale du Québec . ISBN 2-89457-168-2 ; 17 et 18 Novembre 1998.
- [111] Charly Guérin, Stéphane Saillé et Romain Guégan .Quels silos pour stocker les ensilages . Fourrages et silos ; 8 juin 2016.
- [112] Kjølgaard, W.L., P.M. Anderson, L.L. Wilson, H.W. Harpster, P.J. Levan et R.F. Todd. Round bale silage. ASAE Paper 81-1520. ASAE, St-Joseph, MI ; 1981.
- [113] Ganneau, M.. L'ensilage d'herbe en balles rondes: l'expérience française. Bulletin du C.E.M.A.G.R.E.F. n° 280 ; 1981. p 19-21.
- [114] Gaillard, F.. L'ensilage en balles rondes. *Fourrages* , 91; 1982. p 36-55.
- [115] Harrison, H.P. Preservation of large round bales at high moisture. ASAE Paper 83-1532. ASAE, St-Joseph, MI. (Publié aussi dans *Transactions of the ASAE*, 1985, 28(3); 1983. p 675-686).

- [116] Evers, B. 1989. The place for big bales in the current silage scene. Proceedings of the Big Bale Silage. Conference. British Grassland Society, Reading, UK. p. 1.1-1.7
- [117] Genest, J., A. Amyot, R. Caron, J.-N. Couture, J. Lachance, S. Poussier, M. Quevillon, D.D. Rony et P. Savoie.. L'ensilage de balles rondes. Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec, Québec ; 1990. Pages 107.
- [118] Vough, L.R. et I. Glick.. Round bale silage. Proceedings of the National Silage Production. Conference, NRAES Publication 67; 1993. p 117-123.
- [119] Haigh, P.M., D.G. Chapple et T.L. Powell.. Effect of silage additives on big-bale grass silage. Grass and Forage Science 51(3); 1996. p 318-323.
- [120] Wyss U.. Qualité des balles d'ensilage de pulpes de betterave. Recherche Agronomique Suisse 8(4) ; 2001. p 163-167.
- [121] Guy Legrand Ensilage de la pulpe surpressée. Couverture Végétale. IRBAB ; 2011
- [122] Chapuis D., Leuthreau A., 3R, 16; 2009 . p 188.
- [123] W. BRÜGEL. An Introduction to Infrared Spectroscopy. Methuen & Co. Ltd.; 1962.
- [124] G. HERZBERG. Molecular Spectra and Molecular Structure. In Infrared and Raman Spectra of Polyatomic Molecules. D. Van Nostrand Company, Inc.; 1945.
- [125] R. T. CONLEY. Infrared Spectroscopy. Alin and Bacon Inc.; 1966.
- [126] Wilson, R. H. Spectroscopic techniques for food analysis, (VCH, New York); 1994. p 246.
- [127] Pavia, D. L., Lampman, G. M. & Kriz, G. S. Introduction to spectroscopy, Saunders College Publishing; 1996. p 416.
- [128] Bertrand, D. & Dufour, E. La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques, TEC&DOC, Paris; 2006. p 566.
- [129] E. ZIEMONS. Etude en temps réel du processus d'extraction de la Tagitinine c en fonction des caractéristiques physico-chimiques du CO₂ supercritique à l'aide de fibres optiques couplant un spectrophotomètre IRTF a un extracteur à fluide supercritique. Thèse de doctorat. Université de LIEGE ; 2006-2007.
- [130] D. BERTRAND La spectroscopie proche infrarouge et ses applications dans les industries de l'alimentation animale INRA Prod. Anim., 15 (3) ; 2002. p 209-219
- [131] www.brukeroptics.com
- [132] Keirsse J. Spectroscopy Infrarouge déportée : Mise au point d'un biocapteur pour l'imagerie métabolique et la sécurité microbiologique. Université de Rennes 1. Thèse de Doctorat . N° Ordre de la thèse : 2866.
- [133] Chimie organique 1 – Les Editions de la Chenelière inc. ; 2008.
- [134] P. Griffiths et J.A. de Hasseth, Fourier Transform Infrared Spectrometry, Wiley-Blackwell, 2nd éd. (ISBN 0-471-19404-2 ; 2007.
- [135] Downey, G. in La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques (ed. Bertrand, D.), 479-504 (TEC & DOC), Paris; 2006.
- [136] Lai, Y. W., Kemsley, E. K. & Wilson, R. H. Quantitative analysis of potential adulterants of extra virgin olive oil using infrared spectroscopy. Food Chemistry 53; 1995. p 95-98.
- [137] Defernez, M., Kemsley, E. K. & Wilson, R. H. Use of infrared spectroscopy and chemometrics for the authentication of fruit purées. J. Agric. Food Chem. 43; 1995 .p 109-113.

- [138] Defernez, M. & Wilson, R. H. Mid-infrared spectroscopy and chemometrics for determining the type of fruit used in jam. *J Science of. Food and Agriculture* 67; 1995. p 461- 467.
- [139] Briandet, R., Kemsley, E. K. & Wilson, R. H. Discrimination of arabica and robusta in instant coffee by Fourier transform infrared spectroscopy and chemometrics. *J. Agric. Food Chem.* 44; 1996. p 170-174.
- [140] Kemsley, E. K., Ruault, S. & Wilson, R. H. Discrimination between coffea arabica and canephora variant robusta beans using infrared spectroscopy. *Food Chem.* 54;1995. p 321-326.
- [141] Szydlowska-Czerniak, A. MIR spectroscopy and partial least-squares regression for determination of phospholipids in rapeseed oils at various stages of technological process. *Food Chem.* 105; 2007. p 1179-1187.
- [142] Brereton, R. G. *Chemometrics applications of mathematics and statistics to laboratory systems*, (Ellis Horwood, Chichester); 1990. p. 307.
- [143] Sharaf, M. A., Illman, D. L. & Kowalski, B. R. *Chemometrics*, (Wiley, New York); 1986 .p 352.
- [144] Joliffe, I. T. *Principal Component Analysis*, (Springer-Verlag, New York, 1986. p 271
- [145] Tenenhaus, M. L'approche PLS. *Revue de Statistique Appliquée* 47 ; 1999. p 2-55.
- [146] Bardos, M. *Analyse Discriminante*, (Dunod, Paris) ; 2001. p 223.
- [147] Goupy, J. *La Méthode des Plans d'Expériences*, pp. (Dunod, Paris) ; 1996. p 303.
- [148] Daudin, J.-J., Robin, S. & Vuillet, C. *Statistique inférentielle*, (Presses Universitaires de Rennes, Rennes) ; 1999. p185.
- [149] Haykin, S. *Neural Networks: A Comprehensive Foundation*, (Prentice Hall, New Jersey; 1998. p 842.
- [150] Anna De Juin M. *Prétraitement de données et statistique multivariée. Chapitre 2 du cours Master. Université de Barcelona.*
- [151] Dhonoa M., Lister S. et Sanderson R.. The link between Multiplicative scatter Correction (MSC) and Standard Normal Variate (SNV). *Transformation of NIR spectra. Journal Near Infrared Spectrosc*, 2 ;1994. p 43-47.
- [152] Igne B., Roger J.M., Roussel J.M., Bellon Maurel S., Hurburgh C.R.. Improving the transfer of near infrared prediction models by orthogonal methods. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 99 ;2009 . p 57-65.
- [153] Yves Rogggo. *Détermination de la qualité de la betterave sucrière par spectroscopie proche infrarouge et chimiométrie. Thèse de Doctorat ; 2003.*
- [154] Leardi, R. *Chemometrics: From Classical to Genetic Algorithms. Grasas y Aceites*, 53(1); 2002.P 115-127.
- [155] Siebert, K. J. *Chemometrics in Brewing – A Review. J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 59(4) ;2001 . p147-156.
- [156] Erikson L., Johansson E., Kettaneh N. and Wold S.; *Multi and Megavariat Data Analysis. Part 1- Basic prinsipales and applications. Umetrics AB, Umea, Sweden ;2001 . p 1-527.*
- [157] Bertrand D. *Les methods d'analyses rapides dans les industries agroalimentaires*, in: D. Bertrand, E. Dufour (Eds .), *la spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques*, Lavoisier, Paris, France ; 2006. p 4-28.

- [158] Massart D.L., Vandeginst B.G.M., Buydens L.M.C. and Semeyers V.J.; Cluster Analysis, Handbook of chemometrics and qualimetrics: Part B/ed. 1st Ed. Amsterdam: Elsevier ; 1997. p 57-86.
- [159] Mapihan K. Caractérisation et classification des phases stationnaires utilisées pour l'analyse CPL de produits pharmaceutiques. Thèse de doctorat ; 2004.
- [160] Szydlowska-Czerniak A. MIR Spectroscopy and partial least square regression for determination of phospholipids in rapeseed oils at various stages of technological process. Food Chem. 105; 2007. p 1179-1187.
- [161] Smith B.. Infrared spectral interpretation: A systematic approach, CRC Press, Washington, DC; 1999. p 1-29.
- [162] Wold H. Multivariate Analysis. New York, Academic Press; 1966. p 391-420.
- [163] Wilson R. H., Goodfellow B.J. . Mid Infrared Spectroscopy, Spectroscopic techniques for food analysis, ed R.H Wilson. VCH Publishers.;1994. p 59-85/ p 13-57/ p 246.
- [164] Wilson R.H. Spectroscopic technique for food analysis, Ed, New York: VCH; 1994. p 246.
- [165] Martens H., Jensen S.A. Progress in cereal chemistry and technology, Proceeding, 7th World cereal and Bread Congress, vol 5a Holas J et Kratochvil J., Eds (Elsevier Amsterdam);1983.
- [166] Aziz Hirri. Application des méthodes chimiométriques couplées à la Spectroscopy FTIR pour le contrôle qualité des huiles d'olives vierges. Thèse de doctorat. Faculté des sciences et techniques de Béni Mellal ; 2016.
- [167] Terouzi W. Caractérisation et classification des olives et des huiles d'olives marocaines par spectroscopie moyen infrarouge et chimiométrie . Thèse de Doctorat. Faculté des sciences et techniques de Béni Mellal ; 2013.
- [168] A. Tropsha, P. Gramatica, V.K. Gombar, The Importance of Being Earnest: Validation is the Absolute Essential for Successful Application and Interpretation of QSPR Models, QSAR & Combinatorial Science, 22 ; 2003. p 69-77
- [169] Davies AMC Cross-validation: do we love it too much. Spectrosc Eur 10; 1998 . p 24-25.
- [170] A Golbraikh, A Tropsha - Beware of q². Journal of Molecular Graphics and Modelling; 2002.
- [171] Tropsha A, Golbraikh A. Predictive QSAR modeling workflow, model applicability domains, and virtual screening. Current Pharmaceutical Design 2007;13(34) ; 2007. p 3494-3504.
- [172] Oulahal N., Adt I., Mariani C., Degraeve P..Examination of wooden shelves used in the ripening of a raw milk smear cheese by FTIR spectroscopy. Food control, 20; 2009. p 658-663
- [173] Belton P.S., Willson R.H., Sadeghi H., Peer K.E.. A rapid method of the estimation of isolated trans double bands in oils using Fourier Transform infrared spectroscopy combined with ATR. Lebensmittel. Wiss.U, Technol.21; 1988. p 153-157
- [174] Moros J., Inon F., Guardia M.. Determination of the energetic value of fruit and milk-based beverages through PLS-ATR infrared spectroscopy. Analytica Chimica Acta, 538; 2005. p 181-193.
- [175] Xu L and al. Rapid discrimination of pork in halal and non-halal Chinese ham sausages by FTIR Spectroscopy and chemometrics. Meat Science, 92; 2012. p 506-510.

Partie 2 : Etude Expérimentale

I. Introduction :

L'intérêt des analyses des aliments se situe essentiellement au niveau zootechnique. Ceux-ci étant destinés à l'alimentation des animaux, il est important de bien connaître leur valeur alimentaire afin que la ration soit équilibrée en énergie, en protéines, en minéraux, en oligoéléments et en éléments fibreux. Ainsi, ces aliments assureront les besoins des animaux pour concilier santé, productivité et rentabilité économique.

Les analyses permettent aussi de déterminer avec précision le volume et les caractéristiques des aliments du commerce s'il y a nécessité de les utiliser comme compléments alimentaires.

Et enfin, au niveau environnemental l'intérêt que porte les analyses est d'une valeur à ne pas négliger, car un affouragement équilibré peut réduire autant que possible les rejets d'azote dans l'environnement.

Toutefois, toute décision avancée sur leur composition chimique et sur leur valeur nutritive est d'une grande importance, car elle est liée directement à la santé des animaux et à leurs performances zootechniques. A cet effet, chaque échantillon de pulpe doit être contrôlé selon une méthode analytique adéquate et fiable afin de garantir des résultats satisfaisants, qui serviront de base à la prise de décisions.

Pour ce faire nous avons réalisé des analyses biochimiques et microbiologiques dont l'objectif d'évaluer la qualité de la pulpe. Le plus intéressant dans ces analyses, c'est de pouvoir les réaliser en se basant sur des méthodes scientifiques fondées et de pouvoir les transférer facilement vers des techniques rapides d'analyses comme la spectrométrie dans le moyen infrarouge.

Dans ce travail nous avons adopté une nouvelle méthode combinant la chimiométrie et la spectroscopie infrarouge pour l'identification et le dosage d'un ensemble de constituants de la pulpe de betterave par le biais de plusieurs outils efficaces et performants capables de mettre au point des méthodes analytiques et de juger avec précision la fiabilité des résultats de mesure et de construire l'empreinte digitale des pulpes et ce en un temps rapide et un coût minime.

Dans ce qui suit nous commençons tout d'abord par une présentation de la méthodologie adoptée lors de cette étude (échantillonnage, type de conditionnement, analyses effectuées). Ensuite nous présentons les résultats en deux volets, un consacré à l'évaluation de la qualité

de la pulpe et l'autre au contrôle et à la prédiction de ses constituants par les techniques spectroscopiques et la chimométrie..

II. Méthodologie adoptée :

➤ Matrice étudiée :

La matrice étudiée est la pulpe de betterave sucrière sous ses différentes formes :

- Humide fraîche à la sortie de presse,
- Conservée sous forme d'ensilage dans des sacs de 50 Kg et dans des balles de 450 Kg.
- Conservée par séchage qui prend le nom de pellets.

Remarque : Les pulpes ensilées sont déposées sur un terrain propre et cimenté et exposées à l'air libre pour se mettre plus ou moins aux mêmes conditions de l'agriculteur.

➤ Date de prélèvement :

Les pulpes sont prélevées les mois de : Mai, Aout et Novembre 2014 aussi Mai 2015.

➤ Echantillonnage :

Les pulpes de betterave sucrière échantillonnées sont sorties de la presse au même moment et sont conditionnées dans des circonstances identiques.

➤ Mode de prélèvement :

Dans les sacs de 50 Kg : On a prélevé une quantité de 2 kg de chaque sac.

Dans les balles de 450 Kg : Une sonde bien aiguisée, très coupante de diamètre intérieur compris entre 1 et 3,5 cm a pénétré à 45 cm de profondeur, elle a été enfoncée sur le côté rond de la balle en visant le centre bien évidemment, le haut et le bas .

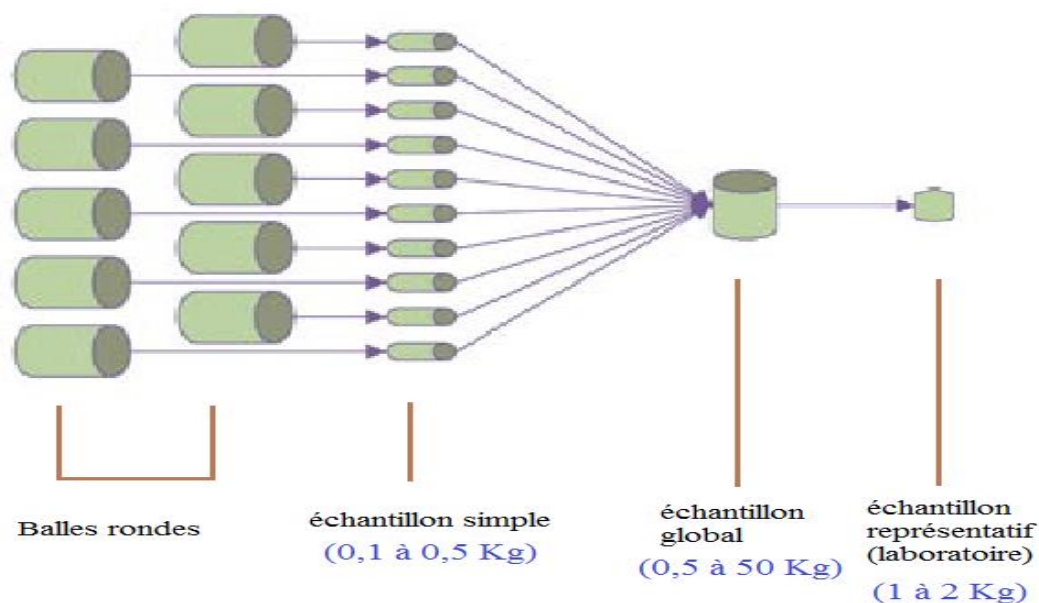


Figure.1 : Mode de prélèvement de l'échantillon représentatif à partir des balles de 450 Kg :

Les trous provoqués dans le plastique ont été soigneusement rebouchés immédiatement après avoir effectué les prélèvements. Ceci afin d'éviter l'entrée d'air et la détérioration subséquente des pulpes ensilées.

➤ **Conditionnement :**

A partir de chaque échantillon de pulpe prélevé, 500 g ont été mises dans un sac étanche et résistant. On a évacué l'air résiduel du sachet en tassant pour empêcher la respiration de l'échantillon et pour limiter la modification de sa composition chimique et de sa valeur alimentaire. On a bien fermé les sachets, puis on a mentionné l'identité et la date de prélèvement de chaque échantillon et on les a conservé à 4°C jusqu'au laboratoire.

Pour les analyses : microbiologiques, du pH, de la matière sèche et spectroscopiques ont été faites dans les 48 heures.

Une partie des échantillons a été séchée à 60°C pendant 48 h, puis broyée et tamisée à 1mm et conservée dans des bocaux en verre hermétiques.

La partie restante des échantillons a été conservée par congélation à -20°C jusqu'au moment d'analyse.

➤ **Analyses effectuées :**

Evaluation de la qualité biochimique de la pulpe :

Les analyses effectuées pour évaluer la qualité biochimique de la pulpe sont comme suit :

- Matière sèche
- Les cendres
- Dosage des éléments minéraux Ca et Mg par absorption atomique à flamme :
- Le dosage du phosphore est fait par spectrophotomètre :
- MG Soxhlet
- (MAT = N X 6,25) selon la méthode de Kjeldahl
- Détermination des teneurs en fibres (ADF),(NDF) et (ADL). Cellulose et Hémicellulose : Méthode de Van Soest
- Dosage des sucres (Bertrand)
- Dosage de la teneur en acides aminés : lysine méthionine, thréonine et cystéine par HPLC après dérivation à l'OPA
- Composés phénoliques totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu

Evaluation de l'état fermentaire des pulpes :

L'évaluation de la qualité fermentaire des pulpes repose sur un ensemble d'analyses chimiques et microbiologiques permettant de juger l'état de la conservation par ensilage.

Les analyses effectuées sont :

- Dosage des acides gras volatils: a.acétique , a. butyrique , A. Propionique par (CPG)
- Dosage des acides organiques : acide lactique HPLC
- Dosage du pH

Les analyses microbiologiques effectuées pour évaluer la qualité fermentaires des pulpes

- Levures et moisissures par dénombrement .
- Bactéries lactiques par dénombrement

Contrôle et prédiction des constituants de la pulpe :

Cette partie a été réalisée suite au couplage entre deux méthodes à savoir :

- La spectroscopie Moyenne infrarouge
- Méthodes chimiométriques PLS et PCR.

Les résultats des travaux de recherche ont porté sur deux volets:

- Volet 1 : Evaluation de la qualité des pulpes (dont la méthodologie adoptée et les résultats sont détaillés dans le chapitre 1)
- Volet 2 : Méthodes de contrôle et de prédiction (dont la méthodologie adoptée et les résultats sont détaillés dans le chapitre 2)

Chapitre 1 :

Evaluation de la qualité des pulpes

Introduction :

Dans ce chapitre on évalue la qualité de la pulpe de betterave, influencée par plusieurs paramètres, à l'aide d'une série d'analyses déterminant sa composition biochimique et son état fermentaire.

On a étudié en premier lieu l'influence de la technique de conservation (vrac, ensilage ou séchage) sur la qualité des pulpes. Et en second lieu on a étudié l'influence de la durée de stockage des pulpes ensilées et du mode de stockage (balles de 450 Kg et sacs de 50 Kg) sur leurs compositions biochimiques et leurs états fermentaires.

Ce chapitre a fait l'objet de :

- Trois articles publiés:

1^{er} article intitulé : Analyse HPLC et étude de l'évolution des teneurs en acides aminés dans la pulpe de betterave à sucre durant l'ensilage.

Alami Lamiae, Salmaoui Souad, Abdelkhalek Oussama, Ali El Moujahid, Abderrahim Hassani, Otmani Manar and Mohamed Mbarki. *HPLC analysis and Study of the evolution of the amino acids contents in sugar beet pulp during silage*. International Journal of Innovation and Applied Studies. ISSN 2028-9324 Vol. 16 No. 3 Jun. 2016, pp. 496-502.

2^{ème} article intitulé : Evolution des paramètres fermentaires de la pulpe de betterave sucrière ensilée le long du stockage.

Alami Lamiae, Salmaoui Souad, Abdelkhalek Oussama, Ali El Moujahid, Abderrahim Hassani, Otmani Manar and Mohamed Mbarki. *Evolution of fermentation parameters of ensiled sugar beet pulp during storage*. Chemistry and Materials Research. ISSN 2224- 3224 (Print) ISSN 2225- 0956(Online). Vol.9 No.1, 2017. P. 60-67.

3^{ème} Article intitulé : Effet de la technique de conservation et du temps de stockage sur la teneur en fibre: NDF, ADF, ADL de la pulpe de betterave sucrière.

Alami Lamiae, Mohamed Mbarki, Abdelkhalek Oussama, Ali El Moujahid, Abderrahim Hassani, Otmani Manar and Salmaoui Souad. *Effect of conservation technic and storage period on the fiber content: NDF ADF ADL for sugar beet pulp*. International Journal of

- Et de 2 articles en cours de soumission :

4^{ème} article intitulé : Effet de la période de stockage et de la quantité conservée sur la composition biochimique de la pulpe de betterave sucrière ensilée.

Alami Lamiae, Salmaoui Souad, Abdelkhalek Oussama, Ali El Moujahid, Abderrahim Hassani, Otmani Manar and Mohamed Mbarki. *Biochemical analysis of ensiled and dehydrated sugar beet pulp.*

5^{ème} article intitulé : effet de la technique de stockage sur la biochimie de la pulpe de betterave à sucre en vrac, ensilée et déshydratée.

Alami Lamiae, Salmaoui Souad, Abdelkhalek Oussama, Ali El Moujahid, Abderrahim Hassani, Otmani Manar and Mohamed Mbarki. *(Biochemical analysis of ensiled and dehydrated sugar beet pulp).*

I. Effet du mode de conservation, de la période de stockage et de la quantité conservée sur la composition biochimique de la pulpe de betterave sucrière.

1. Introduction :

Les modifications chimiques susceptibles d'intervenir au cours de la conservation ayant toute chance de se répercuter sur la composition biochimique des aliments et par conséquent sur leurs valeurs nutritives. Les aliments sont des mélanges complexes de substances nombreuses et variées. Leur analyse permettra de distinguer entre l'inorganique et l'organique, entre les lipides, les glucides, les protides et enfin entre les éléments minéraux [1].

Les lipides correspondent à un groupe hétérogène de composés organiques insolubles dans l'eau (hydrophobes) [1].

Les glucides constituent un groupe homogène de composés essentiellement ternaires, en raison de leur constitution chimique, les glucides sont des substances très hydrophiles : les oses et oligosides sont hydrosolubles, mais les polymères d'oses (ex. : amidon ou cellulose) sont des macromolécules insolubles dont certaines constituent les fibres alimentaires [1].

Les protides sont les constituants organiques qui occupent la première place (quantitative et qualitative) chez les êtres vivants. Ce sont des composés organiques quaternaires formés de C, H, O, et N. Les acides aminés constituent un vaste groupe (plus de 200) dont seuls les vingt participant à l'élaboration de la matière vivante sont bien connus. Leur polymérisation conduit à des chaînes d'acides aminés courtes (peptides) ou plus longues (protéines). Mais le caractère prédominant de ces polymères est le fait que l'ordre d'enchaînement des acides aminés n'est pas quelconque mais déterminé sous la forme d'une séquence imposée par l'information génétique. Les protéines sont donc les molécules spécifiques par excellence de la matière vivante ; elles sont constitutives pour la plupart, mais elles jouent aussi un rôle fonctionnel fondamental car les enzymes sont des protéines permettant la catalyse des réactions métaboliques dans des conditions compatibles avec la vie [1].

Les éléments minéraux indispensables sont classés en deux catégories selon l'importance de l'apport nécessaire en rapport avec leur teneur dans l'organisme. Les macroéléments sont les

éléments minéraux majeurs à rôle constitutif. Les oligoéléments ou éléments traces sont nécessaires à doses infimes et jouent plutôt un rôle fonctionnel [1].

Les procédés technologiques visant à l'amélioration de la sécurité sanitaire des produits alimentaires et de leur durée de vie présente un réel intérêt pour les industriels du secteur agroalimentaire. La conservation s'avère dans ce cas un moyen efficace pour faire face à des aléas d'approvisionnement et pour équilibrer les disponibilités et les besoins.

Conserver un aliment suppose de stabiliser au mieux son matériel vivant comme à l'état initial, de façon à pouvoir le stocker plusieurs semaines ou plusieurs mois sans qu'il ne s'altère et qu'il conserve une valeur alimentaire élevée [2]. Selon le Codex Alimentarius la conservation est un combat constant contre les microorganismes d'altération [3]. La stabilisation recherchée peut être obtenue soit par voie sèche qui nécessite le séchage de l'aliment jusqu'à une teneur en matière sèche (MS) de 85%, soit par voie humide qui nécessite la conjonction de l'anaérobiose et de l'acidification du milieu [2].

C'est dans ce contexte que ce travail a été réalisé, visant à étudier l'influence du mode de conservation (ensilage ou séchage), de la période de stockage (depuis sortie presse jusqu'à un an de stockage) et de la quantité ensilée (sacs de 50 Kg et balles de 450 Kg) sur les teneurs en éléments nutritives des pulpes de betterave.

Pour les trois matrices étudiées (pulpe pressée, pulpe ensilée et pellets), on a déterminé la matière sèche, les matières azotées totales (MAT), les sucres totaux, la matière grasse (MG), les cendres et les éléments minéraux majeurs: Calcium (Ca), Magnésium (Mg) et phosphore (P). Les composés phénoliques totaux ont été aussi analysés dans cet étude vue leur capacité antioxydante et le grand nombre de propriétés biologiques, dont ils disposent, exploitées dans de nombreux domaines industriels.

2. Matériel et méthodes:

2.1. Les échantillons de pulpes :

La matrice étudiée est la pulpe de betterave sucrière de la zone de Tadla Azilal sous ses différentes formes : pressée, ensilée et déshydratée.

Les pulpes sortent des presses fortement hydratées, leur humidité est variable, en fonction des capacités des presses à pulpe et des caractéristiques physiques des pulpes qui changent avec la qualité de la betterave et les conditions de conduite de la diffusion. Cette humidité varie entre 70 et 80 %. Les pulpes pressées subissent par la suite un séchage à l'air chaud et se conservent

sous forme de pellets ; ou bien subissent une simple fermentation lactique du à sa conservation par ensilage.

2.2. Détermination de la matière sèche :

La mesure de la matière sèche ou encore la teneur en eau est une opération analytique capitale utile à la nécessité de rapporter les résultats d'analyses de toute nature à une base fixe (matière sèche) et de pouvoir ainsi comparer différents aliments entre eux et à l'évaluation des risques pendant la conservation.

a. Principe :

On procède à une dessiccation de l'échantillon à analyser dans une étuve aux températures de 103°C à 105°C pendant 4 heures, jusqu'à l'obtention d'une masse pratiquement constante. Pour éviter toute reprise d'humidité, il convient d'opérer dans des vases de tare, placés dans un dessiccateur [4].

b. Mode opératoire :

- Introduire dans le vase de tare 2g de l'échantillon frais.
- Placer le dans une étuve réglée à 105 c° pendant trois heures ; peser et remettre l'échantillon à l'étuve encore une heure jusqu'au poids constant.

c. Expression des résultats :

La teneur en eau (%) du matériel végétal est donnée par la formule suivante:

$$\text{Teneur en eau (\%)} = \frac{(P_1 - P_2)}{m} * 100$$

Avec :

P₁ : masse en g de la prise d'essai avant séchage.

P₂ : masse en g de la prise d'essai après séchage.

m : masse de la prise d'essai.

A partir de la teneur en eau, on détermine le taux de matière sèche qui est donné par la formule suivante :

$$\text{Taux de matière sèche (\%)} = 100 - \text{teneur en eau (\%)}$$

2.3. Dosage des cendres brutes

a. Principe

La teneur en cendres intervient dans l'estimation de la valeur énergétique des fourrages. Les cendres totales sont obtenues par calcination de la matière sèche dans un four à mouffles à 900°C [4].

b. Mode opératoire

Peser, à 1 mg près, 5 g environ de l'échantillon dans un creuset à incinération préalablement chauffé, refroidi et taré. Placer le creuset sur la plaque chauffante et chauffer progressivement jusqu'à carbonisation de la matière.

Introduire le creuset dans le four à moufle réglé à 900 °C. Maintenir à cette température jusqu'à obtention de cendres blanches ou grises claires, apparemment dépourvues de particules charbonneuses. Placer le creuset dans un dessiccateur, laisser refroidir et peser immédiatement.

c. Expression des résultats :

Les résultats sont exprimés selon la formule suivante :

$$TC (\%) = \frac{(B-A)}{m} * 100$$

Avec :

TC : teneur en cendres (%).

A : poids du creuset vide (g).

B : poids du creuset + échantillon après l'incinération (g).

m : masse de l'échantillon (g).

2.4. Dosage des éléments minéraux par absorption atomique à flamme :

2.4.1. Dosage du calcium :

Le dosage du calcium a été réalisé selon une méthode adoptée à LOARC [5].

a. Principe

L'échantillon est mis en solution dans l'acide chlorhydrique après destruction éventuelle des matières organiques. Le calcium et le Magnésium sont déterminés, après dilution appropriée, par spectrométrie d'absorption atomique à flamme.

b. Spectrophotomètre

Type: Spectrophotomètre d'absorption atomique à flamme VARIAN Spectra A 220

Paramètres instrumentaux :

- Flamme air -acétylène (Pression de l'air 4 bar , Pression de C₂H₂:1,2bar)
- Longueur d'onde du Calcium : 422.7 nm
- Largeur de la fente : 0.5 nm
- Intensité de la lampe : 10 mA
- Avec correction d'absorption non spécifique

c. Réactifs :

- 1) Eau distillée (conductivité électrique < 3 µs/cm)
- 2) Acide chlorhydrique concentré p.a d:1,19
- 3) Acide nitrique supra-pur 65 %
- 4) Eau oxygénée p.a (30 % V/V)
- 5) Solution de lanthane à 50g /l à partir de l'oxyde de lanthane ou chlorure de lanthane
- 6) Solution-mère de calcium à 1g/l (Titrisol Merck)

6.1) Solution de calcium à 100 mg/l : Placer 5 ml de la solution - mère (6) dans une fiole de 50 ml, compléter au volume avec l'eau distillée.

6.2) Gamme d'étalonnage 1 ; 2 et 4 mg/l de calcium:

Placer successivement, 1 ; 2 et 4 ml de la solution à 100 mg/l (6.1) dans des fioles jaugées de 100 ml, ensuite, ajouter 1 ml d'acide nitrique (3) et 2ml de la solution de lanthane (5). Et enfin, compléter au volume avec de l'eau distillée. Réaliser un blanc sans calcium dans les mêmes conditions.

d. Préparation des échantillons :

Selon la teneur de l'élément à doser, et pour éviter d'éventuelles dilutions, sauf si nécessaires, placer une prise d'essai de l'échantillon, pesée à 0,01 mg dans une capsule en porcelaine ou en platine, sécher dans l'étuve à 105°C ou dans une plaque chauffante (séchage modéré), puis introduire la capsule dans un four à moufle. Programmer le four de manière à atteindre 550°C progressivement, et laisser incinérer pendant 12 heures. Laisser refroidir et ajouter 5 à 10 ml d'acide chlorhydrique concentré (2) et 3 à 5 gouttes d'eau oxygéné (4), chauffer sur une plaque chauffante jusqu'à ce que les cendres ne se dissolvent apparemment plus. Filtrer, et récupérer dans une fiole jaugée dont le volume V dépend de la teneur en élément recherché :

-Si la Teneur est >0,1 %) V = 250 ou 500 ml.

-Si la Teneur est <0,1%) V= 25 ; 50 ou 100ml.

Préparer un blanc échantillon dans les mêmes conditions

e. Détermination

Présenter successivement le blanc et les solutions d'étalonnage (6.2). Le blanc est une solution à 1 % d'acide nitrique (3.3) et 4%(V /V) de la solution de lanthane (5).

Présenter ensuite le blanc échantillon et les échantillons puis les additionner de la solution de lanthane à 4% (V /V), effectuer des dilutions si nécessaire (Si par exemple la lecture de l'échantillon est hors la gamme d'étalonnage).

Le logiciel de l'appareil donne la concentration en calcium des échantillons en mg/l

f. Calcul

La Teneur en % de calcium:
$$\frac{L(E) - L(B) \cdot V \cdot F}{10.000 \text{ P.E}}$$

L (E) : Lecture de l'échantillon en mg/l

L (B) : Lecture du blanc échantillon en mg/l

V : Volume de récupération après l'incinération en ml

P.E : Prise d'essai de l'échantillon en gramme

F: Facteur de dilution

2.4.2. Dosage du Magnésium :

On va procéder de la même manière que le cas du Calcium [5] avec des petites modifications au niveau :

- Des paramètres instrumentaux :

Longueur d'onde du Magnésium : 202,6 nm

Largeur de la fente : 1.0 nm

Intensité de la lampe : 4 mA

- Des réactifs :

6) Solution-mère de magnésium à 1g/l (Titrisol Merck)

6.1) Solution de magnésium à 100 mg/l

Placer 10 ml de la solution - mère (6) dans une fiole de 100 ml, compléter au volume avec l'eau distillée.

6.2) Gamme d'étalonnage 5 ,10 et 20 mg/l de magnésium: Placer successivement, 5 ,10 et 20 ml de la solution à 100 mg/l (6.1) dans des fioles jaugées de 100 ml. Ajouter 1 ml d'acide

nitrique (3) et 4ml de la solution de lanthane(5) ; Compléter au volume avec de l'eau distillée. Réaliser un blanc sans magnésium dans les mêmes conditions.

2.4.3. Dosage du phosphore :

Le dosage du phosphore est réalisé suivant une méthode adoptée par LOARC [6].

a. Principe :

L'échantillon est minéralisé et mis en solution acide. La solution est traitée par le réactif vanadomolybdique. La densité optique de la solution jaune ainsi formée est mesurée au spectrophotomètre à 430 nm.

b. Mode opératoire :

Peser, à 1mg près, 1g ou plus de l'échantillon. Introduire la prise d'essai dans un matras de Kjeldahl, ajouter 20 ml d'acide sulfurique ($d=1,84$ g/ml), agiter pour imprégner complètement la matière d'acide et éviter qu'elle n'adhère aux parois du ballon, chauffer et maintenir pendant 10 minutes à ébullition. Laisser refroidir légèrement, ajouter 2ml d'acide nitrique ($d=1,38$ à $1,42$ g/ml), chauffer doucement, laisser refroidir légèrement, ajouter à nouveau un peu d'acide nitrique et porter à ébullition. Répéter ces opérations jusqu'à obtention d'une solution incolore. Refroidir, ajouter un peu d'eau, transvaser le liquide dans une fiole jaugée de 500 ml en rinçant le matras de Kjeldahl à l'eau chaude. Laisser refroidir ajuster au trait de jauge avec de l'eau, homogénéiser et filtrer.

- Préparation du réactif vanadomolybdique : mélanger 200 ml de la solution d'heptamolybdate d'ammonium, 200 ml de la solution de monovanadate d'ammonium et 134 ml d'acide nitrique dans une fiole jaugée de 1 l. Ajuster au trait de jauge avec de l'eau.
- Préparation de la solution d'heptamolybdate d'ammonium : dissoudre dans l'eau chaude 100g d'heptamolybdate d'ammonium $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$. Ajouter 10 ml d'ammoniaque (densité 0,91 g/ml) et ajuster à 1 l avec de l'eau.
- Préparation de la solution de monovanadate d'ammonium : dissoudre dans 400 ml d'eau chaude 2,35g de monovanadate d'ammonium NH_4VO_3 . Ajouter lentement et tout en agitant 20 ml d'acide nitrique dilué (7ml de HNO_3 (3.4) + 13 ml de (H_2O)) et ajuster à 1 l avec de l'eau.
- Préparation de la solution étalon de 1 mg de phosphore par ml : dissoudre dans l'eau 4,387g de dihydrogénophosphate de potassium KH_2PO_4 . Ajuster à 1 l avec de l'eau.

c. Développement de la coloration et mesure de la densité optique :

Diluer une partie aliquote du filtrat obtenu pour obtenir une concentration de phosphore atteignant au maximum 40µg/ml. Introduire 10 ml de cette solution dans un tube à essai et y ajouter 10 ml du réactif vanadomolybdique. Homogénéiser et laisser reposer 10 minutes au moins à la température de 20°C. Mesurer la densité optique au spectrophotomètre à 430 nm par comparaison avec une solution obtenue par addition de 10 ml du réactif vanadomolybdique à 10 ml d'eau.

d. Courbe d'étalonnage :

Préparer à partir de la solution étalon des solutions contenant respectivement 5, 10, 20, 30 et 40 µg de phosphore par ml. Prélever 10 ml de chacune de ces solutions et y ajouter 10 ml du réactif vanadomolybdique. Homogénéiser et laisser reposer 10 minutes au moins à la température de 20°C. Mesurer la densité optique. Tracer la courbe d'étalonnage en portant en ordonnée les valeurs de la densité optique et en abscisse les quantités correspondantes de phosphore. La courbe est linéaire pour les concentrations comprises entre 0 et 40 µg/ml

e. Calcul des résultats :

On détermine la quantité du phosphore de la prise d'essai en se référant à la courbe d'étalonnage.

2.5. Les Sucres totaux :

Les sucres représentent la source d'énergie la plus facilement utilisable par l'animal puisqu'ils sont totalement solubles dans le système digestif. La méthode de référence comprend une extraction en milieu éthanolique suivie d'un dosage selon la méthode de Bertrand (après inversion pour déterminer les sucres totaux).

a. Extraction :

On traite l'échantillon sec broyé par l'éthanol (70 à 80 %) et on fait chauffer à reflux pendant 20 min. On poursuit par une filtration, on récupère le filtrat et on traite le substrat une deuxième fois par l'éthanol (70 à 80 %) bouillant. On filtre et on joint au premier filtrat.

L'extrait éthanolique obtenue est ensuite évaporé sous pression réduite à une température ne dépassant pas 50°C au rotavapeur pour éliminer le solvant. Le résidu aqueux récupéré de la distillation subira les autres étapes de traitement (défécation, inversion et dosage).

b. Défécation :

Le principe de la défécation est fondé sur le fait de précipiter toutes les substances qui sont dans la solution comme les graisses, les lipides, les sels minéraux ... etc. et qui risquent de perturber le dosage chimique des glucides.

Dans une fiole jaugée de 100 ml on introduit successivement 10 ml de l'extrait, 2 ml de la solution d'hexacyanoferrate de potassium et enfin 2 ml de la solution d'acétate de zinc. On mélange et on complète au trait de jauge avec l'eau distillée. On Agite par retournement, on laisse reposer 10 à 15 min et on filtre dans un récipient propre et sec (Si le filtrat n'est pas absolument limpide on filtre à nouveau).

c. Inversion :

Après la défécation, il faut faire une hydrolyse acide pour transformer les sucres non réducteurs en sucres réducteurs et calculer ainsi les sucres totaux.

On prend 20 ml de la solution déféquée et on ajoute 0,5 ml de HCl, on porte 15 minutes au bain marie bouillant. On laisse refroidir et on neutralise avec NaOH jusqu'à un pH de 6. On ajuste à 25 ml avec de l'eau distillée.

d. Dosage des sucres totaux :

On emploie une solution alcaline d'oxyde de cuivre dont on fait bouillir un excès avec un volume connu de la solution du sucre à doser. L'oxyde cuivreux précipité est traité par une solution ferrique. Cu_2O se dissout à l'état de CuSO_4 , tandis qu'une proportion correspondante de sel ferrique passe à l'état de sel ferreux. On dose ce dernier aux permanganates de potassium et on calcule la quantité de Cu qui a été précipitée par le sucre. On déduit la quantité des sucre à partir des tables de Bertrand qui donnent la quantité du sucre à partir du Cu_2O formé .

- Préparation de l'oxyde cuivreux :

On ajoute 20 ml de la liqueur cuivrique à 20 ml de la solution déféquée hydrolysée puis on ajoute 20 ml de la solution tartro-alcaline. On agite, on porte à douce ébullition et on

maintient celle-ci pendant 3 min exactement. On laisse décanter en posant la fiole conique inclinée.

- Lavage et dissolution de l'oxyde cuivreux :

On verse le liquide surnageant sur un filtre en verre fritté, en activant la filtration par aspiration. Il faut prendre soin d'entraîner le moins possible du précipité et éviter de le laisser au contact de l'air.

On lave 3 fois le précipité avec 20 ml d'eau distillée bouillie refroidie, on laisse décanter et on filtre à chaque fois le liquide sur le filtre. On rejette le filtrat.

On dissout ensuite le précipité d'oxyde cuivreux par une quantité suffisante de la solution ferrique (5 à 10ml), on filtre la solution obtenue sur le même filtre, en ayant soin de dissoudre complètement tout le précipité et de recueillir le filtrat dans la fiole conique à filtrer propre, enfin on rince la fiole et le filtre 3 fois avec 20 ml d'eau distillée bouillie refroidie.

- Titrage:

Titrer goutte à goutte par une solution de permanganate de potassium 0.1N jusqu'à coloration rose pâle persistante 5 second environ.

b. Expression des résultats :

Le taux de cuivre est obtenu à partir des équations des réactions qui ont eu lieu pendant le dosage et qui sont présentées dans l'annexe.(voir annexe)

On se reporte au tableau de Bertrand qui en fonction de la quantité de l'oxyde cuivreux formée, donne directement le taux du sucre en mg. (voir annexe)

2.6. Dosage Composés phénoliques totaux:

Le dosage des composés phénoliques totaux est réalisé par une méthode colorimétrique basée sur l'utilisation du réactif de Folin-Ciocalteu suivant Singleton and Rossi (1965) en y apportant quelques modifications [8].

Avant le dosage des polyphénols totaux , il faut commencer par l'extraction . Pendant cette étape, certaines précautions ont été prises afin de protéger les polyphénols sensibles à toute dégradation éventuelle, en particulier en les protégeant de la lumière. De ce fait, chaque matériel d'extraction a été entièrement recouvert d'une feuille d'aluminium.

a. Extraction :

L'extraction des polyphénols a été obtenue par macération de 100 g du matériel végétal dans un mélange méthanol-eau 80% pendant 48 heures. Une filtration sur papier Whatman du macérât est ensuite réalisée. Le filtrat est alors évaporé à sec à l'aide d'un rotavapor (T 40°C). L'extrait sec est ensuite redissout dans le solvant d'extraction à la concentration souhaitée.

Les polyphénols étant surtout sensibles à l'oxydation et à la température, tous les échantillons ont été conservés à basse température, et à l'abri de la lumière avant chaque analyse.

b. Préparation des solutions

Le réactif Folin-Ciocalteu est utilisé en excès. Une solution mère d'acide gallique est préparée à une concentration de 1 g / l dans le méthanol. La gamme qui sera réalisée à partir de celle-ci permettra de tracer la courbe d'étalonnage. Une solution de carbonate de sodium anhydre à 20 % (w/v) est ensuite réalisée dans de l'eau distillée.

c. Protocole

Dans un tube à hémolyse en verre, on met 2370 µl d'eau distillée, puis 30 µl d'extrait (ou d'étalon) et on ajoute 450 µl de réactif Folin-Ciocalteu. Le milieu est mélangé à l'aide d'un vortex. Ensuite on a ajouté 150 µl d'une solution de carbonate de sodium à 20 % (w/v). Et enfin, on a laissé le mélange réactionnel incubé durant 2 heures à l'obscurité avant la lecture des résultats. L'absorbance est lue à 750 nm contre le témoin.

c. Droite d'étalonnage et expression des résultats

Les valeurs de concentration seront directement lues à partir des droites d'étalonnage établies à l'aide de la solution de référence d'acide gallique, de la forme $Abs = a \times [AG] + b$. Il s'ensuit que la concentration de l'échantillon est exprimée en mg d'équivalent de l'étalon par gramme d'extrait sec ou de matière sèche. « a » représente la pente, « b » l'ordonnée à l'origine de la droite étalon.

2.7. Dosage de la matière grasse :

La matière grasse ou encore les lipides sont insolubles dans l'eau et très solubles dans les solvants organiques, tel l'éther éthylique et l'Hexane. La plupart des méthodes de dosage des lipides exploitent ces propriétés physiques pour extraire les lipides des aliments dans le but de mesurer leur concentration.

La méthode Soxhlet est la méthode de référence utilisée pour la détermination de la matière grasse dans les aliments solides déshydratés selon l'AOAC [9].

C'est une méthode gravimétrique, puisqu'on pèse l'échantillon au début et la matière grasse à la fin de l'extraction.

a. Principe de la méthode Soxhlet :

L'aliment solide est pesé et placé dans une capsule de cellulose. Les capsules de cellulose sont perméables au solvant et à la matière grasse qui y est dissoute.

L'échantillon est extrait en continu par de l'hexane à ébullition qui dissout graduellement la matière grasse. Le solvant contenant la matière grasse retourne dans le ballon par déversements successifs causés par un effet de siphon dans le coude latéral. Comme seul le solvant peut s'évaporer de nouveau, la matière grasse s'accumule dans le ballon jusqu'à ce que l'extraction soit complète. Une fois l'extraction terminée, l'hexane est évaporé, généralement sur un évaporateur rotatif, et la matière grasse est pesée.

b. Expression des résultats :

Le taux de la matière grasse ou lipides est calculé par la formule suivante :

$$MG (\%) = \frac{(M1 - M2)}{ME} * 100$$

Dont :

M1 : masse du ballon vide.

M2 : masse du ballon contenant l'huile.

ME : masse de la prise d'essai.

MG : taux de la matière grasse.

100: pour exprimer le pourcentage.

2.7.1. Dosage des matières azotées :

La teneur en matières protéiques totales autrement dites matières azotées totales MAT est la base de l'estimation de la valeur protéique.

La méthode de référence consiste à déterminer la teneur en azote après destruction de la matière organique par une méthode chimique. La méthode adoptée dans ce travail est celle de

KJELDAHL selon AOAC [10]. La teneur en azote est ensuite multipliée par un facteur de conversion conventionnel de 6,25 pour obtenir la teneur en matières protéiques totales.

a. Principe :

Pour déterminer la quantité des protéines contenues dans un échantillon, on procède à un dosage de l'azote total par la méthode de **Kjeldahl** qui a été développée en **1883** par un chimiste danois « **Johan KJELDAHL** ». Cette dernière s'effectue en trois phases :

- Digestion (minéralisation) ;
- distillation ;
- titration.

b. Mode opératoire :

Minéralisation :

Dans un matras de **Kjeldahl**, on introduit :

- 1 g du matériel biologique broyé.
- 2 g de catalyseur.
- 25 ml de H_2SO_4 concentré à 97 %.

On chauffe le matras jusqu'à ce que la couleur noire se transforme en une couleur limpide, à ce moment-là l'azote organique est transformé en azote minéral.

Ensuite, on laisse refroidir et on transverse l'échantillon minéralisé dans une fiole, on lave le matras avec l'eau distillée tout en ajustant le volume jusqu'à 100 ml.

Distillation :

Dans un matras, on introduit 10 ml du contenu de la fiole auquel on additionne 20 ml d'eau distillée et 30 ml de la soude à 35 %.

En parallèle, on prépare une solution d'acide borique à 0,1N avec 10 gouttes d'Indicateur de Tashiro (de couleur rose- violette en présence d'un milieu acide et verte dans le cas d'un milieu alcalin).

La distillation s'effectue dans un appareil spécifique, elle est arrêtée au bout de 4 minutes à compter du début d'ébullition.

Titration :

Puisqu'on utilise l'acide borique comme solution de récupération, on va alors titrer l'excès des anions de borate avec la solution de HCl à 0,1N jusqu'à changement de la coloration du vert au rose-violet dû au virage de l'indicateur de Tashiro.

c. Expression des résultats :

L'azote total est calculé suivant la formule représentée ci- dessous :

$$\text{Azote total (N) (\%)} = \frac{((\text{VB} - \text{VE}) \text{ F.0,0014.10})}{M} * 100$$

Dont :

VB : Volume de HCl 0.1N utilisé pour un essai blanc (ml).

VE : Volume de HCl 0.1N utilisé pour la titration de la solution à doser (ml).

F : Facteur de correction.

10 : Coefficient du volume total de la solution à doser

M : Prise d'essai.

Le taux d'azote total est converti en taux de protéines brutes selon la formule suivante :

$$\text{Taux de protéines brutes (\%)} = \text{N total (\%)} \times 6,25$$

D'où 6,25 est le facteur de conversion basé sur le taux moyen d'azote des protéines.

3. Résultats et discussion :

La pulpe de betterave sucrière présente une teneur moyenne en matière sèche de l'ordre 27% à la sortie des presses, les valeurs mesurées des matières azotées totales présentent très peu de variations autour d'une valeur moyenne de 9.96 % de la MS. Le taux des sucres totaux dans la pulpe est de l'ordre de 7 % de la MS. Les teneurs en MG sont très faibles de l'ordre de 1,14 % de la MS. La teneur en matières minérales présente une moyenne observée se situant aux alentours de 10.24% de la MS.

Comparativement aux autres aliments disponibles pour le rationnement des ruminants, la pulpe apparaît comme un aliment riche en calcium, elle en contient environ 0.98 % de MS.

En revanche la pulpe de betterave est très pauvre en phosphore, elle en contient environ 0.07 % de la MS. Cependant, elle est assez bien pourvue en magnésium, elle en contient environ 0.246 % de la MS.

Et enfin, la teneur en composés phénoliques totaux est de l'ordre de 22 mg EAG/100gES. Les constituants de la pulpe sont présentés dans le Tableau 1 ainsi que les valeurs nutritives associées.

Tableau 1 : Composition de la pulpe de betterave sucrière à la sortie des presses T0

| Analyses | Résultats |
|---|-----------|
| MS % | 27 |
| MAT (%MS) | 9.96 |
| MG (%MS) | 1.14 |
| Cendres (% MS) | 10.24 |
| Ca (% MS) | 0.98 |
| Mg (% MS) | 0.246 |
| P (% MS) | 0.07 |
| Composés phénoliques totaux (mg EAG/100gES) | 22 |
| Sucres totaux (%MS) | 7 |

3.1. Effet de la durée de conservation par d'ensilage :

Le diagramme de la figure 1 nous présente l'évolution des différents constituants de la pulpe de betterave sucrière tout au long de son stockage par ensilage. La période de conservation s'étale sur une année répartie sur 4 périodes : T0 (sortie presse), T3 (après trois mois de stockage) , T6 (après 6 mois de stockage) et T12 (après 12 mois de stockage).

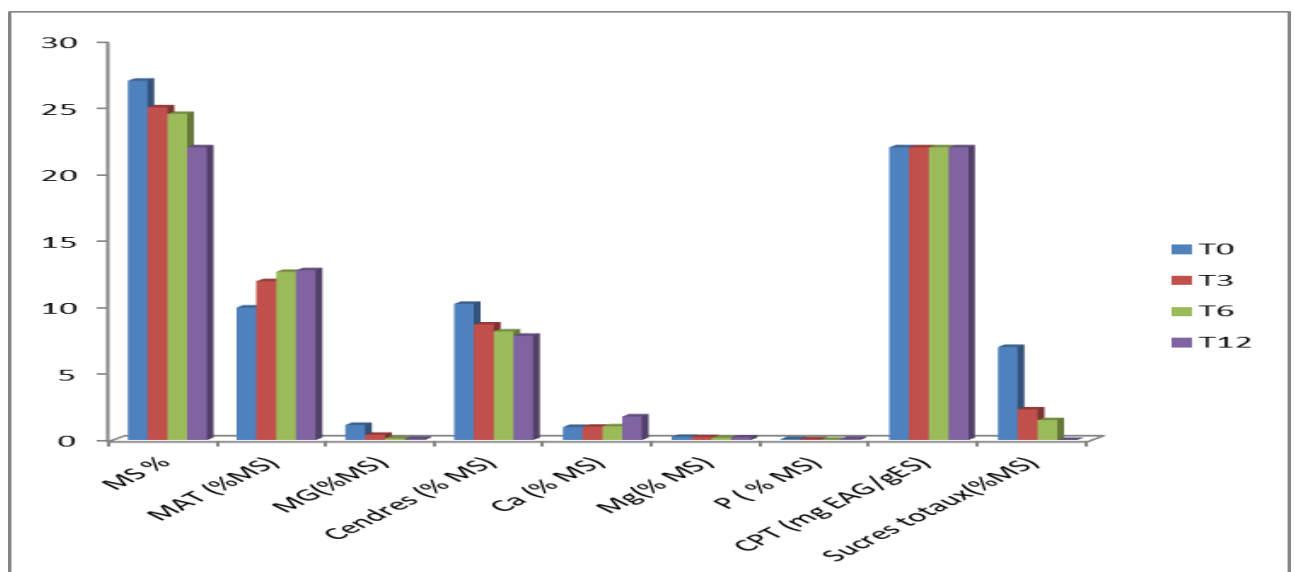


Figure.1 Evolution des différents constituants de la pulpe de betterave le long de l'ensilage.

D'après le diagramme on remarque qu'il y a une légère diminution de la matière sèche, des sucres totaux, de la matière grasse, de la matière minérale, du calcium, du magnésium et du phosphore dans la pulpe ensilée le long de son stockage (périodes T3, T6 et T12) par rapport à la pulpe sortie presse T0. On remarque aussi une stabilité dans les teneurs en composés phénoliques totaux des ensilages suivis. Et enfin, une augmentation des teneurs en matières azotées totales.

En déduit que l'ensilage a modifié profondément les glucides et la protéine des pulpes. En effet les deux principales transformations qui se produisent dans les sacs d'ensilage sont :

- la conversion des sucres en acides organiques : les glucides solubles sont rapidement hydrolysés et utilisé par la flore lactique comme source d'énergie pendant la fermentation favorisant l'apparition de l'acide lactique et des acides gras volatils et assurant une diminution et ensuite une stabilité du pH au voisinage du 4 [11][12].
- la dégradation de la protéine : en général, les protéines qui représentent 70 à 80 % de l'azote total de la plante sont dégradées jusqu'au stade acides aminés par les enzymes de la plante. Cette protéolyse ne s'arrête que lorsque le pH est descendu en dessous de 4,0. Cela explique que, même dans le cas d'ensilage très bien réussi, la teneur en azote soluble arrive à doubler et à représenter 40 à 60 % de l'azote total [12].

3.2. Effet du mode de conditionnement :

Dans cette partie on présente les résultats de l'étude comparative qu'on a menée sur la pulpe de betterave sucrière ensilée conditionnée dans des balles de 450 Kg et dans des sacs de 50 Kg.

L'ensilage de pulpe réalisé est d'une durée d'une année de stockage.

Les teneurs des différents constituants sont résumés dans le tableau (2) suivant :

Tableau 2 : valeurs moyennes des différents constituants des pulpes ensilées dans les sacs de 50 Kg et dans les balles de 450 Kg après un stockage de 12 mois

| Analyses | T0 | Ensilage T 12 (sacs de 50 Kg) | Ensilage T 12 (balles de 450 Kg) |
|---------------------------|-----------|---|---|
| MS % | 26,5 | 22 | 26,4 |
| MAT (%MS) | 9,96 | 10,06 | 8,4 |
| MG(%MS) | 1,14 | 0,08 | 1,1 |
| Cendres (% MS) | 10,24 | 7,84 | 9,16 |
| Ca (% MS) | 0,98 | 1,77 | 1,9 |
| P (% MS) | 0,07 | 0,07 | 0,07 |
| CPT (mg EAG/gES) | 22 | 22 | 22 |
| Sucres totaux(%MS) | 7 | < 0,5 | < 0,5 |

A partir du diagramme de comparaison de la composition biochimique des pulpes ensilées représenté dans la figure 2, on a constaté que l'ensilage d'une année des pulpes de betterave conditionnées dans des balles de 450 Kg représente des valeurs en matières azotées, en matières minérales, en composés phénoliques totaux et en sucres totaux, qui sont légèrement inférieures aux valeurs de la pulpe à la sortie des presses au temps T0. Le phosphore est resté stable, par contre le calcium et le magnésium ont connu une augmentation dans leurs teneurs. On a constaté aussi que les teneurs en matières sèches, matières grasses, matières minérales, calcium et magnésium dans les balles de 450Kg sont légèrement supérieures aux teneurs des pulpes ensilées conditionnées dans des sacs de 50Kg. Les composés phénoliques totaux quant à eux sont restés stables, par contre les matières azotées totales sont légèrement inférieures.

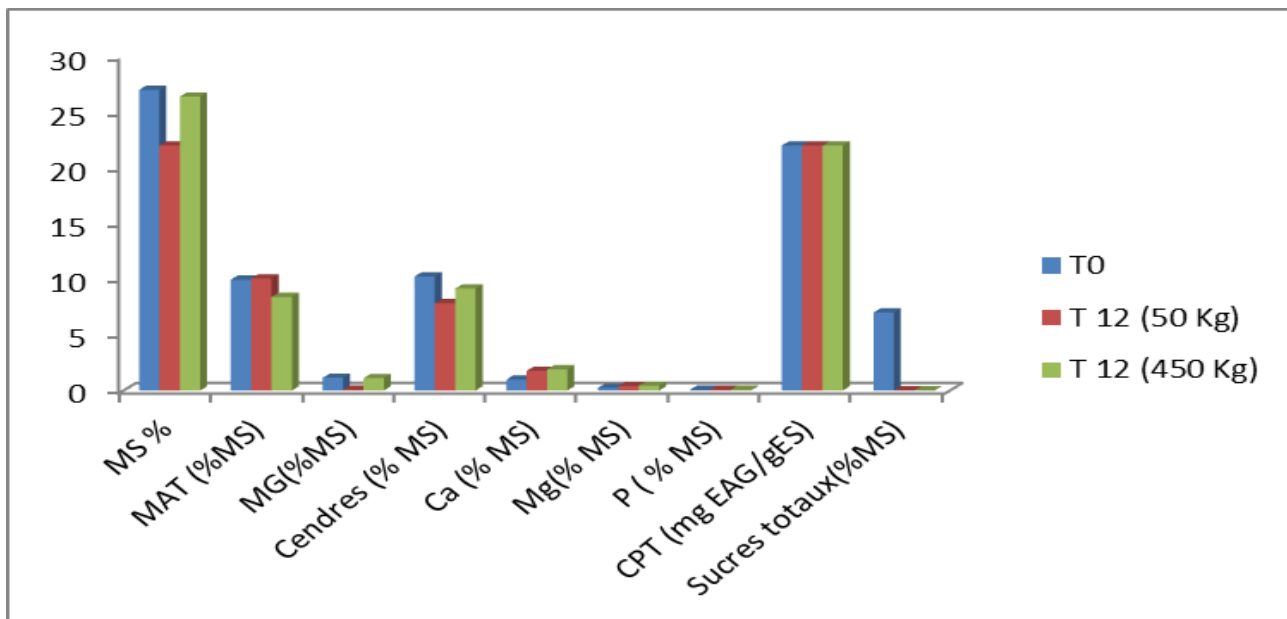


Figure.2 : Comparaison entre la composition biochimique de la pulpe ensilée dans les sacs de 50 et de 450 Kg après 1an de conservation.

3.3. Effet de la technique de conservation :

Le diagramme de la figure 3 présente les résultats de la comparaison des différents constituants de la pulpe influencés par deux techniques de conservation savoir l'ensilage et le séchage.

Remarque : La pulpe ensilée est représentée par la moyenne des trois périodes de stockage : T3, T6 et T12 conditionnée dans les sacs de 50 Kg.

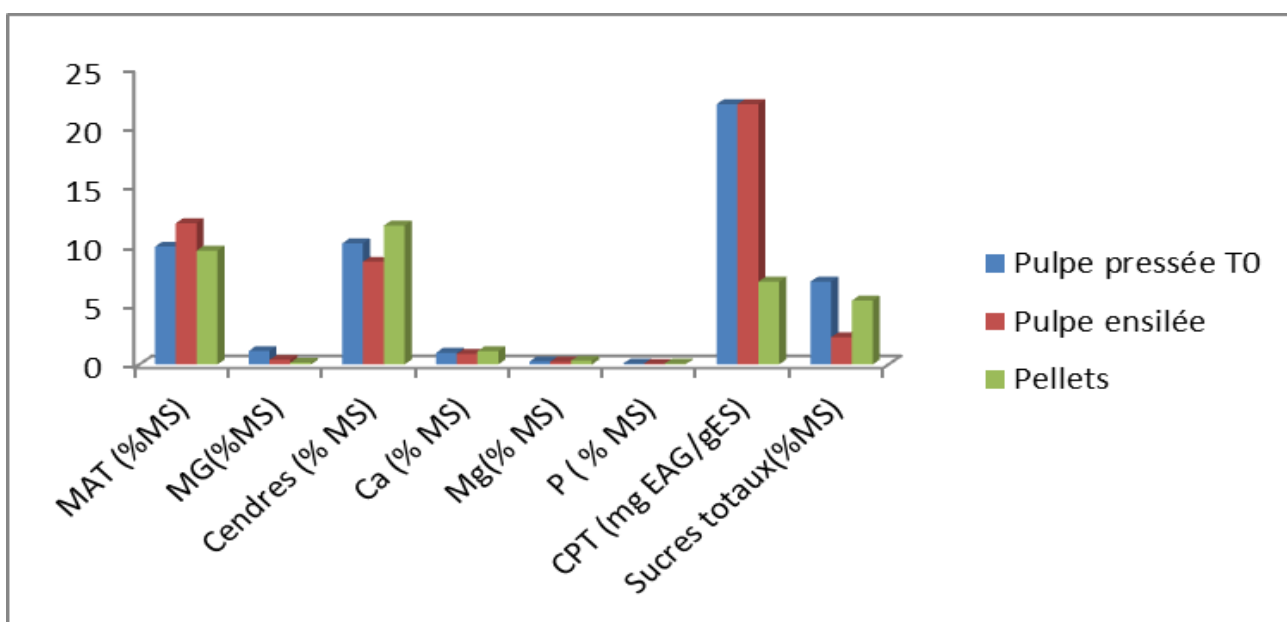


Figure.3 : Comparaison entre les constituants de la pulpe fraîche, ensilée et déshydratée .

On constate d'après la figure 3 que les teneurs en matière azotée totale et en calcium ont augmenté au niveau de la pulpe conservée par ensilage par rapport à la pulpe sortie presse T0. On constate aussi une stabilité des teneurs en composés phénoliques totaux, en Magnésium et en phosphore. Par contre on remarque une diminution des teneurs en matières grasses, en matières minérales et en sucres totaux.

Les teneurs des différents constituants sont résumés dans le tableau (3) suivant :

Tableau 3 : teneurs moyennes des différents constituants de la pulpe pressée, ensilée et séchée sous forme de pellets.

| Analyses | Pulpe pressée T0 | Pulpe ensilée | Pellets |
|--------------------|------------------|---------------|---------|
| MS % | 27 | 23,83 | 86 |
| MAT (%MS) | 9,96 | 12,45 | 9,62 |
| MG(%MS) | 1,14 | 0,19 | 0,15 |
| Cendres (% MS) | 10,24 | 8,22 | 11,74 |
| Ca (% MS) | 0,98 | 1,26 | 1,12 |
| Mg(% MS) | 0,246 | 0,19 | 0,321 |
| P (% MS) | 0,07 | 0,05 | 0,08 |
| CPT (mg EAG/gES) | 22 | 22 | 7 |
| Sucres totaux(%MS) | 7 | 1,43 | 5,4 |

D'un autre côté, on remarque une diminution des teneurs en matière grasse, en composés phénoliques totaux et en sucres totaux dans les pellets (pulpe conservée par séchage) par rapport à la pulpe sortie presse T0 ; accompagnée d'une augmentation des teneurs en matières minérales, en calcium et magnésium. Cependant, le phosphore et les matières azotées totales restent stables.

On déduit alors que la technique de conservation à son mot à dire et peut influencer la stabilité de la composition biochimique de la pulpe. L'ensilage quant à lui a permis de garder des teneurs des différents constituants étudiés presque voisines de la pulpe sortie presse par rapport au séchage.

4. Conclusion :

La pulpe ensilée est assez riche en Ca et en Mg, , mais elle est moins riche en P (norme pour alimentation des bovin: 0,36 - 0,40% MS), donc un complément en cet élément est nécessaire dans les rations à base de pulpe. La teneur en protéine est légèrement faible, un apport en azote protéique permettra de compléter la ration alimentaire (tourteau de soja, urée...). La richesse des protéines en acides aminés essentiels en particulier méthionine, cystéine et thréonine confère à la pulpe une forte valeur nutritionnelle. La pulpe ensilée est riche en cellulose et hémicellulose, sa faible teneur en lignine lui confère un très bon taux de digestibilité chez les ruminants (87 à 90 %). Les composés polyphénoliques sont très présents dans la pulpe ensilée (molécules bioactives d'intérêts).

Les conditions imposées à la pulpe pour étudier son comportement biochimique vis-à-vis de la durée et du mode de stockage et aussi vis –vis de la technique de conservation ont permis de conclure que la composition nutritive de la pulpe ensilée reste la plus proche de la pulpe à la sortie des presses.

5. Références :

- [1] Claude Siret . 2002 ; Les composants chimiques des produits alimentaires. Techniques de l'ingénieur-Traité agroalimentaire. Référence Internet F1010. p 1-19
- [2] Baumont R., Arrigo Y., Niderkorn V. (2011) : “Transformation des plantes au cours de leur conservation et conséquences sur leur valeur pour les ruminants”, Fourrages, 205, 35-46
- [3] Codex Alimentarius (2003). Codex Stan 106-1983. rev 1-2003. General standard for.
- [4] Audigie C.L and Dupont G., (1982), Principes des méthodes d'analyses biochimiques, Paris, pp. 566-567.
- [5] Varian Techtron (1973) “ Food analysis by atomic absorption ”. Manuel Suisse des denrées alimentaires -Deuxième volume - Cinquième édition
- [6] 26.2.2009 FR Journal officiel de l'Union européenne L 54/73
- [7] Bertrand (G.). - Le dosage des sucres réducteurs, Bull. Soc. Chim., 1906,35, 1285.
- [8] Singleton V.L. (1965), Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents, Am.J.Enol. N°16, pp.144-158.
- [9] AOAC 2002. Official methods of analysis of AOAC International.

- [10] Official Methods Of Analysis of the AOAC : Association of Official Analytical Chemists. Agricultural Chemicals; Contaminants; Drugs. Volume 1. 15th Eddition , 1990. p 77
- [11] Leibensperger, R. Y. et R. E. Pitt. 1988. Modeling the effect of formic acid and molasses on ensilage. J. Dairy Sci . 71 : 1220-1231.
- [12] C. DEMARQUILLY, F 56 . Principes de base de l'ensilage. Laboratoire des Aliments, I.N.R.A., Theix. Page 15-26

II. Effet du mode de conservation, de la période de stockage et de la quantité conservée sur la teneur en fibre: NDF, ADF, ADL de la pulpe de betterave sucrière

1. Introduction:

La betterave sucrière après sa réduction en cosettes et après pressage lors du processus industriel devienne une combinaison de deux matrices, le jus qui sera transformé en sucre et les pulpes pressées qui sont des structures hétérogènes composées principalement de glucides structuraux et qui renferment la majeure partie des constituants pariétaux : cellulose, hémicellulose et lignine. Ils composent ensemble la fraction appelée « parois végétales ».

Le terme fibre désigne en générale les constituants des parois cellulaires des plantes, comprenant une grande variété de polysaccharides structurels qui sont souvent liés à des protéines et à des phénols, particulièrement à la lignine. Les principaux polysaccharides des parois cellulaires des plantes sont: la cellulose, différentes hémicelluloses (p.ex. Arabinoxylanes, xyloglucanes, arabinogalactanes) et des polysaccharides pectiques [1]. La lignine est un polymère phénolique composé d'unités de phényle-propane, dont le rôle est de cimenter et durcir les parois cellulaires.

Les matières végétales riches en fibres sont fréquemment introduites dans les aliments de bétail notamment pour leurs effets bénéfiques sur le fonctionnement digestif [2] ainsi que pour leurs apports énergétiques. Chez les ruminants, des différences dans la quantité et les propriétés physiques et chimiques des fibres dans l'aliment peuvent affecter la performance et la productivité de l'animal, et notamment altérer les fermentations dans la panse, le métabolisme, le taux de lipides dans le lait produit et finalement, la santé de l'animal à long terme [3].

Ces matières végétales fibreuses présentent de nombreux avantages à la fois sur le plan économique et environnemental [4]. Cependant, une utilisation raisonnable nécessite une caractérisation précise de la fraction fibreuse. Le terme «fibres alimentaires» définit une famille hétérogène de polysaccharides aux caractéristiques biochimiques et physico-chimiques variées [5] ce qui rend leur dosage complexe [6]. Plusieurs méthodes permettent de doser les fibres, le dosage de van Soest permet de séparer les fractions «neutral detergent fiber» (NDF), «acid detergent fiber» (ADF) et «acid detergent lignin» (ADL) solubles dans des solutions neutres ou acides.

Le mode de conservation de la pulpe de betterave soit par séchage sous forme de pellets ou par fermentation lactique anaérobique sous forme d'ensilage ainsi que les processus de fermentation qui y sont associés, jouent un rôle non négligeable sur la composition chimique de l'ensemble des parois végétales. L'étude de l'influence de ces facteurs sur la composition chimique de la pulpe est donc indispensable avant de formuler des rations pour les ruminants. C'est dans ce contexte qu'on a abordé cet étude qui vise à comparer les teneurs du NDF, de l'ADF, de l'ADL, de la cellulose et de l'hémicellulose de la pulpe de betterave sucrière conservée par ensilage et voir l'effet de temps de stockage et de la quantité ensilée sur ces variables, aussi de voir l'effet de séchage de la pulpe sous forme de pellets et de comparer ce mode de conservation avec l'ensilage.

2. Matériel et méthodes:

a. Les échantillons de pulpes :

La matrice étudiée est la pulpe de betterave sucrière de la zone de Béni Mellal sous ses différentes formes : pressée, ensilée et déshydratée.

Les échantillons de pulpes ont été conditionné suivant 2 modes : par séchage (pellets : à 85% MS) et par ensilage (à 26 % MS).

Les pulpes sortent des presses fortement hydratées, leur humidité est variable, en fonction des capacités des presses à pulpe et des caractéristiques physiques des pulpes qui changent avec la qualité de la betterave et les conditions de conduite de la diffusion. Cette humidité varie entre 70 et 80 %.

b. Détermination des fibres insolubles dans les détergents neutres *NDF* :

i. Principe :

En 1967, Van Soest et Wine publient pour la première fois une méthode pour isoler la fraction des fibres insolubles (insoluble dietary fibre) provenant des parois cellulaires de plantes, comprenant la cellulose, l'hémicellulose et la lignine [7].

La définition universellement acceptée de NDF, en rapport aux ruminants et herbivores non ruminants, est la suivante: NDF est la fraction organique de la diète -en dehors des cendres brutes- qui est indigestible ou lentement digestible et qui occupe de la place dans le tube gastro-intestinal. Cette définition de NDF inclut les polysaccharides complexes à fermentation lente, provenant de parois cellulaires, tels que cellulose et hémicellulose, mais exclut les

polysaccharides à fermentations rapides, tels que la pectine, ainsi que les polysaccharides solubles (fructanes, etc.).

2.2.2. Procédure pour le dosage NDF (Neutral Detergent Fiber) :

- 1 - Broyer les échantillons séchés à l'air et les passer à travers un tamis de 1 mm.
- 2 - Peser dans un creuset 1 g d'échantillon broyé avec une précision de 1 mg.
- 3 - Ajouter 100 ml de solution de détergent neutre à température ambiante dans le creuset avec 0,5 g de sulfite de sodium et quelques gouttes de n-octanol.
- 4 - Chauffer à ébullition sous reflux pendant 60 minutes à partir du début de l'ébullition.
- 5 - Filtrer et laver 3 fois avec de l'eau bouillante, puis 2 fois avec de l'acétone froid.
- 6 - Sécher 8 heures à 105°C et laisser refroidir dans un dessiccateur.
- 7 - Peser.

2.2.3. Expression des résultats :

$$\% \text{ NDF} = \frac{(\text{poids du creuset} + \text{poids du résidu}) - \text{poids du creuset}}{\text{poids de l'échantillon}} * 100.$$

2.3. Fibres insolubles dans les détergents acides ADF :

2.3.1. Principe :

ADF est une méthode empirique, publiée en 1963 par Van Soest comme étape préalable à la détermination de la lignine [8]. Un traitement acide est appliqué dans cette méthode pour éviter les pertes de lignine qui est soluble dans les solutions alcalines. L'ADF isole principalement la cellulose et la lignine, mais non l'hémicellulose.

2.3.2. Procédure pour le dosage ADF (Acid Detergent Fiber)

- 1 - Broyer les échantillons séchés à l'air et les passer à travers un tamis de 1 mm.
- 2 - Peser dans un creuset 1 g d'échantillon broyé avec une précision de 1 mg.
- 3 - Ajouter 100 ml de solution de détergent acide à température ambiante et quelques gouttes de n-octanol.
- 4 - Chauffer à ébullition sous reflux pendant 60 minutes à partir du début de l'ébullition.
- 5 - Filtrer et laver 3 fois avec de l'eau bouillante, puis 2 fois avec de l'acétone froid.
- 6 - Sécher 8 heures à 105°C et laisser refroidir dans un dessiccateur.

7 - Peser.

2.3.3. Expression des résultats :

$$\% \text{ ADF} = \frac{(\text{poids du creuset} + \text{poids du résidu}) - \text{poids du creuset}}{\text{poids de l'échantillon}} * 100.$$

2.4. Détermination de la lignine ADL :

2.4.1. Principe :

La détermination de la lignine à partir du résidu ADF peut se faire par traitement avec de l'acide sulfurique concentré. La lignine représente la fraction de NDF complètement indigeste.

2.4.2. Procédure pour le dosage ADL (Acid Detergent Lignin)

- 1 - Broyer les échantillons séchés à l'air et les passer à travers un tamis de 1 mm.
- 2 - Peser dans un creuset 1 g d'échantillon broyé avec une précision de 1 mg.
- 3 - Ajouter 100 ml de solution de détergent acide à température ambiante et quelques gouttes de n-octanol.
- 4 - Chauffer à ébullition sous reflux pendant 60 minutes à partir du début de l'ébullition.
- 5 - Filtrer et laver 3 fois avec de l'eau bouillante, puis 2 fois avec de l'acétone froid.

Remarque :

Il est possible de démarrer en utilisant le résidu du dosage des fibres avec le détergent acide (ADF). Voir la méthode précédente.

- 6 - Ajouter environ 25 ml d'acide sulfurique à 72% à température ambiante (solvant pour la cellulose) et poursuivre l'extraction à froid pendant 3 heures, en mélangeant toutes les heures.
- 7 - Filtrer et laver 3 fois avec de l'eau bouillante ou jusqu'à l'absence de réaction acide.
- 8 - Sécher 8 heures à 105°C et laisser refroidir dans un dessiccateur.
- 9 - Peser.

2.4.3. Expression des résultats :

$$\% \text{ ADL} = \frac{(\text{poids du creuset} + \text{poids du résidu}) - \text{poids du creuset}}{\text{poids de l'échantillon}} * 100.$$

2.5. Estimation de l'hémicellulose et la Cellulose :

L'analyse séquentielle, d'abord NDF puis ADF et finalement lignine, permet d'effectuer des déterminations plus précises de l'hémicellulose et de la cellulose.

En effet, l'hémicellulose est généralement estimée par la différence : NDF moins ADF. La cellulose est estimée par la différence ADF moins ADL.

3. Résultats et discussion:

Les résultats trouvés sont présentés dans le tableau 1, ils ont été comparés aux données disponibles dans la bibliographie (fig .1, fig.2, fig.3) .

Tableau 1 : Les teneurs en fractions fibreuses de la pulpe de betterave pressée, ensilée et déshydratée.

| Matrice | Périodes | % NDF | % ADF | % ADL |
|-------------------------------------|----------|---------|---------|--------|
| Pulpe pressée | T0 | 42,4975 | 24,2244 | 1,3255 |
| Pulpe ensilée | T3 | 41,299 | 24,4345 | 1,7545 |
| | T6 | 40,39 | 25,3548 | 1,757 |
| | T12 | 40,12 | 26 | 2,75 |
| Pulpe séchée (déshydratée) : | Pellets | 32,44 | 17,46 | 1,2 |

Les résultats indiquent, pour l'analyse du NDF (figure 1), que la valeur trouvée dans notre étude (42,49%) concernant la pulpe pressée est approximative à celle de la bibliographie; Il se situe entre une valeur maximale d'environ 49,3% d'après AFZ [9] et une valeur minimale d'environ 35,8% suivant Ueli Wyss et Catherine Metthez [10].

Dans le cas de la pulpe ensilée, la valeur de la NDF pendant les 3 temps: T3, T6 et T12 (41,299%; 40,39%; 40,12%) est située entre une valeur maximale d'environ 54,6% d'après AFZ [9] et une valeur minimale d'environ 38,9% suivant le même auteur.

Pour les pellets (pulpes déshydratée), la valeur trouvée dans notre étude (32,44%) est légèrement inférieure aux valeurs trouvées dans la bibliographie dont la valeur maximale est d'environ 50,9% suivant T.Gidenne [11] et la valeur minimale est d'environ 40,5% d'après la Sauvant D. [12] .

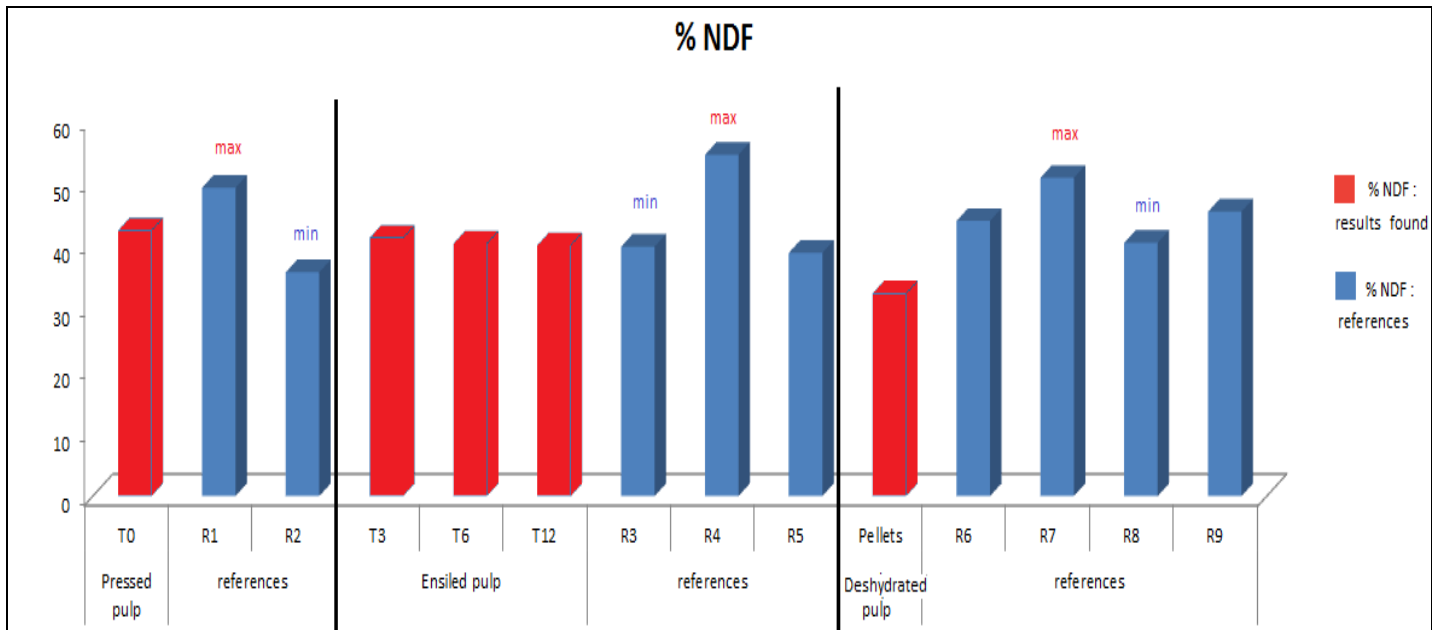


Figure. 1 : Comparaison des valeurs du NDF trouvées avec les références bibliographiques.

Pour le cas de l'ADF (figure 2) la valeur de l'ADF trouvée dans notre étude concernant la pulpe pressée (24,22%) est approximative de celle de la bibliographie; Il est situé entre une valeur maximale d'environ 24,8% d'après AFZ [9] et une valeur minimale d'environ 21% suivant Ueli Wyss et Catherine [10].

Dans le cas de la pulpe ensilée, la teneur en ADF pendant les trois temps: T3, T6 et T12 (24,43%; 25,3548%; 26%) est très approximative par rapport à la bibliographie; Il se situe entre une valeur maximale d'environ 26,1% d'après AFZ [9], et une valeur minimale d'environ 22,2% d'après la même référence.

Pour les pellets (pulpe déshydratée), la valeur trouvée dans notre étude (17,46%) est légèrement inférieure aux valeurs trouvées dans la littérature dont la valeur maximale est d'environ 23,1% selon T. Gidenne [11] et la valeur minimale est d'environ 19,6% d'après le même auteur.



Figure. 2 : Comparaison des valeurs de l'ADF trouvées avec les références bibliographiques.

Pour l'ADL (figure 3), nous remarquons que la valeur trouvée dans notre étude (1,32%) concernant la pulpe pressée est inférieure à celle trouvée par Guy Legrand [13] qui est d'environ 3,8%.

Dans le cas de la pulpe ensilée, la valeur de l'ADL pendant les 2 temps: T3 et T6 (1,75%; 1,757%; 2,75%) est approximative de la bibliographie et elle se situe entre une valeur maximale d'environ 2% d'après AFZ [9] et valeur minimale d'environ 1,2% suivant le même auteur. Pour la période T12, la valeur de l'ADL est élevée par rapport à la valeur maximale citée.

Pour les pellets (pulpe déshydratée), la valeur trouvée (1,2%) est légèrement inférieure aux valeurs de la bibliographie dont la valeur maximale est d'environ 2,2% selon T. Gidenne [11] et la valeur minimale est d'environ 1,9% suivant Sauvante [12].

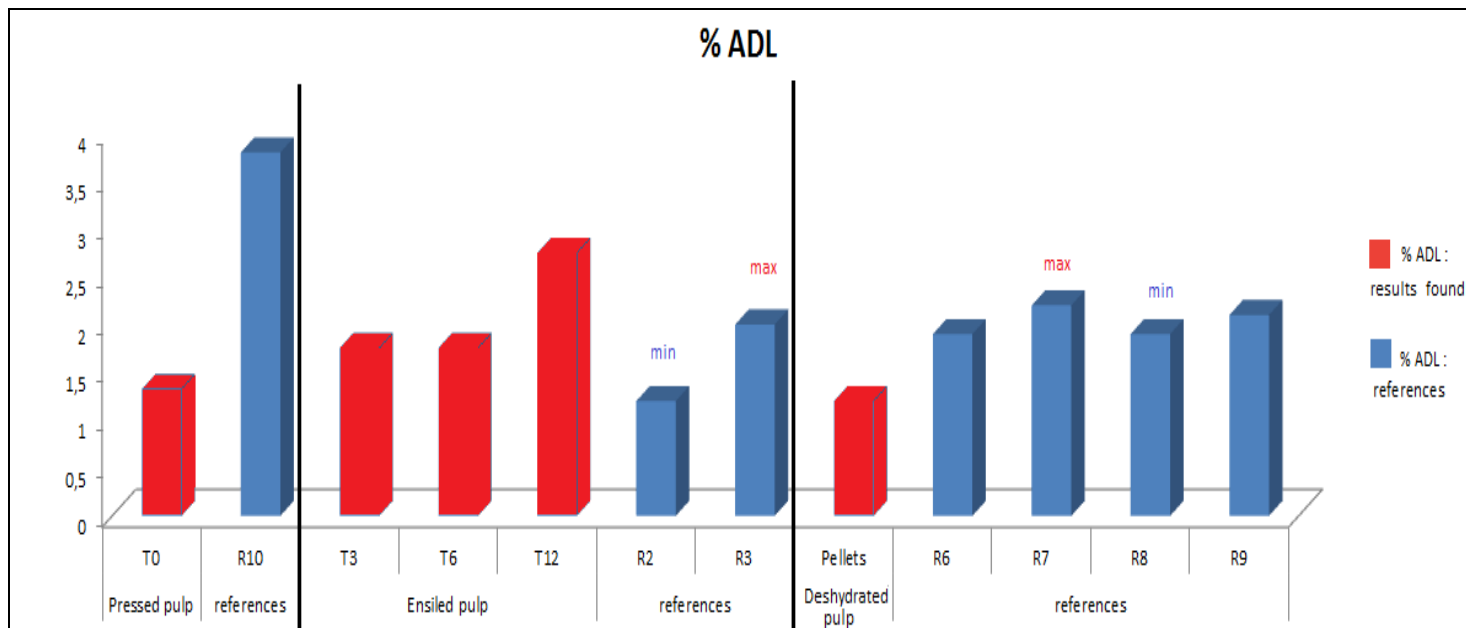


Figure. 3 : Comparaison des valeurs de l'ADL trouvées avec les références bibliographiques.

R1 : valeur max de NDF de la pulpe pressée suivant AFZ, 2011 ; **R2** : valeur min de NDF de la pulpe pressée suivant Ueli Wyss et Catherine Metthez 2014 ; **R3** : valeur min de NDF de la pulpe ensiled suivant AFZ, 2011 ; **R4** : valeur de max NDF de la pulpe ensiled suivant AFZ, 2011 ; **R5** : valeur de NDF de la pulpe ensiled suivant Ueli Wyss et Catherine Metthez 2014 ; **R6** : valeur min de NDF de la pulpe déshydratée suivant T. Gidenne & al 2007 ; **R7** : valeur max de NDF de la pulpe déshydratée suivant T. Gidenne & al 2007 ; **R8** : valeur min de NDF de la pulpe déshydratée suivant Sauvante D & al . 2004 ; **R9** : valeur max de NDF de la pulpe déshydratée suivant Sauvante D & al . 2004 ; **R10** : valeur de ADL suivant Guy Legrand 2005.

3.1. Effet de la durée de conservation sous forme d'ensilage :

Le graphe en dessous (Figure.4) nous présente l'évolution des constituants pariétaux de la pulpe tout au long de son stockage depuis la sortie de la presse au temps T0 jusqu'à une année au temps T12 (le temps T3 représente une durée de 3 mois de stockage et T6 après 6 mois de stockage).

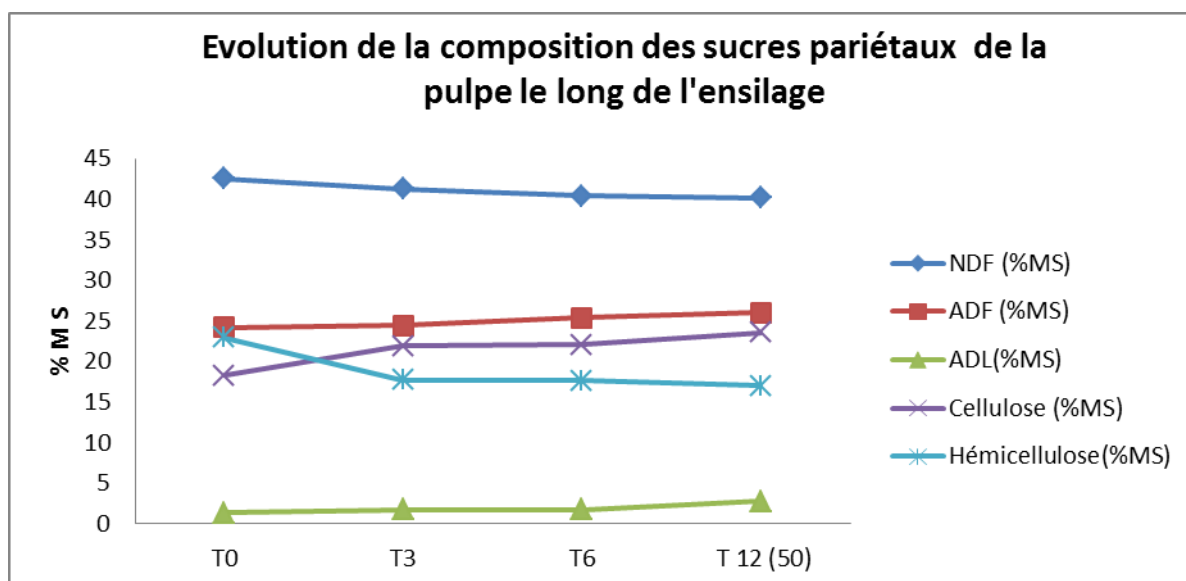


Figure. 4 : Effet de la durée de conservation sous forme d'ensilage sur l'évolution des sucres pariétaux de la pulpe de betterave sucrière.

D'après le graphique on remarque la fibre au détergent neutre NDF a connu une légère diminution, elle a peu varié puisqu'elle a été d'une valeur de 42,49 avant la mise en sac d'ensilage au temps T0, de 41,29 après 3 mois d'ensilage, de 40,39 après 6 mois d'ensilage et enfin de 40,12 après 12 mois d'ensilage.

Pour l'ADF et l'ADL on remarque une évolution qui se fait de la même manière le long de la période d'ensilage depuis la sortie de presse où les valeurs étaient respectivement 24,22 et 1,32 %MS jusqu'à 12 mois d'ensilage où les valeurs deviennent 26 et 2,75%MS.

Pour la cellulose, on remarque qu'il y a une augmentation dans sa teneur depuis le temps T0 (18,27%MS) jusqu'au temps T3 (21,86%MS) et au-delà de cette période l'augmentation est moins importante, presque stable, jusqu'au temps T12.

Pour l'hémicellulose on remarque qu'il y a une diminution depuis le temps T0 où la valeur était de 22,89%MS jusqu'au temps T3 où la teneur était de l'ordre de 17,68%MS mais par la suite ça reste presque stable jusqu'au temps T12 avec 17%MS.

La diminution de la teneur en matière sèche, résultant de l'activité microbienne, favorise l'hydrolyse des substances les plus solubles de la fibre pendant la fermentation on parle dans ce cas d'une partie de l'hémicellulose. Ce dernier et selon l'importance de son hydrolyse par

les hémicellulases de la plante fait généralement baisser la teneur de la fibre au détergent neutre NDF.

On remarque que la fermentation a fait généralement augmenter la teneur en lignine de la pulpe. Puisque la lignine est non digestible, cette augmentation est le reflet de la perte de la matière sèche résultant de la fermentation.

La cellulose a également augmenté puisqu'elle est généralement pas hydrolysée pendant la fermentation, en parallèle l'ADF a connu une faible variation mais de la même façon que celle de la cellulose et c'est tout à fait normal puisque la cellulose est le constituant pariétal majeur de l'ADF. Cette faible variation est un signe d'un ensilage bien conservé.

3.2. Effet de mode de conditionnement :

Dans le diagramme de la figure 5, on compare les différents constituants pariétaux de la pulpe ensilée de 12 mois conditionnée sous deux formes : des balles de 450 Kg et des sacs de 50 Kg tous les deux en polyéthylène.

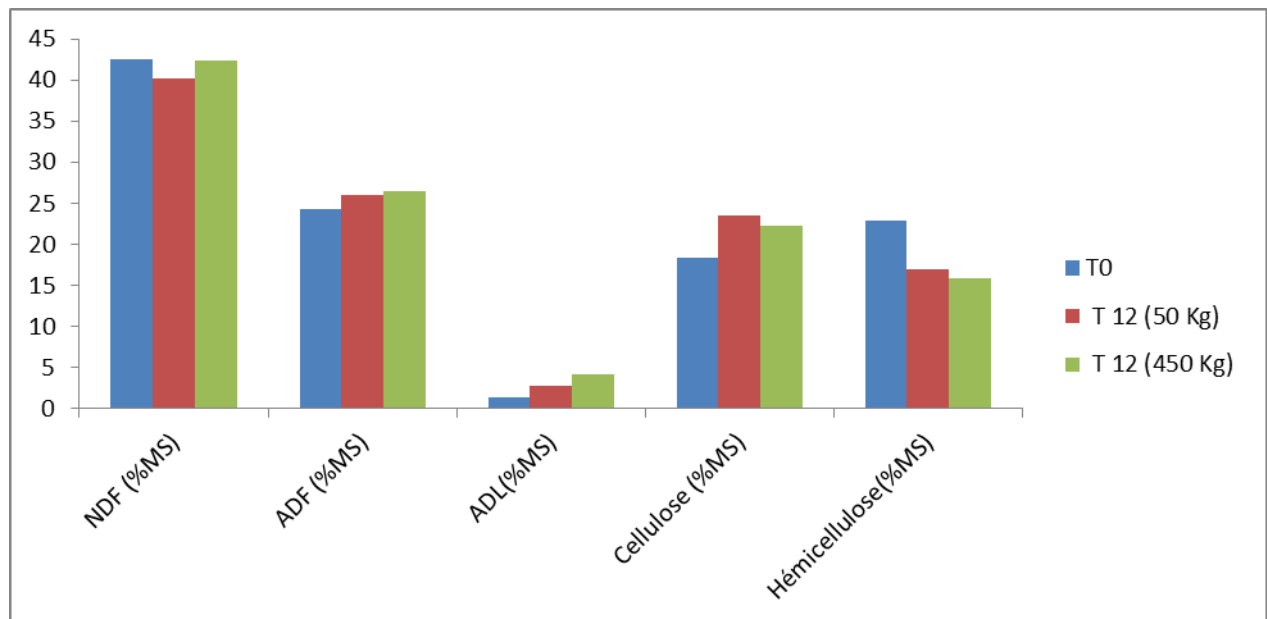


Figure. 5 : Comparaison entre la composition en sucres pariétaux de la pulpe ensilée dans les sacs de 50 et de 450 Kg après 1an

D'après le diagramme de la figure 5, on remarque que l'ensilage d'une année de pulpe de betterave dans des balles de 450 Kg représente des valeurs d'ADF, d'ADL et de Cellulose

supérieures de celles de la pulpe à la sortie de la presse par contre les valeurs du NDF et de l'hémicellulose ont diminuées.

Aussi on remarque que les valeurs du NDF, de l'ADF et de l'ADL sont supérieures dans les ensilages en balles de 450Kg en les comparant aux sacs d'ensilages de 50Kg par contre les teneurs en hémicellulose et cellulose sont légèrement inférieurs dans les balles de 450 Kg que dans les sacs de 50 Kg.

3.3. Effet de la technique de conservation :

La figure 6 présente la comparaison des différents constituants pariétaux de la pulpe de betterave soumise à deux techniques de conservation à savoir le séchage (pellets) et l'ensilage. La pulpe ensilée est représenté par la moyenne des périodes T3 ,T6 et T12 entre les deux techniques de conservation.

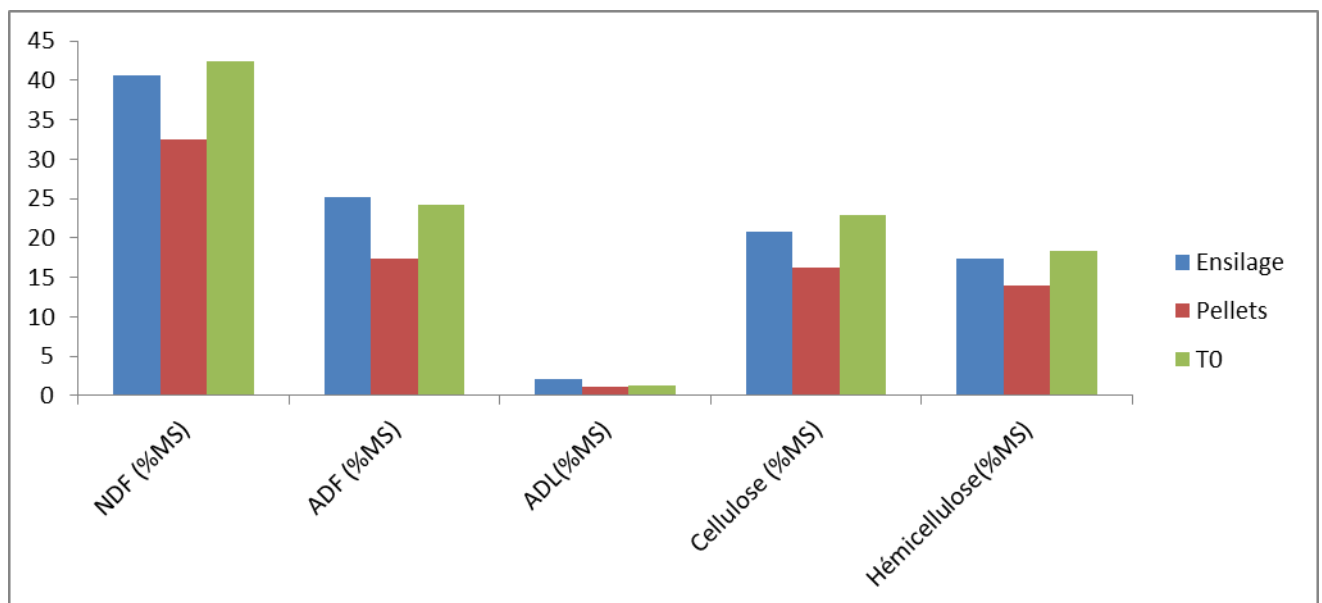


Figure.6 : Effet de la technique de conservation (séchage ou ensilage) sur la variation des constituants pariétaux de la pulpe de betterave sucrière.

Le graphe nous montre que les teneurs de l'ADF, de l'NDF, de l'ADL, de la cellulose et de l'hémicellulose dans la pulpe conservée par ensilage (moyenne des ensilage au temps T3,T6 et T12 dans les sacs de 50 Kg) sont proches des teneurs de la pulpe à la sortie de la presse(T0) et sont supérieures aux teneurs des pellets.

On peut déduire qu'en plus de sa consommation d'énergie fossile, de son cout élevé par rapport au revenu de l'agriculteur et de son non-respect de l'environnement, le séchage de la

pulpe sous forme de pellets peut causer une diminution dans les constituants pariétaux de la pulpe influençant par la suite sa valeur nutritive. Cependant l'ensilage permet de maintenir et conserver en mieux cette valeur.

4. Conclusion

Devant l'intérêt croissant porté à l'incorporation de fibres dans l'alimentation animale et la planification de l'affouragement, notamment pour l'effet bénéfique et le rôle décisif qui jouent dans la stimulation de la rumination et dans la régulation du passage du fourrage à travers le tube digestif, il apparaît nécessaire de mieux appréhender leurs analyses

Les résultats obtenus ,suite aux différents modes de stockage appliqués sur la pulpe humide, ont permis de déduire, pour la conservation par ensilage, que l'activité microbienne favorise l'hydrolyse des substances les plus solubles de la fibre pendant la fermentation et par conséquence elle a fait baisser la teneur de la fibre au détergent neutre NDF et de l'Hémicellulose par contre cette fermentation lactique a fait augmenter la teneur en cellulose, en ADF et en lignine. Aussi les valeurs du NDF, de l'ADF et de l'ADL sont supérieures dans les ensilages en balles de 450Kg en les comparant aux sacs d'ensilages de 50Kg par contre les teneurs en hémicellulose et cellulose sont légèrement inférieurs dans les balles de 450 Kg que dans les sacs de 50 Kg. Cette étude a permis aussi de dire que les teneurs de l'ADF, de l'NDF, de l'ADL, de la cellulose et de l'hémicellulose dans la pulpe conservée par ensilage sont proches des teneurs de la pulpe à la sortie de la presse(T0) et sont supérieures aux teneurs des pellets. On peut déduire qu'en plus de sa consommation d'énergie fossile, de son cout élevé par rapport au revenu de l'agriculteur et de son non-respect de l'environnement, le séchage de la pulpe sous forme de pellets peut causer une diminution dans les constituants pariétaux de la pulpe influençant par la suite sa valeur nutritive. Cependant l'ensilage permet de maintenir et conserver en mieux cette valeur.

5. Références:

- [1] Hindrichsen K., Kreuzer M., Madsen J. and Bach Knudsen K. E.. Fiber and lignin analysis in concentrate, forage and feces: Detergent versus enzymatic-chemical method. *J. Dairy Sci.* 89; 2006. p 2168-2176.
- [2] Lallès J.P., Konstantinov S., Rothkötter H.J.. Bases physiologiques, microbiologiques et immunitaires des troubles digestifs du sevrage chez le porcelet : données récentes dans le contexte de la suppression des antibiotiques additifs alimentaires. *Journées de la Recherche Porcine*, 36; 2004. p 13-150.

- [3] Mertens D. R.. Creating a system for meeting the fiber requirements on dairy cows. *J.Dairy Sci.* 80 ; 1997. p 1463-1481.
- [4] Le Gall M., Montagne L., Meunier-Salaün M.C., Noblet J.. Utilisation des fibres dans les aliments pour porc : conséquences sur la nutrition, la santé et le comportement. *INRA Productions Animales*, 22; 2009. p 17-24.
- [5] Bach Knudsen K.E., Johansen H.N., Glitso V.. Methods for analysis of dietary fibre -advantages and limitations. *Animal Feed Sciences and Technology*, 6 ;1997. p 185-206.
- [6] Maud Le Gall, Lucile Montagne, Yolande Jaguelin-Peyraud, Anne Pasquier, Didier Gaudre. Prédiction de la teneur en fibres totales et insolubles de matières premières courantes dans l'alimentation du porc _a partir de leur composition chimique. 43 ème Journées Recherche Porcine, Paris (FR), France. 43 ; 2011. p.117-123.
- [7] Van Soest P. J. and Wine R. H.. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV Determination of plant cell wall constituents. *J. Assoc. Offic. Anal. Chem*; 1967. p 50-50.
- [8] Van Soest P. J.. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. I. Preparation of fiber residues of low nitrogen content. *J. Assoc. Off. Agr. Chem.* 46 ; 1963. p 825-829.
- [9] AFZ . io - La Banque de données de l'Alimentation Animale / French feed database. Association Française de Zootechnie ; 2011.
- [10] Ueli Wyss et Catherine Metthez. Pulpes de betteraves riches en matière sèche et qualité d'ensilage. *Production animale. Recherche Agronomique Suisse* 5 (4) ; 2014. p 146–153.
- [11] T. Gidenne, P. Aymard, C. Bannelier, A. Lapanouse Valeur nutritive de la pulpe de betterave déshydratée chez le lapin en croissance. 12èmes journées de la recherche cunicole , Mans, France; 27-28 novembre 2007. p 105-108
- [12] Sauvant D., PEREZ J.M., TRAN G.. Tables de composition et de valeur nutritive des matières premières destinées aux animaux d'élevage : porc, volailles, bovins, ovins, caprins, lapins, chevaux, poissons. 2ième Edition revue et corrigée. INRA Editions, Paris ; 2004. p 301 .
- [13] Guy Legrand .Le bon usage de la pulpe surpressée. Collection des guides techniques de l'IRBAB. Institut Royal Belge pour l'Amélioration de la Betterave (IRBAB a.s.b.l.), Tienen (Tirlemont), Belgique ; 2005. p 7.

III. Evolution des teneurs en acides aminés dans la pulpe ensilée de betterave à sucre.

1. Introduction :

Du fait de sa grande valeur alimentaire et de son excellente appétence, la pulpe de betterave sucrière est reconnue comme un excellent aliment pour le bétail. Elle a une composition relativement stable mais qui peut varier au cours de la campagne d'arrachage, selon le degré de maturité des betteraves, l'origine géographique, la variété et selon le mode de conservation soit par séchage ou par ensilage qui est une technique de conservation des aliments par acidification anaérobique contrôlée.

En alimentation animale et surtout pour les ruminants, on attribue une grande importance à la fraction azotée de la ration alimentaire ingérée quelque soit la nature de l'aliment (frais, sec...) et le mode de conservation utilisé (ensilage, séchage).

Dans ce travail on s'est limité à l'étude de %N ? la pulpe de betterave ensilée et à celle de l'effet de la durée de conservation sur la teneur en acides aminés.

Les recherches concernant l'évolution de la répartition des acides aminés au cours du processus fermentaire sont assez fragmentaires. Les protéines du fourrage subissent des modifications plus ou moins profondes selon que la conservation est bonne ou mauvaise et d'ailleurs plusieurs études l'ont relevé [1,2,3,4] .

Il est également, important de noter les conditions de conservation (pH, taux de matière sèche, température...) où l'azote aminé de l'ensilage peut subir des modifications profondes, qui peuvent affecter plus ou moins sérieusement la valeur biologique des protéines présentées aux ruminants.

L'établissement d'une étude biochimique en acides aminés s'avère indispensable pour la valorisation d'un aliment destiné aux animaux.

On sait que les protéines constituent avec les polysaccharides et les acides nucléiques une des trois classes de biopolymères intervenant dans la structure et dans le fonctionnement de tous les organismes vivants, leur hydrolyse totale alors conduira aux acides aminés qui les caractérisent [5].

Ces acides aminés sont au nombre de 20 et possèdent une structure de base identique: la fonction acide est une fonction acide carboxylique portée par le même carbone que la fonction amine. La fonction amine est donc en position α de la fonction acide d'où leur nom: acides α -aminés ou encore α -amino acides.

Les acides aminés se divisent en deux catégories: les acides aminés essentiels et les acides aminés non essentiels. Bien que les deux catégories soient essentielles à la fabrication de protéines. Ces qualificatifs ont été attribués selon la capacité physiologique de l'animal à les fabriquer. L'animal est incapable de fabriquer les acides aminés essentiels (histidine, isoleucine, leucine, lysine, méthionine, phénylalanine, thréonine, tryptophane et valine). Sauf à partir de métabolites provenant de ces acides aminés mêmes, alors qu'il possède les voies métaboliques de synthèse pour les acides aminés non essentiels (alanine, aspartate, asparagine, cystéine, glutamate, glutamine, glycine, proline, sérine, tyrosine) [6].

Diverses méthodes analytiques ont été proposées pour l'analyse des acides aminés, y compris la chromatographie sur couche mince [7,8], l'électrophorèse capillaire [9,10], chromatographie en phase gazeuse [11,12] et la Chromatographie liquide à haute performance (HPLC) [13,14,15,16,17].

La HPLC est la technique la plus utilisée et acceptée en raison de sa haute résolution, sa sensibilité, sa grande polyvalence, et un traitement simple de l'échantillon. En raison de l'absence d'un chromophore ou fluorophore, la dérivation chimique ou l'étiquetage est habituellement employé pour la détection d'acides aminés, c'est une procédure nécessaire pour transformer les substances à analyser dans des dérivés qui peuvent être facilement isolés, séparés et détectés [18,19].

L'analyse des acides aminés dans les échantillons alimentaires se fait actuellement par HPLC suivant dérivation pré-colonne en utilisant divers réactifs: le carbamate de 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyle (AQC), o-phthalaldehyde (OPA), l'isothiocyanate de phényle (PITC), 9-fluorenylmethylchloroformate (Fmoc Cl) et le 2,4-dinitrofluorobenzène (DNFB) [20].

Dans ce travail, on a étudié l'évolution dans les temps de 4 acides aminés :Lysine, Méthionine, Cystéine et thréonine de la pulpe de betterave sucrière depuis son stade humide (temps T0) jusqu'à 6 mois d'ensilage (temps T6) en sac de 50 Kg en se basant sur la méthode HPLC après dérivation pré-colonne par OPA. Aussi on va étudier l'effet du mode de

conditionnement (sacs de 50 Kg et balles de 450 Kg) après un stockage prolongé d'une année.

2. Matériels et méthodes :

2.1. Pulpe de betterave à sucre :

les échantillons de pulpes de betterave à sucre ont été collectés auprès de la Cosumar (SUTA) dans la région de Tadla Azillal, en mai, Août et Novembre 2014 et en Mai 2015.

2.2. Méthode d'extraction :

La méthode est basée sur la mesure des acides alpha aminés dans la pulpe de betterave après la défécation au plomb. Cette méthode est officiellement adoptée comme la méthode de référence par l'ICUMSA (Commission internationale pour uniformes Méthodes de sucre de l'analyse).

Après l'extraction, l'extrait subit une filtration millipore et réagit avec l'OPA avant d'être injecté sur chromatographie en phase liquide et ce pour rendre l'acide aminé comme molécule fluorescente.

2.3. La dérivation des acides aminés:

L'extrait d'acides aminés et les mélanges d'étalonnage ont été transformés en dérivés avec l'OPA. Aliquote (5 µl), suivie dans l'ordre par 25 µl de l'eau déminéralisée, 25 µl de tampon saturée de borate de sodium (pH 9,5), 12,5 µl de réactif OPA-dérivé, et 62,5µl de méthanol. Le flacon a été bien mélangé sur un mélangeur vortex après chaque addition. Le mélange est normalement maintenu à la température ambiante pendant au moins 2 min (mais pas plus de 10 min), après ils ont été injectés dans le système HPLC [21].

Le réactif de dérivation OPA-est stable jusqu'à une semaine et il est composée de 25 mg d'OPA, 50 µl de réactif thiol (2 mercaptoéthanol), 0,5 ml de tampon borate saturé (pH 9,5) et 4,5ml de méthanol.

Conditions chromatographiques :

Colonne :C18 (30 cm × 3,9 mm id)

Détecteur fluorescence : Excitation 350 nm ; Emission 450 nm

Phase mobile :

- Tampon : 0,01 M de Na₂HPO₄ (PH 7,4)

- Acétonitrile.

Volume d'injection : 2 µl

Tableau 1 : Mode d'élution

| | Temps (min) | | | | | |
|---------------------------|--------------------|----|----|----|----|------|
| Solvant | 0 | 2 | 35 | 55 | 56 | 56,1 |
| % CH₃CN | 9 | 20 | 32 | 80 | 80 | 9 |
| % tampon | 91 | 80 | 68 | 20 | 20 | 91 |

3. Résultats et discussion :

Les différents acides aminés ont été identifiés par comparaison avec les temps de rétention pour des solutions mères.

Pour déterminer les temps de rétention, les étalons de référence ont été injectés sous forme de mélange. Le tableau 2 représente les pics des étalons standards du mélange d'acides aminés. Et la figure (1) représente le chromatogramme du mélange d'acides aminés standards.

Tableau .2: Aires de pic du mélange d'acides aminés standards

| Les acides aminés | Temps de rétention (min) | Aire | Aire % |
|--------------------------|---------------------------------|-------------|---------------|
| Thréonine | 10,315 | 27779157 | 28,574 |
| Cysteine | 15,396 | 661991 | 0,681 |
| Méthionine | 19,601 | 38719201 | 39,828 |
| Lysine | 42,060 | 16004642 | 16,463 |

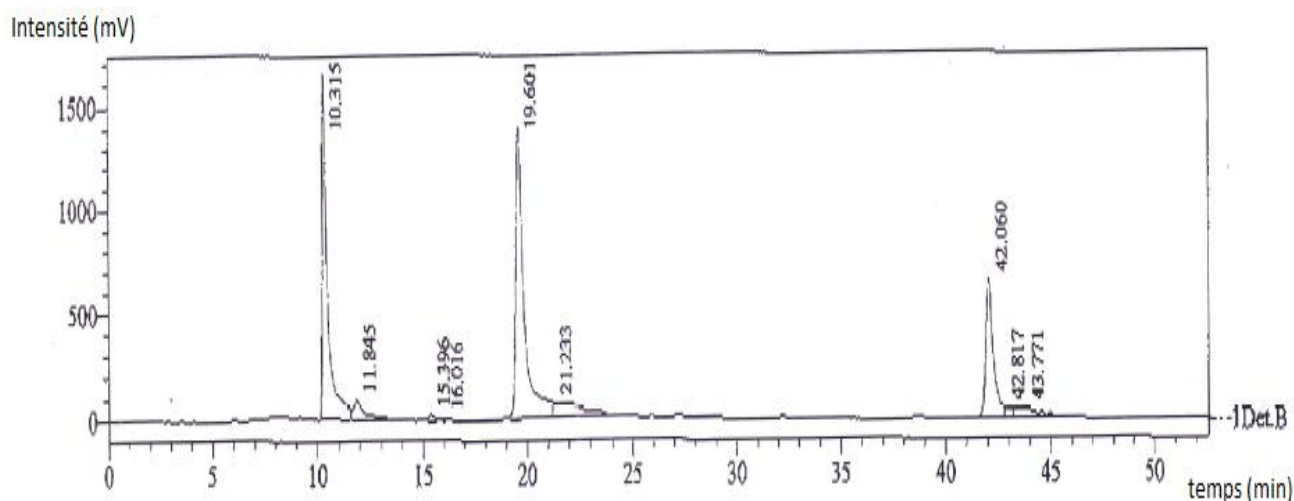


Figure. 1. Profil chromatographique du mélange d'acides aminés standards

L'analyse a été faite sur la base des temps de rétention des aires de pic (A) et selon la méthode d'étalonnage externe qui comprend l'injection séquentielle d'un volume égal d'une solution étalon (avec une concentration connue de l'élément à tester C_{ref}) et de la solution à tester (Concentration inconnue C_i), puis en comparant les chromatogrammes pour déduire la concentration $C_i = C_{ref} \cdot A_i / A_{ref}$. Une droite d'étalonnage a été réalisée en injectant plusieurs solutions standard à différentes concentrations.

Les résultats correspondant aux aires de pic des différents acides aminés de la betterave sucrière sont présentés dans le tableau 3 et le chromatogramme correspondant et représenté dans la figure (3).

Tableau .3: Aire de pic des acides aminés de la betterave sucrière

| Acides aminés | Temps de rétention (min) | Aire | Aire % |
|---------------|--------------------------|----------|--------|
| Thréonine | 9,866 | 31208667 | 68,704 |
| Cysteine | 42,801 | 636256 | 1,401 |
| Méthionine | 17,943 | 8062511 | 17,479 |
| Lysine | 41,293 | 3310904 | 7,289 |

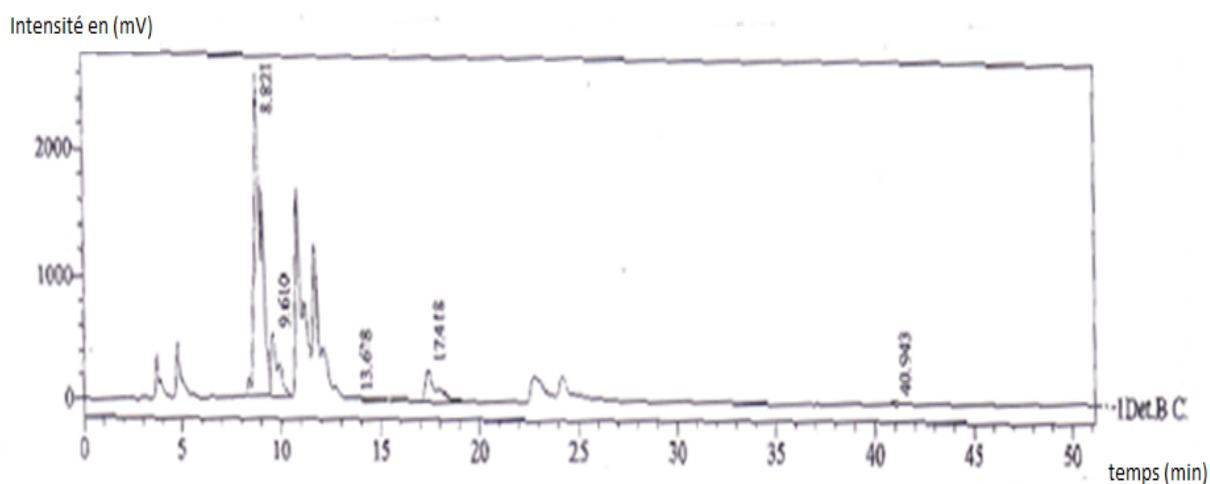


Figure. 2 : Exemple du profil chromatographique des acides aminés de l'un des échantillon de la pulpe de betterave.

3.1. Effet de la durée de stockage par ensilage sur la teneur en acides aminés des pulpes.

Les résultats d'analyses des teneurs en acides aminés durant la période de stockage sous forme d'ensilage sont présentés dans le tableau 4. T0 est la période juste à la sortie de la presse, T3 est la période après 3 mois de stockage et T6 après 6 mois de stockage.

Tableau. 4 : Résultats d'analyses de la pulpe de betterave sucrière

| Acides aminés | Période | moyenne | SD* | SE** | Minimum | Maximum |
|--------------------------------|---------|---------|----------|----------|---------|---------|
| Thréonine (g /Kg MS) | T0 | 0,2765 | 0,065957 | 0,014748 | 0,2 | 0,4 |
| | T3 | 0,423 | 0,25913 | 0,057943 | 0,1 | 0,9 |
| | T6 | 0,9915 | 0,19258 | 0,043062 | 0,71 | 1,23 |
| Cysteine (g/Kg MS) | T0 | 0,3845 | 0,146986 | 0,032867 | 0,22 | 0,72 |
| | T3 | 0,6955 | 0,374468 | 0,083734 | 0,24 | 1,46 |
| | T6 | 0,647 | 0,171068 | 0,038252 | 0,49 | 1,05 |
| Méthionine (g/Kg MS) | T0 | 0,198 | 0,037077 | 0,008291 | 0,1 | 0,3 |
| | T3 | 0,1985 | 0,074571 | 0,016675 | 0,12 | 0,36 |
| | T6 | 0,255 | 0,073664 | 0,016472 | 0,14 | 0,37 |
| Lysine (g/Kg MS) | T0 | 0,0995 | 0,061855 | 0,013831 | 0,03 | 0,3 |
| | T3 | 0,2235 | 0,148653 | 0,03324 | 0,09 | 0,55 |
| | T6 | 0,2955 | 0,107139 | 0,023957 | 0,17 | 0,56 |

* SD: Ecart Type, **SE: Erreur Standard.

On remarque d'après la figure (3) qu'il y a une importante évolution des teneurs en acides aminés analysés à savoir : Lysine Méthionine et Thréonine en fonction de la durée d'ensilage passant du temps T0 au temps T6.

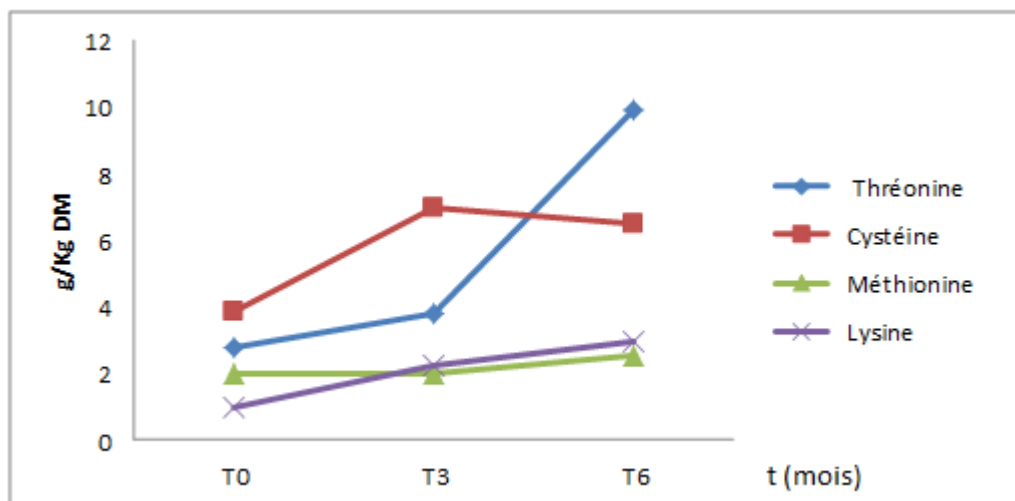


Figure. 3: Evolution des teneurs en acides aminés en fonction du temps de stockage.

La lysine était à 0,98 g/Kg au temps T0 juste après pressage et avant la mise en sac d'ensilage, ensuite elle est passée à une valeur supérieure qui est égale à 2,22 g/Kg après 3mois d'ensilage et puis elle a augmenté pour une deuxième fois après 6 mois d'ensilage et atteint la valeur de 2,95 g/Kg. La méthionine était à 1,98 g/Kg au temps T0, elle est restée stable après 3mois d'ensilage ensuite elle a augmenté au temps T6 pour atteindre la valeur de 2,55 g/Kg. La cystéine était à 3,86 g/Kg au temps T0 puis elle est passée à son maximum qui est égale à 6,95 g/Kg après 3mois d'ensilage. Après 6 mois d'ensilage on remarque une légère diminution de la cystéine qui a atteint la valeur de 6,47 g/Kg. La thréonine était à 2,75 g/Kg au temps T0 juste avant l'ensilage, ensuite elle est passée à une valeur supérieure qui est égale à 3,81g/Kg après 3mois d'ensilage ensuite elle a connu une très grande augmentation après 6 mois d'ensilage et a atteint la valeur de 9,93 g/Kg.

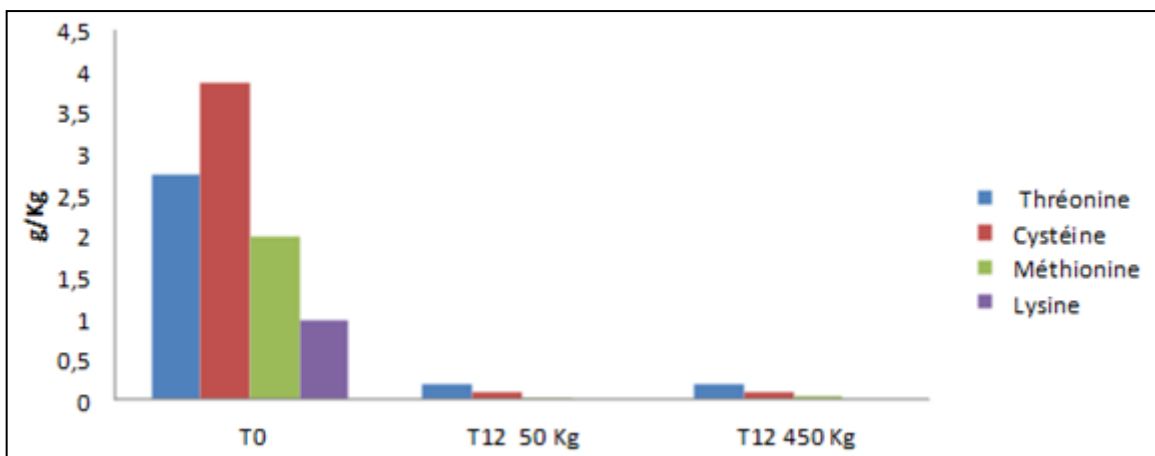
L'élévation de la teneur en acides aminés de l'ensilage de la pulpe de betterave est due au phénomène du protéolyse. En règle générale, les protéines sont dégradées par des enzymes protéolytiques, les protéases, jusqu'à stade acides aminés. La protéolyse se poursuit jusqu'à ce que le pH descende en dessous de 4 [22].

Le but de la conservation par ensilage est de provoquer une baisse rapide de pH et de stopper les fermentations pour préserver le matériel fourragé [23].

3.2. Effet du mode de conditionnement sur la teneur en acides aminés des pulpes :

Dans le diagramme de la figure 4 (illustrations : a et b), on compare la teneur en différents acides aminés présents dans la pulpe à la sortie presse par rapport à la pulpe ensilée de 12 mois conditionnée sous deux formes : des balles de 450 Kg et des sacs de 50 Kg tous les deux en polyéthylène.

(a)



(b)

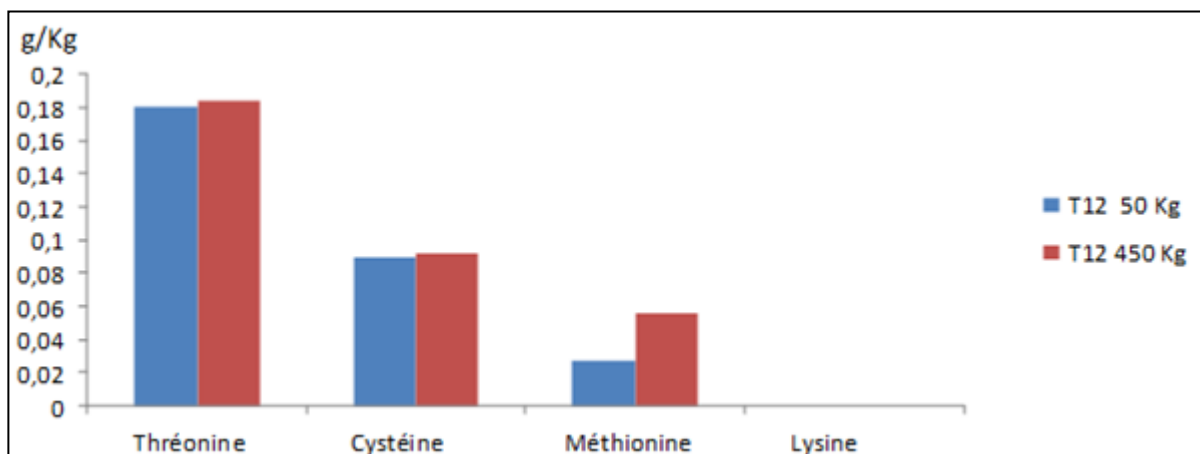


Figure .4 : (a) et (b) représentent la comparaison des teneurs en acides aminés de la pulpe ensilée dans les sacs de 50 et de 450 Kg après 1 an de conservation.

D'après les graphes (a et b) de la figure 4, on remarque une diminution des teneurs en Thréonine, Cystéine et Méthionine dans la pulpe ensilée stockée en sacs de 50 Kg et en balles

de 450 kg par rapport à la pulpe sortie presse (T0). On remarque aussi une absence totale de la lysine dans les deux modes d'ensilage. D'autre part la teneur en Méthionine dans les balles de 450Kg est supérieure à celle dans les sacs de 50 Kg.

On peut déduire alors qu'il y a une dégradation des acides aminés après un stockage prolongé d'une année.

La comparaison des résultats obtenus sur la composition en acides aminés de la pulpe de betterave de la zone de Béni Mellal (BM) avec ceux trouvés sur la base de donnée de « Animal Feed Ressources Système d'information (AFRSI) »[24] par rapport à la pulpe de betterave (BP) , l'ensilage de la luzerne (AS), la pulpe de café (CP) et l'ensilage de maïs (CS) présentés dans tableau 6, montre qu'il n'y a pas de différence significative concernant la méthionine depuis le stade pulpe fraîche jusqu'à 3 mois d'ensilage pour la BP , cependant ces résultats sont supérieurs à BP,AS et à PC après 6mois d'ensilage. Pour la lysine, BM est 1,5 à 2 fois inférieurs à la BP ,CP et AS s, légèrement inférieure par rapport à CS tout au long de la période de conservation,. En revanche l'augmentation de la teneur en thréonine le long de l'ensilage de BM a permis d'avoir un taux 2 fois plus grands que celui de BP ,AS et CS et 10 fois plus grand que CP.

Tableau.6 : La composition des acides aminés de la pulpe de betterave de la zone de Béni Mellal en comparaison avec les données d'AFRSI.

| Les acides aminés en (g/Kg MS) | Pulpe de Beni Mellal (PSBM) | | | Animal Feed Ressources Système d'information AFRSI (INRA Cirad AFZ et de la FAO 2012-2015) * | | | |
|--------------------------------|-----------------------------|------|------|--|------|------|------|
| | T0 | T3 | T6 | BP | AS | CP | CS |
| Lysine | 0,98 | 2,22 | 2,95 | 3 à 5,41 | 6,49 | 3,84 | 3,07 |
| Méthionine | 1,98 | 1,97 | 2,55 | 1,54 à 1,97 | 1,33 | 0,3 | Nd |
| Cystéine | 3,86 | 6,95 | 6,47 | Nd** | Nd | Nd | Nd |
| Thréonine | 2,75 | 3,81 | 9,93 | 4,21 | 4,58 | 0,1 | 2,99 |

**non déterminé

4. CONCLUSION

L'objectif de l'étude était d'évaluer la composition en acides aminés de l'ensilage de la pulpe de betterave à sucre, influencé par le temps de stockage et le mode de conditionnement, par chromatographie en phase liquide à haute performance en utilisant une dérivation pré-colonne. La réaction fluorogénique de o-phthalaldéhyde (OPA) a été utilisée pour quantifier la teneur en acides aminés. La réaction a été mesurée par un seul système de détection de fluorescence avec excitation et émission dans des longueurs d'onde suivantes (350/450 nm). Les résultats obtenus montrent qu'il existe une importante élévation des teneurs en acides aminés à savoir la méthionine, la lysine, la thréonine et la cystéine jusqu'à 6 mois de stockage sous forme d'ensilage, ce qui confirme que la conservation par ensilage est une technique qui préserve la qualité des composés d'intérêt comme les acides aminés et qui peut maintenir la valeur alimentaire des produits destinés aux animaux aussi proche que possible des produits frais. Cependant, au-delà d'une année les acides aminés se dégradent presque totalement quel que soit le mode de conditionnement.

5. RÉFÉRENCES

- [1] BARNETT A. J. C.. Silage fermentation. Academic Press Inc. Publishers New York ; 1954. p 111-123
- [2] Maynone B. Battaglini A. Tiberto M.. Maziotti Di Celso P. Los of dry matter of net eneyr and vitamins and degradation of proteins in warm silage stored in open molded stacks. An. Speriment. Agrar. 17. 53-90. 1963
- [3] Kemble A. R... Studies on the nitrogen metabolism of the ensilage process. J. Sci. Food. Agric..7. 125-130. 1956
- [4] Zelter S. Z. Salomon Michèle.. La conservation par ensilage d'une luzerne en vert. I Action protectrice comparée de la solution AIV. du métabisulfite de sodium et du mélange formiate de calcium-nitrite de sodium. Ann.Zootech..8. 147-173. 1959
- [5] Patrick Chaimbault. Analyse d'Acides Aminés non dérivés par Chromatographie en Phase Liquide avec le Détecteur évaporatif à Diffusion de la Lumière et Couplage avec la Spectrométrie de Masse. p . 9 8 Février 2000
- [6] Hélène Lappière. Équilibrer les rations pour les acides aminés : rêve ou réalité. CRAAQ – Symposium sur les bovins laitiers .p12. 2002.

- [7] Kazmierczak. D., Ciesielski. W., Zakrzewski. R., Zuber. M., 2004. Application of iodine–azide reaction for detection of amino acids in thin-layer chromatography. *Journal of Chromatography A* 1059. 171–174. 2004.
- [8] Ponder. E.L., Fried B., Sherma J. . Free-pool amino acids in *Biomphalaria glabrata* infected with *Echinostoma caproni* as determined by thin-layer chromatography. *Journal of Parasitology* 90. 665–666. 2004.
- [9] Chiesl. T.N., Chu. W.K., Stockton. A.M., Amashukeli. X., Grunthner. F., Mathies. R.A., Enhanced amine and amino acid analysis using Pacific Blue and the Mars Organic Analyzer microchip capillary electrophoresis system. *Analytical Chemistry* 81. 2537–2544. 2009.
- [10] Desiderio. C., Iavarone. F., Rossetti. D.V., Messina. I., Castagnola. M., 2010. Capillary electrophoresis–mass spectrometry for the analysis of amino acids. *Journal of Separation Science* 33. 2385–2393. 2010.
- [11] Kaspar. H., Dettmer. K., Gronwald. W., Oefner. P.J., 2008. Automated GC–MS analysis of free amino acids in biological fluids. *Journal of Chromatography B* 870. 222–232. 2008.
- [12] Sasaki et al.) Sasaki. G.L., Souza. L.M., Serrato. R.V., Cipriani. T.R., Gorin. P.A., Iacomini. M. . Application of acetate derivatives for gas chromatography–mass spectrometry: novel approaches on carbohydrates, lipids and amino acids analysis. *Journal of Chromatography A* 1208. 215–222. . 2008.
- [13] Azilawati et al.; Azilawati. M.I., Hashim. D.M., Jamilah. B., Amin. I., Validation of a reverse-phase high-performance liquid chromatography method for the determination of amino acids in gelatins by application of 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate reagent. *Journal of Chromatography A* 1353. 49–56. 2014
- [14] Callahan. M.P., Martin. M.G., Burton. A.S., Glavin. D.P., Dworkin. J.P. . Amino acid analysis in micrograms of meteorite sample by nanoliquid chromatography– high-resolution mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1332. 30–34. 2014
- [15] Guo. S., Duan. J.A., Qian. D., Tang. Y., Qian. Y., Wu. D., Su. S., Shang. E., Rapid determination of amino acids in fruits of *Ziziphus jujuba* by hydrophilic interaction ultra-high-performance liquid chromatography coupled with triple-quadrupole mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61. 2709–2719. 2013.
- [16] Gwatidzo. L., Botha. B.M., McCrindle. R.I. . Determination of amino acid contents of *manketti* seeds (*Schinziophyton rautanenii*) by pre-column derivatization with 6-

- aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate and RP-HPLC. *Food Chemistry* 141. 2163–2169. 2013.
- [17] Lin. Q.B., Che. L.L., Guo. J., Wang. R.Z. . Use of 4-chloro-3,5-dinitrobenzotrifluoride (CNBF) derivatization and ultrahigh-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry for the determination of 20 free amino acids in Chinese jujube date. *Food Analytical Methods* 7. 571–579. 2014.
- [18] Chernobrovkin. M.G., Shapovalova. E.N., Guranda. D.T., Kudryavtsev. P.A., S̃vedas. V.K., Shpigun. O.A. . Chiral high-performance liquid chromatography analysis of amino acid mixtures using a novel SH reagent-N-R-mandelyl-L-cysteine and traditional enantiomeric thiols for precolumn derivatization. *Journal of Chromatography A* 1175. 89–95. 2007.
- [19] Gomez-Alonso. S., Hermosin-Gutierrez. I., Garcia-Romeo. E. . Simultaneous HPLC analysis of biogenic amines, amino acids, and ammonium ion as aminoenone derivatives in wine and beer samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55. 608–613. 2007.
- [20] Mingcheng Guo, Tianyu Shi , Yongheng Duan , Juanli Zhu , Jianqiang Li , Yongsong Cao a Investigation of amino acids in wolfberry fruit (*Lycium barbarum*) by solid-phase extraction and liquid chromatography with precolumn derivatization. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2015.
- [21] Georg L. Lookhart and Berne L. Jones 1985 . High Performance Liquid Chromatography Analysis of Amino Acids at the Picomole Level. *CEREAL CHEMISTRY* 62. No2. 1985.
- [22] R. Baumont, Y. Arrigo, V. Niderkorn Transformation des plantes au cours de leurs conservation et conséquences sur leurs valeurs pour les ruminants.
- [23] Getachewa,*. A.M. Dandekara,W. Pittroff b.1. E.J. DePetersb, D.H. Putnama, S. Goyala, L. Teubera, S. Uratsua. Impacts of polyphenol oxidase enzyme expression in transgenic alfalfa on in vitro gas production and ruminal degradation of protein, and nitrogen release during ensiling *Animal Feed Science and Technology* 44–54 G. .2009.
- [24] AFZ. 2011. io - La Banque de Données de l'Alimentation Animale / base de données d'alimentation français.

IV. Evolution des paramètres fermentaires de la pulpe de betterave sucrière ensilée le long du stockage

1. Introduction:

L'ensilage est un processus de conservation des cultures humides par fermentation anaérobie. Les bactéries lactiques transforment les sucres solubles aux acides organiques, principalement de l'acide lactique; En conséquence, le pH diminue et l'ensilage est conservé aussi longtemps que possible, de sorte qu'il ne soit pas exposé à l'air.

Le processus d'ensilage est caractérisé par deux phases principales qui diffèrent par la longueur et l'intensité [1,2] : La phase aérobie initiale lorsque l'air est encore pris au piège entre les particules de fourrage et la valeur du pH est toujours neutre, qui permettent les activités microbiennes et enzymatiques aérobies. Cette phase dure pendant plusieurs heures jusqu'à l'anaérobie complète. La deuxième phase commence dans ce milieu anaérobie, avec la mort de cellules végétales et la libération par plasmolyse de leur contenu cellulaire. Les hydrates de carbone solubles libérés par la cellule sont ensuite utilisés par la flore bactérienne anaérobie. La quasi-totalité de ces molécules disparaissent et permettent la production d'acide lactique et d'acides gras volatils (AGV): c'est la fermentation d'acide lactique qui prend 1 à 2 semaines. Cette fermentation aboutit à une baisse de pH importante et rapide (≤ 4) qui génère une dominance de bactéries lactiques (plus résistant à un pH bas), et ainsi inhibe les fermentations indésirables butyriques [3].

Diagnostiquer la qualité de l'ensilage dépend de diverses analyses chimiques et microbiologiques appelées aussi paramètres de fermentation visant à savoir si les techniques utilisées pour conserver le fourrage ont été maîtrisées pour une meilleure acidification du milieu.

La surveillance de ces paramètres fermentaires et l'inspection de l'état de conservation est une étape essentielle pour assurer l'état de la nourriture fournie aux animaux et ensuite assurer la rentabilité qualitative et quantitative en termes de production de lait ou de viande. Une bonne conservation de l'ensilage minimise la perte de matière sèche et préserve la valeur nutritive des aliments pour animaux et même peut améliorer sa qualité nutritionnelle. D'autre part, lorsque les conditions sont défavorables et l'ensilage n'est pas maîtrisé, il y a une grande détérioration de la qualité de la nourriture qui constitue un risque réel pour la santé des animaux.

Selon les chercheurs Leduc et Fournier [4], le pH fournit une indication de la qualité de conservation de l'ensilage, car un pH suffisamment faible pour arrêter l'activité microbienne. Cependant, le pH qui assure la stabilité aérobie de l'ensilage c'est-à-dire qui stoppe l'activité des bactéries clostridiennes, augmente avec la teneur en matière sèche et donc le pH doit être interprété en tenant compte de la teneur en matière sèche de l'ensilage. Selon l'INRA [5], les valeurs proposées pour des ensilages dont la teneur en MS est inférieure ou égale à 35 % sont présentées dans le tableau 1. Si la MS est supérieure à 35 %, le pH n'est plus un indicateur valide de conservation. Un pH trop bas est défavorable à la croissance des lactobacilles, et selon les souches, leur multiplication est limitée pour une valeur comprise entre 3,2 et 3,8. Un pH trop acide, dans un ensilage riche en sucres, peut favoriser le développement des levures ce qui peut conduire à une mauvaise stabilité aérobie.

Tableau.1 : Barème INRA d'appréciation de la qualité de conservation des ensilages

| Appréciation | pH |
|--------------|------|
| Excellent | <4 |
| Bon | <4,2 |
| Médiocre | <4,4 |
| Mauvais | <5 |
| Très mauvais | >5 |

Conformément à l'AFSSA [6], l'acide lactique est le facteur limitant pour la fermentation lactique; il est principalement responsable de l'abaissement du pH et de la qualité de l'ensilage. Sa teneur dans l'ensilage dépend principalement de la teneur en matière sèche et des sucres solubles. L'acide lactique est dérivé de la dégradation anaérobie du glucose.

L'acide acétique à son tour est produit au début de l'ensilage pendant la phase aérobie et hétérolactique, il ne doit pas dépasser 2% de MS ensilage. Si la quantité est plus élevée, elle signe un retard de fermentation lactique et une consommation concurrentielle de sucre au détriment des lactobacilles. Par conséquent, la production d'acide lactique est diminuée, et l'acidification du fourrage est ralentie.

Dulphy et Demarquilly [7], Demarquilly Andrieu [8] et Leduc et Fournier [4] ont montré que l'acide butyrique est un indicateur de mauvaise conservation et de l'instabilité de l'ensilage.

Une excellente qualité d'ensilage contient moins de 0,1%, et une moyenne à bonne qualité contient moins de 0,5%.

Macdonald et Clark [9], ont montré que la présence d'acide propionique est à la fois un indice de la dégradation de l'ensilage et un inhibiteur de moisissures le plus efficace parmi les divers acides organiques. Selon Amyot [10], l'acide propionique est un très bon inhibiteur de levure et de la moisissure, étant donné que ce sont principalement les organismes qui se développent en présence d'oxygène lors de la reprise ou quand il y a infiltration d'air dans le silo, son existence améliore significativement la stabilité aérobie de l'ensilage, à savoir sa capacité à résister au chauffage et à la croissance de moisissures lorsqu'il est exposé à l'air.

Récemment, certains auteurs se sont intéressés à l'étude de l'évolution des constituants chimiques en fonction de la durée de conservation sous forme d'ensilage. Certains le considèrent stable après 6 semaines [2], d'autres considèrent que l'ensilage est pas stable et montrent qu'il existe une grande perte dans le DM sous forme de jus ou de gaz si la durée de conservation est longue [11,12], l'étude de [13] montre qu'il y a une instabilité dès 3ème mois de stockage par conversion de l'acide lactique à l'acide acétique, améliore au passage la stabilité aérobie de l'ensilage, puisque l'acide acétique est un inhibiteur de la levure et de la moisissure. L'objectif principal de l'ensilage est de maintenir la qualité originale de la culture préservée autant que possible [14].

Au cours des dernières années, l'intégration des sous-produits de l'industrie agroalimentaire dans l'alimentation des animaux a augmenté et ce grâce à leur hautes valeurs énergétiques et à leurs haute teneur en protéines, de sorte qu'ils puissent établir une alternative compétitive aux sources d'énergie traditionnelles utilisées dans l'alimentation animale [15,16,17].

La betterave à sucre est l'une des cultures les plus importantes pour la production de sucre. Cependant, il peut générer des sous-produits telle la pulpe de betterave, qui occupe une place importante dans le domaine de l'alimentation animale quelle que soit sa nature: fraîche ou conservée par ensilage.

L'étude actuelle a été établie pour obtenir des informations sur la qualité de l'ensilage de la pulpe de betterave à sucre après un stockage prolongé et de faire le suivi des paramètres physico-chimiques de la fermentation à savoir : pH, acide lactique et acides gras volatils: acétique, butyrique et propionique et les paramètres microbiologiques au cours de la période de stockage à savoir : levures, moisissures et bactéries lactiques.

2. Matériel et méthodes :

2.1. Analyses physico-chimiques :

2.1.1. pH

Le pH a été évalué en prélevant dix grammes d'échantillon dans un bécher auquel 20 à 30 ml d'eau distillée déionisée ont été ajoutés. Le mélange a été stocké dans un réfrigérateur à 4 ° C pendant 12 h [18] pour permettre la réhydratation du matériel avant d'insérer l'électrode en verre du pH-mètre (HI2211 pH / ORP Meter, Hanna Instruments).

2.1.2. Acides organiques :

Pour déterminer les teneurs en acides organiques, un sous-échantillon d'ensilages de 50 g a été macéré avec 150 ml d'eau distillée et stocké dans un réfrigérateur à 4 ° C pendant 12 h [18]. L'acide lactique (LA) a été déterminé par HPLC. Les extraits ont été centrifugés pendant 10 min à 10 000 tours, puis le surnageant a été réservé aux analyses d'acides gras volatils (AGV): l'acide acétique, l'acide propionique et l'acide butyrique, ont été déterminés par Chromatographie gazeuse (GC) HP 6890 munie d'un passeur et un contrôleur pour injection automatique. Le GC a été équipé d'un système de détection d'ionisation de flamme (FID). La colonne utilisée est une colonne polaire, référence CP-SIL 19 CB 60m * 0,25mm * 0,15 µm. Pour la colonne du programme, elle est caractérisée par: une température initiale de : 40 ° C / 5 min et une température finale de : 260 ° C / 5min. Le type de détecteur est FID (détection d'ionisation de flamme) avec : température 250 ° C. Les détecteurs de Gaz sont : L'Air avec un débit de 400 ml / min et l'hydrogène avec un débit de 40ml / min. Le gaz vecteur est l'azote avec un débit de 2 ml / min. Le volume d'injection est de l'ordre de 1 µl.

2.2. Analyses microbiologiques :

2.2.1. Levures et moisissures :

2.2.1.1. Préparation des échantillons :

Le dénombrement des levures et moisissures a été effectué à partir de 10 grammes de pulpe mélangés à 90 ml d'eau peptonée stérile. Des dilutions décimales en eau peptonée sont ensuite réalisées à partir de cette suspension mère. L'inoculation a été faite en triplicata sur milieu gélosé en utilisant la technique d'ensemencement en surface.

2.2.1.2. Milieu et conditions de culture :

Le milieu utilisé est la gélose glucosée à l'extrait de pomme de terre (PDA) [19]. On prélève un volume précis au dixième de millilitre à l'aide d'une pipette stérile de 1 mL et on dépose 0,1 mL de la dilution au centre de la surface de la gélose puis on étale à l'aide d'une pipette râteau le volume déposé sur toute la gélose. Les boîtes ensemencées sont ensuite

incubées à 20-25 °C pendant 3 à 5 jours. Pour le dénombrer des levures et des moisissures, il se fait d'une manière séparée. On peut même confirmer les types de colonies rencontrées par microscope [20].

2.2.2. Bactéries lactiques

2.2.2.1. Préparation des échantillons :

Le dénombrement des bactéries lactiques a été effectué à partir de 10 grammes de pulpe mélangés à 90 ml d'eau peptonée stérile. Des dilutions décimales en eau peptonée sont ensuite réalisées à partir de cette suspension mère. L'inoculation a été faite en triplicata sur milieu gélosé en utilisant la technique d'ensemencement dans la masse.

2.2.2.2. Milieu et conditions de culture :

Les bactéries lactiques ont été dénombrées sur milieu MRS-Agar [21]. On transfère 1 mL du produit à analyser et de ses dilutions décimales dans des boîtes de Petri stériles. On coule ensuite 15 mL de milieu et on homogénéise parfaitement. Après solidification sur une surface froide, les boîtesensemencées sont incubées à 30 °C pendant 48 à 72 heures. Les dénombrements ont été faits à partir des plats de Pétri des dilutions qui comptaient entre 20 et 200 colonies [22][23].

3. Résultats et discussion:

Il est bien démontré que l'un des facteurs les plus importants qui affectent la qualité de l'ensilage est la diminution du pH du matériel végétal préservé [25]. Une gamme de pH de 3.7- 4.2 est généralement considéré comme bénéfique pour la conservation des fourrages. Selon les normes établies par Dulphy et Demarquilly [7] et Demarquilly et Andrieu [8] la qualité d'ensilage est considéré comme excellente lorsque son pH est inférieur à 4.

La figure 1 montre une diminution de la matière sèche depuis la mise en sac avec une valeur de 27% MS jusqu'au temps T12 dont la valeur est de l'ordre de 24,5% accompagnées d'une diminution du pH allant de la valeur de 5,96 à T0 jusqu'à la stabilité à 3,8 correspondant à la période T3, et après le pH reste stable jusqu'à T12 assurant une excellente fermentation lactique.

Selon l'Afssa [6], lorsque la MS est inférieure à 30%, le pH ne doit pas dépasser 4 et avec des niveaux plus élevés de matière sèche le pH peut augmenter proportionnellement, mais ne devrait pas dépasser 4,4 (risque de prolifération de Clostridia et / ou Listeria). Un faible pH est favorable à la croissance des lactobacilles, et en fonction des souches, leur prolifération est limitée à une valeur comprise entre 3,2 et 3,8. Dans l'ensilage riche en sucre, pH trop acide

peut favoriser la croissance des levures (stabilité aérobie pauvres). Enfin, ça peut diminuer la capacité tampon du rumen et réduire la quantité de fourrage consommé.

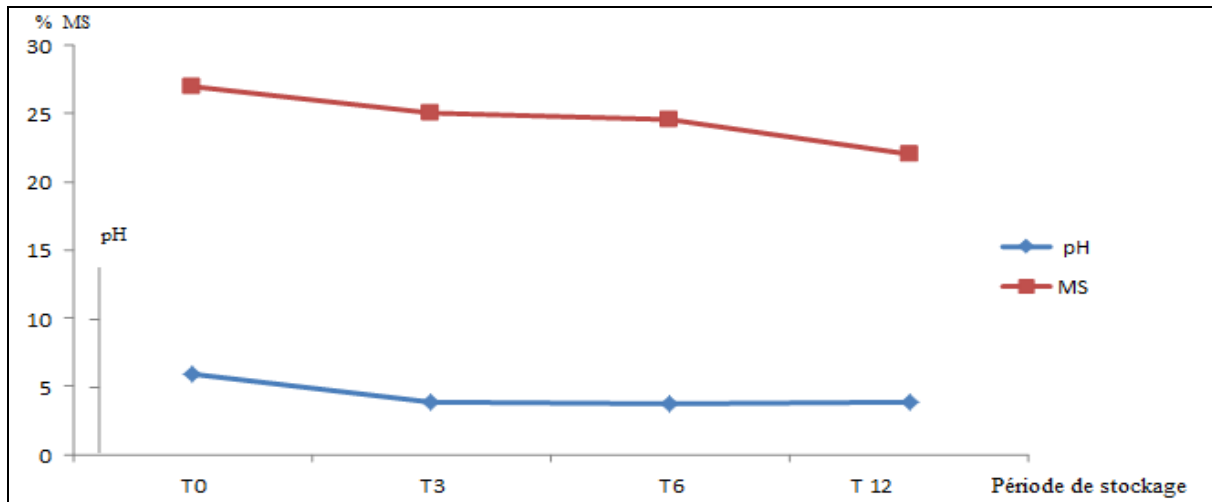


Figure 1 : Evolution du pH et de la matière sèche (MS) de la pulpe de betterave Durant l'ensilage.

La figure 2 révèle une diminution du pH accompagnée d'une augmentation de l'acide lactique en passant d'une valeur de 2,97% MS lorsque le pH est de 5,6 au temps T0 à une valeur de 6,83% MS lorsque le pH est égal à 3,8 à la période T6. Puis une légère baisse de l'acide lactique à T12 (5,22).

Ceci peut être expliqué par le fait que les cellules végétales meurent dans un milieu anaérobie par manque d'oxygène et ainsi le contenu intracellulaire est libéré par plasmolyse est ensuite utilisé pour la croissance de la flore bactérienne anaérobie initialement présentes sur les plantes. Tandis que le pH diminue, la flore lactique résistant à l'acidité du milieu se délie, inhibe la croissance d'autres microorganismes et transforme les hydrates de carbone solubles dans l'acide lactique jusqu'à pH réduit au voisinage de 4 [26]. L'acide lactique (LA) est le plus fort de tous les acides d'ensilage et sa présence va baisser le pH plus efficacement que les acides gras volatils (VFA) [25].

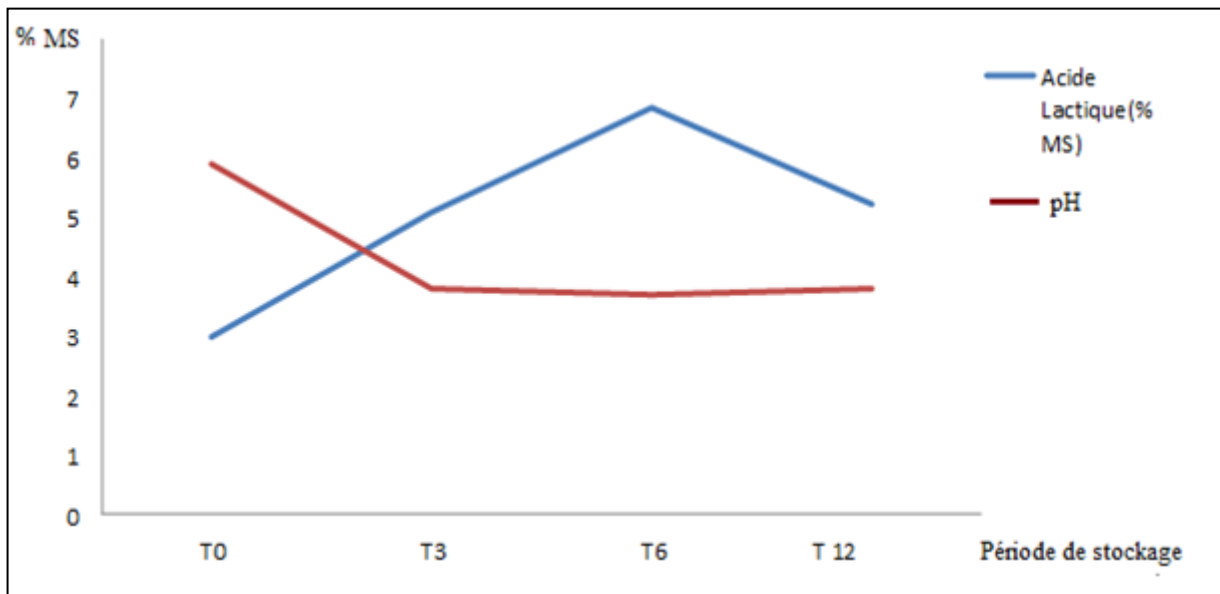


Figure 2: Evolution du pH et de l'acide lactique durant les périodes du stockage.

Les résultats des analyses présentés dans le diagramme (Figure 3) montrent que pour tous les échantillons dans les périodes T0, T3, T6 et T12 sont exemptes d'acide butyrique et donc absence de clostridium et spores butyriques qui présentent un risque pour la santé par contamination du lait animal, on peut conclure que l'ensilage a une excellente qualité car il contient moins de 0,1%.

L'absence d'acide propionique pendant la période de stockage est un indice de non-dégradation de l'ensilage et une excellente qualité de fermentation.

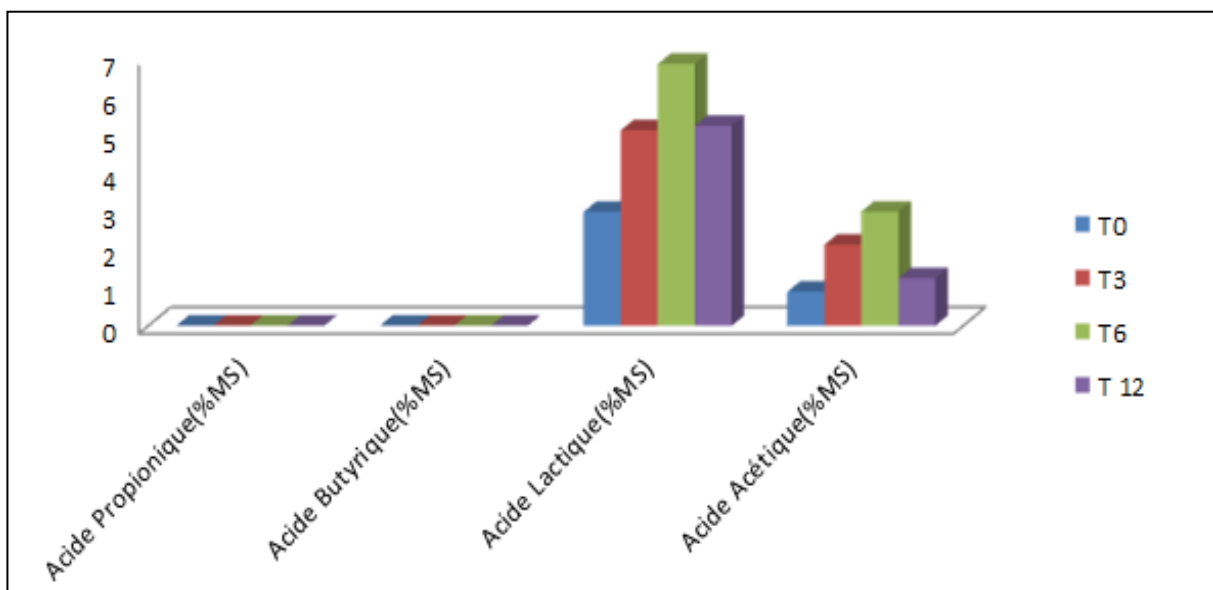


Figure 3: Diagramme des teneurs en acides lactique, acétique, propionique et butyrique durant la période de stockage sous forme d'ensilage.

Cependant, la teneur en acide lactique a augmenté passant de la valeur 2,97 % MS au moment T0 à 6,83 % MS au moment T6 et à 5,22 % MS au moment T 12. Selon l'Afssa [6], avec moins de 4% de MS la fermentation lactique est insuffisante et inférieure à 2,5% de MS d'ensilage, la palatabilité est pauvre. Avec plus de 8% de MS, l'ensilage est trop acide, ingestibilité diminue et cela peut favoriser le développement de l'acidose ruminale chronique. Dans notre étude, les valeurs trouvées informent que nous avons un ensilage de très bonne qualité.

L'acide acétique a également augmenté au cours du temps de stockage, il est passé de la valeur de 0,8% MS au moment T0 à la valeur 2,98 % MS au temps T6.

Ces valeurs montrent que l'ensilage est bon, suivant Mhanna [27], malgré le léger dépassement du taux d'acide acétique (2,9 contre la norme de 2 %).

La présence d'acide acétique en quantité excessive (plus de 4% MS dans l'ensilage) donne une saveur de vinaigre peu apprécié par les animaux et peut réduire leur niveau d'ingestion [6].

D'autre part, sur la figure 4 on remarque que l'augmentation de la teneur en acide lactique est accompagnée d'une augmentation de la teneur en acide acétique avec une dominance de l'acide lactique, ce qui est tout à fait normal car les bactéries lactiques hétérofermentaires présentes dans le fourrage ensilé produisent à la fois l'acide acétique et l'acide lactique et les bactéries lactiques homofermentaires produisent de l'acide lactique seul et donc plus d'acide lactique produit que d'acide acétique.

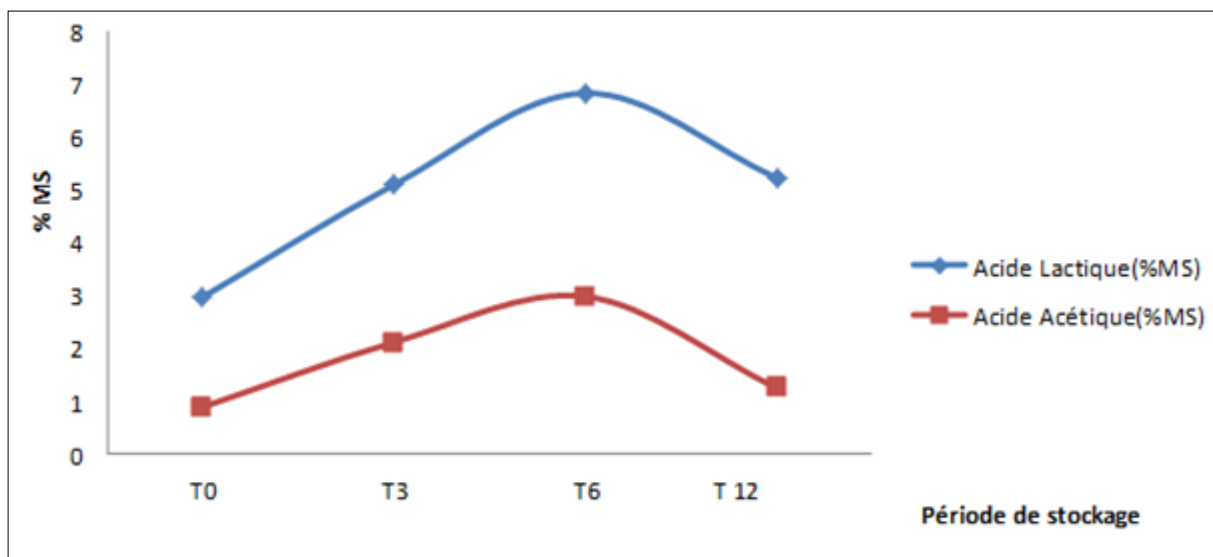


Figure 4: Evolution de l'acide lactique et de l'acide acétique durant la période du stockage sous forme d'ensilage.

3.1. Effet du mode de stockage sur la qualité fermentaire des pulpes ensilées :

On constate d'après le diagramme de comparaison de la figure 5 que le pH est dans la zone de stabilité (environ 4), la matière sèche est l'acide lactique dans les balles de 450 Kg sont légèrement supérieurs aux sacs de 50 Kg.

L'acide acétique par contre, est légèrement supérieur dans les sacs de 50 Kg que dans les balles de pulpes ensilées de 450 Kg.

Et enfin, pour les deux modes d'ensilage, il y a une absence totale des acides Butyrique et propionique. Ce qui est traduit par une excellente qualité fermentaire dans les sacs de 50 Kg que dans les balles de 450 Kg.

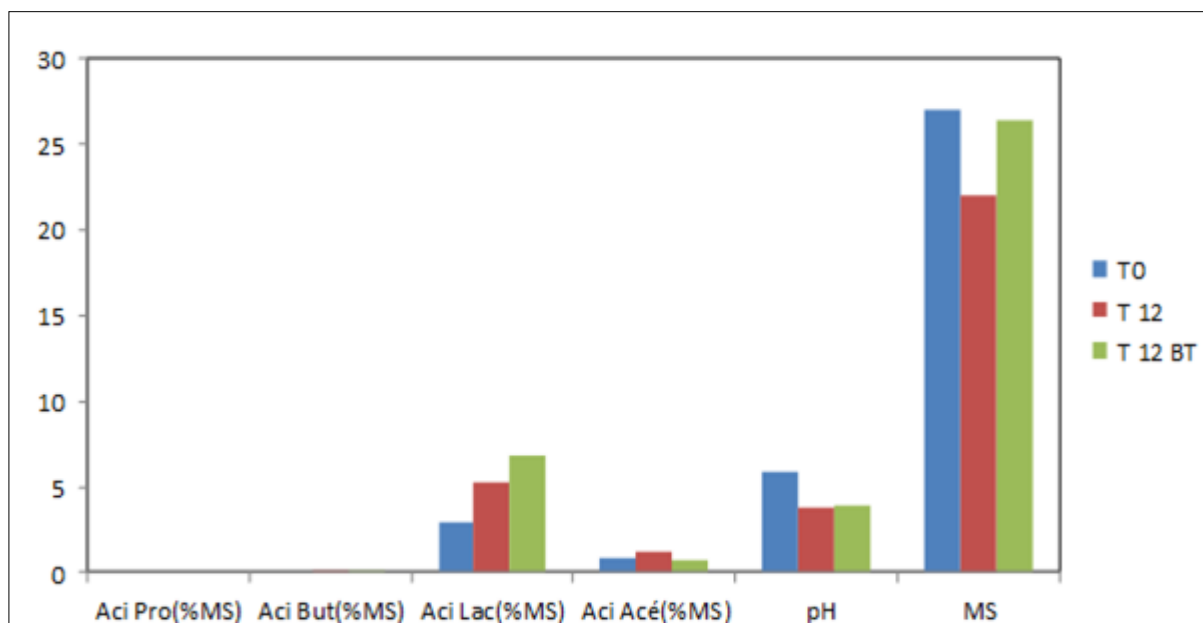


Figure 5 : Comparaison entre la pulpe ensilée 50Kg et 450Kg après une année de stockage (période T12)

3.2. Efficacité de l'ensilage :

Les proportions d'acides organiques par rapport aux acides totaux sont présentées dans le tableau 2, ils fournissent des informations sur l'efficacité de l'ensilage et la qualité de fermentation.

Tableau 2: Teneurs en acides organiques et proportions d'acides dans la pulpe de betterave ensilée.

| Les proportions d'acides | Après 3 mois d'ensilage | Après 6 mois d'ensilage | Après 12 mois d'ensilage (50 Kg) | Après 12 mois d'ensilage (450Kg) |
|-------------------------------------|-------------------------|-------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| Acide Lactique /Acides totaux % | 70,7253 | 69,6476 | 70,7866 | 89,7297 |
| Acide Acétique / Acides Totaux % | 29,2747 | 30,3524 | 29,1653 | 10,1681 |
| Acide Butyrique / Acides totaux % | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Acide Propionique / Acides totaux % | 0 | 0 | 0 | 0 |

Le rapport d'acide lactique / acides totaux après 3 mois , 6 mois 12 mois d'ensilage est de l'ordre de 70%, cette valeur est utilisée pour classer la qualité de l'ensilage de pulpe de betterave réalisée en sacs de 50 kg et dans les balles de 450 Kg entre bonne à excellente suivant Woolford [28].

Aussi le rapport d'acide acétique / acides totaux est d'environ 30%. Selon le même auteur cette valeur indique que l'ensilage dans les sacs de 50 Kg est de bonne qualité. Pour les balles de 450 Kg , elles indiquent un rapport d'acide acétique /acides totaux de l'ordre de 10% ce qui confère à la pulpe ensilée et conditionnée dans ce mode une excellente qualité fermentaire.

Le rapport (acide butyrique / acides totaux) et (acide propionique / acides totaux) est moins de 1 % , ce qui signifie que l'ensilage est excellent dans les deux modes de conditionnement.

3.3. Inspection de l'état microbiologique de l'ensilage :

3.3.1. Dans les sacs de 50 Kg :

La figure 6 nous présente l'évolution des bactéries lactiques , des levures et des moisissures dans la pulpe ensilée dans les sacs de 50 Kg après 3 mois , 6 mois et 12 mois de stockage. On remarque qu'il y a une augmentation importante du nombre des levures et des bactéries lactiques. Par contre les moisissures sont presque absents et leurs nombre est négligeable.

On déduit alors que la qualité fermentaire de l'ensilage est bonne dans les sacs de 50 kg.

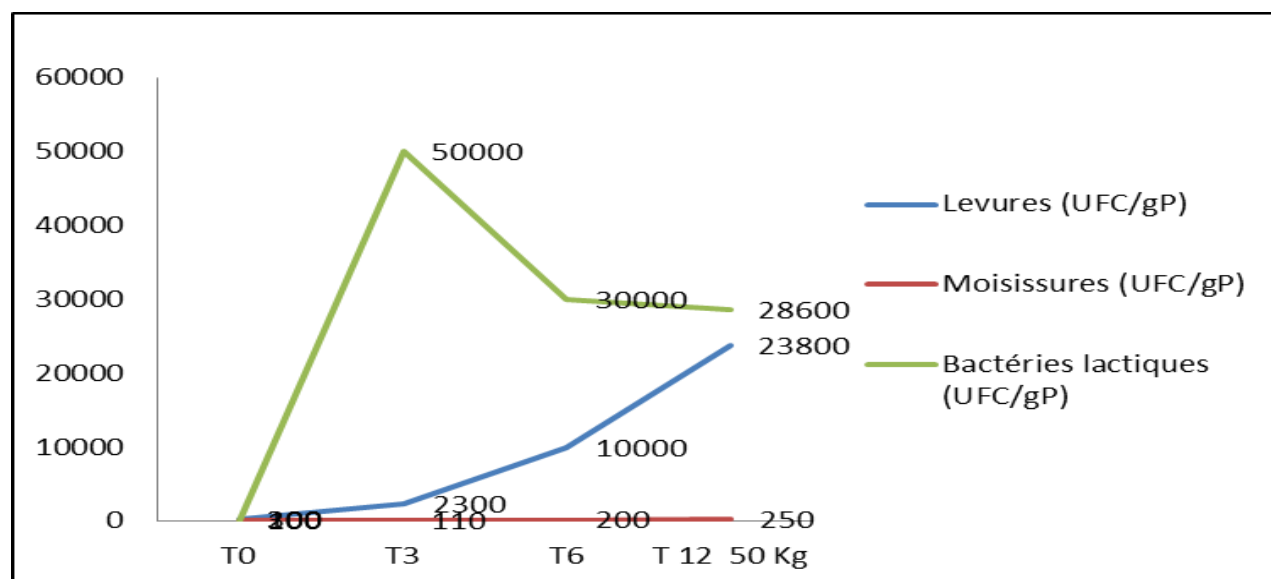


Figure 6 : Evolution des bactéries lactiques, levures et moisissures durant la conservation par ensilage.

3.3.2. Dans les balles de 450 Kg :

Le nombre de bactéries lactiques présent dans l'ensilage en balle de 450 Kg est supérieur au nombre de bactéries lactiques dans les pulpes ensilées en sacs de 50kg.

Par contre les levures sont moins dans les balles de 450 Kg que dans les sacs de 50 Kg.

Le nombre de moisissures quant à lui, est resté stable et négligeable dans les deux cas de conditionnement.

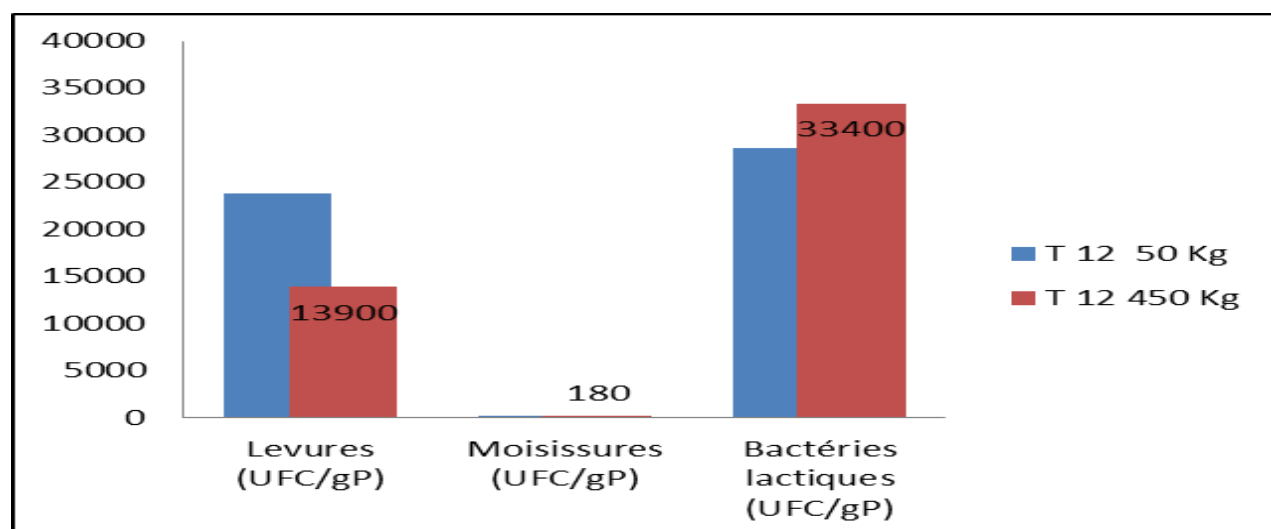


Figure 7 : Effet du mode de conditionnement sur l'évolution des bactéries lactiques, levures et moisissures.

Pour conclure, les deux ensilages sont dans les normes (< 100000 UFC/Gp) ce qui leur confère une bonne qualité fermentaire.

4. Conclusion :

L'inspection de l'état de conservation de l'ensilage des pulpes de betterave est une étape essentielle pour assurer l'état de la nourriture fournie aux animaux. Une bonne conservation minimise la perte de matière sèche et préserve la qualité nutritionnelle des pulpes ensilées grâce à la présence des bactéries lactiques qui sont l'origine de production d'acides organiques, qui diminuent le pH du milieu dans lequel elles se multiplient en inhibant une partie de la flore qui s'y développe.

L'ensilage de la pulpe de betterave dans les sacs de 50 Kg et dans les balles de 450 Kg ont subi une excellente qualité fermentaire manifestée par la stabilité du pH aux environs de 3,8,

l'absence d'acides butyrique et propionique (inférieur à 0,1%), par un taux d'acide lactique supérieur à 5% malgré le léger dépassement du taux d'acide acétique (2,9 contre la norme de 2 %).

Ces résultats nous ont permis de classer la qualité de la pulpe ensilée entre bonne à excellente. Toutes ces données sont importantes pour l'industrie de l'alimentation du bétail et pour les agriculteurs qui ont besoin d'utiliser l'ensilage à différents moments de stockage.

5. Références:

- [1] Weinberg, Z.G., Muck, R.E.. New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. *FEMS Microbiology Reviews* 19;1996. p 53-68.
- [2] Pahlow, G., Muck, R.E., Driehuis, F., Oude Elferink, S.J.W.H.. Microbiology of ensiling. In: Buxton, D.R., Muck, R.E., Harrison, J.H. (Eds.), *Silage Science and Technology; Agronomy Monograph 42*. American Society of Agronomy, Madison, WI, USA, Chapter 2; 2003. p 31-93
- [3] Demarquilly, C.. Facteurs de variation de la valeur nutritive du maïs ensilage. *Inra. Production Animale*. 7(3) ;1994 . p 177-189.
- [4] Leduc R. et Fournier A.. L'ensilage dans l'alimentation des ruminants. Colloque sur les plantes fourragères. Conseil des productions végétales du Québec. Canada ;1998. 62p.
- [5] Institut nationale des recherches agronomiques :INRA. Alimentation des bovins, ovins et caprins. Ed ; 1998. p 471.
- [6] Sandrine Valentin. AFSSA (Agence française de sécurité sanitaire des aliments) . Bonnes pratiques de fabrication de l'ensilage pour une meilleure maîtrise des risques sanitaires 2004.
- [7] Dulphy J. P. et Demarquilly C.. Problèmes particuliers aux ensilages. In prévision de la valeur nutritive des aliments des ruminants. INRA- Publications. Versailles, France ; 1981. p81-104.
- [8] Andrieu J., Demarquilly C. et Sauvant D.. Table de la valeur nutritive des aliments. Alimentation des bovins, ovins et caprins. INRA edition; 1988. p356-443.
- [9] Macdonald, A. D. and E. A. Clark.. Water and quality loss during drying of hay. *Advances in Agronomy* 41 ;1990. p 407-437
- [10] André Amyot Institut de recherche et de développement en agroenvironnement 120-A Chemin du Roy, Deschambault, G0A 1S0andre.amyot@irda.qc.ca Août 2003

- [11] Herrmann, C., Heiermann, M., Idler, C.. Effects of ensiling, silage additives and storage period on methane formation of biogas crops. *Bioresource Technology* 102; 2011. p 5153-5161.
- [12] Der Bedrosian, M.C., Nestor Jr, K.E., Kung Jr, L.. The effects of hybrid, maturity, and length of storage on the composition and nutritive value of corn silage. *Journal of Dairy Science* 95; 2012. p 5115-5126.
- [14] Weinberg, Z.G., Chen, Y.. Effects of storage period on the composition of whole crop wheat and corn silages. *Animal Feed Science and Technology* 185; 2013. p 196-200.
- [15] Wilkinson, J.M., Davies, D.R.. The aerobic stability of silage: keyfindings and recent developments. *Grass Forage Sci.* 68; 2012. p 1–19.
- [16] Westendorf ML Food waste as animal feed: an introduction.:Westendorf ML(ed) Food waste to animal feed. Iowa State University Press, Ames,pp 3-16; 2000. p 69-90
- [17] Vasta, V., Nudda, A., Cannas, A., Lanza, M., Priolo, A . Review, Alternative feed resources and their effects on the quality of meat and milk from small ruminants, *Animal Feed Science and Technology*, 147; 2008.p 223–246
- [18] Jaramillo, D. P., Buffa, M. N., Rodríguez, M., Pérez-Baena, I., Guamis, B., Trujillo, A. J . Effect of the inclusion of artichoke silage in the ration of lactating ewes on the properties of milk and cheese characteristics during ripening. *Journal of Dairy Science*, 93; 2010. p 1412–1419.
- [19] Beever, R.E., and Bollard, E.G. 1970. The nature of the stimulation of fungal growth by potato extract.
- [20] J. Gen. Microbiology, 60: 273-279. United States Pharmacopeia 28. 2005. Microbial Limit Tests, 2246-2251.
- [21] ISO 8784-1. Juillet 2005. Pâte, papier et carton. Analyse microbienne. Partie 1: Dénombrement total des bactéries, levures et moisissures basé sur la désintégration.
- [22] De Man, J.C., Rogosa, M., and Sharpe, M.E. 1960. A medium for the cultivation of lactobacilli. *J. App. Bacteriol.*, 23, (1): 130-135.
- [23] NF EN 15787 (V 18-231). Décembre 2009. Aliments des animaux. Isolement et dénombrement du *Lactobacillus* spp.
- [24] Bureenok, S., Namihira, T., Mizumachi, S., Kawamoto, Y., Nakada, T., 2006. The effect of epiphytic lactic acid bacteria with or without different by product from defatted rice bran and green tea waste on napier grass (*Pennisetumpurpureum* Schumach) silage. *J. Sci. Food Agric.* 86; 2006.p 1073–1077

- [25] McDonald, P., Edwards, R.A., Greenhalgh, J.F.D., Morgan, C.A., Sinclair, L.A., Wilkinson, R.G. Chapter 19: Silage. In: Animal Nutrition, seventh ed.; 2010. p 499–520.
- [26] R. Baumont , Y.Arrigo and V. Niderkorn . Transformation des plantes au cours de leur conservation et conséquences sur leur valeur pour les ruminants . Journée AFPP , Récolte et valorisation des fourrages conservés .30 et 31 Mars 2011 .
- [27] Mahanna,B.. Proper Management assures high quality silage ,grains.1994. Feedstuffs, January 10, p.13-23;January 17; 1994. p.17-20.
- [28] Woolford M.K.. The silage fermentation. Marcel Dekker inc. New York, Microbiology series, V. 14,350 p.Arai, T., Aiyama, Y., Sugi, M. & Ota, J. (2001), “Holonc Assembly System with Plug and Produce”, *Computers in Industry* 46, Elsevier; 1984. p 289-299.

Conclusion :

En alimentation du bétail, la pulpe pressée peut être utilisée directement et sans précautions particulières de conservation, mais sa durée de conservation à l'état frais est très critique et sujette à la détérioration si la durée d'entreposage est plus que 48 heures. Elle se colonise rapidement par des fermentations néfastes et par des moisissures et des spores butyriques aboutissant ainsi à un aliment non consommable par les animaux.

Par contre, la technique d'ensilage si elle est correctement réalisée, crée les conditions nécessaires au processus naturel et spontané de fermentation lactique. Cette fermentation se déroule uniquement dans les conditions d'anaérobies ce qui permet également d'éviter le développement de moisissures qui peuvent apparaître à l'intérieur des sacs ou balles d'ensilage. Cette acidification, permettra à la pulpe de conserver ses qualités nutritives, avec un minimum de pertes de substances même si la durée de stockage est longue.

Le séchage aussi est une technique de conservation, basée sur la déshydratation de la pulpe dans la sécherie. Il est couramment utilisé dans l'industrie sucrière à l'échelle mondiale et nationale mais sa consommation importante de l'énergie fossile l'éloigne de l'objectif visé par le plan Maroc vert dans le cadre du développement durable. Ajoutant à ça que la qualité nutritive de la pulpe de betterave est beaucoup plus influencée par le séchage que l'ensilage.

D'ailleurs les résultats de l'étude entamée dans ce sens ont montré que :

- La pulpe pressée fraîche présente une teneur moyenne en matière sèche de l'ordre 27%, les matières azotées totales de l'ordre de 9.96 % MS, les sucres totaux de l'ordre de 7 % MS, les matières grasses sont très faibles de l'ordre de 1,14 % MS et la teneur en matières minérales se situe aux alentours de 10.24% MS. La pulpe est un aliment riche en calcium, elle en contient environ 0.98 % MS. En revanche elle est très pauvre en phosphore, elle en contient environ 0.07 % MS. Cependant, elle est assez bien pourvue en magnésium, elle en contient environ 0.246 % MS. Les constituants pariétaux quant à eux présentent des valeurs de l'ordre de 42,5 %MS pour le NDF, 24,22 %MS pour l'ADF, 1,32 %MS pour l'ADL, 18,27 %MS pour la cellulose et 22,9 %MS pour l'hémicellulose. Les composés phénoliques totaux sont très présents dans la pulpe fraîche et constituent à leur tour une part d'environ 22 EAG/gES.
- La qualité biochimique de la pulpe est influencée par la durée de conservation sous forme d'ensilage. D'ailleurs, le long du stockage (périodes T3, T6 et T 12) , il y eu une légère diminution des sucres totaux (2,3 ;1,5 et moins que 0,5 %MS), de la MG (0,39 ; 0,12 et 0,08

%MS), de la MM (8,68 ; 8,16 et 7,84 %MS), du Mg (0,231 ; 0,059 et 0,04 %MS), du P (0,07 ; 0,06 et 0,021 %MS), du NDF (41,29 ; 40,39 et 40,12 %MS) et de l'hémicellulose (17,68 ; 17,59 et 17 %MS) par rapport à la pulpe pressée fraîche (sortie presse au moment T0), alors qu'il y a une stabilité dans les teneurs en composés phénoliques_totaux (22 EAG/gES) et enfin, une augmentation des teneurs en MAT (11,94 ; 12,64 et 12,06 %MS), en ADL (1,75 ; 1,76 et 2,75 %MS) et en ADF (24,43 ; 25,35 et 26 %MS).

- Le mode de conditionnement de la pulpe ensilée dans les balles de 450 Kg et les sacs de 50 Kg durant une année a aussi un effet sur la qualité biochimique de la pulpe. D'ailleurs, pour les deux modes, les teneurs en MAT (8,4 et 10,6 %MS), en MM (9,16 et 7,84 %MS), en sucres totaux (moins que 0,5 %MS) en hémicellulose (15,81 et 26,55 %MS) et en NDF (42,31 et 40,12 %MS) sont légèrement inférieures aux valeurs de la pulpe à la sortie des presses. Le phosphore est resté stable (0,07 %MS), par contre le calcium (1,9 et 1,77 %MS), l'ADF (26,5 et 26 %MS), l'ADL (4,19 et 2,75 %MS) et la Cellulose (22,31 et 23,55 %MS) ont connu une augmentation. Les teneurs en Thréonine (0,184 et 0,181 g/Kg MS), Cystéine (0,092 et 0,09 g/Kg MS) et Méthionine (0,056 et 0,027 g/Kg MS) ont chuté avec absence totale de la lysine dans les deux modes d'ensilage par rapport à la pulpe sortie presse (2,75 ; 3,86 ; 1,98 et 0,98 g/kg MS respectivement).
- La technique de conservation a aussi son mot à dire et a fait varier la composition biochimique de la pulpe pressée. D'ailleurs, le séchage a fait diminuer les teneurs en MAT (9,62 contre 9,96 %MS), en MG (0,15 contre 1,14 %MS), en CPT (7 contre 22 EAG/gES), en sucres totaux (5,4 contre 7 %MS) et les teneurs en constituants pariétaux ADF, NDF, ADL, cellulose et hémicellulose (17,46 ; 32,44 ; 1,2 ; 16,19 et 13,98 %MS contre 24,2 ; 42,5 ; 1,32 ; 22,88 et 18,29 %MS respectivement) par rapport à la pulpe sortie presse, avec une augmentation des teneurs en MM, Ca et Mg (11,74 ; 1,12 et 0,32 %MS contre 10,24 ; 0,98 et 0,24 %MS respectivement). Par contre l'ensilage a permis de maintenir des valeurs plus proches de la pulpe pressée au moment T0.
- L'ensilage réalisé dans les sacs de 50 Kg et dans les balles de 450 Kg ont subi une excellente qualité fermentaire manifestée par la stabilité du pH aux environs de 3,8, par l'absence d'acides butyrique et propionique (inférieur à 0,1%), par un taux d'acide lactique supérieur à 5% malgré le léger dépassement du taux d'acide acétique (2,9 contre la norme de 2 %).

Chapitre 2 :

Méthodes de contrôle
et de prédiction de la
composition des pulpes :

Introduction :

L'évaluation de la qualité des aliments destinés aux animaux et plus particulièrement de la pulpe de betterave est basée sur un ensemble d'analyses chimiques déterminées par des méthodes de référence standardisées, mais toutefois elles sont facilement transférables vers les techniques rapides d'analyses comme la spectrométrie dans le moyen infrarouge, permettant ainsi d'appréhender rapidement la qualité de la pulpe et de comparer de manière pertinente ses différentes composantes.

Ce chapitre expose une alternative aux analyses classiques habituelles basée sur le couplage de la spectroscopie moyen infrarouge et de la chimiométrie. C'est une méthode nouvelle permettant de prédire en un temps record la composition de la pulpe de betterave.

Ce chapitre a fait l'objet de deux articles présentés en détails dans les sections 1 et 2 :

6. Article soumis au journal « Spectroscopy Letters » intitulé : Prédiction de la teneur en acides aminés de la pulpe de betterave sucrière par ATR-FTIR couplée à l'analyse multivariée.

Alami Lamiae, wafa Terouzi, Salmaoui Souad, Abdelkhalek Oussama, Ali El Moujahid, Abderrahim Hassani, Otmani Manar and Mohamed Mbarki. *Prediction of Amino acids content in sugar beet pulp by ATR-FTIR coupled with multivariate analysis* .

7. Article publié au journal « AARJMD » intitulé : Utilisation de l'ATR-FTIR couplée aux méthodes chimiométriques pour prédire la teneur en matière grasse des pulpes de betterave sucrière.

Alami Lamiae, Terouzi.Wafa, Salmaoui Souad, Ali El Moujahid, Abderrahim Hassani, Otmani Manar , Mohamed Mbarki and Abdelkhalek Oussama. *The use of ATR-FTIR coupled with chemometric tools for Prediction of fat content in sugar beet pulp*. Asian Academic Research Journal of Multidisciplinary. ISSN : 2319 – 2801 Vol. 4 Issue . 2 February. 2017, p. 10-21.

I. Prédiction de la teneur en acides aminés de la pulpe de betterave sucrière par ATR-FTIR couplée à l'analyse multivariée

1. Introduction :

La pulpe de betterave sucrière est un sous-produit de l'industrie sucrière dont les éleveurs considèrent comme un excellent aliment pour animaux du fait de son grand intérêt alimentaire, de son appétence et surtout par son effet galactogène qui a fait l'objet de nombreux travaux de recherches [1,2,3].

Mais le problème avec la pulpe de betterave c'est que c'est un aliment périssable d'où la nécessité de le stocker sous forme d'ensilage. Ce mode de conservation représente une portion de plus en plus importante dans l'alimentation des ruminants au Maroc. Le procédé d'ensilage permet de préserver la valeur nutritive du fourrage et son appétence, de réduire la perte de matière sèche et de limiter le développement de microorganisme indésirable par le biais de la fermentation lactique anaérobique.

Avant d'incorporer la pulpe de betterave ensilée dans l'alimentation animale il est recommandé de faire une étude biochimique pour bien rationner l'animal en satisfaisant ses besoins nutritifs par des aliments équilibrés et adaptés à ses capacités digestives.

Dans cet article on va se focaliser sur la composition en acides aminés puisqu'elle renseigne sur la valeur protéique de l'aliment. Les diverses protéines sont les seuls nutriments à apporter l'azote nécessaire à l'organisme, et sont le résultat de la combinaison d'acides aminés différents. La lysine étant le premier acide aminé limitant les performances de croissance de l'animal. La thréonine comme la lysine, est un acide aminé indispensable pour le dépôt de protéines corporelles et la croissance et est de plus impliquée dans un certain nombre de processus physiologiques spécifiques tels que l'intégrité intestinale et l'immunité. La méthionine est un acide aminé soufré qui permet l'assimilation des protéines. La cystéine intervient dans la synthèse de la mélanine, elle intervient aussi dans la synthèse de la coenzyme A,

Pour évaluer la qualité de conservation de l'ensilage on fait toujours appel aux analyses chimiques qui sont coûteuses, qui font perdre du temps (prétraitement des échantillons et analyses) aussi qui consomment beaucoup de réactifs d'où le recours aux techniques spectroscopiques et méthodes chimiométriques.

Les techniques spectroscopiques sont des méthodes physiques de caractérisation qui peuvent être une alternative remarquablement efficace aux analyses traditionnelles.

Les applications des méthodes spectroscopiques sont nombreuses en chimie analytique, en biologie, en pharmacologie et en sciences alimentaires, d'ailleurs plusieurs travaux de recherches ont mis en évidence la potentialité du MIR pour la caractérisation des produits agroalimentaires par exemple pour le suivi géographique de la qualité du fromage [4], pour la classification et l'authentification du jus de citron [5] et aussi pour la discrimination de l'huile d'olive [6]. La spectroscopie Moyen infrarouge a été également appliquée en sucrerie. Elle a été utilisée pour détecter la présence de contaminations organiques (caoutchouc) et inorganiques (carbonates, sulfates) dans le sucre cristallisé [7], pour doser les jus de pressage de la canne à sucre [8] et pour contrôler les jus d'usine [9].

L'objectif de cette étude est d'évaluer la capacité de la spectroscopie moyen infrarouge associée à la chimiométrie à prédire la teneur en acides aminés (lysine, méthionine, cystéine et thréonine) de la pulpe de betterave sucrière durant l'ensilage.

2. Matériels et méthodes:

2.1. Echantillonnage:

Dans ce travail, les échantillons de pulpe de betterave à sucre ont été prélevés de la société SUTA (Cosumar) dans la région de Tadla Azillal (Maroc) durant 3 périodes de stockage T0 (0 mois), T3 (après 3 mois) et T6 (après 6 mois).

Au total, il y avait 30 échantillons de pulpe de betterave sucrière dont 23, choisis au hasard, ont servi pour établir la courbe d'étalonnage des modèles de régression de la composante principale (PCR) et des moindres carrés partiels (PLS). Les échantillons restants ont été utilisés pour tester les modèles.

2.2. Méthode analytique d'extraction:

La méthode est basée sur la mesure des acides aminés dans la pulpe de betterave après défécation au plomb. Cette méthode est officiellement adoptée comme méthode de référence par l'ICUMSA (Commission internationale pour les méthodes d'analyse uniformes du sucre).

Après extraction, l'extrait subit une filtration Millipore et réagit avec l'OPA avant d'être injecté en chromatographie liquide pour représenter l'acide aminé comme molécule

fluorescente.

2.3. Dérivation des acides aminés:

L'extrait d'acides aminés et les mélanges d'étalonnage ont été transformés en dérivés avec l'OPA. Une aliquote de 5 μl , suivie dans l'ordre par 25 μl de l'eau déminéralisée, 25 μl de tampon saturée de borate de sodium (pH 9,5), 12,5 μl de réactif OPA-dérivé et 62,5 μl de méthanol. Le flacon a été bien mélangé sur un mélangeur vortex après chaque addition. Le mélange est normalement maintenu à la température ambiante pendant au moins 2 min (mais pas plus de 10 min), après ils ont été injectés dans le système HPLC [10].

2.4. Mesures spectroscopiques:

Les spectres ATR-FTIR sont obtenus en utilisant un spectrophotomètre FTIR Vector 22 Bruker équipé d'un accessoire de réflectance totale atténué (ATR single-reflexion, diamant, angle d'incidence 45°), détecteur DTGS, source Globar (MIR) et séparateur de germanium KBr, avec une résolution de 4 cm^{-1} à 50 balayages. Les spectres sont balayés dans le mode d'absorbance de 4000 à 600 cm^{-1} , et les données sont traitées avec le logiciel OPUS. La pulpe a été déposée directement entre deux plaques KBr bien polies. Pour les mesures ATR-FTIR, il était nécessaire de maintenir une pression contrôlée et d'assurer un bon contact entre l'échantillon et la surface du diamant.

Les analyses sont effectuées à température ambiante. L'arrière-plan est recueilli avant que chaque échantillon soit mesuré. Entre les spectres, la plaque ATR a été nettoyée in situ par frottement avec une solution éthanolique, ce qui a permis de sécher l'ATR.

2.5. Méthodes Chimométriques:

2.5.1. Régression des composantes principaux (PCR) :

La PCR est une technique d'analyse de régression basée sur l'analyse des composantes principales (ACP). Dans la PCR, au lieu de régresser directement la variable dépendante sur les variables explicatives, les composantes principales des variables explicatives sont utilisées comme régresseurs. On utilise typiquement seulement un sous-ensemble de tous les composants principaux pour la régression, rendant ainsi la PCR comme une sorte de procédure régulée. Souvent, les composantes principales avec des variances plus élevées (celles basées sur des vecteurs propres correspondant aux valeurs propres supérieures de

l'échantillon et de la matrice variance-covariance des variables explicatives) sont choisies comme régresseurs. Cependant, dans le but de prédire le résultat, les composantes principales avec de faibles variances peuvent également être importantes [11].

2.5.2. Régression des moindres carrés partiels: (PLSR)

La régression des moindres carrés partiels PLS est une méthode pour construire des modèles prédictifs lorsque les facteurs sont nombreux et hautement colinéaires. Il s'agit d'une méthode multivariée d'analyse factorielle bien connue, principalement appliquée à des fins prédictives [12], PLS est une méthode de décomposition supervisée dans laquelle un bloc Y, contenant typiquement des données d'analyse de référence, est utilisé pour trouver des prévisions de prédiction appropriées. Les projections résultantes conduisent à des variables latentes qui sont capables de prédire de nouvelles propriétés de l'échantillon en utilisant des méthodes multivariées rapides et souvent non invasives (par exemple FTIR) sans avoir besoin d'une lourde analyse de référence.

Elle nécessite une étape d'étalonnage dans laquelle un modèle est construit à partir d'un certain nombre de facteurs significatifs, qui sont sélectionnés [13].

2.5.3. Logiciel:

La PCR et la PLS ont été réalisées en utilisant le logiciel Unscrambler X version 10.2 (CAMO, Oslo, Norvège).

3. Résultats et discussion:

3.1. Diversité spectrale:

Les spectres infrarouges à transformée de Fourier (FTIR) de 30 échantillons ont été enregistrés et divisés en deux séries: un ensemble d'étalonnage de 23 échantillons et un ensemble de prédiction de 7 échantillons. Les spectres MIR obtenus pour l'ensemble d'étalonnage de la pulpe semblent être similaires (Fig.1). Des spectres typiques sont donnés dans la figure 1 et des analyses de bandes ont été réalisées selon la littérature [14,15,16]. Les bandes significatives d'eau sont clairement visibles dans les spectres de pulpe à 3400 cm^{-1} . Dans la région $1800\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$, il y a une bande à environ 1715 cm^{-1} qui est associée à l'étirement C = O des protéines. D'autre part, la bande d'étirement C = O de la courbure amide I et N-H de l'amide II sont toutes deux situées dans cette région spectrale. Bandes

typiques de matériau cellulosique dans la région $900\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$ [17]. Alors que la gamme $2400\text{ - }2300\text{ cm}^{-1}$ est due au CO_2 .

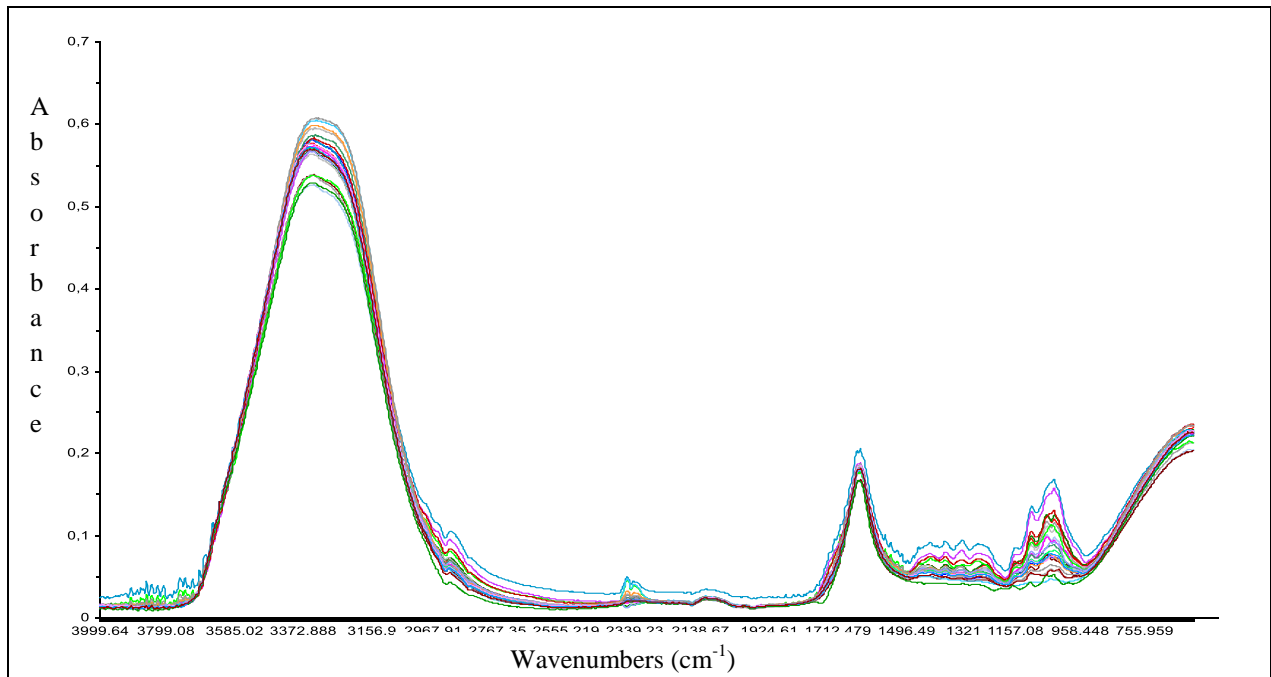


Figure 1: Spectre FT-MIR des échantillons de pulpes de betterave sucrière (ensemble d'étalonnage)

Les données spectrales ont d'abord été dérivées, avec l'algorithme dérivé de Gap pour supprimer les variations spectrales indésirables comme corrections. La meilleure amélioration de la variance des données a été obtenue lorsque la fonction dérivée par l'algorithme dérivé de Gap a été utilisée. Les meilleurs résultats ont été obtenus en fixant les paramètres suivants: 2ème ordre, nombre de points de lissage 13 (pour Threonine) ou 15 (pour Cysteine et Lysine) et ordre polynomial 2.

3.2. Analyse multivariée

Comme les techniques spectroscopiques fournissent des signaux multivariés et non spécifiques, la chimiométrie est nécessaire pour filtrer les informations les plus pertinentes des ensembles de données. Les données spectrales ont d'abord été analysées par analyse des composantes principales (ACP) afin de réduire la dimensionnalité des données spectrales des échantillons de pulpe de betterave sucrière tout en conservant autant d'informations nécessaires. De plus, pour identifier les aberrations spectrales dans les spectres d'absorbance des échantillons et augmenter la qualité du modèle de prédiction [18].

Dans ce travail, pour extraire les informations pertinentes de l'analyse ATR-FTIR des pulpes, nous avons utilisé deux méthodes chimiométriques populaires. Il s'agit de la régression de la composante principale (PCR) et du moindre carré partiel (PLS).

La PLS a la capacité d'utiliser l'information des spectres d'échantillons à partir de fréquences spectrales larges, puis corrèle entre le changement d'absorption spectrale et la concentration de l'échantillon analysé tout en calculant simultanément d'autres spectres qui peuvent perturber les spectres de l'échantillon analysé [19]. Dans le même temps, la PCR est un type d'analyse factorielle où les données spectrales et de concentration sont intégrées dans le modèle en une seule étape [20].

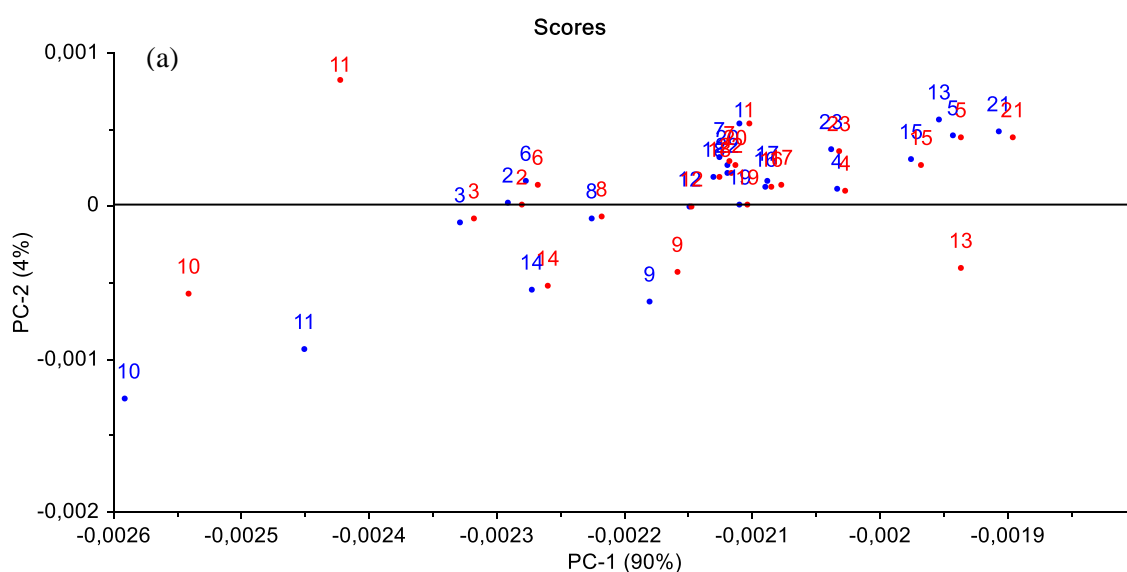
L'ACP, la PCR et la PLSR ont été réalisées en utilisant la version 10.1 (CAMO, Oslo, Norvège) de Unscrambler X.

3.2.1. Modélisation ACP

Le modèle ACP a été construit en considérant l'intervalle de fréquence $4000 - 600 \text{ cm}^{-1}$ en tant que variables X et le modèle a été validé par validation croisée complète.

Avec une validation croisée complète, les mêmes échantillons sont utilisés à la fois pour l'estimation du modèle et le test: ne laissant qu'un seul échantillon à la fois [21].

Les résultats de l'ACP sont visualisés par les graphiques des scores (Fig.2).



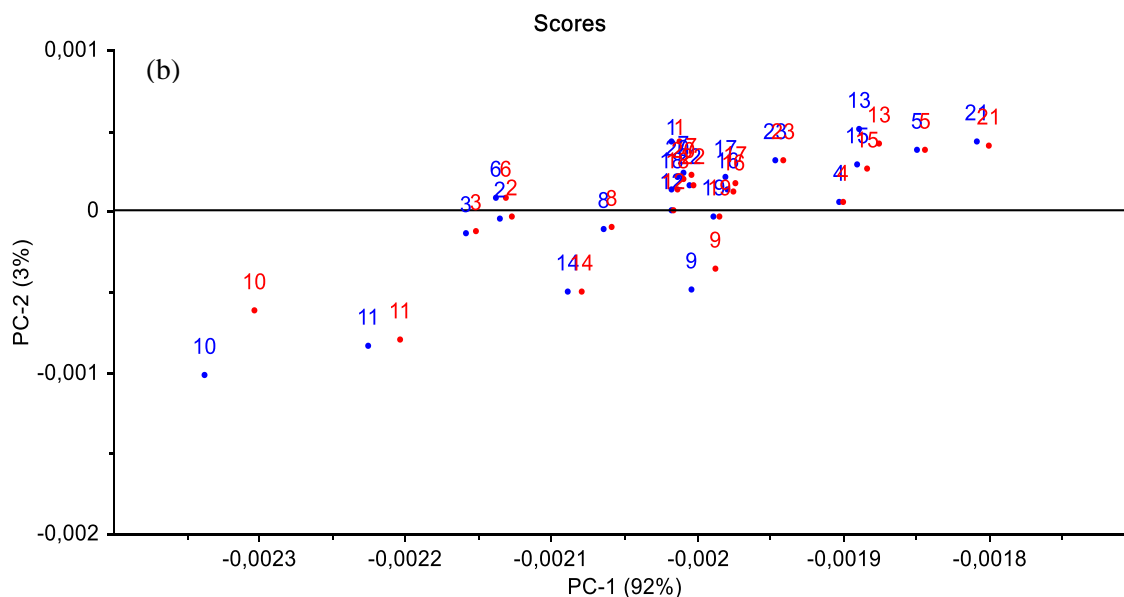


Fig. 2 Plot des Score (PC1 / PC2) de l’analyse ACP dans l’ensemble d’étalonnage :
(a) Threonine (Tr) ; (b) Cysteine (Cn) and Lysine (Ln)

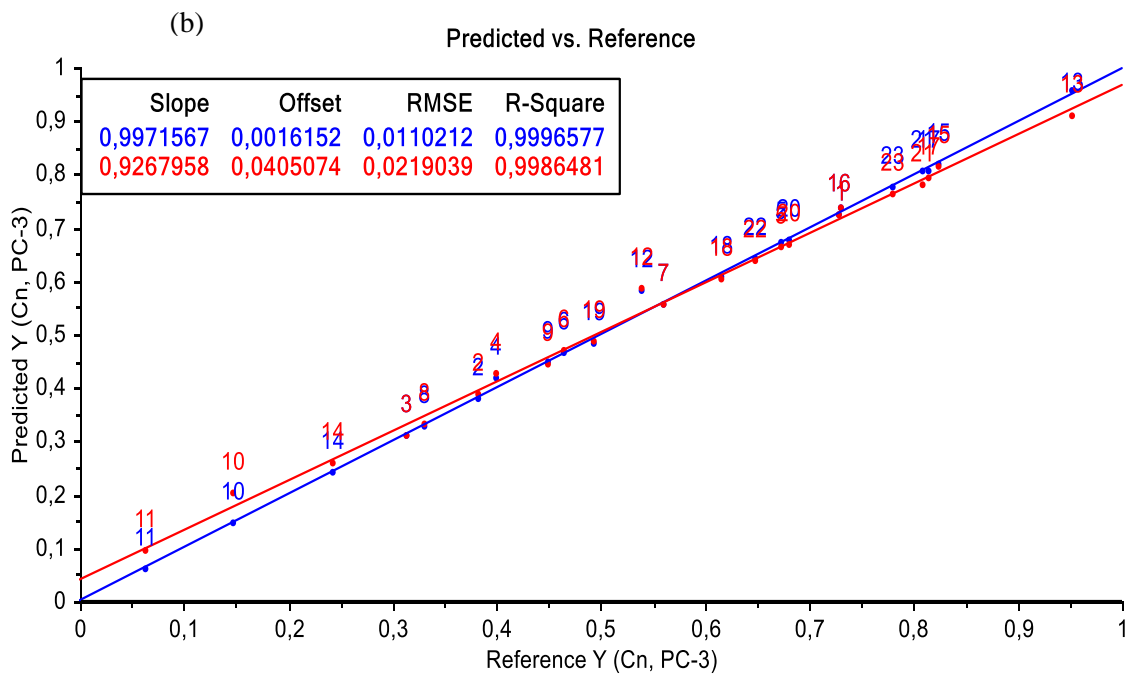
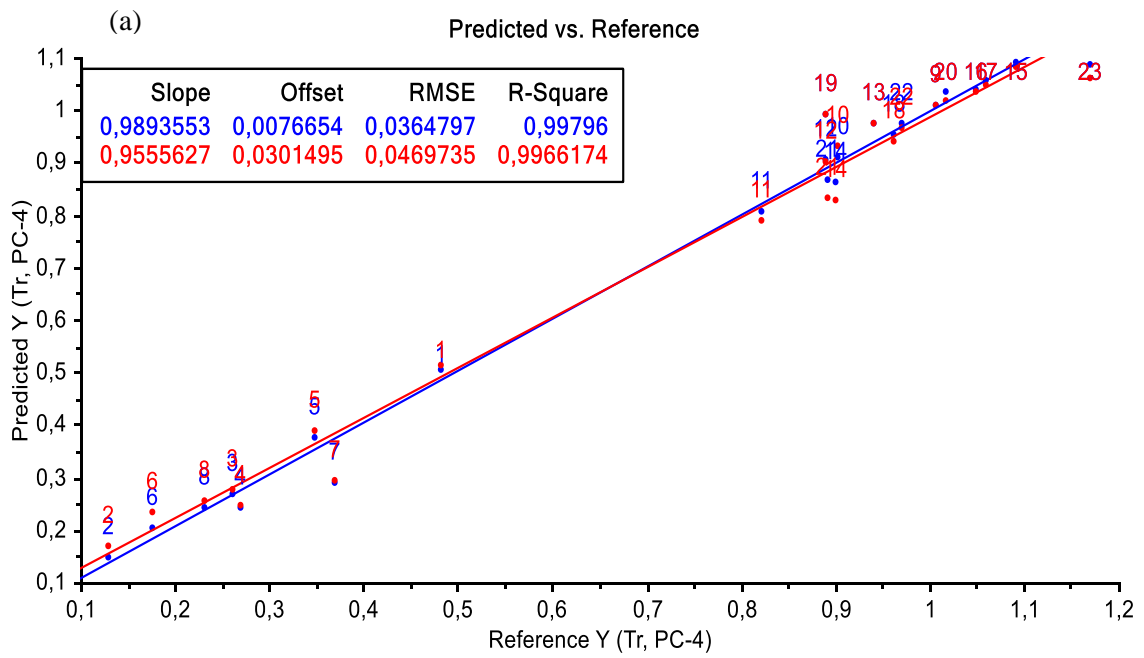
La figure 2 montre qu’il n’y a pas d’échantillons aberrants (outliers) dans l’ensemble de données. Ensuite, les modèles de prédiction (PCR et PLSR) ont été construits avec tous les échantillons.

3.2.2. Modélisation PCR

Le modèle PCR est construit en considérant la gamme de tous les spectres entre $4000-600\text{cm}^{-1}$ avec X comme variable et les variables Y sont associées à la teneur en acides aminés (Threonine, Cysteine et Lysine) dans la pulpe de betterave sucrière.

Le modèle PCR est validé par validation croisée complète. Les paramètres statistiques obtenus RMSEC, RMSECV et R^2 sont résumés sur la figure 3. Le coefficient de détermination (R^2) de l’ordre de 0,99, RMSEC de l’ordre de (0,036: Thréonine, 0,011: Cysteine et 0,008: Lysine) et RMSECV de l’ordre de (0,046: Thréonine, 0,021: Cysteine et 0,010: Lysine), pourraient être considérés comme satisfaisants.

Quatre PC de Threonine et trois PC de Cysteine et Lysine sont nécessaires pour avoir une bonne performance de PCR. Le tableau 1 présente les écarts expliqués des modèles développés.



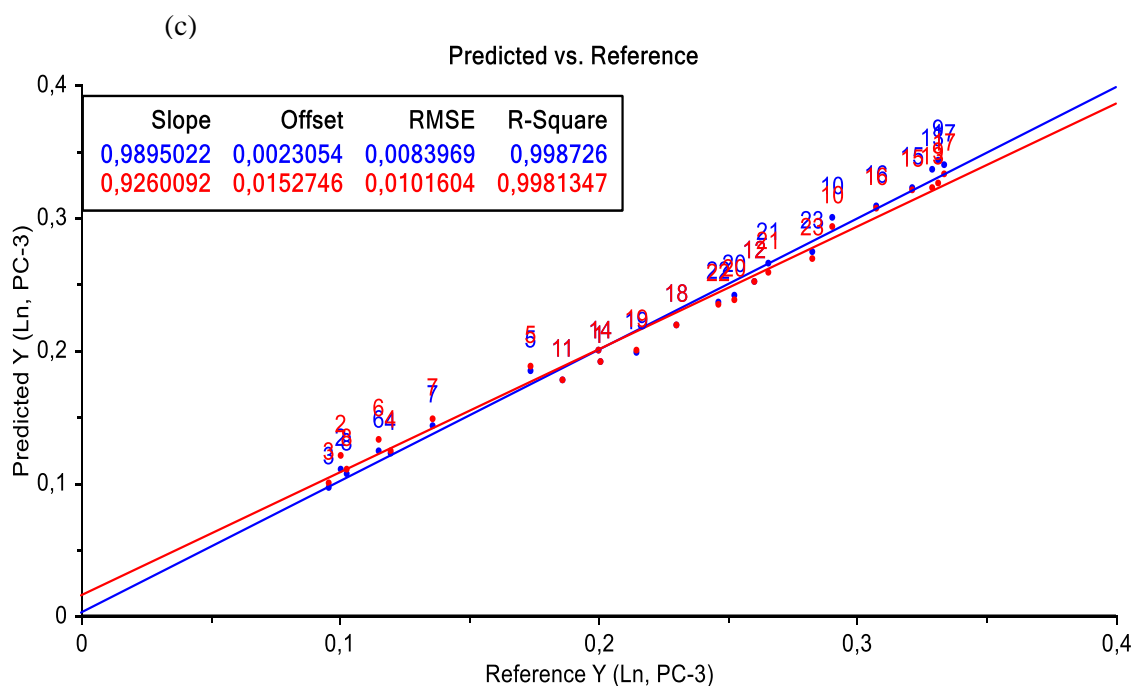


Figure.3. La relation entre la teneur réelle et estimée d'acides aminés dans la pulpe de betterave à sucre, obtenue à partir du modèle de PCR final développé à partir des spectres FT-MIR: (a) Threonine (Tr) ; (b) Cysteine (Cn) ; (c) Lysine (Ln)

Tableau 1. Les écarts expliqués (%) des PCs utilisés dans le modèle PCR.

| | Explained | PC 1 | PC 2 | PC 3 | PC 4 |
|----------------|-------------|-------|-------|-------|-------|
| PCR (a) | Calibration | 80,57 | 80,61 | 95,01 | 99,79 |
| | Validation | 76,18 | 78,69 | 92,66 | 99,66 |
| PCR (b) | Calibration | 81,61 | 96,29 | 99,97 | - |
| | Validation | 79,91 | 95,05 | 99,86 | - |
| PCR (c) | Calibration | 87,17 | 87,69 | 99,87 | - |
| | Validation | 83,58 | 85,91 | 99,81 | - |

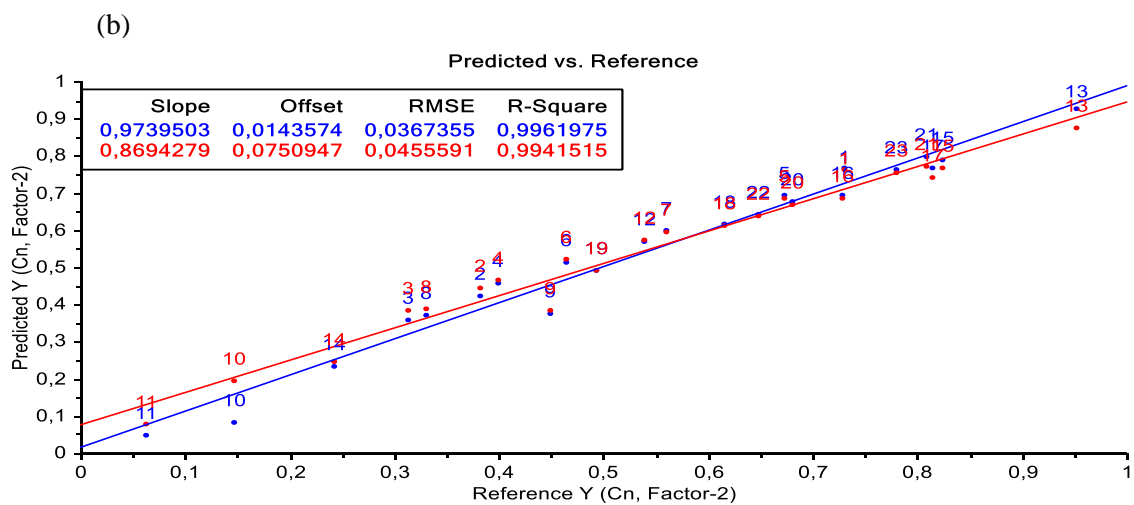
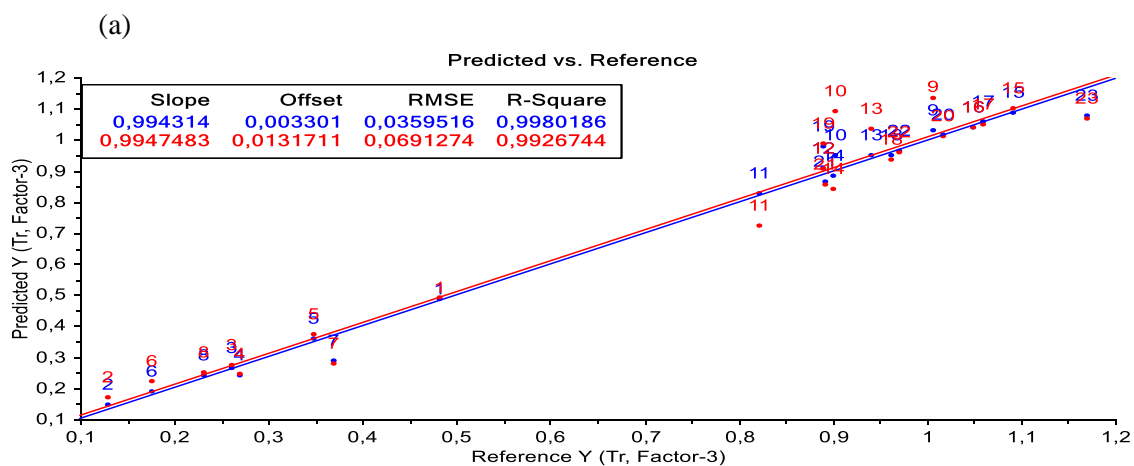
(a) Threonine (Tr) ; (b) Cysteine (Cn) ; (c) Lysine (Ln)

3.3.3. Modélisation PLSR

Le modèle PLS est construit en considérant la gamme de tous les spectres entre $4000-600\text{cm}^{-1}$ avec X comme variable et les variables Y sont associées à la teneur en acides aminés (Thréonine, Cystéine et Lysine) dans la pulpe de betterave à sucre.

Les modèles PLSR sont évalués à l'aide du coefficient de détermination (R^2) de l'étalonnage, de l'erreur quadratique de l'étalonnage (RMSEC) et de la validation croisée (RMSECV).

La performance des modèles PLSR sur l'ensemble de validation indépendant est évaluée à l'aide de R^2 , RMSEP et la déviation de prédiction résiduelle (RPD). Dans ce cas, les critères de classement des valeurs de RPD [22] sont adoptés comme suit: une valeur de RPD inférieure à 1,5 indique que l'étalonnage n'est pas utilisable; Une valeur RPD comprise entre 1,5 et 2,0 indique la possibilité de différencier les valeurs haute et basse; Une valeur RPD comprise entre 2,0 et 2,5 rend possible des prévisions quantitatives approximatives. Pour la valeur RPD entre 2,5 et 3,0 et au-delà de 3,0, la prédiction est classée comme bonne et excellente, respectivement. En général, un bon modèle doit avoir des valeurs élevées de R^2 et de RPD, et de faibles valeurs de RMSEC, RMSECV et RMSEP.



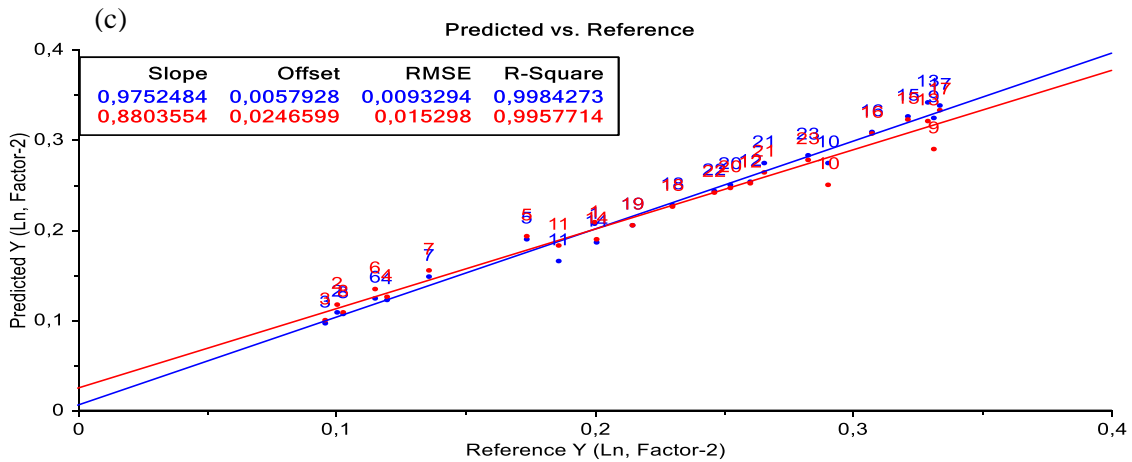


Figure.4. La relation entre la teneur réelle et estimée d'acides aminés dans la pulpe de betterave sucrière, obtenue à partir du modèle final PLSR développé à partir des spectres FT-MIR: (a) Threonine (Tr) ; (b) Cysteine (Cn) ; (c) Lysine (Ln)

Les paramètres statistiques RMSEC, RMSECV et R^2 sont résumés dans la figure 4. Le coefficient de détermination (R^2) de l'ordre de 0,99, le RMSEC de l'ordre de (0,036: Thréonine, 0,011: Cysteine et 0,008: Lysine) et le RMSECV de l'ordre de (0,036: Thréonine, 0,011: Cysteine et 0,008: Lysine) pourraient être considérés comme satisfaisants. Trois VL de Threonine et deux VL de Cysteine et Lysine sont nécessaires pour avoir une bonne performance PLSR. Le tableau 2 montre les écarts expliqués à partir du modèle développé.

Tableau 2. Ecart expliqués (%) des CPs utilisés dans le modèle PLSR .

| | Explained | Factor 1 | Factor 2 | Factor3 |
|-----------------|-------------|----------|----------|---------|
| PLSR (a) | Calibration | 81,61 | 98,40 | 99,80 |
| | Validation | 79,76 | 97,91 | 99,27 |
| PLSR (b) | Calibration | 82,85 | 99,62 | - |
| | Validation | 81,09 | 99,42 | - |
| PLSR (c) | Calibration | 87,80 | 99,84 | - |
| | Validation | 86,53 | 99,58 | - |

(a) Threonine (Tr) ; (b) Cysteine (Cn) ; (c) Lysine (Ln)

3.3.4. Determination of amino acids content in the new samples (External validation)

a. Avec PCR

Les modèles de PCR semblent avoir une excellente aptitude à estimer les acides aminés dans la pulpe de betterave sucrière, sur la base du très haut R^2_v et du faible RMSEV.

Tableau 3. Résultats des prédictions des acides aminés contenus dans la pulpe de betterave avec la spectroscopie FT-MIR couplée à la PCR .

(a) Thréonine (Tr) ; (b) Cystéine (Cn) ; (c) Lysine (Ln)

(a)

| | Predicted | Deviation | Reference |
|-------------|-----------|-----------|-----------|
| VE3 | 0,8075 | 0,0431 | 0,8252 |
| VE5 | 0,9731 | 0,0571 | 0,9200 |
| VA9 | 0,2438 | 0,0314 | 0,2100 |
| VA7 | 0,2015 | 0,0422 | 0,2200 |
| VA2 | 0,3104 | 0,0439 | 0,3000 |
| VP2 | 0,8789 | 0,0704 | 0,7300 |
| VP10 | 0,9545 | 0,0362 | 0,8500 |

(b)

| | Predicted | Deviation | Reference |
|-------------|-----------|-----------|-----------|
| VE3 | 0,0610 | 0,0208 | 0,5000 |
| VE5 | 0,9548 | 0,0241 | 0,5900 |
| VA9 | 0,3281 | 0,0131 | 0,2200 |
| VA7 | 0,4637 | 0,0191 | 0,3200 |
| VA2 | 0,6512 | 0,0223 | 0,2400 |
| VP2 | 0,7616 | 0,0260 | 0,5600 |
| VP10 | 0,6094 | 0,0205 | 0,5600 |

(c)

| | Predicted | Deviation | Reference |
|-------------|-----------|-----------|-----------|
| VE3 | 0,1769 | 0,097 | 0,1900 |
| VE5 | 0,3367 | 0,0112 | 0,2100 |
| VA9 | 0,1070 | 0,0061 | 0,0300 |
| VA7 | 0,1237 | 0,0089 | 0,0600 |
| VA2 | 0,1725 | 0,0103 | 0,1200 |
| VP2 | 0,2904 | 0,0121 | 0,2600 |
| VP10 | 0,9194 | 0,0095 | 0,1700 |

b. Avec la PLSR

Selon le tableau 4, il n'y a pas de différence significative entre les méthodes de référence et la méthode proposée. Les modèles PLSR pour le traitement des données FT-IR semblent donc appropriés.

Tableau 4. Résultats de prédiction des acides aminés contenus dans la pulpe de betterave avec la spectroscopie FT-MIR couplée à la PLSR.

(a) Thréonine (Tr) ; (b) Cystéine (Cn) ; (c) Lysine (Ln)

| | Predicted | Deviation | Reference |
|-------------|-----------|-----------|-----------|
| VE3 | 0,8290 | 0,0969 | 0,8252 |
| VE5 | 0,9512 | 0,0699 | 0,9200 |
| VA9 | 0,2436 | 0,0370 | 0,2100 |
| VA7 | 0,1911 | 0,0473 | 0,2200 |
| VA2 | 0,2974 | 0,0633 | 0,3000 |
| VP2 | 0,8755 | 0,0679 | 0,7300 |
| VP10 | 0,9482 | 0,0520 | 0,8500 |

| | Predicted | Deviation | Reference |
|-------------|-----------|-----------|-----------|
| VE3 | 0,0485 | 0,0378 | 0,5000 |
| VE5 | 0,9246 | 0,0458 | 0,5900 |
| VA9 | 0,3701 | 0,0395 | 0,2200 |
| VA7 | 0,5112 | 0,0480 | 0,3200 |
| VA2 | 0,6642 | 0,0379 | 0,2400 |
| VP2 | 0,7413 | 0,0444 | 0,5600 |
| VP10 | 0,6164 | 0,0338 | 0,5600 |

(c)

| | Predicted | Deviation | Reference |
|-------------|-----------|-----------|-----------|
| VE3 | 0,1651 | 0,0226 | 0,1900 |
| VE5 | 0,3406 | 0,0156 | 0,2100 |
| VA9 | 0,1063 | 0,0081 | 0,0300 |
| VA7 | 0,1250 | 0,0120 | 0,0600 |
| VA2 | 0,1769 | 0,0164 | 0,1200 |
| VP2 | 0,2917 | 0,0140 | 0,2600 |
| VP10 | 0,2271 | 0,0113 | 0,1700 |

Les figures de mérite des graphiques d'étalonnage sont résumées dans le tableau 5. Comme on peut le voir, les modèles PLSR offrent de bonnes valeurs pour les différents paramètres multivariés.

Tableau 5. Paramètres statistiques réalisés par validation externe sur PLSR

| Validation externe | LVs | Rp ² | RMSEP (g/Kg) | Biais | SEP (g/Kg) | RE % | RPD | LD (g/Kg) |
|--------------------|-----|-----------------|--------------|----------|------------|------|--------|-----------|
| (a) | 3 | 0,99 | 0,061 | - 0,0022 | 0,0658 | 1,13 | 4,9946 | 0,183 |
| (b) | 3 | 0,99 | 0,0374 | 0,0007 | 0,0404 | 5,53 | 6,4793 | 0,1122 |
| (c) | 3 | 0,98 | 0,0225 | - 0,0012 | 0,0243 | 1,08 | 3,2964 | 0,0675 |

4. Conclusion

A travers ce travail, une nouvelle méthode a été développée pour l'analyse quantitative des acides aminés de la pulpe de betterave sucrière, une méthode impliquant à la fois la spectroscopie moyen infrarouge à transformée de Fourier (ATR-FTIR) associée aux outils chimiométriques. Tous les échantillons de pulpe ont été mesurés à l'aide de la spectroscopie ATR-FTIR et leur composition d'acides aminés (Thréonine, Cystéine et Lysine) a été déterminée. Les données spectrales ont d'abord été analysées par analyse en composantes principales. La PLS et la PCR ont été optimisées pour la construction des modèles d'étalonnage pour les dérivés secondaires des spectres. D'excellentes corrélations entre l'analyse ATR-FTIR et la teneur en acides aminés ont été obtenues ($R^2_v = 0,99$). Les valeurs obtenues pour les erreurs moyennes de prédiction (RMSEP) étaient: Thréonine ($<0,07$), Cysteine ($<0,05$) et Lysine ($<0,02$). La limite de détection LD pour le modèle PLSR est de l'ordre de 0,0675 à 0,183 g / Kg, et les erreurs relatives de prédiction (RE) se sont révélées faibles de l'ordre de 1,08 à 5,53%. Ce résultat montre que la spectroscopie ATR-FTIR combinée à la chimiométrie est une technique prometteuse, fournissant un outil de quantification fiable et rapide qui n'exige pas d'analyse chimique pour déterminer la teneur en acides aminés dans la pulpe de betterave à sucre.

5. Références :

- [1] Dulphy, J.P., Bony J., Andrieu J.-P.. Utilisation des pulpes de betteraves surpressées par les vaches laitières. Bulletin technique CRZV de Theix- INRA, 34 ; 1978. p15-21.
- [2] Heuchel, V. & Besancenot J.-M.. Intérêt de l'association d'un ensilage de pulpes surpressées de betteraves sucrières à un ensilage de maïs dans un régime pour les vaches laitières. Incidence sur le taux protéique du lait, sur la quantité de lait produite et sur la qualité butyrique du lait. Maison de l'élevage d'Ile de France, CEZ de Rambouillet, ITEB, USICA ; 1990.p 37.
- [3] Morel d'Arleux, F., Besancenot, J.-M., Galloo, J.-B., Le Liboux, P.. Utilisation de pulpes de betteraves surpressées par les vaches laitières en complément d'ensilage de maïs. Institut de l'élevage, Maison de l'élevage de l'Ile de France, C.E.Z. de Rambouillet ; 1993.
- [4] Karoui, R., Bosset, J. O., Mazerolles, G., Kulmyrzaev, A., & Dufour, E.. Monitoring the geographic origin of both experimental French Jura hard cheeses and Swiss Gruyère and

- l'Etivaz PDO cheeses using mid-infrared and fluorescence spectroscopies. *International Dairy Journal*, 15; 2005. p 275-286.
- [5] Hirri, A., De Luca, M., Ioele, G., Balouki, A., Bassbasi, M., Kzaiber, F., Oussama, A., Ragno, G.. Chemometric classification of citrus juices of Moroccan cultivars by infrared spectroscopy. *Czech J. Food Sci.*, 33; 2015.p 137–142
- [6] De Luca, M., Terouzi, W., Kzaiber, F., Ioele, G., Oussama, A. and Ragno, G.. Classification of Moroccan olive cultivars by linear discriminant analysis applied to ATR FTIR spectra of endocarps. *International Journal of Food Science & Technology*. Volume 47, Issue 6; 2012 .p 1286-1292.
- [7] Rearick, S.. *Indian Sugar*, 40; 1990. p 403.
- [8] Cadet, F.. Analyse du jus de canne à sucre par spectroscopie moyen infrarouge. In: *La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques*, D. Bertrand, E. Dufour, Tec&Doc Lavoisier, Paris ;2000. p 397.
- [9] Moravcov, J., Vanclov, Z., et Novotn, M.. *Potrav Vedy*, 11 ; 1993.p 493.
- [10] Lookhart, G.L & Jones, B.L.. High Performance Liquid Chromatography Analysis of Amino Acids at the Picomole Level. *Cereal Chemistry*, 62, No2; 1985.
- [11] Jolliffe, Ian T.. "A note on the Use of Principal Components in Regression". *Journal of the Royal Statistical Society, Series C* 31 (3); 1982. p 300-303
- [12] Purcell, D. E., Leonard, G. J., O'Shea, M. G., & Kokot, S.. A chemometrics investigation of sugarcane plant properties based on the molecular composition of epicuticular wax. *Chemometrics and intelligent Laboratory Systems*, 76; 2005. p 135-147
- [13] Nawi, N.M. et al. .Prediction and classification of sugar content of sugarcane based on skin scanning using visible and shortwave near infrared. *Biosystems engineering*; 2013. p 154-16
- [14] Venyaminov, SY. & Kalnin, NN. Quantitative IR spectrophotometry of peptides compounds in water solutions. I. Spectral parameters of amino acids residue absorption band. *Biopolymers*, 30; 1990. p 1243-1257.
- [15] Krimm, S. & Bandekar, J. Vibrational spectroscopy and conformation of peptides, polypeptides and proteins. *Adv Prot Chem*,38; 1986. p 181-364.
- [16] Goormaghtigh, E., Cabiaux, V., Ruyschaert, JM. Determination of soluble and membrane protein structure by Fourier transform infrared spectroscopy. I. Assignments and model compounds. In : Hilderson HJ et Ralston GB. *Subcellular Bio-chemistry*, volume 23 : *Physicochemical Methods in the study of Biomembranes*. Plenum Press, New York, 329-362.

- [17] Iñón, F. A., Garrigues, J. M., Garrigues, S., Molina, A., and de la Guardia, M. Selection of calibration set samples in determination of olive oil acidity by partial least squares attenuated total reflectance-Fourier transform infrared spectroscopy. *Analytica Chimica Acta*, 489; 2003. p 59-75.
- [18] Pirie, A.; Singh, B. & Islam, K.; Ultra-violet, visible, near-infrared, and mid-infrared diffuse reflectance spectroscopic techniques to predict several soil properties. *Aust J Soil Res*, 43; 2005. p 713-721.
- [19] Che Man, Y. B., Syahariza, Z. A., Mirghani, M. E. S., Jinap, S., & Bakar, J.. Analysis of potential lard adulteration in chocolate and chocolate products using Fourier transform infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, 90; 2005. p 815–819.
- [20] Smith, B. C. *Quantitative spectroscopy: Theory and practice*. Amsterdam: Academic Press ; 2002. p 125-179.
- [21] Esbensen KH. *Multivariate data analysis-in practice. An introduction to multivariate data analysis and experimental desing*.Oslo: CAMO; 2000.
- [22] Mouazen, A.M., Baerdemaeker, J.D. and Ramon, H.. Effect of wavelength range on the measurement accuracy of some selected soil constituents using visual-near infrared spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 14, (3); 2006. p 189-99.

II. Utilisation de l'ATR-FTIR couplée aux méthodes chimométriques pour prédire la teneur en matière grasse des pulpes de betterave sucrière.

1. Introduction:

La pulpe de la betterave à sucre est considérée par la grande majorité des éleveurs comme un très bon aliment en raison de son grand intérêt alimentaire, de sa bonne conservation par ensilage et de son appétence. Etant destinée à l'alimentation des animaux, il est important de bien connaître sa valeur nutritive pour assurer une ration équilibrée en énergie, en protéines et en minéraux.

Les graisses représentent un groupe hétérogène de composés dont les structures chimiques et les propriétés physico-chimiques sont très différentes, contrairement à d'autres familles de composés biogènes tels que les protéines ou les sucres, relativement homogènes d'un point de vue chimique. Ils sont utilisés par les organismes comme source ou réserve de carbone et d'énergie ou comme composant essentiel des membranes cellulaires [1]. Ils peuvent également jouer un rôle d'isolant chez les animaux supérieurs ou d'isolant mécanique dans les cellules.

Les différentes classes de lipides ont des origines et des fonctions différentes dans les organismes vivants. La teneur en matières grasses ainsi que les proportions d'acides gras libérés peuvent jouer un rôle sur les caractéristiques chimiques, organoleptiques et diététiques des aliments d'origine animale [2,3]. Les graisses (MG) sont utilisées dans les rations pour améliorer la production laitière, prévenir l'inversion de la teneur en matières grasses et des protéines (TP) et modifier le profil des acides gras (AG) du lait [4,5].

La graisse végétale, constituée principalement de triglycérides simples et mélangés, est extraite à partir des tissus par des solvants appropriés. On opère le plus généralement par extraction à chaud au Soxhlet [6]. Mais d'autres méthodes existent également, telles que: l'hydrolyse acide, l'hydrolyse et le CG capillaire [7], l'extraction par mélange de plusieurs solvants [8] et l'hydrolyse alcaline [9].

La méthode de Soxhlet est une technique classique pour l'extraction solide-liquide. L'échantillon entre rapidement en contact avec une portion pure de solvant, ce qui aide à

déplacer l'équilibre du transfert vers le solvant. De plus, il ne nécessite pas de filtration après l'extraction et peut être utilisée sur toutes les matrices végétales.

Mais toutefois cette méthode présente des inconvénients, le plus flagrant est l'importante durée d'extraction : étant donné que la taille de la cartouche est limitée, il peut être nécessaire de réaliser plusieurs extractions successives avec plusieurs cartouches ce qui peut prendre un temps considérable, aussi la grande quantité de solvant consommée et enfin le fait que l'extraction à chaud peut dégrader certaines substances chimiques, ce qui limite sa rentabilité économique et la rend peu écologique.

La valeur alimentaire de la pulpe de betterave repose sur la connaissance de sa composition chimique par des méthodes scientifiques fondées. Cependant, il existe maintenant des méthodes analytiques appelées techniques spectroscopiques qui permettent de prédire les diverses composantes du fourrage sans avoir recours à l'analyse chimique et d'ailleurs diverses études ont prouvé l'efficacité de ces techniques et ont pu développer les équations pour prédire les teneurs en fibres [10], les sucres [11], la matière grasse [12], les protéines brutes [13].

Nous utiliserons dans ce travail la méthode de Soxhlet dans sa forme classique, utilisée habituellement pour ce genre de travail et permise dans les normes officielles d'analyse de la matière grasse, et en même temps nous l'accouplerons avec les techniques spectroscopiques dans le moyen Infrarouge et avec les outils chimiométriques pour pouvoir prédire le contenu en matière grasse de pulpe de betterave.

2. Matériel et méthodes:

2.1. Echantillonnage:

Dans ce travail, 57 échantillons de pulpe de betterave sucrière ont été quantitativement étudiés, parmi lesquels 42 échantillons choisis au hasard ont servi pour développer les modèles d'étalonnage de la régression de la composante principale (PCR) et de la régression des moindres carrés partiels (PLS). Les 15 échantillons restants ont été utilisés pour tester les modèles préétablis.

2.2. Méthode analytique:

2.2.1. Détermination de la teneur en matière grasse :

La matière grasse ou encore les lipides sont insolubles dans l'eau et très solubles dans les solvants organiques, tel l'éther éthylique et l'Hexane. La plupart des méthodes de dosage des lipides exploitent ces propriétés physiques pour extraire les lipides des aliments dans le but de mesurer leur concentration. La méthode Soxhlet est la méthode de référence utilisée pour la détermination de la matière grasse dans les aliments solides déshydratés.

C'est une méthode gravimétrique, puisqu'on pèse l'échantillon au début et la matière grasse à la fin de l'extraction [14].

a. La méthode Soxhlet :

Le dosage de la matière grasse a été réalisé selon la méthode AOAC [7].

Les pulpes préalablement séchées sont pesées et placées dans un broyeur pour être écrasées. L'échantillon broyé est conditionné dans une cartouche déposée dans le Soxhlet avec 250 ml de solvant pour chaque extraction. 50 ml de solvant sont fournis directement sur la matière broyée et les 200 ml restants sont versés dans le flacon dans lequel sont déposés d'abord quelques grains de pierre ponce. Tout est bouilli dans le thermostat. Tout est prêt pour l'extraction. Le solvant organique utilisé est l'hexane pur. Le solvant contenant la matière grasse retourne dans le ballon par déversements successifs causés par un effet de siphon dans le coude latéral. Comme seul le solvant peut s'évaporer de nouveau, la matière grasse s'accumule dans le ballon jusqu'à ce que l'extraction soit complète. Une fois extraite, l'hexane est évaporé, généralement sur un évaporateur rotatif et la matière grasse est pesée.

b. Expression des résultats :

Le taux de la matière grasse ou lipides est calculé par la formule suivante :

$$\text{MG (\%)} = \frac{(M2 - M1)}{ME} * 100$$

Dont :

M1 : masse du ballon vide.

M2 : masse du ballon contenant l'huile.

ME : masse de la prise d'essai.

2.2.2. Analyse par réflectance en moyen infrarouge MIR:

Les spectres FTIR sont obtenus en utilisant un spectrophotomètre FTIR Vector 22 Bruker équipé d'un accessoire de réflectance totale atténué (ATR single-reflexion, diamant, angle d'incidence 45°), détecteur DTGS, source Global (MIR) et un séparateur KBr de germanium, avec une résolution de 4 Cm-1 à 50 balayages. Les spectres sont balayés dans le mode d'absorbance de 4000 à 600 cm-1, et les données sont traitées avec le logiciel OPUS. Les analyses sont effectuées à température ambiante. La pulpe a été déposée directement entre deux plaques KBr bien polies. Pour les mesures ATR-FTIR, il était nécessaire de maintenir une pression contrôlée et d'assurer un bon contact entre l'échantillon et la surface du diamant. L'air a été pris comme référence pour le spectre de fond avant chaque échantillon. Entre les spectres, la plaque ATR a été nettoyée in situ par frottement avec une solution éthanolique, ce qui a permis de sécher l'ATR. La propreté a été vérifiée en recueillant un spectre de fond et en comparant le spectre de fond précédent.

2.2.3. Méthodes chimiométriques appliquées :

d. Analyse en composantes principales (ACP)

L'ACP est une procédure mathématique de réduction des caractéristiques qui peut être utile pour fournir une base pour les autres analyses de régression linéaire multivariée [15]. Dans l'ACP, le nombre de composantes dans la base des données est alors réduit à un groupe plus petit de composants principaux, appelé ACP [16,17].

e. La régression des composantes principales (PCR)

Cette technique permet de réduire les milliers de variables spectrales en certains éléments principaux orthogonaux, ce qui supprime la redondance qui caractérise l'information spectrale [18,19]. Ensuite, ces composantes principales font l'objet d'une analyse corrélative avec des propriétés analytiques (concentration mesurée) pour construire les modèles d'étalonnage.

f. Régressions des moindres carrés partiels (PLSR)

La régression des moindres carrés partiels PLS est une méthode de construction de modèles prédictifs lorsque les facteurs sont nombreux et hautement colinéaires. Il s'agit d'une méthode multivariée d'analyse factorielle bien connue appliquée à des fins prédictives [20]. La PLS est une méthode de décomposition supervisée dans laquelle un bloc Y, contenant typiquement des données d'analyse de référence, est utilisé pour trouver des prévisions de prédiction appropriées. En décomposant les ensembles de données multivariées (X bloc) en composantes principales..

La première étape consiste à recueillir un ensemble d'échantillons de référence pour réaliser un modèle d'étalonnage. La deuxième étape consiste à tester le modèle en utilisant un ensemble de prédiction, c'est-à-dire à comparer les valeurs obtenues par le modèle aux valeurs obtenues par la méthode de référence.

g. Logiciel:

L'analyse chimiométrique a été réalisée par les techniques multivariées suivantes: analyse des composantes principales (ACP), moindres carrés partiels (PLS) et régression de la composante principale (PCR) en utilisant The Unscrambler X version 10.1 (CAMO, Oslo, Norvège).

3. Résultats et discussion :

3.1. Acquisition des spectres MIR :

La figure 1 montre les spectres ATR-FTIR des échantillons étudiés dans le modèle d'étalonnage. Des spectres typiques sont donnés dans la figure 1. Des évaluations de bandes ont été réalisées selon la littérature [21,22,23].

Les spectres obtenus sont caractérisés par de nombreux pics caractéristiques de l'interaction du rayonnement infrarouge avec les différents constituants de la pulpe de betterave sucrière.

Nous avons observé des bandes d'absorption caractéristiques de vibrations asymétriques et symétriques de la liaison C-H aliphatique [24]. Les bandes significatives d'eau sont clairement visibles dans les spectres de pulpe à 3400 cm^{-1} . Dans la région $1800\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$, il y a une bande à environ 1715 cm^{-1} qui est associée à l'étirement C = O des protéines. D'autre part, la bande d'étirement C = O de la courbure amide I et N-H de l'amide II sont toutes deux situées dans cette région spectrale. Des bandes typiques de matériau cellulosique dans la région $900\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$ [25]. Cependant, la zone située entre $2400\text{ - }2300\text{ cm}^{-1}$ est due au CO_2 .

Les spectres obtenus sont prospectés par une inspection visuelle. Ensuite, les méthodes d'étalonnage multivariées semblent être idéales pour fournir une solution efficace, car elles permettent d'extraire des vagues informations analytiques à partir du spectre complet ou de ces grandes régions.

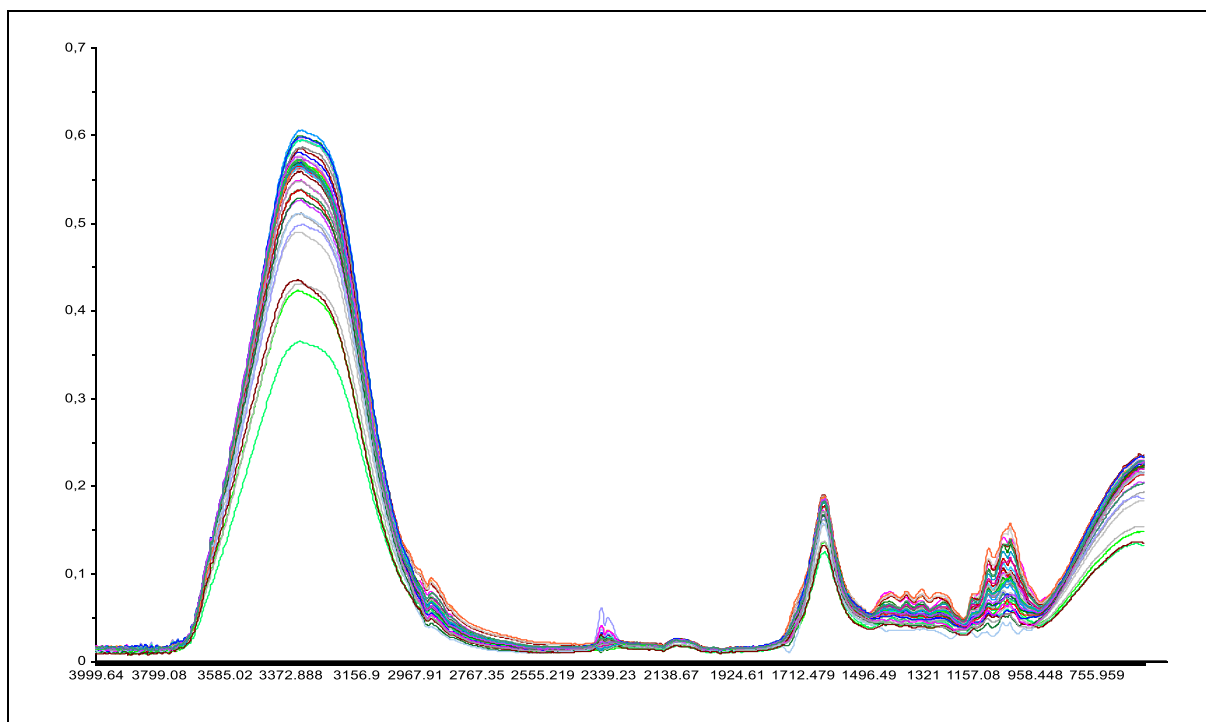


Figure1 : Les spectres FT-MIR des échantillons de pulpes de betterave sucrière.

La prospection visuelle nous montre clairement que la différence entre les spectres est très petite ce qui rend difficile l'extraction de l'information à partir des pics. Puisque les spectres FTIR originaires ne fournissaient pas suffisamment d'informations pour construire des modèles de prédiction fiables, un traitement préliminaire des données semblait nécessaire pour obtenir de meilleures informations analytiques. En même temps, un prétraitement des données a été jugé utile pour minimiser les problèmes instrumentaux en tant que fluctuation de base ou bruit. Différentes élaborations (détails) mathématiques ont été explorées pour traiter les données spectrales. L'élaboration des dérivées a montré le résultat le plus intéressant. En particulier, un enrichissement significatif de la variance des données a été obtenu lorsque les données de départ ont été transformées en signaux dérivés au moyen de l'algorithme Gap dérivative. Différents paramètres mathématiques dans la procédure dérivée ont été testés et les résultats ont été optimisés lorsque les paramètres suivants ont été sélectionnés: 2ème ordre, taille de l'intervalle 13.

3.2. Modélisation ACP

Des études antérieures indiquent que l'ACP est un outil utile pour l'identification des aberrations spectrales dans les spectres d'absorbance des échantillons et peut être utilisée pour

améliorer la qualité du modèle de prédiction [26]. Selon la figure 2 on note qu'il n'y a pas de «outliers : échantillons aberrants» dans l'ensemble de données.

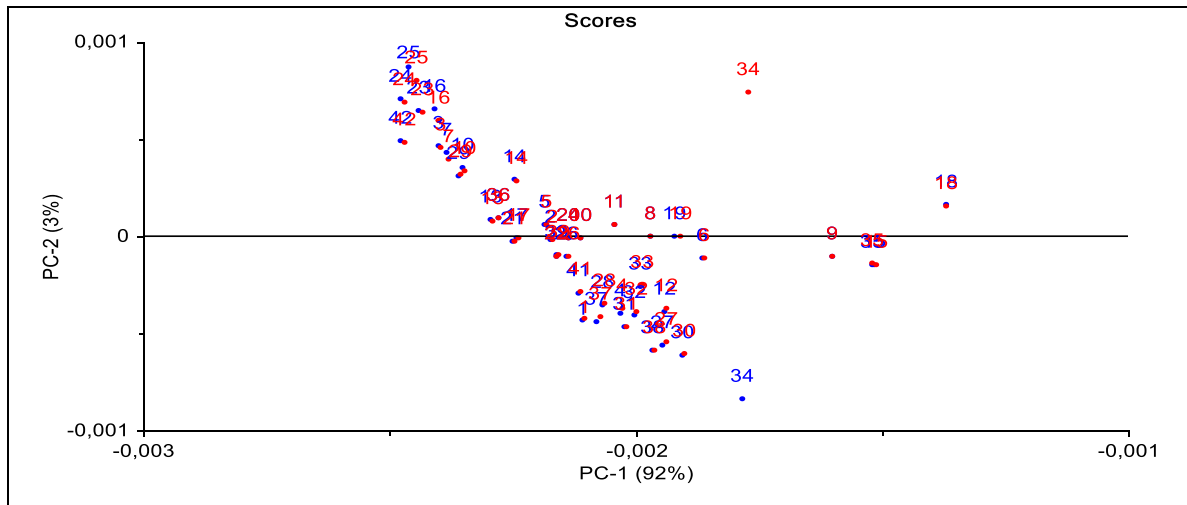


Figure 2 : Graphique des Scores de l'analyse ACP dans le modèle d'étalonnage.
PC-1 Composante principale 1, PC-2 Composante principale 2.

3.3. Modélisation PCR

Le modèle PCR est construit en considérant la gamme de tous les spectres entre 4000 et 600 cm^{-1} avec X comme variable et les variables Y sont associées à la teneur en matière grasse (MG) dans la pulpe de betterave à sucre.

Le modèle PCR est validé par validation croisée complète. Les paramètres statistiques RMSEC, RMSEC_v et R^2 sont résumés dans la figure 3.

Le coefficient de détermination (R^2) de l'ordre de 0.989, le RMSEC de l'ordre de 0.065 et le RMSEC_v de l'ordre de 0,075 peuvent être considérés comme satisfaisants.

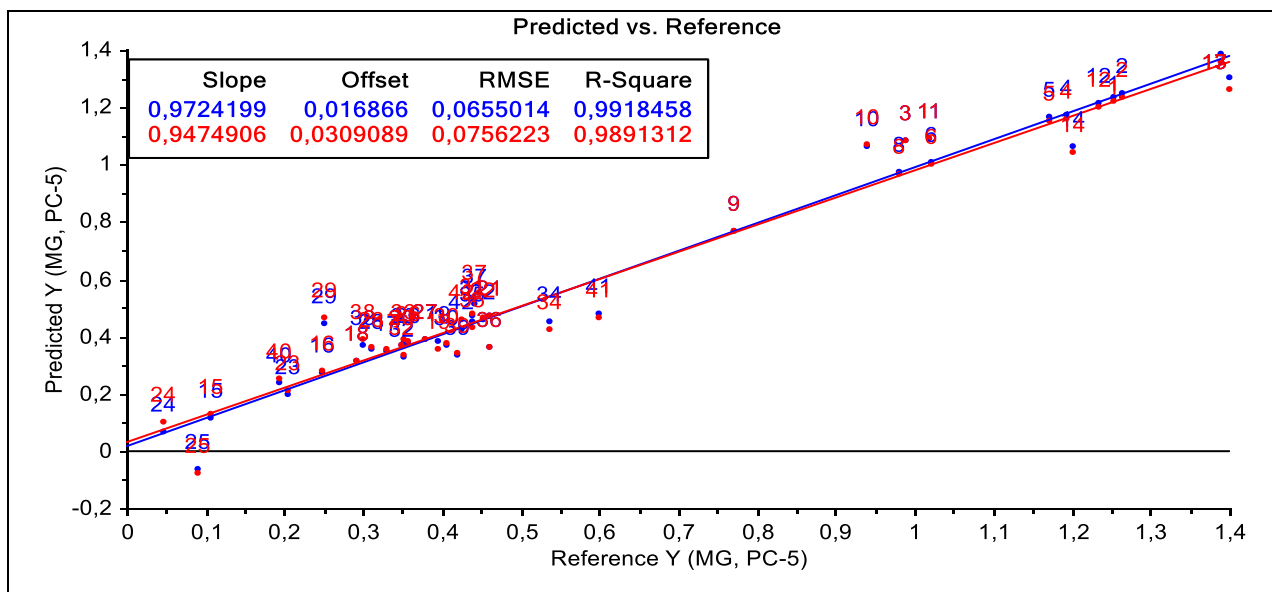


Figure 3: La relation entre la teneur réelle et estimée de la matière grasse (MG) dans la pulpe de betterave sucrière, obtenue à partir du modèle de PCR final développé à partir des spectres FT-MIR.

Cinq composantes principales sont nécessaires pour avoir une bonne performance de PCR. Le tableau 1 présente les variances (les écarts) expliquées du modèle développé.

Table 1. Variances expliquées en (%) des composantes principales utilisées dans le modèle de PCR.

| | Explained | PC1 | PC 2 | PC 3 | PC 4 | PC 5 |
|------------|------------------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| PCR | Calibration | 69,54 | 70,51 | 90,57 | 97,09 | 99,18 |
| | Validation | 65,51 | 67,91 | 89,94 | 95,72 | 98,91 |

3.4. Modélisation PLSR

Le modèle PLS est construit en considérant la gamme de tous les spectres $4000-600\text{ cm}^{-1}$ avec X comme variable et les variables Y sont associées à la teneur en matières grasses dans la pulpe de betterave à sucre.

Le modèle PLSR est évalué à l'aide du coefficient de détermination (R^2) de l'étalonnage, de l'erreur de calibration (RMSEC) et de la validation croisée (RMSECV). La performance des modèles PLSR sur l'ensemble de validation externe est évaluée à l'aide de R^2 , RMSEP et la déviation de prédiction résiduelle (RPD). Ici, les critères de classement des valeurs de RPD [27] sont adoptés comme suit: une valeur RPD inférieure à 1,5 indique que l'étalonnage n'est pas utilisable; Une valeur RPD comprise entre 1,5 et 2,0 indique la possibilité de différencier

les valeurs haute et basse; Une valeur RPD comprise entre 2,0 et 2,5 rend possible des prévisions quantitatives approximatives. Pour la valeur RPD entre 2,5 et 3,0 et au-delà de 3,0, la prédiction est classée comme bonne et excellente, respectivement. En général, un bon modèle doit avoir des valeurs élevées de R^2 et de RPD, et de faibles valeurs de RMSEC, RMSECV et RMSEP.

Le modèle résultant semble pouvoir déterminer la teneur en matière grasse dans les échantillons de pulpe comme le montre la figure 4.

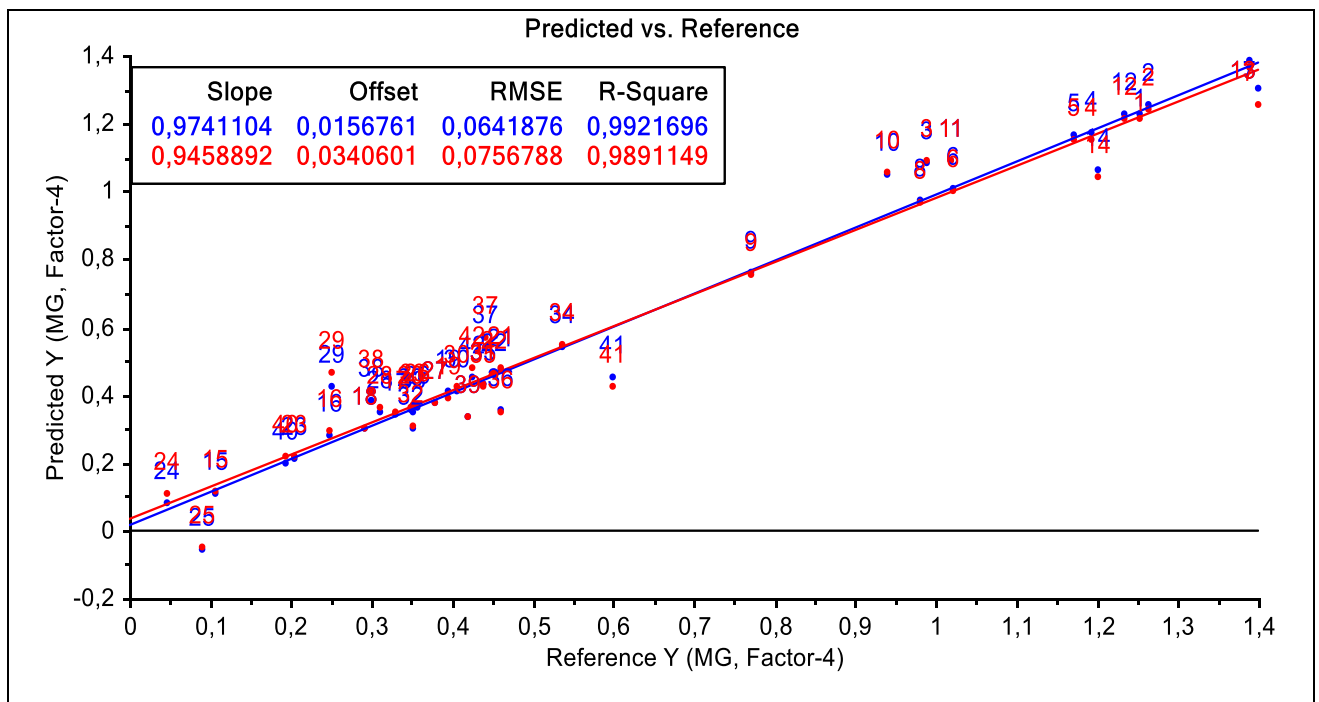


Figure 4 : La relation entre la teneur réelle et estimée de la matière grasse dans la pulpe de betterave, obtenue à partir du modèle final PLSR développé à partir des spectres FT-MIR.

Le modèle PLS est validé par validation croisée complète. Les paramètres statistiques obtenus RMSEC, RMSECV et R^2 sont résumés sur la figure 4. Le coefficient de détermination (R^2) de l'ordre de 0,989, le RMSEC de l'ordre de 0,064 et le RMSECV de l'ordre de 0,075 pourraient être considérés comme satisfaisants.

Quatre variables latentes (VLs) sont nécessaires pour avoir une bonne performance PLS. Le tableau 2 présente les variances expliquées du modèle développé.

Tableau 2. Variances expliquées en (%) des composantes principales (PCs) utilisées dans le modèle PLS.

| | Explained | Factor 1 (LV1) | Factor 2 (LV2) | Factor 3 (LV3) | Factor 4 (LV4) |
|-------------|------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| PLSR | Calibration | 70,57 | 96,94 | 98,58 | 99,22 |
| | Validation | 68,88 | 96,05 | 97,90 | 98,91 |

3.5. Détermination de la matière grasse dans les nouveaux échantillons (validation externe)

3.5.1. Avec PCR

PCR semblait avoir une excellente aptitude à estimer la teneur en matières grasses dans la pulpe de betterave à sucre, sur la base du très haut R^2_v et de faibles résultats RMSEV.

Tableau 3: Résultats de prédiction de la matière grasse dans la pulpe de betterave sucrière avec la spectroscopie FT-MIR couplée à la PCR.

| | Predicted | Deviation | Reference |
|-------------|------------------|------------------|------------------|
| VA2 | 1,0910 | 0,0876 | 0,9500 |
| VA19 | 0,7706 | 0,0557 | 1,0200 |
| VE1 | 0,1184 | 0,0670 | 0,1000 |
| VP16 | 0,4531 | 0,0871 | 0,5000 |
| VA10 | 1,2933 | 0,0758 | 1,02000 |
| VA8 | 1,1395 | 0,0639 | 1,5300 |
| VE10 | 0,0266 | 0,1579 | 0,0700 |
| VP11 | 0,4057 | 0,0619 | 0,2400 |
| VP6 | 0,3719 | 0,0620 | 0,4600 |
| VE9 | 0,4057 | 0,0619 | 0,2400 |
| VP10 | 0,3719 | 0,0620 | 0,4600 |
| VE19 | 0,0649 | 0,0678 | 0,1000 |
| VE16 | 0,4719 | 0,0634 | 0,3100 |
| VA16 | 1,0091 | 0,0546 | 1,2000 |
| VP7 | 0,4466 | 0,0664 | 0,2600 |

3.5.2. Avec PLSR

Selon le tableau 4, il n'y a pas de différence significative entre les méthodes de référence et la méthode proposée. Le modèle PLS pour le traitement des données FT-IR semble donc approprié.

Table 4: Résultats de prédiction de la teneur en matière grasse des pulpes de betterave avec la spectroscopie FT-MIR couplée à la PLSR.

| | Predicted | Deviation | Reference |
|-------------|------------------|------------------|------------------|
| VA2 | 1,0984 | 0,0722 | 0,9500 |
| VA19 | 0,7617 | 0,0476 | 1,0200 |
| VE1 | 0,1109 | 0,0556 | 0,1000 |
| VP16 | 0,4348 | 0,0841 | 0,5000 |
| VA10 | 1,2997 | 0,0629 | 1,02000 |
| VA8 | 1,1421 | 0,0534 | 1,5300 |
| VE10 | 0,0440 | 0,1306 | 0,0700 |
| VP11 | 0,3758 | 0,0756 | 0,2400 |
| VP6 | 0,4098 | 0,0880 | 0,4600 |
| VE9 | 0,3758 | 0,0756 | 0,2400 |
| VP10 | 0,4098 | 0,0880 | 0,4600 |
| VE19 | 0,0835 | 0,0723 | 0,1000 |
| VE16 | 0,4722 | 0,0533 | 0,3100 |
| VA16 | 1,0106 | 0,0458 | 1,2000 |
| VP7 | 0,4276 | 0,0649 | 0,2600 |

Les figures de mérite des graphiques d'étalonnage sont résumées dans le tableau 5. Comme on peut le voir, le modèle PLSR nous offert de bonnes valeurs pour les différents paramètres multivariés.

Tableau 5. Paramètres statistiques effectuées par validation externe sur la PLSR.

| Validation externe | LVs | R²_p | RMSEP | Biais | SEP | RPD | LOD% |
|---------------------------|------------|----------------------------------|--------------|--------------|------------|------------|-------------|
| | 3 | 0,97 | 0,1338 | - 0,0079 | 0,1383 | 4,2265 | 0,40 |

4. Conclusion

Dans ce travail, on a pu proposer une méthode quantitative pour l'analyse de la matière grasse présente dans la pulpe de betterave à sucre par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (ATR-FTIR) couplée à la méthode chimiométrique (PCR) et Partial Least Squares (PLS). Les spectres de 57 échantillons ont été d'abord analysés par (ACP) analyse des composantes principales, puis par (PCR) régression de la composante principale et par la régression des moindres carrés partiels (PLS), les résultats ont été utilisés pour établir des modèles d'étalonnage. Les modèles PCR ou PLSR ont révélé les meilleurs modèles d'étalonnage pour prédire la teneur en matière grasse des échantillons de pulpe de betterave sucrière, avec un coefficient de détermination (R^2) de l'ordre de 0,989 et l'erreur quadratique de validation croisée ($RMSEC_V$) est de l'ordre de 0,07562 et 0,07567 respectivement. La méthode mise au point était très appropriée pour la détermination de la teneur en matière grasse dans la pulpe de betterave avec une limite de détection inférieure à 0,5%.

5. Références :

- [1] Sargent J.R., Bell M.V., Henderson R.J., Tocher D.R.. The lipids. Fish nutrition, ed. H. J., New York: Academic ; 1989. p 153-218.
- [2] Morand-Fehr P. & Tran G..La fraction lipidique des aliments et les corps gras utilisés en alimentation animale. INRA Productions Animales 14 ; 2001. p 285 - 302.
- [3] Yves Arrigo. Matière grasse et composition en acides gras des fourrages conservés. Production animale.RechercheAgronomique Suisse 1 (10); 2010. p 366-371.
- [4] Chiliard Y.et al..In 'Improving the fat content of food '(C. Willaims and J. Buttrisseds), Woodhead Pub Ltd, (Cambridge); 2006.
- [5] Foucher-Manteauxn ,Senlis Y. , Schmidely P. . Effect of concentrate lipid type on milk performance and milk fat composition in the dairy goatduring early- to mid-lactation. 14 Days Renc. Rech.Ruminants; 2007.p347
- [6] AFNOR: BF - V - 03 -*go1 ; Déc. 1950 and NF - T - 60 ; (Juin 1948) . p 201-212.
- [7] AOAC 2002. Official methods of analysis of AOAC International.
- [8] Ngeh-Ngwainbi J1, Lin J, Chandler A. J AOAC Int. Determination of total, saturated, unsaturated, and monounsaturated fats in cereal products by acid hydrolysis and capillary gas chromatography: collaborative study. 80(2); 1997 Mar-Apr .p 359-72.
- [9] Bligh, W. J. Dyer.. A rapid method of total lipid extraction and purification. E. G. Revue canadienne de biochimie et physiologie, 37(8); 1959. p 911-917, 10.1139/059-099

- [10] Laura Monica Dale, Ioan Rotar, Andre Thewis, Roxana Vidican, Vasile Florian, Anamaria Ciure. Determination of alfalfa crude fiber, NDF, ADF and lignin content by NIR spectrometry. *Lucrări Științifice – vol. 55, seria Agronomie*; 2012.
- [11] Leiqing Pan, Qibing Zhu, Renfu Lu, J. Mitchell McGrath. Determination of sucrose content in sugar beet by portable visible and near-infrared spectroscopy. *Food Chemistry, Volume 167*; 2015. p 264–271.
- [12] Maxin, G. ; Glasser, F. ; Doreau, M. ; Baumont, R.. Prediction of fat and fatty acid content and composition of forages .20ièmes Rencontres Recherches Ruminants. Paris (FRA) : Institut de l'Elevage - INRA ; 2013. p 49-52 .
- [13] Hoonsoo Leea, Byoung-Kwan Choa. Prediction of crude protein and oil content of soybeans using Raman spectroscopy , *Sensors and Actuators B: Chemical. Volume 185* ; 2013. p 694–700
- [14] Chandre F.. Résistance d'*Anopheles gambiae* Giles et de *Culex pipiens quinquefasciatus* Say aux insecticides en Afrique de l'Ouest et implications opérationnelles. Thèse de Doctorat. Université de Paris XII ; 1998. 112 pages.
- [15] Foouzangohar, M.; Kookana, R.S.; Forrester, S.T.; Smernik, R.J.; Chittleborough, D.J.. Mid infrared spectroscopy and chemometrics to predict diuron sorption coefficients in soils. *Environ Sci Technol* ; 42; 2008. p 3283-3288.
- [16] D.M. Haaland, E.V. Thomas. Partial least-squares methods for spectral analyses, application to simulated and glass spectral data. *Anal. Chem.*, 60 ; 1988. p 1202–1208
- [17] A. Hirri, M. Bassbasi, S. Souhassou, F. Kzaiber & A. Oussama . Prediction of Polyphenol Fraction in Virgin Olive Oil Using Mid-Infrared Attenuated Total Reflectance Attenuated Total Reflectance Accessory–Mid-Infrared Coupled With Partial Least Squares Regression. *International Journal of Food Properties. Volume 19- Issue 7*; 2016. p 1504-1512
- [18] Wold S, Sjôström M and Eriksson L . PLS-regression : a basic tool of chemometrics. *Chemometrics Intelligence Laboratory Systems* 58; 2001. p 109-130.
- [19] Workman J and Shenk J . 2004 Understanding and using the near-infrared spectrum as an analytical method. p. 3-10. In Roberts C.A., Workman J and Reeves III JB (ed.) *Near-infrared spectroscopy in agriculture*. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, WI.
- [20] Purcell, D. E., Leonard, G. J., O'Shea, M. G., & Kokot, S.. A chemometrics investigation of sugarcane plant properties based on the molecular composition of epicuticular wax. *Chemometrics and intelligent Laboratory Systems*, 76; 2005. p 135-147

- [21] Venyaminov, SY. & Kalnin, NN.. Quantitative IR spectrophotometry of peptides compounds in water solutions. I. Spectral parameters of amino acids residue absorption band. *Biopolymers*, 30 ; 1990.p 1243-1257.
- [22] Krimm, S. & Bandekar. J. Vibrational spectroscopy and conformation of peptides, polypeptides and proteins. *AdvProtChem*, 38 ; 1986 .p181-364.
- [23] Goormaghtigh, E., Cabiaux, V., Ruyschaert JM.. Determination of soluble and membrane protein structure by Fourier transform infrared spectroscopy. I. Assignments and model compounds. In : Hilderson HJ et Ralston GB. *Subcellular Bio-chemistry*, volume 23 : Physicochemical Methods in the study of Biomembranes. Plenum Press, New York; 1994.p 329-362.
- [24] Fernandes, A.N., Giovanela, M., Esteves, V.I., de Souza Sierra, M.M.. *J. Mol. Struct.* 971 ; 2010. p 33–38.
- [25] Iñón, F. A., Garrigues, J. M., Garrigues, S., Molina, A., and de la Guardia, M.. Selection of calibration set samples in determination of olive oil acidity by partial least squares-attenuated total reflectance-Fourier transform infrared spectroscopy. *Analytica Chimica Acta*, 489; 2003. p: 59–75.
- [26] Pirie, A.; Singh, B. & Islam, K.. Ultra-violet, visible, near-infrared, and mid-infrared diffuse reflectance spectroscopic techniques to predict several soil properties. *Aust J Soil Res* , 43 ; 2005.p 713-721.
- [27] Mouazen, A.M., Baerdemaeker, J.D. and Ramon, H.. Effect of wavelength range on the measurement accuracy of some selected soil constituents using visual-near infrared spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* 14 (3); 2006.p 189-99.

Conclusion :

Malgré la complexité des spectres FT-IR, de leurs profils et de leurs nombre important d'un côté et la variabilité intrinsèque des échantillons qui peut parfois cacher l'information recherchée, la solution existe.

La chimiométrie, représentée par la PLS et la PCR, couplée à la spectroscopie moyen infrarouge a montré et prouvé qu'elle est une nouvelle méthode adéquate pour la quantification par prédiction des teneurs en acides aminés essentiels et en matière grasse de la pulpe de betterave sans aucune manipulation destructrice de l'échantillon, aucun gaspillage ni de temps ni de réactifs et sans aucune pollution de l'environnement.

Globalement, la performance des modèles PLS et PCR préétabli était très reproductible, robuste et rapide.

Les résultats trouvés encouragent la sucrerie à adopter un tel appareil et une telle méthode pour le contrôle qualité de la pulpe de betterave et de prédire les teneurs de ses différents constituants.

Conclusion Générale et perspectives

CONCLUSION GENERALE :

Certes, l'industrie de production est un moteur essentiel de la croissance économique et de la compétitivité des pays, mais elle est également génératrice des déchets autrement dit coproduits, qui sont souvent associés à la détérioration de l'environnement sauf s'ils sont valorisés de façon qui permet de leurs trouver des débouchés ayant une valeur économique positive.

Les pulpes de betterave à sucre, coproduits de l'industrie sucrière, sont relativement abondantes et disponibles dans la zone de béni Mellal et sont très appréciées pour leur qualité nutritionnelle. D'ailleurs les résultats de l'étude entamée pour évaluer la qualité biochimique de la pulpe, ont montré qu'elle présente une teneur moyenne en matière sèche de l'ordre 27%, les matières azotées totales de l'ordre de 9.96 % MS, les sucres totaux de l'ordre de 7 % MS, les matières grasses sont très faibles de l'ordre de 1,14 % MS et la teneur en matières minérales se situe aux alentours de 10.24% MS. La pulpe est un aliment riche en calcium, elle en contient environ 0.98 % MS. En revanche elle est très pauvre en phosphore, elle en contient environ 0.07 % MS. Cependant, elle est assez bien pourvue en magnésium, elle en contient environ 0.246 % MS.

Les pulpes de betterave sont appréciées aussi pour leur praticité et leur aptitude à la conservation pour une longue durée. Les pulpes se conservent soit par ensilage, qui est un processus naturel de la fermentation lactique, soit par séchage qui est une déshydratation de la pulpe accompagnée d'une importante consommation d'énergie fossile: fuel.

Le recours aux deux techniques de conservation s'avère intéressant, mais il y a comme même des différences et des inégalités concernant la valeur nutritive des pulpes conservées dans différentes conditions par rapport à la pulpe à l'état frais. L'étude de la qualité biochimique, dans ce cas, des différents états de la pulpe devient une nécessité et c'est le premier objectif visé dans ce mémoire. Les résultats trouvés sont résumés en quatre parties.

Le premier résultat concernant l'étude de l'effet de la durée de conservation sur la qualité biochimique de la pulpe a permis de déduire qu'il y a une légère diminution de la matière sèche, des sucres totaux, de la MG, de la MM, du Ca, du Mg et P dans la pulpe ensilée le long de son stockage (périodes T3, T6 et T12) par rapport à la pulpe sortie presse T0, qu'il y a une stabilité dans les teneurs en composés phénoliques totaux et enfin, une augmentation des teneurs en MAT.

Il a montré aussi que la fibre au détergent neutre NDF et l'hémicellulose ont connu une légère diminution, par contre la teneur en lignine ADL a augmenté. La teneur en cellulose a également augmenté puisqu'elle n'est généralement pas hydrolysée pendant la fermentation. En parallèle l'ADF a connu une faible variation mais de la même façon que celle de la cellulose et c'est tout à fait normal puisque la cellulose est le constituant pariétal majeur de l'ADF. Cette faible variation est un signe d'un ensilage bien conservé.

Le deuxième résultat des travaux concernant l'étude de l'influence du mode de conditionnement sur la qualité biochimique de la pulpe ensilée durant une année dans des balles de 450 Kg a montré que les teneurs en matières azotées, en matières minérales, en composés phénoliques totaux, en sucres totaux en hémicellulose et en ADF sont légèrement inférieures aux valeurs de la pulpe à la sortie des presses. Le phosphore est resté stable, par contre le calcium le magnésium, l'ADF, l'ADL et la Cellulose ont connu une augmentation.

Ce travail a montré aussi que les teneurs en matières sèches, matières grasses, matières minérales, calcium, magnésium, NDF, ADF et ADL dans les balles de 450Kg sont légèrement supérieures aux teneurs des pulpes ensilées conditionnées dans des sacs de 50Kg, par contre les matières azotées totales, la cellulose et l'hémicellulose sont légèrement inférieures.

Au niveau des acides aminés, les teneurs en Thréonine, Cystéine et Méthionine ont chuté avec absence totale de la lysine dans les deux modes d'ensilage par rapport à la pulpe sortie presse. Ce qui se traduit par une dégradation des acides aminés après un stockage prolongé au-delà d'une année.

La technique de conservation aussi à son mot à dire et a fait varier la composition biochimique de la pulpe pressée. C'est ce qui a été prouvé dans ce travail, d'ailleurs le troisième résultat montre que les teneurs en MAT et Ca ont augmenté au niveau de la pulpe conservée par ensilage par rapport à la pulpe sortie presse, une stabilité des composés phénoliques totaux, du Mg et du P. Par contre il y a eu une diminution des MG, MM et sucres totaux. En contrepartie, il y a eu diminution des MAT, MG, CPT et des sucres totaux dans la pulpe séchée (pellets) avec augmentation des MM, Ca et Mg) par rapport à la pulpe sortie presse.

Le séchage a fait baisser les teneurs des constituants pariétaux de la pulpe : ADF, NDF, ADL, cellulose et hémicellulose par rapport à la pulpe sortie presse. Par contre l'ensilage a permis de maintenir presque les mêmes valeurs.

L'inspection de l'état fermentaire de la pulpe ensilée est un paramètre indispensable qu'on n'a pas négligé dans ce travail de thèse. Visant à savoir si les techniques utilisées pour conserver la pulpe ont été maîtrisées pour une meilleure acidification du milieu. Et comme quatrième résultats, l'étude a permis de conclure que l'ensilage réalisé dans les sacs de 50 Kg et dans les balles de 450 Kg ont subi une excellente qualité fermentaire manifestée par la stabilité du pH aux environs de 3,8, par l'absence d'acides butyrique et propionique (inférieur à 0,1%), par un taux d'acide lactique supérieur à 5% malgré le léger dépassement du taux d'acide acétique (2,9 contre la norme de 2 %).

La détermination de la composition biochimique de la pulpe de betterave et le diagnostic de sa qualité fermentaire sont souvent basés sur des méthodes d'analyse longues et onéreuses nécessitant beaucoup de réactifs, de mains d'œuvre et de temps. A cet effet le recours au développement de nouvelles méthodes fiables, précises et rapides s'avère une nécessité et c'est le 2^{ème} objectif atteint dans ce travail. On a pu démontrer le potentiel de la spectroscopie FTIR couplée à l'analyse chimiométrique pour la détermination et la prédiction rapide des acides aminés. Les modèles PCR et PLSR obtenus à partir de spectres infrarouges transformés ont donné des coefficients de corrélation de 0,99 et des erreurs standards de prédiction (RMSEP) qui variaient de 0,02 à 0,07. On a proposé aussi une méthode quantitative pour l'analyse de la matière grasse présente dans la pulpe par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (ATR-FTIR) couplée aux méthodes chimiométriques (PCR) et (PLS). Les modèles étudiés ont révélé les meilleurs modèles d'étalonnage avec un coefficient de détermination (R^2) de l'ordre de 0,989 et l'erreur quadratique de validation croisée (RMSECV) est de l'ordre de 0,07562 et 0,07567 respectivement. La méthode mise au point était très avec une limite de détection inférieure à 0,5%.

A l'issue de ces résultats obtenus on peut confirmer que la spectroscopie infrarouge couplée aux outils chimiométriques est une alternative qui répond aux exigences et aux besoins de l'industrie sucrière et peut être facilement adapté à l'analyse de routine pour la détermination des différents constituants de la pulpe. Elle offre également des tables de références locales de la région de Béni Mellal, très utiles pour les calculs et la formulation des rations prévisionnelles à base de pulpe.

PERSPECTIVES :

Comme perspectives de nos travaux, des recherches complémentaires sont prévues :

1. Dans le cas du perfectionnement de la qualité fermentaire de l'ensilage de la pulpe de betterave sucrière, il serait intéressant:
 - d'ajouter des additifs d'ensilage comme la mélasse, les inoculants bactériens ou encore des conservateurs chimiques.
 - de faire élever la matière sèche de 26 % à 30% ou encore à 35% en appliquant plus de pression.
2. Dans le cas de l'amélioration de la qualité nutritive de la pulpe de betterave sucrière, il serait intéressant d'enrichir davantage la valeur nutritive de la pulpe en y incorporant d'autres ressources riche en constituants d'en elle est déficitaire.
3. Dans le cas de la valorisation de la pulpe de betterave dans l'alimentation animale, il serait intéressant :
 - d'étudier les effets zootechniques de la pulpe aux différentes périodes de stockage sur des animaux de choix tels les bovins, les ovins, les caprins ou autres.
 - de faire des tests de formulation à base de pulpes afin d'établir les complémentations nécessaires et d'apporter aux animaux des rations équilibrées.
 - de mettre en évidence l'effet galactogène de la pulpe durant les périodes de conservation sous forme d'ensilage.
4. Il serait également intéressant d'application la spectroscopie Infrarouge pour la caractérisation rapide de la qualité de la pulpe :
 - d'enrichir la base de donnée analytique de la pulpe ensilée par des analyses complémentaires
 - d'automatiser l'analyse qualitative de la pulpe ensilée par intégration de la chimiométrie.
5. Il serait également intéressant de consolider la base de données construite à partir des spectres infrarouges et des analyses des différents constituants des pulpes de betterave sucrière de la région de béni Mellal par les données des autres régions dont la culture de betterave est instauré et de construire ainsi une carte géographique numérique contenant les empreintes digitales des pulpes de betterave au niveau du Maroc.

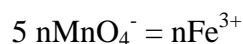
6. Et enfin, la voie reste ouverte, à d'autres utilisations et possibilités , permettant ainsi d'élargir la gamme de valorisation des pulpes de betterave non seulement dans le monde agricole mais aussi dans les domaine de traitement des eaux , des matériaux de construction, de production des gazs naturels comme le méthanol ou l'éthanol , dans l'industrie du papier ou encore trouver des modalités de valorisation ultérieures des composés bioactifs (polyphénols) contenus dans la pulpe en faisant des tests de formulation puis en les incorporant dans divers produits agroalimentaires, cosmétiques ou pharmaceutiques.

ANNEXES :

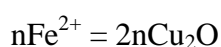
Annexe 1 : Tables de conversion Glucose en mg :

Une fois la masse de cuivre connue, on utilise les tables de Bertrand, qui donnent la relation entre la concentration de glucose et celle du précipité de cuivre formé.

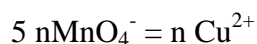
1 mole de MnO_4^- réagissent avec 5 mole de Fe^{3+}



2 moles de Fe^{2+} proviennent de 1 mole de Cu_2O



1 mole de Cu_2O proviennent de 2 moles de Cu^{2+} $2n\text{Cu}_2\text{O} = n\text{Cu}^{2+}$



$$M \text{ Cu} = 5 V\text{MnO}_4^- * C\text{MnO}_4^- * M(\text{Cu})$$

| glucose en mg | cuivre en mg | glucose en mg | cuivre en mg | glucose en mg | cuivre en mg |
|---------------|--------------|---------------|--------------|---------------|--------------|
| 10 | 20,4 | 40 | 77,5 | 70 | 129,8 |
| 11 | 22,4 | 41 | 79,3 | 71 | 131,4 |
| 12 | 24,3 | 42 | 81,1 | 72 | 133,1 |
| 13 | 26,3 | 43 | 82,9 | 73 | 134,7 |
| 14 | 28,3 | 44 | 84,7 | 74 | 136,3 |
| 15 | 30,2 | 45 | 86,4 | 75 | 137,9 |
| 16 | 32,2 | 46 | 88,2 | 76 | 139,6 |
| 17 | 34,2 | 47 | 90,0 | 77 | 141,2 |
| 18 | 36,2 | 48 | 91,8 | 78 | 142,8 |
| 19 | 38,1 | 49 | 93,6 | 79 | 144,5 |
| 20 | 40,1 | 50 | 95,4 | 80 | 146,1 |
| 21 | 42,0 | 51 | 97,1 | 81 | 147,7 |
| 22 | 43,9 | 52 | 98,9 | 82 | 149,3 |
| 23 | 45,8 | 53 | 100,6 | 83 | 150,9 |
| 24 | 47,7 | 54 | 102,3 | 84 | 152,5 |
| 25 | 49,6 | 55 | 104,1 | 85 | 154,0 |
| 26 | 51,5 | 56 | 105,8 | 86 | 155,6 |
| 27 | 53,4 | 57 | 107,6 | 87 | 157,2 |
| 28 | 55,5 | 58 | 109,3 | 88 | 158,8 |
| 29 | 57,2 | 59 | 111,1 | 89 | 160,4 |
| 30 | 59,1 | 60 | 112,8 | 90 | 162,0 |
| 31 | 60,9 | 61 | 114,5 | 91 | 163,6 |
| 32 | 62,8 | 62 | 116,2 | 92 | 165,2 |
| 33 | 64,6 | 63 | 117,9 | 93 | 166,7 |

| | | | | | |
|----|------|----|-------|-----|-------|
| 34 | 66,5 | 64 | 119,6 | 94 | 168,3 |
| 35 | 68,3 | 65 | 121,3 | 95 | 169,9 |
| 36 | 70,1 | 66 | 123,0 | 96 | 171,5 |
| 37 | 72,0 | 67 | 124,7 | 97 | 173,1 |
| 38 | 73,8 | 68 | 126,4 | 98 | 174,6 |
| 39 | 75,7 | 69 | 128,1 | 99 | 176,2 |
| | | | | 100 | 177,8 |

Annexe 2 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique pour dosage des polyphénols :

La gamme d'acide gallique est tracée pour des concentrations comprises entre 0 et 1000 mg /l (Figure 30).

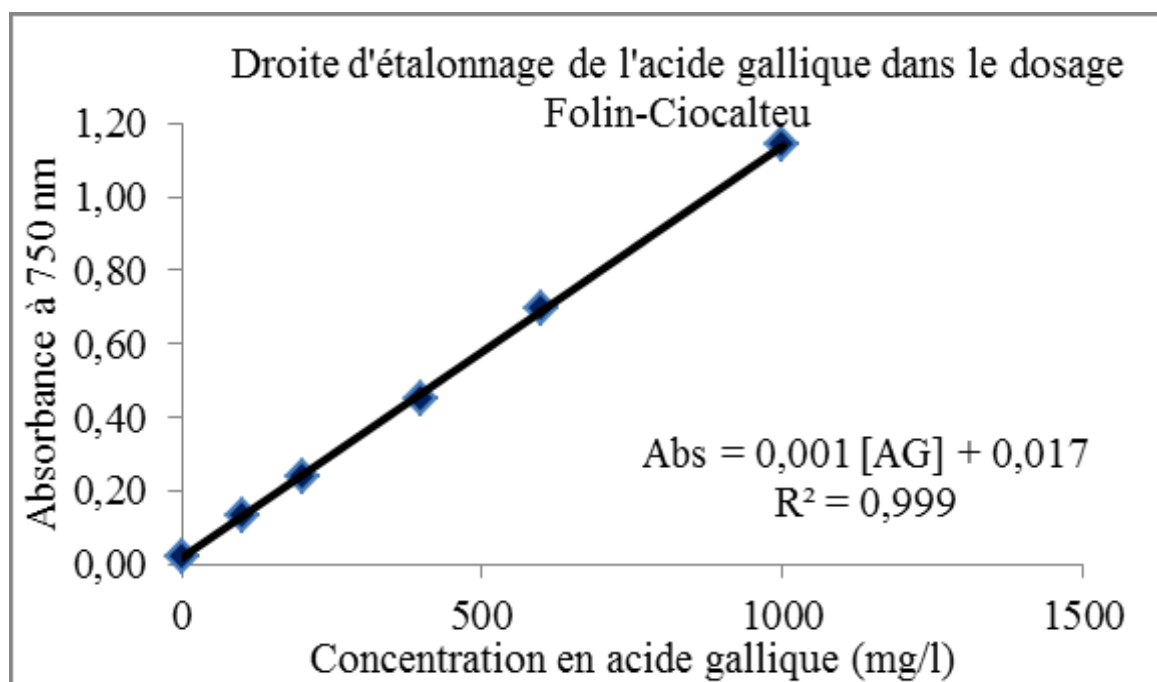


Figure 30 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique dans le dosage de Folin-Ciocalteu