



Limitations physiques induites par un milieu à base de son de blé pour la production de biopesticides par *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki*

Rita BARSSOUM¹⁻²⁻³, Karim Mohamed CHALBI², Rayan NASSERDINNE¹, Julien CESCUT³, Mireille KALLASSY¹, César ACEVES-LARA², Luc FILLAUDEAU²

¹Faculté des Sciences, Université Saint-Joseph de Beyrouth, Liban

²Toulouse Biotechnology Institute-Bio & Chemical Engineering, CNRS, INRAE, INSA Toulouse, France

³Toulouse White Biotechnology, INRAE, CNRS, INSA Toulouse, France

Résumé

Les biopesticides sont une alternative aux pesticides chimiques qui répondent au développement de la bioéconomie mais se présentent comme nocifs pour l'Homme et l'Environnement. *Bacillus thuringiensis* est une bactérie gram positive, sporulante à la base de la plupart des biopesticides. Cette activité insecticide est principalement due à la production, lors de la phase de sporulation, de δ -endotoxines constituées par un assemblage de protéines cristallines appelées Cry. Le projet européen IPM-4-Citrus (MSCA RISE, n° 734921, 2017-2023) vise à optimiser cette bioproduction lors de la culture de 3 souches de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* (Lip, BLB1 et HD1) dans un milieu complexe (son de blé). La composition biochimique et les limitations nutritionnelles induites par le milieu ont été identifiés. Les propriétés physiques de ces suspensions hétérogènes sont nécessaires à la définition de conditions opératoires adéquates pour ce bioprocédé. Dans cette étude, la morpho-granulométrie, l'aptitude à la séparation solide-liquide des suspensions biologiques et la rhéométrie ont été étudiées en fonction de la concentration et de la granulométrie du substrat.

Mots clés : biopesticides, *Bacillus thuringiensis*, son de blé, rhéométrie, morpho-granulométrie, décantation.

INTRODUCTION

Afin d'éliminer les insectes phytoravageurs, les agriculteurs ont souvent recours à une utilisation excessive des pesticides chimiques qui sont nocifs pour l'environnement et la santé humaine (Nicolopoulou-Stamati et al., 2016). Les biopesticides d'origine microbienne sont une alternative écologique aux pesticides chimiques. *Bacillus thuringiensis* est une bactérie gram positive, sporulante, qui se retrouve dans l'environnement et utilisée pour la production de biopesticides (Palma et al., 2014). Son cycle de vie est partagé en 3 phases principales : (i) la phase de croissance (division bactérienne) et (ii) la phase de sporulation durant laquelle la bactérie produit des inclusions intracellulaires cristallines (δ -endotoxines) responsables de son activité insecticide puis (iii) une phase de lyse cellulaire libérant l'endotoxine dans le milieu (Sarrafzadeh & Navarro, 2006). Chaque inclusion parasporale est constituée de protéines appelées Cry (<http://www.bpprc.org>). Dans ce contexte, le projet européen IPM-4-Citrus (MSCA RISE, n°734921, 2017-2023) vise à produire un biopesticide contre les insectes ravageurs des agrumes en cultivant *Bacillus thuringiensis subsp. kurstaki* (*Btk*) HD1 (référence industrielle), BLB1 (endémique tunisienne) et Lip (endémique libanaise) dans un milieu complexe (son de blé). Ce substrat lignocellulosique, un co-produit de meunerie, contient tous les nutriments essentiels (substrat carboné fermentescible, protéines, minéraux) pour assurer la croissance et induire la sporulation de *Btk* (Onipe et al., 2015). Pour mieux comprendre les phases clés de la bioproduction et les bioperformances (titre, rendement, productivité), l'analyse biochimique du substrat (amidon, azote, composition élémentaire...) et du milieu de culture ont été étudiées (

(NASSERDINNE, 2021), (BARSSOUM, 2021)). En fioles agitées, ces études ont permis d'identifier des conditions favorables pour la croissance et la sporulation de *Btk* ([son de blé] = 73.6 gmh/L, $T_p=30^\circ\text{C}$, $N=248$ rpm, pH7). En revanche, les propriétés physiques du milieu demeurent manquantes. Notre objectif se focalise sur l'étude des limitations physiques du milieu (rhéométrie, morphogranulométrie, séparation solide-liquide) en fonction de la concentration et de la granulométrie. La caractérisation du comportement rhéologique des suspensions est aussi une étape clé pour définir des conditions opératoires réalistes et transposables à l'échelle industrielle. Plusieurs modèles phénoménologiques ont été proposés pour décrire le comportement rhéologique de suspension hétérogènes en fonction soit de la vitesse de cisaillement (ex. modèle Ostwald-de-Waele (Wiśniowski et al., 2020)), soit de la fraction volumique (Quemada (Baldino et al., 2018)). Modéliser le comportement rhéologique de ces suspensions en intégrant de multiples paramètres tels que l'équilibre entre les populations (fine, grosse), les concentrations (massique et/ou volumique), la granulosité et la morphologie, l'effet de la teneur en amidon et l'avancement de la biocinétique constituent un défi. Cette étude apporte une première brique de compréhension et rapporte les principales propriétés physiques de cette suspension pour tendre vers une bioproduction à grande échelle.

MATERIEL ET METHODES

Substrat : son de blé et tamisage

Le son de blé (Nehmet Rabna, Mansourieh, Liban, 14/04/2021) a été tamisé avant d'étudier ses caractéristiques physico-chimiques. Des lots (70 g) ont été tamisés sur un tamiseur vibrant (ELE international, Royaume Uni, SN : 80-0352, fréquence max : 60 Hz, largeur : 380 mm, hauteur : 1085 mm) durant 20 minutes à 5 Hz. Trois tamis à maille carrée (Mesh 20, 30 et 74) ont généré 4 fractions (classe 1 à 4). Les bilans matières établis pour 2 lots (~200 g) et la composition biochimique sont rapportées dans le **Tableau 1** avec une teneur en eau moyenne de 0.12 g/gms et une densité de 1.13 gmh/mL. La classe 1 (>850 μm) représente moins de 1% m/m et ne présente pas d'intérêt industriel considérant les étapes de séparation et de formulation en aval de la bioproduction. Les classes 2, 3 et 4 font spécifiquement l'objet d'analyses physiques.

Tableau 1 : Bilan matière, BM et analyses biochimiques du son de blé (Déviation standard) en fonction de la granulométrie (Dp)

Cl	Dp	BM (Lot 1/2)	Amidon	Protéines (N organique Kjeldahl)	Composition élémentaire (% m/m)				
					C	H	O	N	Cendres
	(μm)	(% m/m)	(g/g MS)	(g protéines /g MS)					
2	500-850	20/19.8	0.173 (± 0.35)	0.145 (± 0.012)	44.21 (± 0.19)	6.50 (± 0.12)	35.62 (± 0.45)	2.60 (± 0.23)	3.70 (± 0.12)
3	250-500	69/51.4	0.144 (± 1.35)	0.127 (± 0.014)	45.34 (± 0.08)	6.46 (± 0.04)	37.89 (± 0.44)	2.48 (± 0.04)	4.28 (± 0.12)
4	<250	10/28.2	0.347 (± 0.47)	0.155 (± 0.016)	42.40 (± 0.04)	6.61 (± 0.12)	34.60 (± 0.37)	2.61 (± 0.24)	3.23 (± 0.12)

Morpho-granulométrie

Les caractérisations morphologiques des différentes matrices ont été réalisées *ex-situ* à l'aide d'un morphogranulomètre (Mastersizer G3S, Malvern Instruments Ltd. SN : MAL1033756, logiciel Morphologi v7.21). Ce dispositif optique comprend un système de lentilles (grossissement : de $\times 1$ à $\times 50$, dimension min/max : 0,5/3000 μm) et une caméra (Nikon CFI60) avec une résolution proche de 0,06 $\mu\text{m}/\text{pixel}$. Les analyses ont été conduites en voie sèche en dispersant le son de blé (0,25 mg) à

travers une unité spécifique (DSU) sous une pression de 4 bars pendant 10 ms. L'acquisition et l'analyse des images ont été réalisées selon une procédure opérationnelle standard (SOP) qui définissait le type de source lumineuse (lumière diascopique, mode clair), les paramètres d'illumination (intensité lumineuse : $80\% \pm 0.2$), le grossissement ($\times 2.5$) et le seuil de détection des particules (seuillage = 140) et la surface scannée (40x40 mm). Les distributions en nombre (donnée brute) et en volume (conversion sous hypothèse d'un modèle sphérique) associés à chaque paramètre (granulométrie, morphométrie) ont été générés.

Séparation solide-liquide par décantation

La séparation solide-liquide (Falcon 50mL, triplicat) par décantation a été évalué en identifiant la vitesse limite de chute et la fraction volumique du surnageant. Les suspensions sont homogénéisées puis positionnées verticalement sur un fond blanc avec une échelle. La décantation est analysée durant 2.5 min et 24 min respectivement pour les suspensions sans traitement thermique et avec traitement thermique. Les vitesses limites de chute, le volume du surnageant ont été déduits en fonction des granulométries. En complément, la capacité de rétention en eau (WRC) du substrat (son de blé) est déterminée. Le protocole standard rapporté par Traynahm et al (Traynahm et al., 2007), a été adapté à nos conditions opératoires et au substrat, à savoir : la concentration (73.6 ghm/L) et les conditions de mise en contact (60 min, température ambiante). Les falcons (50 mL) sont ensuite vortexés (vitesse max, 30s) puis centrifugés (3000 rpm, 15 min à 16°C). La masse d'eau retenue est comparée à la masse initiale de substrat.

Rhéométrie

Les propriétés visqueuses et élastiques des suspensions hétérogènes dépendent intrinsèquement de la distribution de taille, de la morphologie des particules et des concentrations respectives des populations et de leurs interactions. Les méthodes traditionnelles qui mesurent la viscosité avec des viscosimètres rotatifs, tels que systèmes cône-plan et cylindres concentriques, sont souvent mal appropriés pour les suspensions sujettes à des phénomènes de décantation. Pour les suspensions de son de blé, des mesures de viscosimétrie rotationnelle (Le et al., 2017) ont été effectuées avec un rhéomètre Mars III (Thermo Scientific, Karlsruhe, Allemagne, $C_{min}/max : 10^{-8}/0,2$ Nm, $N_{min}/max : 10^{-7}/1500$ rpm, logiciel Rheowin Job manager). Pour assurer une homogénéité de la suspension (mouvement axial et radial) lors des mesures, un agitateur en forme de ruban hélicoïdal ($d_{HR}=26$ mm, $h_{HR}= 25.8$ mm, $l_{HR}= 2$ mm) et une cuve cylindrique ($D_{cuve}= 27.2$ mm, $H_{cuve}= 72$ mm) ont été utilisés (Eriksson et al., 2002), (Delacroix et al., 2021). Préalablement, la courbe de consommation de puissance (N_p vs Re_{Mixing}) a été établie avec des fluides newtoniens puis généralisée (concept de Metzner & Otto, 1957) avec des fluides rhéofluidifiants. Le modèle de Churchill permet de décrire la courbe de consommation de puissance pour les régimes laminaire et turbulent, comme suit : $Np = (Kp/Re)^\alpha + Np0^\alpha)^{1/\alpha}$ Eq. 1. Pour le mobile hélicoïdal, les constantes identifiées, $Kp= 217.4 (\pm 0.16)$, $\alpha= 1.73$ et $Ks= 23.3 (\pm 3.6)$ ont été utilisées pour déduire la viscosité équivalente et la vitesse de cisaillement puis construire les rhéogrammes.

Pour chaque granulométrie, dix suspensions (de 0 à 150 g/L) ont été préparées et stérilisées (121°C, 20 min). Les mesures ($V_{Suspension}= 25$ mL, $h_{Suspension}= 42$ mm) à 20°C après un pré-cisaillement (30s, 1000 rpm) ont été réalisées avec le protocole suivant : 30 paliers ascendants puis paliers descendants (distribution logarithmique, $N_{min}/max : 10^{-3}/1000$ rpm, durée palier : 1 min, temps d'intégration : 15 à 30 s).

RESULTATS ET DISCUSSION

Granulométrie et morphologie du substrat

Le bilan matière moyen post-tamassage du substrat (**Tableau 1**) indique que la classe 3 est dominante (60.5 %m/m) suivi par les classes 2 (19.9 %m/m) et 4 (19 %m/m). L'analyse granulométrique du substrat en voie sèche a permis l'établissement des fonctions de distribution (en nombre et en volume) des particules en fonction du diamètre du cercle équivalent. L'analyse comparative des fonctions de distribution combine l'utilisation de représentations graphiques (telles que les dendrogrammes) et de statistiques descriptives (par exemple, moyenne, médiane, mode et écart-type). L'évaluation de la normalité peut être basée sur la comparaison entre les moments de l'échantillon et les moments théoriques de la distribution normale (méthode des "moments"). Les similitudes entre les fonctions de distribution peuvent être examinées, par exemple par l'application du test t de Student et la détermination du coefficient de recouvrement (Clemons & Bradley, 2000), (Inman & Bradley, 1989), (Ghasemi & Zahediasl, 2012).

Deux populations, « fines » et « grosses » sont présentes. L'analyse morphologique des particules indique que les « fines » ont une forme ovoïde (AR= 0.735, Circularité = 0.849) avec une surface lisse et que les granules peuvent être agrégées. Les « grosses » présentent une surface accidentée (AR = 0.700, Circularité= 0.783) et une géométrie plutôt anguleuse polyédrique (à 3, 4 ou 5 cotés) en cohérence avec le procédé de meunerie et d'extraction du péricarpe du grain de blé par attrition mécanique suite à une opération de mouillage. En considérant l'écart de ces morphologies au modèle de la sphère, le passage d'une distribution en nombre à une distribution en volume peut être envisagé.

Les distributions en nombre, $En(d_{CE})$ et en volume, $Ev(d_{CE})$ mettent en évidence respectivement le poids des populations de « fines » (de 5 à 50 μ m) et des « grosses » (de 150 à <1000 μ m). La **Figure 1** illustre le caractère bimodal de chaque classe. La distribution en volume et le diamètre de cercle équivalent à 90% de la population, $Dv_{0,9}$ démontrent que l'effet de tamassage sur les grosses particules est en accord avec la dimension maximale d'une maille carrée (respectivement 1200, 700 et 350 μ m). Néanmoins, les distributions en volume présentent une large étendue ($Dv_{0,1}$ à $Dv_{0,9}$) et un taux de recouvrement faible (25.68% entre les classes 2 et 3, 29.71% entre les classes 3 et 4). A ce stade une population secondaire entre 5 et 50 μ m semble présente mais négligeable en volume.

Tableau 2 : Diamètres moyen, à 10, 50 et 90% (μ m) de la population en nombre et en volume en fonction des classes.

Cl	Dp	En(d_{CE})					Ev(d_{CE})				
		$Dn_{0,1}$	$Dn_{0,5}$	$Dn_{0,9}$	D(1,0)	SD	$Dv_{0,1}$	$Dv_{0,5}$	$Dv_{0,9}$	D(4,3)	SD
2	500-850	4,80	12,4	24,1	14,7	1,2	687,8	852,1	1055,8	865,4	35,4
3	250-500	4,10	10,2	22,0	13,0	0,4	325,1	531,3	761,5	531,1	18,6
4	<250	4,57	11,3	23,6	15,2	0,7	166,0	269,8	391,1	275,3	16,6

Les distributions en nombre confirment que la population de fine est dominante. Cette population se concentre entre 5 et 50 μ m (**Tableau 2**) avec des valeurs caractéristiques sensiblement identiques pour les 3 classes. Sous l'angle biochimique, les teneurs en amidon sont respectivement 0.173, 0.144 et 0.347 g/gms pour les classes 2, 3 et 4 (**Tableau 1**). Cependant le poids relatif des populations de « fines » et de « grosses » n'est pas démontré par la distribution en volume. Ceci confirme qu'une proportion dominante des granules d'amidon reste attachée aux particules de son de blé (fraction lignocellulosique). Les granules d'amidon libres n'en sont pas pour autant négligeables. Enfin, le passage en voie humide et le traitement thermique (stérilisation) vont induire un gonflement et une libération de l'amidon dans le fluide suspendant (Cordeiro et al., 2018)

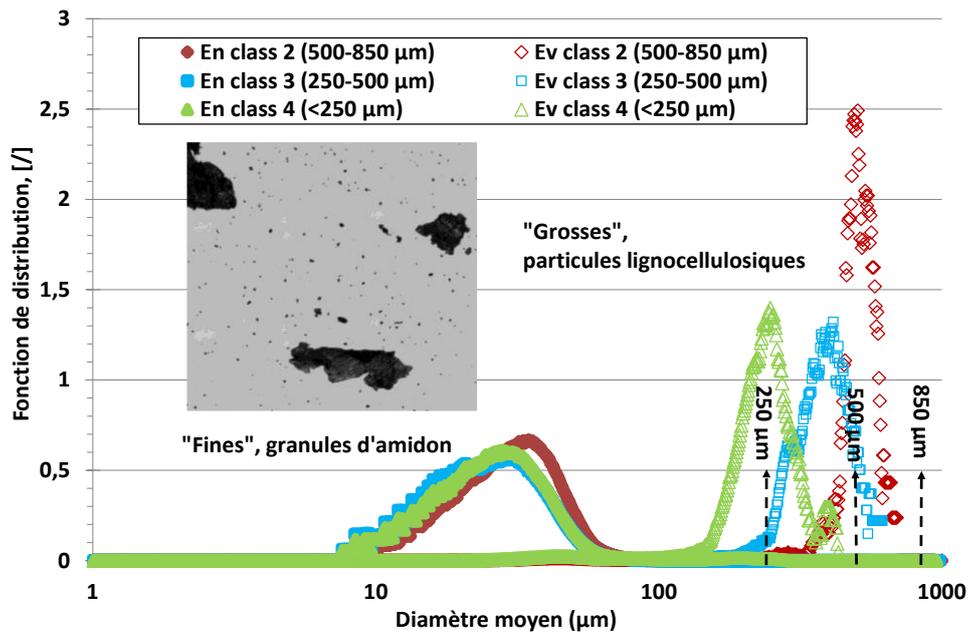


Figure 1 : Fonctions de distribution en nombre et en volume du diamètre de cercle équivalent, $En(d_{CE})$ et $Ev(d_{CE})$ pour les 3 classes – Analyse morpho-granulométrique en voie sèche du substrat de la classe 4 (x2.5, BF, surface : 10mm x 10mm).

Séparation solide-liquide par décantation des suspensions.

Les propriétés des suspensions résultent de leur itinéraire technologique et de leur composition (amidon et particules lignocellulosiques). Les mécanismes de séparation solide-liquide déterminent d'une part les conditions de mise en œuvre de la suspension initiale (homogénéité de la suspension, débit de pompage, aération lors de la phase de croissance oxydative) et d'autre part les conditions de clarification post-culture (DSP). Pour cela 3 indicateurs sont rapportés : (i) la capacité de rétention en eau, (ii) la vitesse limite de chute (moyenne) et (iii) la fraction volumique des pellets.

Considérant l'itinéraire technologique des matrices (sans traitement thermique et après traitement thermique), les tendances observées (Figure 2) sont : (i) un accroissement de la capacité de rétention en eau, (ii) une augmentation de la fraction volumique des pellets et (iii) une diminution des vitesses limite de chutes.

En comparant les classes, la classe 2 (500-850µm) sans traitement thermique présente une vitesse limite de chute (moyenne) plus importante que celle des classes 3 et 4. Après traitement thermique, la vitesse limite de chute (moyenne) diminue pour chacune des classes mais reste la plus élevée pour la classe 2. Sans traitement thermique, les particules d'amidon (« fines ») sédimentent lentement par rapport aux particules lignocellulosiques. Un front de clarification secondaire est ainsi observé. Le traitement thermique entraîne un éclatement des granules d'amidon générant un fluide suspendant colloïdale et visqueux qui freine la décantation des particules lignocellulosiques. Quelque soit la classe, la vitesse limite de chute est réduite d'un facteur 40 à 65 passant de quelques centimètres/minutes (4 – 10 cm/min, sans traitement thermique) à des vitesses inférieures à 0.02cm/min (après traitement thermique). Le ratio V_{Pellet}/V_{Total} augmente après traitement thermique passant de 40% à 65%v/v pour les classes 2 et 3. Pour la classe 4 (<250µm), ce ratio augmente de 30% à >95%v/v en cohérence avec une teneur en amidon plus importante. La capacité de rétention en eau conforte les précédents indicateurs. La capacité de rétention en eau augmente avec le traitement thermique en atteignant des valeurs proches de 400-500%. Cette propriété à retenir l'eau s'explique

par la présence d'une matrice protéique et amidonnée ; ce phénomène s'amplifie avec une granulométrie croissante des particules lignocellulosiques.

Sur cette base, la stabilité de la suspension initiale est démontrée et peut être mise en œuvre avec des conditions d'agitation modérées. Ces conditions devront satisfaire les capacités et les besoins en oxygène sous des conditions de cisaillement compatible avec les microorganismes. La connaissance et la modélisation du comportement rhéologique de la suspension initiale reste donc à explorer.

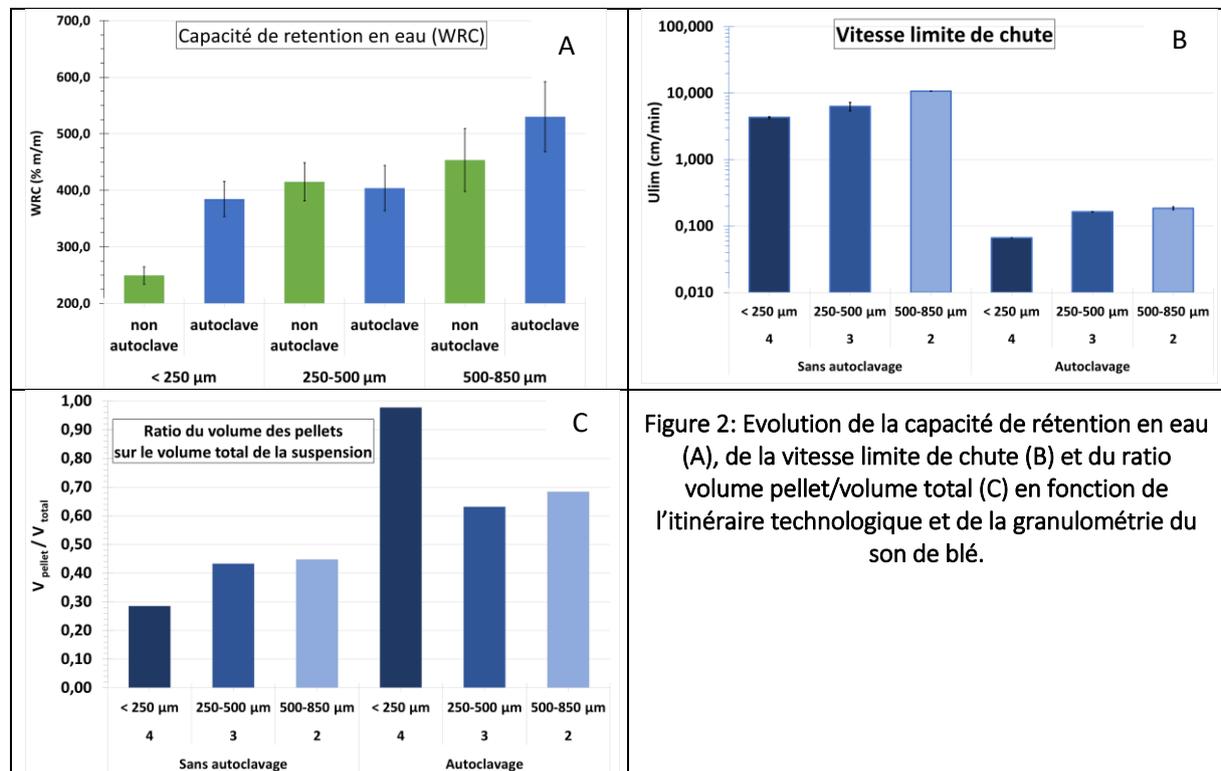


Figure 2: Evolution de la capacité de rétention en eau (A), de la vitesse limite de chute (B) et du ratio volume pellet/volume total (C) en fonction de l'itinéraire technologique et de la granulométrie du son de blé.

De la viscosimétrie vers la modélisation

La viscosité apparente des suspensions initiales (après traitement thermique, **Figure 2 A et B**), μ_{app} (Pa.s) est rapportée en fonction du cisaillement, de la granulométrie et de la concentration. La viscosité augmente avec l'augmentation de la concentration pour chacune des classes de son de blé. Les suspensions évoluent d'un comportement Newtonien (régime dilué, $[WB] \ll 1$ gmh/L) vers un comportement non-Newtonien en régime semi-dilué ($[WB] > 10$ gmh/L) puis concentré ($[WB] > 80-150$ gmh/L). L'apparition d'un comportement rhéofluidifiant est notable quelques soient les classes à des cisaillements de 1 et 100 s^{-1} .

Pour une concentration définie, la viscosité est progressivement croissante des classes 3, 4 puis 2. Par exemple à 76.8 ghm/L et pour un cisaillement égal à 100 s^{-1} , les viscosités des suspensions sont estimées à 0.3, 0.68 et 0.77 Pa.s respectivement pour les classes 3, 4 et 2. La viscosité la plus importante, correspond donc à la classe 2 ayant la granulométrie la plus élevée. Cependant, la classe 4 (la plus riche en amidon) présente une viscosité supérieure par rapport à la classe 3. L'augmentation de la viscosité résulte d'une part de l'augmentation de concentration et de l'équilibre entre les particules en suspension et de l'amidon. Pour les suspensions hétérogènes, une augmentation de la granulométrie induit généralement une augmentation de la viscosité (Nguyen et al., 2019) mais cet effet demeure complexe pour des populations multimodales. Après traitement thermique, l'amidon augmente significativement la viscosité du fluide porteur pouvant aller jusqu'à la gélification en fonction de la concentration. L'équilibre entre l'effet de la teneur en amidon et de la granulométrie

(particule lignocellulosique) laisse supposer que l'un compense l'autre (Tárrega et al., 2006) pour la classe 4.

Les rhéogrammes, sous l'hypothèse de comportements rhéologiques newtonien ou rhéofluidifiant ($\mu = k \cdot \dot{\gamma}^n$ Eq. 2), permettent d'extraire la consistance, k (Pa.sⁿ) et l'indice de structure, n [/] (Figure 3 C). Malgré une incertitude importante (méthodologie), la consistance augmente avec la concentration alors que l'indice de structure diminue jusqu'à environ 0.4.

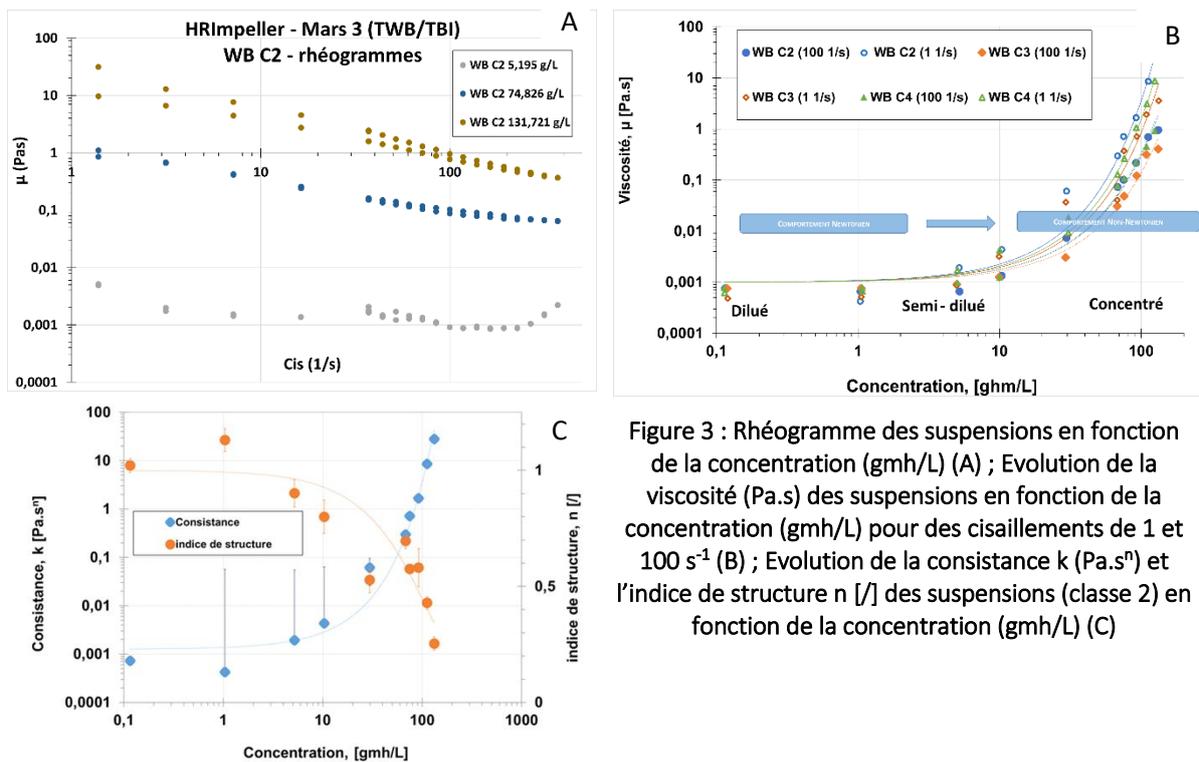


Figure 3 : Rhéogramme des suspensions en fonction de la concentration (gmh/L) (A) ; Evolution de la viscosité (Pa.s) des suspensions en fonction de la concentration (gmh/L) pour des cisaillements de 1 et 100 s⁻¹ (B) ; Evolution de la consistance k (Pa.sⁿ) et l'indice de structure n [/] des suspensions (classe 2) en fonction de la concentration (gmh/L) (C)

Le comportement rhéologique des suspensions pourrait être décrit par un modèle phénoménologique approprié (Quemada, 2006) prenant en considération l'effet du cisaillement, de la concentration et idéalement de la morphologie et du bilan de population. Pour les suspensions concentrées (30-150 g/L), l'interaction entre les particules est très forte d'où la proposition du modèle Krieger-Dougherty :

$$\frac{\mu}{\mu_s} = \left(1 - \frac{\phi}{\phi_{max}}\right)^{-q} \text{ Eq. 3 avec } 1 < q < 2. \text{ Sous ces hypothèses, l'estimation de la fraction volumique du substrat dépend de deux paramètres : (i) le volume maximal occupé par le substrat et (ii) la viscosité intrinsèque. Le calcul du volume du substrat dans la suspension est possible. La connaissance de la viscosité intrinsèque du substrat nécessite le calcul de la viscosité de l'amidon qui est dépendante du type des granules d'amidon et de la nature de l'amidon. Dans ces conditions, la viscosité du fluide porteur pourrait être modélisé en ne prenant en considération que l'effet de l'amidon. Les modèles de la loi de puissance, ainsi que Herschel-Buckley (apparition d'un seuil d'écoulement) sont utilisés pour décrire le comportement rhéologique des suspension d'amidon (Karwasra et al., 2017). Ces derniers pourraient s'intégrer dans le modèle de Krieger-Dougherty. Cependant, vu la complexité et l'hétérogénéité du son de blé, l'application d'un modèle unique n'a pas été possible.}$$

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Cet article rapporte l'étude de suspension de son de blé dans le cadre du développement d'un bioprocédé visant la production de biopesticides. La morpho-granulométrie, l'aptitude à la séparation

solide-liquide par décantation et la rhéométrie des suspensions biologiques ont été présentés. Les effets de la concentration et de la granulométrie du son de blé sont analysés pour identifier des conditions opératoires compatibles avec un procédé industriel. Des modèles rhéologiques robustes prenant en considération la concentration/fraction volumique, la granulométrie, la morphologie, la teneur en amidon sont nécessaires pour envisager une simulation numérique des écoulements et un changement d'échelle du procédé. De même, l'évolution du comportement rhéologique des suspensions lors de la culture (production de biomasse cellulaire, sporulation et lyse) devra être explorée au même titre que les bio-performances (souche dépendant).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Baldino, S., Osgouei, R. E., Ozbayoglu, E., Miska, S. Z., & May, R. (2018). Quemada model approach to oil or synthetic oil based drilling fluids rheological modelling. *Journal of Petroleum Science and Engineering*, 163, 27–36. <https://doi.org/10.1016/j.petrol.2017.12.042>
- BARSSOUM, R. (2021). Etude des limitations physiques et biochimiques pour le changement d'échelle lors de la production d'une endotoxine (biopesticide) par *Bacillus thuringiensis* ssp *kurstaki* cultivée dans un milieu à base de son de blé. Toulouse.
- Clemons, T. E., & Bradley, E. L. (2000). A nonparametric measure of the overlapping coefficient. *Computational Statistics & Data Analysis*, 34(1), 51–61. [https://doi.org/10.1016/S0167-9473\(99\)00074-2](https://doi.org/10.1016/S0167-9473(99)00074-2)
- Cordeiro, M. J. M., Veloso, C. M., Santos, L. S., Bonomo, R. C. F., Caliani, M., & Fontan, R. da C. I. (2018). The Impact of Heat-Moisture Treatment on the Properties of *Musa paradisiaca* L. Starch and Optimization of Process Variables. *Food Technology and Biotechnology*, 56(4), 506–515. <https://doi.org/10.17113/ftb.56.04.18.5490>
- Delacroix, B., Fradette, L., Bertrand, F., & Blais, B. (2021). Which impeller should be chosen for efficient solid–liquid mixing in the laminar and transitional regime? *AIChE Journal*, 67(11), e17360. <https://doi.org/10.1002/aic.17360>
- Eriksson, I., Bolmstedt, U., & Axelsson, A. (2002). Evaluation of a helical ribbon impeller as a viscosity measuring device for fluid foods with particles. *Applied Rheology*, 12(6), 303–308. <https://doi.org/10.1515/arh-2002-0018>
- Ghasemi, A., & Zahediasl, S. (2012). Normality Tests for Statistical Analysis: A Guide for Non-Statisticians. *International Journal of Endocrinology and Metabolism*, 10(2), 486–489. <https://doi.org/10.5812/ijem.3505>
- Inman, H. F., & Bradley, E. L. (1989). The overlapping coefficient as a measure of agreement between probability distributions and point estimation of the overlap of two normal densities. *Communications in Statistics - Theory and Methods*, 18(10), 3851–3874. <https://doi.org/10.1080/03610928908830127>
- Karwasra, B. L., Gill, B. S., & Kaur, M. (2017). Rheological and structural properties of starches from different Indian wheat cultivars and their relationships. *International Journal of Food Properties*, 20(sup1), S1093–S1106. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1328439>
- Le, T., Anne-Archard, D., Coma, V., Cameleyre, X., Lombard, E., To, K. A., Pham, T. A., Nguyen, T. C., & Fillaudeau, L. (2017). Using in-situ viscosimetry and morphogranulometry to explore hydrolysis mechanisms of filter paper and pretreated sugarcane bagasse under semi-dilute suspensions. *Biochemical Engineering Journal*, 127, 9–20. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2017.07.006>
- Metzner, A. B., & Otto, R. E. (1957). Agitation of non-Newtonian fluids. *AIChE Journal*, 3(1), 3–10. <https://doi.org/10.1002/aic.690030103>
- NASSERDINNE. (2021). Production de biopesticides par *Bacillus thuringiensis* isolées du sol Libanais-Etude des limitations physioques et bioperformances. Beyrouth.
- Nguyen, T. C., Anne-Archard, D., Cameleyre, X., Lombard, E., To, K. A., & Fillaudeau, L. (2019). Bio-catalytic hydrolysis of paper pulp using in- and ex-situ multi-physical approaches: Focus on semidilute conditions to progress towards concentrated suspensions. *Biomass and Bioenergy*, 122, 28–36. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2019.01.006>
- Nicolopoulou-Stamati, P., Maipas, S., Kotampasi, C., Stamatis, P., & Hens, L. (2016). Chemical Pesticides and Human Health: The Urgent Need for a New Concept in Agriculture. *Frontiers in Public Health*, 4. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpubh.2016.00148>
- Onipe, O. O., Jideani, A. I. O., & Beswa, D. (2015). Composition and functionality of wheat bran and its application in some cereal food products. *International Journal of Food Science & Technology*, 50(12), 2509–2518. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12935>
- Palma, L., Muñoz, D., Berry, C., Murillo, J., & Caballero, P. (2014). *Bacillus thuringiensis* Toxins: An Overview of Their Biocidal Activity. *Toxins*, 6(12), 3296–3325. <https://doi.org/10.3390/toxins6123296>
- Sarrafzadeh, M. H., & Navarro, J. M. (2006). The effect of oxygen on the sporulation, δ -endotoxin synthesis and toxicity of *Bacillus thuringiensis* H14. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22(3), 305–310. <https://doi.org/10.1007/s11274-005-9037-9>
- Tárrega, A., Costell, E., & Rao, M. A. (2006). Vane Yield Stress of Native and Cross-linked Starch Dispersions in Skimmed Milk: Effect of Starch Concentration and λ -carrageenan Addition. *Food Science and Technology International*, 12(3), 253–260. <https://doi.org/10.1177/1082013206065551>
- Traynham, T. L., Myers, D. J., Carriquiry, A. L., & Johnson, L. A. (2007). Evaluation of Water-Holding Capacity for Wheat–Soy Flour Blends. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 84(2), 151. <https://doi.org/10.1007/s11746-006-1018-0>
- Wiśniowski, R., Skrzypaszek, K., & Małachowski, T. (2020). Selection of a Suitable Rheological Model for Drilling Fluid Using Applied Numerical Methods. *Energies*, 13(12), Art. 12. <https://doi.org/10.3390/en13123192>