



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي



Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique

Université Abdelhamid Ibn Badis –Mostaganem-

جامعة عبد الحميد بن باديس مستغانم

Faculté Science de la Nature et de la Vie
Département d'Agronomie

كلية علوم الطبيعة و الحياة
قسم العلوم الزراعية

Mémoire de Magister en Sciences Agronomiques

Option

« Hygiène et Sécurité agroalimentaire »

Présenté le 18 Mars par Mlle :

SADOUD MERYEM

***Effets des galactomannanes de graines de
caroube sur la viscosité d'un lait écrémé et sur le
développement de souches bénéfiques***

Laboratoire des Microorganismes Bénéfiques, des Aliments Fonctionnels et de la Santé

(LMBAFS)

Composition du jury de soutenance

Nom et Prénom	Grade	Qualité	Appartement administrative
RIAZI Ali	Pr	Président	Université de Mostaganem
BENSALAH Farid	Pr	Examineur	Université d'Oran
ABBOUNI Bouziane	Pr	Examineur	Université de Sidi-Bel-Abbes
DILMI BOURAS Abdelkader	pr	Directeur de mémoire	Université de Chlef
Ziar Hasnia	Docteur	codirectrice de mémoire	Université de Mostaganem

Année Universitaire 2013-2014

Dédicace

Je dédie ce travail à

- *La mémoire de mon père que DIEU le tout puissant et miséricordieux l'accueille dans son vaste paradis. Ton souvenir reste à jamais gravé dans ma mémoire.*
- *Celle qui s'est toujours dévouée et sacrifiée pour moi; celle qui m'a aidée du mieux qu'elle pouvait pour réussir et qui a toujours été là dans mes moments de détresse, ma très chère mère*
- *Mes très chers frères Dilmi, Karim et Abdallah qui m'ont toujours encouragé, dans les moments de doute et de fatigue particulièrement.*
- *Mes très chères sœurs Khadidja et Meryouma pour leur soutien constant tout au long de la réalisation de ce modeste travail.*
- *Tous mes oncles, tantes, cousins et cousines*
- *Ma très chère amie Fatima pour son aide précieuse*
- *L'ensemble des personnes qui, de près ou de loin, ont permis l'avancée et l'aboutissement de ce travail.*

Meriem Sadoud,

Novembre 2013, Mostaganem

Avant-propos

Mes remerciements les plus forts sont adressés à mon Directeur de mémoire, le professeur Mr Dilmi Bouras A. de l'université Hassiba Ben Bouali de Chlef de m'avoir accepté dans son laboratoire. Je lui exprime toute ma gratitude pour ses conseils et son aide matérielle et morale précieuse. Je le remercie encore pour les enseignements qu'il m'a prodigués pendant les années d'ingénieur et de l'année théorique de cette formation.

Ce travail a été codirigé par le Dr Ziar H. , Maître de conférences à l'université Abdelhamid Ibn Badis à Mostaganem, que je tiens à remercier pour m'avoir fait bénéficiée de son expérience et de sa compétence, pour sa disponibilité, ses corrections et ses relectures averties, ainsi que pour les enseignements qu'elle m'a prodigué durant l'année théorique de ma formation de magister. Je la remercie également pour l'attention qu'elle m'a accordée lors de la réalisation de ce travail. Je vous remercie vivement pour vos précieux conseils.

Je souhaite témoigner mes remerciements tous aussi sincères à mon professeur Riazi A., directeur du Laboratoire des Microorganismes Bénéfiques , des Aliments Fonctionnels et de la Santé (LMBAFS) de l'université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem pour m'avoir accueillie au sein de son équipe et sans lequel ce travail n'aurait pu aboutir. Je tiens à le remercier vivement pour sa confiance, pour son soutien lors des moments difficiles pour faire évoluer ce projet. Je le remercie encore pour sa disponibilité et les nombreuses discussions scientifiques enrichissantes que nous avons eues ensemble. Il a toujours su me consacrer son temps. Je tiens à le remercier également d'avoir accepté de présider le jury de ma soutenance.

Je suis très honorée par la participation du Professeur Bensalah F. de l'université d'Oran et du professeur Abbouni B. de l'université de Sidi Bel Abbès à mon jury d'examen. Leurs critiques sont fortement souhaitées et très attendues.

J'adresse également toute ma reconnaissance à tous mes enseignants de l'année théorique de cette formation: M^r Halbouche, M^{lle} Mokhtar, M^r Bekkada et à tous mes enseignants de l'université de Chlef en particulier M^r Sadoud M., M^{me} Koiche M., M^{me} Thabti M., et M^{me} Meziane M.

Je remercie tout mes amies et collègues du laboratoire de bioressources naturelles locales de l'université Hassiba Ben Bouali de Chlef pour tous les bons moments passés avec eux et pour leur contribution à la bonne ambiance qui règne dans ce laboratoire, et en particulier, Toualbia M., Nemar F., Halima Mansour S. et Naas H., ainsi que mes collègues du Laboratoire des

Microrganismes Bénéfiques, des Aliments Fonctionnels et de la Santé (LMBAFS) de l'université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, et je pense à Thabet F., Elaoufi M., Moussaoui B., Rahali A. et Bouziane N. je leur exprime ma profonde sympathie et leur souhaite une bonne continuation.

Meriem Sadoud

Novembre 2013

Table des matières

Avant-propos

Dédicace

Résumé

Abstract

Listes des tableaux et des figures

Introduction

Partie bibliographique

	Page
Chapitre I : LE CAROUBIER	
I.1/ Description botanique du caroubier.....	3
I.2/ Répartition géographique du caroubier.....	4
I.3/ Reproduction biologique du caroubier.....	4
I.4/ Le fruit du caroubier (la gousse)	5
I.4.1/ Composition chimique de la pulpe de gousses du caroubier.....	6
I.5/ La graine de caroube.....	7
I.5.1/ Composition chimique de la graine.....	7
I.6/ Intérêts et utilisations du caroubier.....	9
I.6.1/L'arbre.....	9
I.6.2/ Les gousses de caroubier.....	10
I.6.2.1/ La pulpe de gousses.....	10
I.6.2.2/ Les graines de caroube.....	12
I.6.3/ Les fleurs, les feuilles et l'écorce	12
Chapitre II: LES GALACTOMANNANES	
II.1/ Généralités	13
II.2/ Description des galactomannanes	14
II.3/ Distributions des galactomannanes.....	14
II.4/ Rôle physiologique des galactomannanes dans la graine.....	15
II.5/ Structure moléculaire des galactomannanes.....	15
II.5.1/ La teneur en galactose.....	17
II.5.2. Répartition des unités galactoses sur la chaîne de mannane.....	18

II.6/ Technologie de production des galactomannanes à partir des graines de légumineuses.....	19
II.6.1/ Obtention de la gomme brute.....	20
II.6.2.3/ Extraction et purification des galactomannanes.....	20
II.7/ Caractérisation des galactomannanes.....	21
II.8/ Propriétés physicochimiques des galactomannanes.....	25
II.9/ Intérêts des galactomannanes.....	25
II.9.1/ Intérêt technologique des galactomannanes.....	27
II.9.2/ Intérêt physiologique des galactomannanes.....	28
II.9.2.1/ Effet sur la glycémie postprandiale, la réponse insulinique et le diabète.....	29
II.9.2.2/ Effet sur l'hypercholestérolémie et les maladies cardiovasculaires.....	30
II.9.2.3/ Devenir des galactomannanes dans le gros intestin.....	30
Chapitre III: LA FERMENTATION LACTIQUE DU LAIT	
III.1/ Le lait.....	31
III.1.1/ Généralités et définitions.....	31
III.1.2/ Composition chimique du lait.....	31
III.1.2.1/L'eau.....	31
III.1.2.2/ Les protéines.....	32
III.1.2.2.1/ Les caséines.....	32
III.1.2.2.2/ Les protéines du lactosérum.....	33
III.1.2.3/ La matière grasse du lait.....	35
III.1.2.4/ Les glucides.....	35
III.1.2.5/ Les vitamines.....	35
III.1.2.6/La matière saline.....	36
III.1.2.7/ Eléments biologiques du lait.....	36
III.2/ La fermentation lactique du lait.....	37
III.2.1/ Définitions.....	37
III.2.2/ Les différents types de laits lactofermentés.....	37
III.2.2.1/ Laits fermentés obtenus par action de bactéries lactiques thermophiles.....	37
III.2.2.2/ Laits fermentés obtenus par action de bactéries lactiques mésophiles.....	38
III.2.3/ Les ferments lactiques (bactéries lactiques).....	38
III.2.3.1/ Propriétés des bactéries lactiques.....	39
III.2.3.1.1/ Propriétés technologiques des bactéries lactiques.....	39

III.2.3.1.1/ Propriétés thérapeutiques des bactéries lactiques.....	42
III.2.4/ Intérêt des laits lactofermentés.....	44
III.2.5/ Principaux défauts résultant de la fabrication de laits fermentés (cas du yaourt)	46
III.2.5.1/ Synérèse.....	46
III.2.5.2/ Les défauts de texture.....	47
III.2.5.3/ Effet des hydrocolloïdes.....	47

Partie expérimentale

Chapitre IV : MATERIEL ET METHODES

IV.1/ Matériel.....	49
IV.1.1/ Matériel végétal.....	49
IV.1.2/ Le lait écrémé.....	49
IV.1.3/ Les ferments lactiques.....	49
IV.2/ Méthodes.....	50
IV.2.1/ Obtention des galactomannanes à partir des graines de caroube.....	50
IV.2.1.1/ Préparation de la gomme brute.....	50
IV.2.1.2/ La purification de la gomme brute de caroube.....	52
IV.2.2/ Fermentation du lait écrémé en présence ou en absence de LBG.....	52
IV.2.2.1/ Revivification et vérification de l'identité des souches.....	52
IV.2.2.2/ Préparation du lait stérilisé.....	52
IV.2.2.3/ Préparation du mélange lait écrémé/LBG.....	53
IV.2.2.4/ Conditions et types de cultures envisagées.....	53
IV.2.2.4.1/Préparation d'inoculum.....	53
IV.2.2.4.2/ Les différents types de culture.....	54
IV.2.2.5/ Les milieux de cultures utilisés et les conditions de croissance.....	54
IV.2.3/ L cinétique d'acidification.....	55
IV.2.4/ La cinétique de croissance.....	56
IV.2.5/ Suivi de l'évolution post fermentaire du lait écrémé conservé à 4°C.....	57
IV.2.5.1/ Suivi de la post-acidification du lait.....	57
IV.2.5.2/ Détermination de la survie des souches bactériennes dans le lait fermenté conservé à 4°C.....	57
IV.2.5.3/ Mesure et suivie de la viscosité du lait écrémé.....	57
IV.2.5.4/ Mesure et suivie de la synérèse.....	58
IV.2.6/ Analyse statistique.....	58

Chapitre V : RESULTATS ET DISCUSSION

V.1/ Obtention des galacomannanes à partir des graines de caroube de caroube.....	59
V.1.1/ Extraction de la gomme brute.....	59
V.1.2/ Purification de la gomme brute.....	60
V.2/ Fermentation du lait écrémé en absence et en présence de LBG.....	63
V.2.1/ Effet du LBG sur la cinétique d'acidification du lait et la croissance des souches.....	63
V.2.1.1/ La cinétique d'acidification.....	63
V.2.1.2/ La cinétique de croissance.....	69
V.2.2/ Effet du LBG sur l'évolution post fermentaire du lait fermenté au cours de l'entreposage à 4°C pendant 28 jours.....	78
V.2.2.1/ Evolution du pH du lait fermenté à 4°C.....	78
V.2.2.2/ Viabilité des bactéries lactiques et des souches bénéfiques au cours de l'entreposage à 4°C.....	81
V.3/ Effet des galactomannanes sur la viscosité, la synérèse et l'apparence du lait fermenté.....	89
Conclusion	95

Références bibliographiques

Résumé

Cette étude est une exploration des effets des galactomannanes de caroube et de cultures starters (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus* de référence YF-L811) sur les paramètres de croissance et de synthèse d'acides organiques, les propriétés rhéologiques d'un lait à 0% (P/V) de matière grasse à 10% (P/V) de matière sèche fermenté en présence de deux souches bénéfiques (du genre *Bifidobacterium*, *animalis* ssp *lactis* = Bb12, du genre *Lactobacillus rhamnosus* = LbRE-LSAS). La post-évolution (post-acidification du lait fermenté et la survie post-fermentaire des différentes souches) ainsi que la viscosité et la synérèse ont été évaluées.

Les résultats obtenus montrent que le temps de coagulation du lait (celui qui permet d'atteindre un pH voisin de 5) est réduit lorsqu'il y a présence de LBG. Le taux d'amélioration de la vitesse de croissance des souches lactiques par les galactomannanes utilisés à des taux de 0.01 à 0.1% (P/V) varie de 14.38 à 36.27% selon la souche considérée et la concentration de LBG c'est la concentration de 0.1% qui s'est avérée la plus efficace dans l'accumulation de biomasse.

L'étude de la survie des souches lactiques au cours des 28 jours d'entreposage à 4°C a montré que les meilleurs taux de survie ont été enregistrés en présence de galactomannanes et varient de 64.59 à 88.99%. Les mesures de viscosité du lait fermenté indiquent que ces polymères améliorent la viscosité et des teneurs de 0.1% permettent d'atteindre les plus fortes viscosités (1.586 Pa.s) après deux semaines d'entreposage réfrigéré. L'évaluation de la texture du lait fermenté par le dosage de la quantité du lactosérum expulsée hors du gel coagulé a montré que des teneurs de 0.05 à 0.1% préviennent le problème de synérèse durant toute la période de réfrigération, alors qu'il est atténué en présence de 0.01 à 0.02% de LBG. En effet, Ces polymères permettent d'améliorer la texture, la viscosité et l'onctuosité du produit fini et ont la capacité de retenir les molécules d'eau, diminuant ainsi la séparation du lactosérum et des caséines coagulées du lait.

Mots clés : LBG-Lait écrémé, Culture starters-Souches bénéfiques-Croissance-pH, post-acidification-Survie, Viscosité-Synérèse.

Abstract

This study is an exploration of the effects of carob galactomannans and starters cultures (*Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* of reference YF-L811) on the parameters of growth and synthesis of organic acids, the rheological properties of a milk with 0% (W/V) fat and 10% (W/V) of dry matter fermented in the presence of two beneficial bacteria (of the kind *Bifidobacterium, animalis ssp lactis* = Bb12 and of the kind of *Lactobacillus: rhamnosus* = LbRE-LSAS). The post-evolution (post-acidification of fermented milk and survival of the various bacteria) as well as the viscosity and syneresis were evaluated.

The obtained results show that the clotting time of milk (one that achieves a pH close to 5) is reduced when there is presence of Locust bean gum. The improvement rate of growth of the strains by the galactomannans used at 0.01 to 0.1% (W/V) varies from 14.38 to 36.27% according to the strains and the concentration of LBG. A level of 0.1% of LBG is proved to be most effective in the accumulation of biomass.

The study of the lactic strains survival during 28 days of storage at 4°C, shows that the best rates of survival rates was recorded in the presence of galactomannanes and it varies from 64.59 to 88.99%. The measurements of viscosity of fermented milk indicate that these polymers improve viscosity and the contents of 0.1% allow to reach strongest viscosities (1.586 Pa.s) after two weeks of cooled storage. The evaluation of the consistency an rheological properties of the fermented milk by the determination of the whey separation showed that a rate of 0.05 to 0.1% of locust baen gum prevent the problem of syneresis during all the period of refrigeration, whereas it is attenuated at low levels in presence of 0.01 to 0.02% of LBG. Indeed, these polymers improve texture, the viscosity and the smooth-feel of the end product and have the ability to retain the water molecules, thus decreasing the separation of the whey and coagulated caseins of milk.

Keywords: Locust bean gum-Skimmed milk, Starters cultures-Beneficial strains-Growth-pH, Gost-acidification, Survival, Syneresis.

Liste des abréviations

ANOVA : analyse de variance à un facteur

St. thermophilus: *Streptococcus thermophilus*

Lb. bulgaricus: *Lactobacillus delbruekii* ssp. *bulgaricus*

Bifidobacterium animalis ssp. *lactis*: Bb12

Lactobacillus rhamnosus: LbRE-LSAS

Ln: logarithme népérien

Log : logarithme décimale

LBG: locust bean gum ou galactomannanes de graines de caroube

UFC/ml: unite formant colonie par millilitre

Pa.s : pascalseconde

Liste des tableaux et figures

Liste des tableaux

Page

Partie bibliographiques

- [Tableau 1](#): Composition moyenne de la pulpe de la gousse (Avallone et al., 1997; Makris et Kefalas, 2004; Dakia, 2011).....5
- [Tableau 2](#): Composition chimique de la graine de caroubier (%) (Lazaridou et al., 2000; Dakia et al., 2007 ; Dakia, 2011).....8
- [Tableau 3](#): Principaux produits dérivés de la gousse (pulpe et graines) et quelques majeures utilisations (Batlle et Tous, 1997)..... 11
- [Tableau 4](#): Propriétés structurales des principales galactomannanes (Mahungu et Meyland 2008).....16
- [Tableau 5](#): Propriétés moléculaires des galactomannanes des gommes de caroube (LBG), de guar (GG), de tara (TG) et de fenugrec (FG).....18

Partie expérimentale

- [Tableau 6](#): Taux de diminution du pH (ΔpH) en unités pH entre le début de fermentation et le point de coagulation du lait ; et vitesse spécifique maximale d'acidification ($V_A = \Delta\text{pH} / \Delta t$ en h^{-1}) dans les différentes cultures réalisées.....68
- [Tableau 7](#): Vitesses spécifiques maximales de croissance (μ_{max} en h^{-1}); temps de génération (T_g en h) et temps de coagulation (T_c en h) des souches bénéfiques en absence (Témoin) et en présence des ingrédients protéiques.....76
- [Tableau 8](#): Evolution du taux de synérèse dans le lait écrémé fermenté additionné de différentes concentrations de LBG (0 à 0.1%) par les bactéries lactiques en absence ou en présence d'une souche bénéfiques.....92

Liste des figures

Partie bibliographique

- [Figure 1](#): Le fruit du caroubier avant maturité (Prat et Rubinstein, 2012).....5
- [Figure 2](#): Gousses montrant l'arrangement des graines dans celles-ci (Lucas, 2008).....5
- [Figure 3](#): Les graines du caroubier (a) schéma générale et (b) caractéristiques dimensionnelles (Karababa et Cokuner, 2013).....7
- [Figure 4](#): Coupe transversale d'une graine de caroube (Dakia et al., 2008).....8
- [Figure 5](#): Structure moléculaire des galactomannanes (Secouard et al., 2007).....15
- [Figure 6](#): Différents types de distribution des résidus de galactose le long de la chaîne de mannane : une disposition régulière (a), une disposition aléatoire (b) et une disposition en blocs uniformes (c) (Mathur, 2012).....19
- [Figure 7](#): Représentation schématique des zones non substituées (absence d'unité galactose) responsables des interactions moléculaires dans les galactomannanes en solution semi diluée (Rinaudo, 2001).....23
- [Figure 8](#): Modèle de micelle de caséine et sous-micelle de caséine (Vignola et al., 2002).....33
- [Figure 9](#) : Dégradation du glucose par les bactéries lactiques (De Roissart et Luquet, 1994)..40

Partie expérimentale

- [Figure 11](#): Trempage des graines de caroube à 100°C pendant 1 heure.....59
- [Figure 12](#): Séparation des trois composants constitutifs enveloppes, germe et endospermes de la graine60
- [Figure 13](#): Les étapes de la purification de la gomme de caroube : solubilisation (a), centrifugation (b), précipitation à l'éthanol (c), lavage à l'acétone (d) et séchage (c).....62
- [Figure 14](#): La coagulation du lait écrémé après fermentation (en absence d'une souche bénéfique).....63

Figure 15: Cinétique d'acidification du lait écrémé par la culture mixte entre les deux starters du yaourt (*Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*) à 42° C et en présence de 0% (témoin) : (■), ou en présence de 0.01% : (■), 0.02% : (■), 0.05% : (■) ou 0.1% LBG : (■). Dans toutes les cultures, l'inoculum est à une concentration finale de 10^6 à 10^7 UFC/ml et utilisé à 3% (1 :1). Les valeurs représentent la moyenne (m) de 3 déterminations (n=3) ± Et, T₀=0h, T₁=2h, T₂=4h, T₃=6h, T₄= temps de coagulation (pH≈4.7).....64

Figure 16: Cinétique d'acidification du lait écrémé par la culture mixte entre les starters du yaourt (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*) et une souche bénéfique: Bb12 (A) ou LBRE-LSAS (B) à 42°C et en présence de 0% (■) (témoin), de 0.01 (■), 0.02 (■), 0.05 (■) et 0.1% (■) de galactomannanes de caroube. Dans toutes les cultures mixtes, l'inoculum est à une concentration finale de 10^6 à 10^7 UFC/ml et utilisé à 3% (1 :1 :1). Les valeurs représentent la moyenne (m) de 3 déterminations ± Et (n = 3). T₀ = 0h, T₁ = 2h, T₂ = 4h et T₃ = temps de coagulation (pH ≈4.7).....67

Figure 17: Cinétique de croissance des starters du yaourt (*Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*) à 42°C sur milieu lait écrémé et en présence de: 0% (■), 0.01% (■), 0.02% (■), 0.05% (■) ou 0.1% (■) galactomannanes de caroube. Dans toutes les cultures, l'inoculum initial est de l'ordre de 10^6 à 10^7 UFC/ml et utilisé à 3% (1 :1). Les valeurs représentent la moyenne (m) de trois déterminations ± Et (n=3). T₀=0h, T₁=2h, T₂=4h et T₃=6h, T₄= temps de coagulation (pH ≈4.7).....71

Figure 18: Cinétique de croissance des starters du yaourt (*Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*) et la souche bénéfique *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* : Bb 12 à 42°C sur milieu lait écrémé et en présence de: 0% (■) (témoin), 0.01% (■), 0.02% (■), 0.05% (■) ou 0.1% (■) galactomannanes de caroube. Dans toutes les cultures, l'inoculum initial est de l'ordre de 10^6 à 10^7 UFC/ml et utilisé à 3% (1 :1 :1). Les valeurs représentent la moyenne (m) de trois déterminations ± Et (n=3). T₀=0h, T₁=2h, T₂=4h et T₃=6h, T₄= temps de coagulation (pH ≈4.7).....73

Figure 19: Cinétique de croissance des starters du yaourt (*Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*) et la souche bénéfique *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS à 42°C sur milieu lait écrémé en présence de: 0% (■) (témoin), 0.01% (■), 0.02% (■), 0.05% (■) ou 0.1% (■) de galactomannanes de caroube. Dans toutes les cultures, l'inoculum initial est de l'ordre de 10^6 à 10^7 UFC/ml et est utilisé à 3% (1:1:1). Les valeurs représentent la moyenne (m) de trois déterminations \pm Et (n=3). $T_0=0h$, $T_1=2h$, $T_2=4h$ et $T_3=6h$, $T_4=$ temps de coagulation (pH \approx 4.7).....74

Figure 20: Evolution post-fermentaire au cours de l'entreposage à 4°C du lait fermenté à 42°C par les starters du yaourt (*Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*) seules (A) ou en coculture avec la souche bénéfique Bb12 (B), ou la souche bénéfique LBRE-LSAS (C) en présence de: 0% (■) (témoin), 0.01% (■), 0.02% (■), 0.05% (■) et 0.1% (■) galactomannanes de graines de caroube. Dans toutes les cultures, l'inoculum initial est de l'ordre de 10^6 à 10^7 UFC/ml et est utilisé à 3% (1:1). Les valeurs représentent la moyenne (m) de trois déterminations \pm Et (n=3). $T_0=0h$, $T_1=2h$, $T_2=4h$ et $T_3=6h$, $T_4=$ temps de coagulation (pH \approx 4.7).....79

Figure 21: Viabilité au cours de l'entreposage à 4°C pendant 28 jours des bactéries lactiques dans le lait écrémé fermenté à 42°C par *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* en présence de 0% (■) (témoin), 0.01% (■), 0.02% (■), 0.05% (■) et 0.1% (■) de galactomannanes de caroube. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 3 déterminations \pm Et (n = 3).....82

Figure 22: Viabilité au cours de l'entreposage à 4°C pendant 28 jours des bactéries lactiques dans le lait fermenté à 42°C par *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* en coculture avec la souche bénéfique *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb 12 en présence de 0% (■), 0.01% (■), 0.02% (■), 0.05% (■) ou 0.1% (■) galactomannanes de caroube. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 3 déterminations \pm Et (n = 3).....85

- [Figure 23:](#) Viabilité au cours de l'entreposage à +4°C des souches lactique *Strptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* dans le lait écrémé fermenté à 42°C en présence de 0% (■), 0.01%(■), 0.02% (■), 0.05% (■) et 0.1% (■) de galactomannanes de caroube. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 3 déterminations ± Et (n = 3).....86
- [Figure 24:](#) Observation visuel de l'apparence de lait écrémé fermenté en présence (a) et en absence de galactomannanes (b).....89
- [Figure 25:](#) Viscosité (Pa.s) du lait fermenté à 42°C par la culture mixte de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* (A), *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* et la souche bénéfique Bb12 (B), *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* et la souche bénéfique LBRE-LSAS (C) en présence de 0% (témoin ■), 0.01% (■), 0.02% (■) et 0.05% (■) ou 0.1% (■) galactomannanes de caroube. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 3 déterminations ± Et (n= 3).....91

INTRODUCTION

L'élaboration de produits laitiers constitue un moyen de diversifier, d'augmenter et de valoriser la consommation du lait. En effet, l'intérêt nutritionnel de ce groupe alimentaire est important, parce que, d'une part, ces produits laitiers constituent une matrice facilement accessible, riche en une grande variété de nutriments essentiels, et d'autre part, peuvent servir de vecteurs d'ingrédients alimentaires fonctionnels (phytostérols, prébiotiques), de bactéries probiotiques et de source riche pour le développement d'une grande variété d'ingrédients novateurs de promotion de la santé qui trouvent leur voie sur le marché ([Carnier et al., 2004](#); [Steijns, 2008](#)).

Les produits laitiers fermentés ont représenté pendant des millénaires, pour de nombreuses populations, une alimentation privilégiée et connaissent depuis quelques années un développement considérable, grâce à l'intérêt qu'y trouvent les consommateurs sur le plan organoleptique, nutritionnel, voire thérapeutique ([FAO, 1995](#)). Ainsi, les recommandations diététiques reconnaissent la contribution de ces produits à une alimentation saine, et pourtant il est souvent recommandé d'utiliser préférentiellement la gamme des produits pauvres en matière grasse (produit écrémé) à cause de la quantité relativement forte d'acides gras saturés contenus dans le lait et leur impact «supposé» sur le risque de développer des maladies cardiovasculaires ([FAO/OMS, 2003](#)).

Toutefois, la réduction de la matière grasse dans les produits laitiers fermentés peut amener à des défauts de texture et des altérations de la saveur, telle qu'une fermeté inadéquate du gel, des variations de viscosité et une expulsion du lactosérum (la synérèse) ([Teggatz et Morris, 1990](#)). En effet, les polymères excrétés par les bactéries lactiques (exopolysaccharides) lors des fermentations, permettent d'améliorer la texture, la viscosité et l'onctuosité du produit fini et ont la capacité de retenir les molécules d'eau, diminuant ainsi la séparation du lactosérum et des caséines coagulées du lait.

Cependant, le caractère de production d'exopolysaccharides par certaines souches lactiques est extrêmement instable dans les ferments industriels sans que la cause en ait été encore déterminée. De plus, il est difficile de corréler la viscosité du produit avec la production d'exopolysaccharides, étant donné que la viscosité ne dépend pas uniquement de la quantité d'exopolysaccharides présente, mais dépend également de la structure et du poids

moléculaire de ces composés, ainsi que de leur interaction avec les protéines du lait au cours de la fermentation (Luquet et Corieu, 2005).

Dans de nombreuses formulations, des hydrocolloïdes sont employés afin de compenser le manque de texture dû à la réduction de la teneur en matières grasses. Ces agents épaississants et/ou gélifiants sont de nature principalement osidique. Ils améliorent la consistance (augmentent la viscosité) et réduisent la synérèse. Les agents fréquemment utilisés sont la gélatine, les pectines, les carraghénanes, les dérivés de méthylcellulose, la gomme arabique, l'amidon et les galactomannanes (Everett et McLeod, 2005). Ces derniers, sont des polysaccharides de réserve que l'on trouve dans l'endosperme translucide de nombreuses graines de plantes légumineuses (Daas *et al.*, 2000); en particulier les graines de caroube.

La gomme de caroube ou Locust Bean Gum (E410) est un polysaccharide appartenant au groupe des galactomannanes et est obtenue à partir de graines de caroube (*Ceratonia siliqua L.*); arbre du littoral méditerranéen. Ces polymères montrent un certain nombre de caractéristiques très recherchées en agroalimentaire, en particulier leur capacité de gélification élevée.

Toutefois, l'apport de ces constituants supplémentaires doit être effectué de façon contrôlée, car il est connu que des ajouts, même en faible quantité à un système déjà complexe peuvent avoir des conséquences surprenantes sur l'apparence des produits et sur leurs propriétés gustatives (Carnier *et al.*, 2004). Ainsi nous nous sommes intéressés à étudier l'influence que pourront exercer ces polymères sur les propriétés rhéologiques du lait écrémé, et par conséquent l'amélioration de la texture et la prévention du phénomène de synérèse; ainsi que sur le développement des ferments lactiques. Pour ce faire, notre travail comprend quatre principaux objectifs :

- Extraction et purification des galactomannanes à partir des graines de caroube;
- Elaboration d'un yaourt à partir d'un lait écrémé additionné de galactomannanes et en présence de souches bénéfiques;
- Etude de l'impact de ces polymères sur la vitesse d'acidification du lait écrémé et sur le développement des souches starters du yaourt et des souches bénéfiques;
- Etude de l'évolution post-fermentaire du lait fermenté entreposé à 4°C pendant 28 jours.

Chapitre I : LE CAROUBIER

I.1/ Description botanique du caroubier

Le nom scientifique du caroubier (*Ceratonia siliqua* L. $2n = 24$) (Barracosa et al., 2007) dérive du grec *Keras* signifiant « petites cornes » en référence à ses gousses en forme de cornes à maturité et du latin *siliqua* désignant une silique ou gousse, faisant allusion à la dureté et à la forme du fruit (Battle et Tous, 1997).

Le genre *Ceratonia* appartient à la famille des légumineuses (*Fabacées*) de l'ordre des *Rosales*, de la sous-famille des *Césalpiniacées*. Deux espèces du genre *Ceratonia* sont connues, *Ceratonia oreoethauma* et *Ceratonia siliqua* (Tucker, 1992).

Le caroubier est un arbre sclérophylle à feuillage abondant, persistant et très dense (Ait Chitt et al., 2007), et à croissance lente. Il peut atteindre une taille allant de huit à quinze mètres de hauteur et vivre jusqu'à 500 ans. Il est à cime très étalé, son tronc à la base peut avoir deux à trois mètres de circonférence (Rajeb, 1995), avec un système racinaire développé pénétrant le sol aux profondeurs de 18 à 27 mètres (Nussinovitch, 1997).

Le caroubier présente une bonne résistance à la sécheresse en s'adaptant morphologiquement et physiologiquement au manque d'eau, mais est sensible au froid. Il constitue aussi un outil de lutte contre la déforestation et la désertification en limitant l'érosion des sols (Biner et al., 2007). A basse altitude et autour d'un petit agrégat de populations rurales, les caroubiers ont été empiriquement sélectionnés et multipliés. Dans les systèmes agro-forestiers, la culture des caroubiers reste encore traditionnelle et sporadique, sans greffage et aucune fertilisation (Sidina et al., 2009).

Les feuilles du caroubier mesurent 10 à 20 cm de longueur et sont persistantes, composées, vertes et paripennées, à trois à cinq paires de folioles ovales, entières, coriaces, luisantes en dessus, plus claires et mates en dessous et légèrement échancrées au sommet (Rajeb, 1995).

Les fleurs sont verdâtres, de petite taille (6 à 16 mm de longueur), spiralées et réunies en un grand nombre pour former des grappes droites et axillaires, plus courtes que les feuilles à l'aisselle desquelles elles se sont développées (Battle et Tous, 1997).

I.2/ Répartition géographique du caroubier

Le caroubier a été cultivé depuis l'antiquité dans toutes les régions du bassin méditerranéen, principalement dans les endroits doux et secs où le climat favorise sa croissance (Bernardo-Gil et al., 2011). On le rencontre actuellement en allant de l'Espagne, l'Italie, la Grèce, le Portugal jusqu'au Maroc et l'Algérie (Dakia et al., 2008). Plus récemment, le caroubier a été introduit dans des zones chaudes et semi-arides d'Australie, Californie, Arizona, Chili, Mexique et l'Afrique du Sud (Correira et Martins-Loução, 2005). La moyenne de sa production mondiale est de 2000 à 3500 Kg/ha (Sánchez et al., 2010).

I.3/ Reproduction biologique du caroubier

Le caroubier est un arbre dioïque parfois hermaphrodite et rarement monoïque, dont on distingue trois formes de fleurs (fleurs mâles, fleurs femelles et fleurs hermaphrodites). Ces fleurs sont portées sur différents pieds. Les pieds mâles sont stériles et improductifs, les fleurs sont initialement bisexuées, mais durant le développement de la fleur, il y a suppression d'un sexe (Rejeb, 1995).

La floraison a lieu aux mois d'Août à Novembre (Batlle et Tous, 1997), la pollinisation des fleurs du caroubier est, en grande partie, assurée par les insectes (Rejeb et al., 1991) mais aussi par le vent. Les trois sexes de fleur sécrètent des substances nectarifères dont la quantité et la contenance en sucre sont élevées dans la fleur femelle par rapport à son homologue mâle (Konaté, 2007).

La fructification, chez le caroubier, se situe entre les mois de Juillet et Décembre de l'année qui suit la floraison, selon les régions et les cultivars (Aafi, 1996).

Selon Ait Chitt et al. (2007), la croissance du fruit du caroubier passe par trois stades de développement:

- **Le premier stade** correspond à une croissance lente en automne et en hiver durant lequel la gousse montre une légère augmentation du poids.
- **Le deuxième stade** correspond à une croissance rapide entre les mois d'Avril et Août caractérisé par une période d'activité de la gousse en début printemps.
- **Au troisième stade** la gousse s'accroît lentement, mûrit et se durcit en Juin, change de la couleur verte en brun. Ainsi, la gousse devient mûre après dix mois.

I.4/ Le fruit du caroubier (la gousse)

Le caroubier est cultivé pour son fruit (la gousse) et pour les graines contenues dans celle-ci. Ainsi l'utilisation des produits du caroubier, comme une source riche en composés bioactifs naturels, est devenue le centre d'intérêt de nombreuses recherches (Bernardo-Gil et al., 2011).

Le fruit du caroubier est une gousse pendante se développe très lentement et nécessitant neuf à dix mois pour atteindre la maturité (Ait Chitt et al., 2007). Il est de grande taille avec une longueur de 14.56 ± 1.97 cm, une largeur de 1.82 ± 0.16 cm et une épaisseur de 0.88 ± 0.06 cm, son poids est de 14.91 ± 2.32 g (Bravo et al., 1994).



Figure 1: Le fruit du caroubier avant maturité (Prat et Rubinstein, 2012).



Figure 2: Gousses montrant l'arrangement des graines dans celles-ci (Lucas, 2008).

Le fruit est indéhiscent après maturité, il est vert puis brun et au moment de la maturité brun foncé à noir. Il est sinueux sur les bords, aplati, droit ou arqué et présente un tissu pulpeux sucré et rafraîchissant. La gousse est séparée à l'intérieur par des cloisons pulpeuses et renferme des graines brunes (figures 1 et 2) (Batlle et Tous, 1997).

La pulpe et les graines sont les deux principaux constituants de la gousse du caroubier et représentent respectivement 90% et 10% de son poids total (Albanell et al., 199; Bernardo-Gil et al., 2011). La caroube est comestible et convoitée pour sa pulpe farineuse, jaune pâle, au goût et sucrée chocolaté (Dakia et al., 2003).

I.4.1/ Composition chimique de la pulpe de gousses du caroubier

La composition chimique de la pulpe de gousses dépend en général de la variété, du climat, des techniques de cultures, de l'origine et parfois de la période de récolte (Albanell et al., 1991; Petit et al., 1995). La pulpe de gousses représente 90% de la masse du fruit, ses constituants chimiques majeurs sont l'eau, les hydrates de carbone, les protéines et acides aminés, les lipides et acides gras, les minéraux, les vitamines, les polyphénols, les fibres solubles et insolubles et les cendres (Youssif et Alghzawi, 2000) (Tableau 1).

Tableau 1: Composition moyenne de la pulpe de la gousse. Avallone et al., 1997; Makris et Kefalas, 2004; Dakia, 2011).

Constituant	Concentration (g.100 g ⁻¹)
Humidité	3.6 - 18.0
Cendres	2.0 - 3.0
Lipides	0.4 - 0.6
Protéines	2.0 - 6.0
Sucres totaux	48.0 - 56.0
Fibres	27.0 - 40.0
Polyphénols	18.0 - 20.0

La pulpe de gousses de caroubier est très riche en sucre (48 à 56%) en particulier, le sucrose (65 à 75%) (Petit et al., 1995), le fructose (3 à 8%) et le glucose (3 à 5%) (Avallone et al., 1997), ce qui lui confère un goût très sucré (Biner et al., 2007). Mais pauvre en protéines (2-6%) et en lipides (0.4- 0.6%) (Avallone et al., 1997). Selon Ayaz et al. (2009), les acides aspartique, glutamique, l'alanine, la leucine et la valine représentent 57% des acides aminés totaux de la pulpe. La pulpe contient également une teneur très élevée en fibres (27-40%) et une quantité non négligeable en tanins et en polyphénols (18 à 20%) (Makris et Kefalas, 2004). Par ailleurs, la pulpe est une bonne source de minéraux (K, Ca, Na, Fe et de Mg) (Matthausa et Özcan, 2011) et de vitamines (Makris et Kefalas, 2004).

I.5/ La graine de caroube

La gousse renferme de nombreuses petites graines brunes, biconvexes et extrêmement dures, séparées les unes des autres par des cloisons pulpeuses (Dakia *et al.*, 2003). Chaque gousse peut contenir environ douze graines uniformes et semblables aux graines de pastèque (Dakia, 2011). Ces graines (figure 3) ont une longueur comprise entre 5.5 et 6.0 mm et une largeur comprise entre 3.4 et 4.0 mm (Dakia, 2008).

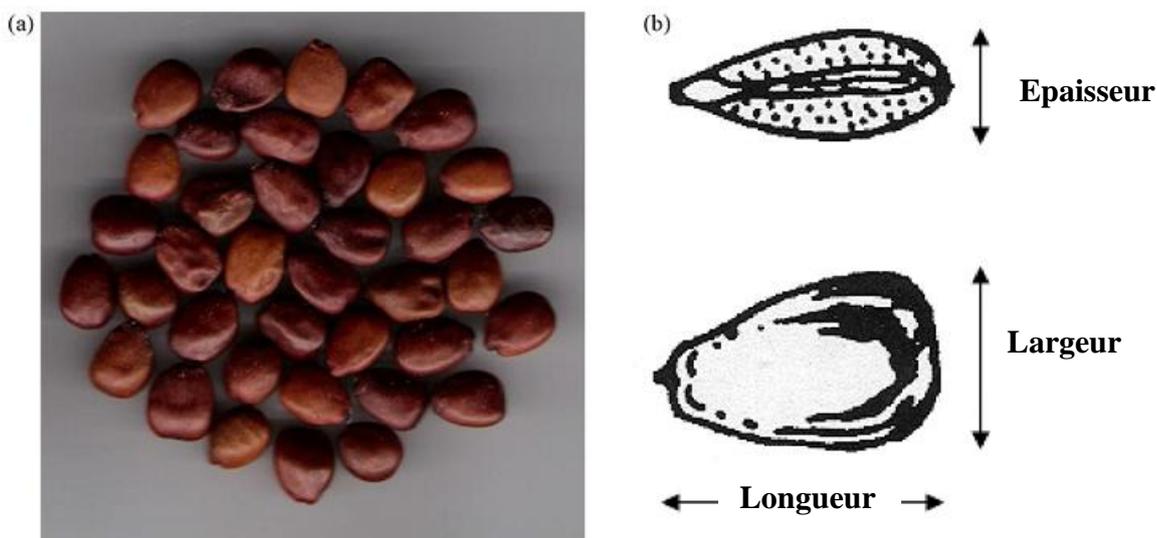


Figure 3 : Les graines du caroubier (a) schéma général et (b) caractéristiques dimensionnelles (Karababa et Cokuner, 2013).

La production mondiale de graines de caroube commerciale est d'environ 32.000 tonnes par an (Battle et Tous, 1997). Le poids constant de ces graines est 0.18 g ce qui correspond exactement à un carat, c'est la raison pour laquelle elles servaient autrefois à peser les pierres précieuses (Hansel, 2008).

I.5.1/ Composition chimique de la graine

Les graines de caroube constituent environ 10% de la masse de la gousse (Bernardo-Gil *et al.*, 2011). Elles sont recouvertes d'une enveloppe résistante de couleur brune: les téguments (Dakia *et al.*, 2007). En-dessous de ceux-ci se trouve l'endosperme, il est majoritairement constitué de galactomannanes (80-91%), avec un contenu protéique de 5 à 6%, 4 à 4% de cellulose et 1% de cendres (Daas *et al.*, 2000; Simoes *et al.*, 2011). On remarque également la présence d'une radicule. Celle-ci possède une valeur énergétique très élevée due à sa richesse

en protéines principalement solubles dans l'eau et de lipides majoritairement insaturés (Dakia et al., 2007) (figure 3).

Selon Dakia et al. (2007), la graine est composée de 30 à 33% d'enveloppe tégumentaire, de 42 à 46% de l'albumen et de 23 à 25% d'embryon.

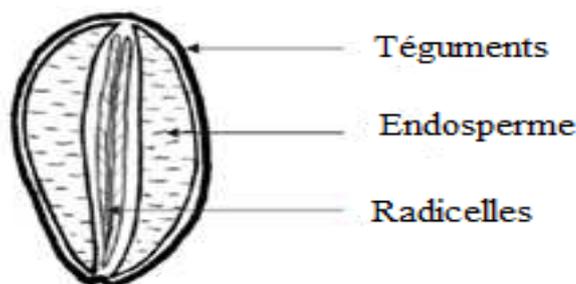


Figure 4: Coupe transversale d'une graine de caroube (Dakia et al., 2008).

La composition chimique de la caroube évaluée par Bouzouita et al. (2007), a démontré que la graine était pauvre en hydrates de carbone et en fibres par rapport à la pulpe, par contre elle contient une quantité appréciable de lipides et de protéines (Tableau 2).

Tableau 2: Composition chimique de la graine de caroubier (%) (Lazaridou et al., 2000; Dakia et al., 2007; Dakia, 2011).

Constituant	Radicelles	Endospermes
Humidité	5.6 - 8.3	5.82 - 9.3
Protéines	54.7 - 67.1	1.82 - 5.20
Lipides	7.1 - 8.2	1.3
Hydrates de carbone	13.3 - 23.9	80 - 92.8
Cendres	5.6 - 6.5	0.95 - 1.0

L'endosperme de la graine de caroubier est composé principalement de galactomannanes qui représentent plus de 90%. Ce polysaccharide est très utilisé comme additif en industries alimentaires et non alimentaires en raison de sa capacité de former des solutions de très hautes viscosité à très faibles concentrations (0.1 à 1%) (Dakia, 2011).

Les radicelles de la caroube possèdent une valeur énergétique très élevée due à son taux important de lipides (environ 6%) majoritairement insaturés (34.4% monoinsaturés et 44.5%

polyinsaturés) et de protéines (54.7 à 67.1%), appelées également « caroubines » (tableau 2) (Dakia et al., 2007).

La caroubine est un mélange composé d'un grand nombre de protéines polymérisées de tailles différentes et solubles dans l'eau (Wang et al., 2001). Il a été rapporté qu'elle possède les mêmes propriétés rhéologiques que le gluten, mais avec une structure plus ordonnée avec des changements mineurs dans la structure secondaire lorsqu'elle est hydratée.

Elle est formée de deux sous-unités (171 et 33 KDa) liées par des liaisons non covalents, et d'autres peptides fortement liés par des interactions disulfures. Elle est également dotée d'une composition bien équilibrée en acides aminés, principalement en arginine, acide aspartique et glutamique (Bengoechea et al., 2008).

Grâce à sa teneur élevée en arginine et acide glutamique, la caroubine est utilisée comme ingrédient dans les aliments fonctionnels pour sportifs, en augmentant ainsi la masse musculaire, la synthèse du collagène et la production du glycogène (Flynn et al., 2002). Elle est également incorporée dans les produits nutraceutiques, dans les aliments diététiques et dans l'alimentation de bétail (Dakia et al., 2007).

I.6/ Intérêts et utilisations du caroubier

Le caroubier est cultivé depuis longtemps pour divers usages (Ait-Chit et al., 2007), c'est un arbre d'importance écologique, industrielle et ornementale indiscutable. En termes de produits, l'arbre et toutes ses composantes sont utiles et particulièrement le fruit (Gaouar, 2011). La pulpe et les graines de cette espèce sont très utilisées comme matière première en industries alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques (Barracosa et al., 2007).

I.6.1/ L'arbre

Actuellement, le caroubier est considéré comme l'un des arbres fruitiers et forestiers les plus performants puisque toutes ses parties (feuilles, fleurs, fruits, bois, écorces et racines) sont utiles et ont des valeurs dans plusieurs domaines (Aafi, 1996).

Compte tenu de sa couronne sphérique, et de son feuillage persistant, dense et brillant, le caroubier est considéré comme un arbre ornemental. Son bois est très apprécié en ébénisterie et pour la fabrication du charbon. L'écorce et les racines sont employées dans le tannage (Ait-

Chit *et al.*, 2007). En Turquie, l'écorce a également été utilisée par la médecine traditionnelle comme remède anti-diarrhée (Konaté, 2007).

I.6.2/ Les gousses de caroubier

Dans les pays producteurs, les gousses de caroube ont été, traditionnellement, utilisées non seulement en alimentation des animaux (Lizardou, 2002), mais aussi en alimentation humaine. Après l'écrasement des gousses et séparation de pulpe et des graines, les produits dérivés de ces deux éléments sont principalement utilisés dans plusieurs domaines industriels (Konaté, 2007) (Tableau 3).

I.6.2.1/ La pulpe de gousses

En Afrique du nord, le fruit du caroubier « la gousse » est consommé tel qu'il est, il contribue aux régimes des personnes de faible revenu, tandis qu'en Europe il est parfois rôti pour être utilisé comme substitut de café.

Dans les années 1920, la farine de gousses de caroube a été combinée avec la farine de blé pour préparer des pains spéciaux, ainsi elle peut servir comme ingrédient de certains menus de pâtisseries: gâteau, pain, bonbon, crème glacée et boisson (Nussinovitch, 1997). A la différence du cacao, cette dernière ne contient ni caféine ni théobromine, elle est utilisée comme substituant du cacao pour produire le chocolat (Craig et Nguyen, 1984). En Egypte, les sirops à base de fruits de caroube constituent une boisson populaire (Batlle et Tous, 1997).

La pulpe du fruit de caroubier est utilisée principalement en alimentation animale, sa valeur nutritionnelle est considérée similaire à celle de la plupart des céréales (Batlle et Tous, 1997), avec une valeur énergétique importante (17.5 KJ/g de M.S) (Avallone *et al.*, 1997).

De nombreuses études ont démontré l'influence positive de la farine de caroube sur la performance et la santé des animaux soumis à un régime alimentaire. Son incorporation dans les régimes des porcelets s'avère très utile dans le soutien de leur consommation, de leur croissance et de leur santé post-sevrage (Lizardo *et al.*, 2002).

Tableau 3: Principaux produits dérivés de la gousse (pulpe et graines) et quelques majeures utilisations (Batlle et Tous, 1997).

Produit	Traitement subi	Usages
Pulpe		
Brute	Aucun	Alimentation animale (chevaux et ruminants).
	Moulu Extraction et purification Fermentation et distillation	Alimentation humaine et animale. En sucrerie. Production d'alcool et de protéines bactériennes.
Poudre	Lavage, séchage, torréfié et moulu	Ingrédient alimentaire: substituant de cacao; composé dans les produits diététiques et pharmaceutiques.
Graines		
Endosperme	Moulu	Additifs alimentaire: fibres diététiques; produits pharmaceutiques et cosmétiques.
Embryon	Moulu	Substrat microbien; nutrition humaine et animale.
Enveloppe tégumentaire	Extraction	Tanins pour tanner les cuirs.

La pulpe est connue en thérapeutique pour son effet hypocholestérolémiant (Berrougui, 2007). Elle figurait également dans des préparations vermifuges et soignait les troubles visuels et les infections oculaires (Iserin, 2001). Les fibres solubles de la pulpe de gousses peuvent avoir un effet préventif ou curatif sur la santé humaine et animale, grâce à la réduction du risque de thrombose par le biais de la diminution de pression sanguine et de la cholestérolémie (Baggar et al., 1996).

Ce fruit est également pauvre en sodium et riche en potassium, ce qui le rend souhaitable pour des régimes employés pour traitement de l'insuffisance cardiaque et de l'hypertension (Yousif et Alghzawi, 2000). Ils sont également nourrissants et laxatifs. En décoction, la pulpe est, toutefois, antidiarrhéique et légèrement purifiante. Elle soulage également l'irritation du côlon. A l'Egypte ancienne, les gousses de caroubier, mélangées à la bouillie d'avoine, au miel et à la cire, soignaient la diarrhée (Iserin, 2001).

Le fruit du caroubier peut être utilisé par certaines bactéries et champignons comme source de carbone pour la production de certaines substances industriellement utiles; [Turhan et al. \(2010\)](#) ont produit l'éthanol par fermentation microbienne (*Saccharomyces cerevisiae* et *Zymomonas mobilis*) sur des substrats à base d'extraits de gousses. Ces dernières ont aussi servi pour la production de dextrane et de fructose par *Leuconostoc mesenteroides* ([Santos et al., 2005](#)), d'acide lactique par *Rhizopus oryzae* ([Bulut et al., 2004](#)) et d'acide citrique par *Aspergillus niger* ([Roukas, 1999](#)).

Les extraits phénoliques de la pulpe ont des capacités antioxydantes appréciables ([Makris et Kafalas, 2004](#)), ainsi les tanins de la pulpe présentent des propriétés anti-diarrhéiques importantes et sont largement utilisés chez l'enfant ([Lizardo et al., 2002](#)),

I.6.2.2/ les graines de caroube

En Europe, la partie du fruit qui attire actuellement une attention importante est la graine, à partir de laquelle une gomme est extraite et utilisée comme stabilisant et épaississant dans les industries alimentaires et non-alimentaires ([Dakia, 2011](#)). Du fait de sa richesse en galactomannanes, elle est utilisée comme additif naturelle E 410 ([Avallone et al., 1997](#)).

Lors de la préparation de la gomme de caroube à partir de la graine, un sous-produit très riche en protéines est généré: le germe. Il est très utilisé dans le domaine de l'alimentation de bétail, particulièrement dans le domaine avicole (source de protéines). L'usage en alimentation humaine est déjà en cours ([Dakia, 2011](#)).

I.6.3/ Les fleurs et les feuilles

Les fleurs constituent une source de nectar pour les abeilles et l'apiculture ([Berrougui, 2007](#)) et pour la production de miel de caroube ([Hariri et al., 2009](#)).

En Turquie, les extraits de feuilles contenant les tanins ont été, utilisés dans la médecine traditionnelle pour traiter les diarrhées ([Konaté, 2007](#)). Ces extraits foliaires ont été également désignés comme ayant des activités cytotoxiques et antimicrobiennes ([Kivçak et Mart, 2002](#)).

Chapitre II: LES GALACTOMANNANES

II.1/ Généralités

Ces dernières années, il y a une utilisation constamment croissante des polysaccharides hydrosolubles grâce à leurs propriétés physicochimiques et fonctionnelles intéressantes (Ganter et Reicher, 1999). Ce sont d'excellents agents épaississants, gélifiants, stabilisants et émulsifiants, appartenant à la classe des fibres alimentaire, ils peuvent non seulement améliorer les comportements organoleptiques (rhéologiques) mais aussi de produire des aliments possédant des propriétés nutraceutiques (Bergmaier, 2002; Renou et al., 2013).

L'incorporation de ces polymères dans différents produits alimentaires a pris un essor considérable, en raison des exigences des consommateurs qui deviennent de plus en plus croissantes en matière d'aliments bénéfiques (hypocaloriques, riche en fibres diététiques et en molécules bioactives) (Williams et Phillips, 2003). Ces hydrocolloïdes sont hautement hydrophiles et flexibles (Sanchez et Paquin, 1997). Conséquemment, ils possèdent une excellente capacité à lier l'eau. Ils ont également la propriété de former des associations avec les protéines (Laneuville, 2004). Ils sont d'origine végétale (gomme arabique, guar et caroube, pectine), animale (gélatine) ou microbienne (gomme de xanthane) (Tamine et Robinson, 1999; Colonna et Thibault, 1986), mais peuvent également provenir des extraits d'algues tels que l'agar-agar, la carraghénane et l'alginate.

Les galactomannanes constituent un groupe important de polysaccharides hydrocolloïdes (Mathur et Mathur, 2005). Ils sont extraits de l'albumen de graines de légumineuses, principalement la caroube et la gomme de guar (Multon, 1992).

Très disponibles, non toxiques et biodégradables (Dionisio et Grenha, 2012), ces polymères sont connus pour leurs propriétés de liaison depuis l'Antiquité; les Egyptiens employaient la gomme de caroube pour coller les bandages de momies (Dea et al., 1975). Cependant, c'est seulement au 20^e siècle que les galactomannanes sont devenus des produits industriels (Patmore et al., 2003).

Les études sur la structure, les caractéristiques, les modifications, la biogenèse, et les applications des galactomannanes sont à jour, ce qui est prouvé par la constante augmentation du volume de données scientifiques sur ce type de biopolymères (Oleynikov et Rhin, 2010).

II.2/ Description des galactomannanes

Les galactomannanes sont des polysaccharides hydrosolubles neutres de masse molaire très élevée, de l'ordre de 1 à $2 \cdot 10^6$ g/mole (Carnier et al., 2004) et sont isolés de l'endosperme de graines d'environ 70 espèces de légumineuses et de la paroi cellulaire de certaines bactéries (Dakia et al., 2010). Cependant, ils ont tous une structure générale semblable, constituée d'une chaîne principale de mannane sur laquelle il existe des ramifications d'une unité galactose. Ces polymères hydrophiles forment des solutions stables et très visqueuses, leur interactions avec de l'eau et d'autres polysaccharides sont la base de leur utilisation industrielle répandue, en particulier dans l'industrie alimentaire (Azero et al., 2002).

II.3/ Distribution des galactomannanes

Selon leur origine, on distingue:

- *Les galactomannanes d'origine Microbienne*, extraits en particulier des levures et des moisissures (Cerqueira et al., 2011);
- *Les galactomannanes d'origine Végétale*, qui sont obtenus à partir de l'endosperme des graines dicotylédones de nombreuses plantes. Ces derniers constituent la source la plus répandue et préférable des gommes commerciales (Srivastava et Kapoor, 2005).

La distribution des galactomannanes dans le règne végétale est limitée. En effet, les espèces les plus riches sont les membres de la famille des *Leguminosae*, mais ils ont été également trouvés dans d'autres familles telles que la famille d'*Annonaceae*, d'*Ebonaceae*, des *Loganiaceae*, des *Palmae* et la famille des *Trifolieae* (Mulimani et Prashanth, 2002).

Parmi les galactomannanes les plus connus et les plus disponibles dans le commerce, on peut citer la gomme de caroube (*Ceratonia siliqua* L.) produite principalement dans le pourtour méditerranéen, la gomme de guar (*Cyamopsis tetragonolobus* L.) produite en Inde, au Pakistan et aux USA, la gomme de tara (*Caesalpinia spinosa* L.) produite au Pérou et la gomme de fenugrec (*Trigonella foenum-graecum* L.) produite en Inde, en Chine et au Canada (Rejeb, 1995; Batlle et al., 1997).

II.4/ Rôle physiologique des galactomannanes dans la graine

D'après [Chaires-Martinez et al. \(2008\)](#), les galactomannanes localisés dans l'endosperme des graines légumineuses ont une double fonction physiologique:

- Ils servent de réserves nutritives. En effet, pendant la germination de la graine, ils subissent une dégradation enzymatique, et les produits d'hydrolyse issus sont utilisés par la radicelle comme source d'énergie et de carbone ([Buckeridge et al., 1995](#)).
- Ces polysaccharides ont un rôle structural, ils protègent le germe contre les chocs mécaniques, pendant la germination, ils retiennent une grande quantité d'eau par solvation, en empêchant de ce fait, la dessiccation de la graine et la dénaturation des protéines, en particulier, les enzymes de la germination ([Srivastava et Kapoor, 2005](#)).

II.5/ Structure moléculaire des galactomannanes

Les galactomannanes ont tous une structure générale similaire ([De Souza et al., 2010](#)), formée par un enchainement linéaire d'unités β -D-mannopyranose liées en (1→4) avec des branchements constitués d'une seule unité α -D-galactopyranose liée en (1→6) ([figure 5](#)) ([Carnier et al., 2004](#)). En effet, selon [Courtois et Le Dizet \(1966\)](#), les principales différences résident dans le rapport moléculaire mannose sur galactose (M/G). La caroube comporte en moyenne une unité galactose pour quatre mannose, alors que ce rapport est de un à deux pour la gomme de guar ([Multon, 1992](#)).

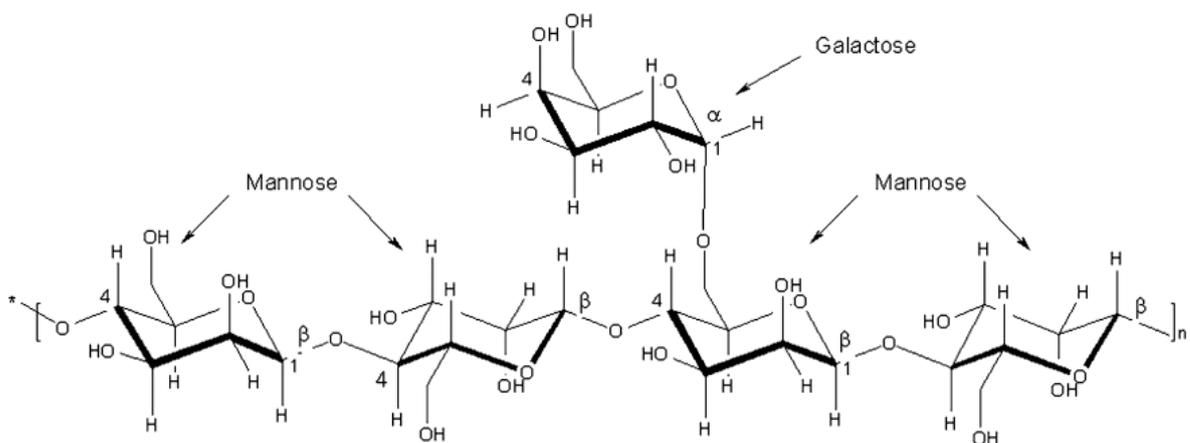


Figure 5: Structure moléculaire des galactomannanes ([Secouard et al., 2007](#)).

Courtois et Le Dizet (1970), ont établi que le galactose est réparti irrégulièrement le long de la chaîne de mannane, définissant ainsi les zones « lisses », « touffues » et « intermédiaires ». Cette irrégularité de structure permet de rendre compte des différences de propriétés entre les galactomannanes, notamment au niveau de la solubilité et de synergies avec d'autres polysaccharides (Multon, 1992).

Les galactomannanes de différentes sources se distinguent par leur teneur en unités galactose exprimées par le rapport mannose sur galactose (M/G), par la répartition des résidus de galactose le long de la chaîne principale de mannose mais aussi par leur masse molaire (Azero et Andrade, 2002). Toutefois, cette différence dans la microstructure influencerait fortement les interactions moléculaires et les propriétés rhéologiques des solutions de galactomannanes (Da Silva et Gonçalves, 1990).

Tableau 4: Propriétés structurales des principales galactomannanes (Mahungu et Meyland 2008).

Gomme	Structure	Ratio (M/G)	Poids moléculaire (DA)
Gomme de caroube	1,4-β-D-manopyranose avec des unités 1,6-α-D-galactopyranose attachées à chaque 4 ^{ème} et 5 ^{ème} mannose.	4 : 1	50.000-3.000.000
Gomme de Guar	1,4-β-D-manopyranose avec des unités 1,6-α-D-galactopyranose attachées à chaque mannose alterné.	2 : 1	50.000-8.000.000
Gomme de tara	1,4-β-D-manopyranose avec des unités 1,6-α-D-galactopyranose attachées à chaque 3 ^{ème} unité.	3 : 1	Non rapporté

L'étude de la structure des galactomannanes est incontournable pour leurs utilisations industrielles en tant qu'agents émulsifiants, épaississants et stabilisants. Toutes telles propriétés dépendent des propriétés chimiques, physiques et structurales du polymère, en l'occurrence, la masse molaire, la configuration anomérique, la conformation en solution, et la position des ramifications de galactose sur la chaîne principale de mannose (Dakia et al., 2007).

II.5.1/ La teneur en galactose

La teneur en galactose, exprimée en degré de ramification ou encore par le rapport mannose sur galactose (M/G) de ces polymères naturels est sensiblement différente (Dakia et al., 2010). Ce rapport varie selon l'origine de la gomme, l'âge de la plante (arbre), sa variété, les conditions de croissance et la méthode d'extraction et de préparation du polymère (Lazarido et al., 2000). Il varie entre 1 et 10 selon l'origine de la gomme (Daas et al., 2000). De ce fait, ce dernier est proposé comme un marqueur en taxonomie des *leguminosae* (Buckeridge et al., 1995).

Selon Lazaridou et al. (2000), les galactomannanes de caroube ont le plus faible contenu de galactose, avec un rapport (M/G) égal approximativement à 4 comparativement à la gomme de Tara (3), la gomme de guar (2) et la gomme de fenugrec (1).

Le tableau 5 présente les rapports (M/G) des différentes galactomannanes et les facteurs pouvant les influencer.

Rizzo et al. (2004) ont étudié des gommes de caroube issues de différentes variétés de caroubier d'Italie et ont mis en évidence une différence dans le rapport M/G. La variété « Latinissima » a un rapport M/G = 4,0 tandis que pour la variété « Tantillo », ce rapport est de l'ordre de 2,9.

Lazaridou et al. (2000) ont montré, par leurs travaux sur des caroubiers de Grèce, que les propriétés moléculaires des galactomannanes peuvent changer au sein d'une même variété en fonction de la région de culture ou des conditions climatiques et du sol.

Dakia et al. (2008) ont montré que les rapports M/G des gommes obtenues par prétraitement de décuticulation de la graine de caroube à l'eau bouillante (LBGw) ou à l'acide (LBGa) sont légèrement différents (LBGw: M/G = 3,5; LBGa: M/G = 3,6).

Les travaux de Da Silva et al. (1990) et de Sittikijyothin et al. (2005) sur les gommes commerciales brutes de caroube et de tara ont montré que la gomme purifiée par précipitation à l'alcool présente un rapport M/G différent à celui de la gomme brute.

Par ailleurs, Mallet et al. (1986) ont montré que la structure du galactomannane peut aussi changer en fonction du stade de développement de la graine.

Tableau 5: Propriétés moléculaires des galactomannanes de sources différentes.

Source	Qualité	M/G	M _w (g.mol ⁻¹)	[η] (ml.g ⁻¹)	Références
<i>Ceratonia siliqua</i> (Caroube, LBG)	Gomme brute (w)	3.50	1,024×10 ⁶	710	Dakia et al. (2008)
	Gomme brute (a)	3.60	0,900×10 ⁶	1300	Dakia et al. (2008)
	Gomme purifiée	4.00	1,198×10 ⁶	1438	Brummer et al. (2003)
<i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara)	Gomme brute	2.95	2,310×10 ⁶	1 496	Sittikijyothin et al. (2005)
	Gomme purifiée	3.03	2,530×10 ⁶	1 646	
<i>Cyamopsis tetragonolobus</i> (Guar)	Gomme brute	2,00	1,303×10 ⁶	1050	Richardson et al. (1998)
	Gomme purifiée	ND	1,22x10 ⁶	925	Brummer et al. (2003)
<i>Trigonella foenumgraecum</i> (Fenugrec)	Gomme brute	1,00	ND	ND	Brummer et al. (2003)
	Gomme purifiée	1,00	1,418×10 ⁶	961	Brummer et al. (2003)

Gomme brute (w): gommes obtenues par prétraitement de décuticulation de la graine de caroubier à l'eau bouillante

Gomme brute (a) : gommes obtenues par prétraitement de décuticulation de la graine de caroubier à l'acide

ND : non déterminé.

II.5.2. Répartition des unités galactoses sur la chaîne de mannane

Une étude faite par [Daas et al. \(2000\)](#) a montré que la distribution des unités de galactose sur la chaîne de mannose n'obéissait pas à une simple répartition statistique. En effet, l'utilisation de certaines enzymes (β -mannanase issue d'*Aspergillus niger* ou de graines de guar en germination) permet de dégrader le polymère de galactomannane. Ces enzymes coupent les liaisons β 1-4 de la chaîne de mannane aux endroits dépourvus de galactose.

L'analyse de la composition en monosaccharides sur les produits de dégradation (oligosaccharides) a permis de proposer trois types de distribution des unités galactoses: une disposition ordonnée ou régulière, une disposition aléatoire et une disposition en blocs uniformes, où les zones lisses totalement dépourvues de ramification de galactoses s'alternent avec les zones hérissées où les résidus galactose sont présents sur toutes les unités mannose ([figure 6](#)) ([Mathur, 2012](#)).

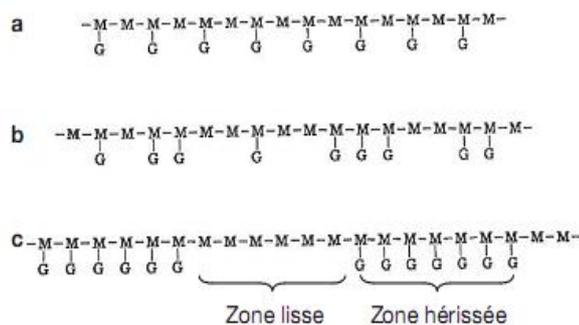


Figure 6: Différents types de distribution des résidus de galactose le long de la chaîne de mannane: une disposition régulière (a), une disposition aléatoire (b) et une disposition en blocs uniformes (c) (Mathur, 2012).

Dans le cas de la gomme de caroube, une distribution irrégulière des résidus galactose est observée. Les galactomannanes de caroube présentent donc des zones sur lesquelles aucun résidu galactose n'est présent et d'autres plus riches en chaînes latérales d'unités simples de galactose (Daas *et al.*, 2000). Dans le cas des galactomannanes de *Schizolobium parahybum* et *Mimosa scabrella* et la gomme de tara, la distribution des unités galactoses apparaît aléatoire. En ce qui concerne la gomme de guar quelques régions non-substituées pourraient être aussi mises en évidence (Andrade *et al.*, 1999; Daas *et al.*, 2000).

II.6/ Technologie de production des galactomannanes à partir des graines de légumineuses

La graine de légumineuses est composée d'enveloppes tégumentaires, d'endospermes et du germe. Le processus qui permet d'obtenir les galactomannanes des graines combine l'extraction et la purification des polysaccharides de l'endosperme (Dakia *et al.*, 2008).

II.6.1/ Obtention de la gomme brute

Le procédé de fabrication de ces gommes est extrêmement simple puisqu'il se réduit à des traitements mécaniques (séparation des enveloppes, dégermage et mouture) pour aboutir à des farines contenant plus de 95% de galactomannanes, qui peuvent être commercialisées telles quelles (Multon, 1992).

Dakia *et al.*, (2008) et Prajapati *et al.* (2013) exposent deux procédés permettant la séparation des endospermes des autres parties de la graine (enveloppes et radicules).

➤ Procédé chimique

Ce procédé consiste à carboniser les enveloppes coriaces à l'aide d'un traitement à l'acide sulfurique. Un lavage et un brossage permettent l'élimination des fragments restants, ensuite les radicules sont éliminées. Il ne reste alors que les endospermes qui seront séchés, moulus en fine particules, et tamisés pour obtenir une poudre fine (Dakia et al., 2008).

➤ Procédé thermomécanique

Le second procédé repose sur le trempage des graines à haute température, elles absorbent de l'eau et gonflent. Les enveloppes et le germe sont manuellement séparés, les endospermes sont séchés, broyés et tamisés pour obtenir une farine de gomme brute (Dakia et al., 2008).

Un troisième procédé dit de torréfaction peut être utilisé pour les graines de tara. IL repose sur l'éclatement plus ou moins complet de l'enveloppe par rôtissage. Celle-ci se détache du reste de la graine, les radicules sont écrasées par broyage mécanique et éliminées par tamisage, et les endospermes seront broyés en fines particules. La poudre obtenue a, cependant, une couleur légèrement plus foncée (Prajapati et al., 2013).

II.6.2/ Extraction et purification des galactomannanes

Certains fabricants produisant des gommes de grande pureté, on trouve, par ailleurs dans le commerce, des gommes de farines de guar aux pouvoirs épaississants très variables (Multon, 1992).

La gomme brute est solubilisée dans l'eau par augmentation de la température. Le matériel insoluble est ensuite éliminé à l'aide d'une étape de centrifugation et de filtration. Enfin, les galactomannanes sont précipités à l'aide d'éthanol ou d'isopropanol. Le coagulum obtenu qui constitue galactomannanes purs, est récupéré par filtration, lavé à l'acétone, pressé, séché, finement broyé, puis tamisé et conservé (Bouzouita et al., 2007).

II.7/ Caractérisation des galactomannanes

La structure moléculaire (le rapport manose sur galactose M/G et distribution des résidus galactosyl sur la chaîne de manane), la masse molaire moyenne et la viscosité intrinsèque sont les principaux paramètres qui caractérisent les galactomannanes (Kloëk et al., 1996).

Le contenu en sucres monomériques et le rapport M/G est généralement déterminé par chromatographie en phase gazeuse ou par chromatographie échangeuse d'ions après hydrolyse acide partielle ou totale (Andrade *et al.*, 1999). La répartition des unités de galactose le long de la chaîne principale de mannane peut être caractérisé par Spectroscopie RMN (Résonance Magnétique Nucléaire), ou par des méthodes enzymatiques avec la β -D-mannanase (Dakia *et al.*, 2008). La viscosité intrinsèque peut être déterminée par un viscosimètre capillaire. En outre, l'évaluation du comportement rhéologique joue un rôle important dans la caractérisation des solutions de galactomannanes, puisqu'elles sont souvent employées pour modifier la texture des solutions (Cercqiera, 2010). La masse moléculaire quant à elle est déterminée par chromatographie d'exclusion moléculaire (Dakia *et al.*, 2008).

II.8/ Propriétés physicochimiques des galactomannanes

L'intérêt industriel des galactomannanes réside dans leurs propriétés en solution, y compris leurs interactions à l'état colloïdal avec d'autres molécules. La propriété fonctionnelle intéressante de ces polymères est leur capacité à lier l'eau et de former des solutions très visqueuses aux concentrations relativement faibles, qui sont peu affectées par le pH, les sels, et les variations thermiques grâce à leur caractère neutre (Sittikijyothin *et al.*, 2005). Leurs caractères rhéologiques sont influencées par leur structure (rapport Manose/Galactose M/G et la distribution des résidus galactosyl le long de la chaîne de mannane) (Andrade *et al.*, 1999).

➤ Propriété de solubilité

La solubilité des galactomannanes dans l'eau dépend de leur teneur en galactose et augmente avec l'augmentation du contenu en ce sucre. En effet, les résidus galactopyranoses représentent les parties hydrophiles de la molécule de galactomannane. Plus le degré de substitution en galactose est élevé, plus la solubilité dans l'eau des galactomannanes est augmentée (Kök *et al.*, 1999; Dionisio et Grenha, 2012).

Les chaînes latérales de galactose entraînent une extension des chaînes de mannane et les empêchent de former des associations insolubles (les chaînes linéaires de mannanes pures dépourvues de résidus de galactose sont complètement insolubles dans l'eau) (Neukom, 1989). Sans la présence de ces groupes galactopyranoses, le polysaccharide serait instable en solution et pourrait cristalliser ou précipiter (Pollard *et al.*, 2007).

Lors de la mise en solution, les macromolécules contenant plus de résidus galactose seront plus facilement solubles à froid. C'est le cas du guar (rapport M/G est 1.6), qui atteint sa solubilité maximale à partir de 40 °C. Par contre, les macromolécules peu ou pas ramifiées sont difficilement solubles et entraînent parfois la formation d'amas de polymères (grumeaux) très difficilement accessibles au solvant (Doyle *et al.*, 2006). De ce fait, Un traitement thermique de chauffage sous forte agitation (85°C pendant 10 minutes par exemple) est nécessaire pour les solubiliser totalement, c'est le cas de la gomme de caroube qui est moins fortement substituée (rapport M/G de 3.5 à 4) (Nussinovitch, 1997).

Enfin, les galactomannanes sont insolubles dans les solvants organiques, et peuvent être précipités du soluté aqueux par addition des solvants miscibles à l'eau comme l'éthanol (Wielinga, 1990).

➤ Propriété de viscosité

La viscosité est le critère de qualité le plus intéressant pour les agents d'épaississement. Grâce à leur capacité de liaison à l'eau, les galactomannanes sont capables de former des solutions très visqueuses aux faibles concentrations (0.5-1%) (Fox, 1992). La viscosité intrinsèque (η) exprimée en ml.g^{-1} et qui correspond au volume spécifique hydrodynamique occupé par une unité de masse du polymère dans un solvant donné, est déterminée à 25 °C dans une solution de 1% de galactomannanes à l'aide d'un viscosimètre (Dakia *et al.*, 2010).

La valeur de ce paramètre est influencée par les associations intramoléculaires (la molécule se replie sur elle-même) et intermoléculaires (la molécule s'associe à une autre molécule) qui sont établies entre les zones non-substituées des galactomannanes, grâce à l'intervention de ponts hydrogènes (Brummer *et al.*, 2003). De ce fait, les galactomannanes dont le rapport mannose sur galactose (M/G) est élevé (équivalant à une faible teneur en résidus galactose) entraînent une viscosité élevée (Rizzo *et al.*, 2004).

Le rapport M/G joue un rôle important sur la solubilité des galactomannanes dans l'eau et de la dépendance de la viscosité de la solution avec la concentration en polymère. Le phénomène d'agrégation qui contrôle les propriétés de ces polymères hydrosolubles trouve son origine dans l'établissement de ponts hydrogènes coopératifs entre les zones des chaînes dépourvues de résidus galactose (figure 7) (Rinaudo, 2001). Du fait de ces liaisons, les galactomannanes pauvres en galactose présentent une viscosité plus élevée que les

galactomannanes hautement substitués. Cependant, ils éprouvent des difficultés de solubilisation contrairement aux galactomannanes riches en galactose (Dakia *et al.*, 2009).

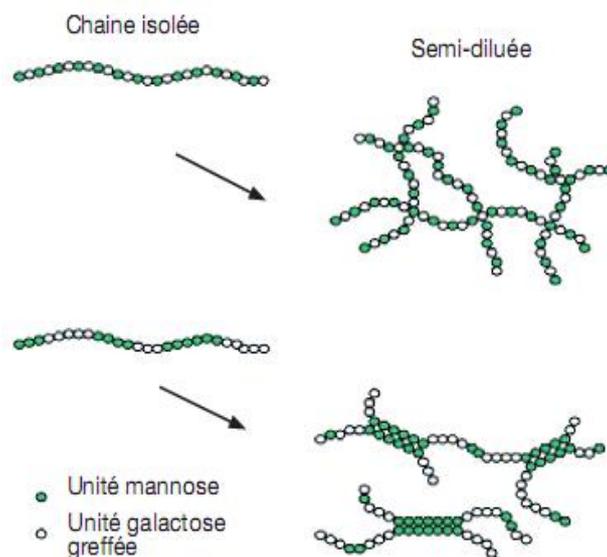


Figure 7: Représentation schématique des zones non substituées responsables des interactions moléculaires dans les galactomannanes en solution semi diluée (Rinaudo, 2001).

➤ Propriété d'émulsification

Malgré leur hydrophilie (polysaccharides neutres riches en fonction « OH » ne comportant pas de groupements hydrophobes mis à part les groupes C-H du cycle), les galactomannanes abaissent la tension de surface. En effet, des mesures de tension de surface ont montré que ces polymères peuvent modifier les valeurs de tension superficielle et interfaciale (Gaonkar, 1991). Les raisons en sont encore mal connues.

Huang *et al.* (2001) pensent qu'une petite quantité de protéine présente dans les préparations des polysaccharides est responsable des propriétés d'émulsification. Garti *et al.* (1999) sont plutôt convaincus que les propriétés surfactantes des gommages de caroube et de guar sont des propriétés intrinsèques à ces polysaccharides et ne sont pas le fait d'une quelconque présence d'impuretés de nature protéique. Pour ces mêmes auteurs, ces gommages stabilisent les émulsions en formant un film liquide autour des gouttelettes.

Dickinson (2003) a classé les galactomannanes parmi les hydrocolloïdes tensioactifs à côté de la gomme arabique et des pectines.

➤ Propriété d'interaction avec d'autres polysaccharides

L'interaction avec d'autres polysaccharides est l'une des propriétés les plus intéressantes des galactomannanes (Rizzo *et al.*, 2004). Une combinaison de ce polysaccharide avec κ -carraghénane, la gomme de xanthane ou l'agar donne un effet synergique dépendant de la concentration et produit des solutions très visqueuses (Daas *et al.*, 2000).

Les solutions ainsi chaudes de LBG et de gomme de xanthane forment des gels élastiques forts lors du refroidissement. La base moléculaire de ce synergisme est due à la formation d'un réseau tridimensionnel de polysaccharide en vertu de la formation des zones de jonction entre la gomme de xanthane et les régions douces (non substituées) du LBG. Des galactomannanes avec une teneur élevée en galactose montrent un effet synergique inférieur sur la gélification (Secouard *et al.*, 2007).

Des phénomènes semblables peuvent être obtenus avec du κ -carraghénane, qui lorsque ils sont utilisés seuls donnent un gel moins visqueux, et par l'addition de LBG peuvent former des gels élastiques et cohésifs. Les interactions synergiques ont été suggérées à être favorisées par des chaînes de galactomannanes avec une haute fréquence de régions douces plus longues (Dunstan *et al.*, 2001; Camacho *et al.*, 2005).

La teneur en galactose des galactomannanes contrôle aussi le mécanisme d'interaction avec d'autres polymères tels que les pectines (da Silva *et al.*, 1994), les protéines de soja (Sánchez *et al.*, 1995), l'amidon (Sudhakar *et al.*, 1996), l'agarose (Viebke *et al.*, 1996), la cellulose (Newman *et al.*, 1998), les gélatines (Alves *et al.*, 2001), les carraghénanes (κ et λ) (Dunstan *et al.*, 2001), les β , κ and α -caséines (Perissutti *et al.*, 2002), l'agar (Gonçalves et Romano., 2005) et le xanthane (Secouard *et al.*, 2007).

La force des interactions dans ces mélanges augmente avec la diminution de la teneur en galactose dans le galactomannane. Ainsi, la gomme de caroube interagit mieux que la gomme de guar avec les carraghénanes pour former des gels plus consistants et plus élastiques (Andrade *et al.*, 1999; Dunstan *et al.*, 2001). Cette association avec les carraghénanes est développée pour fabriquer des substituts de gélatine. La gomme de caroube et le xanthane réagissent en synergie pour donner des gels thermoréversibles qui restent stables à la congélation (Rinaudo, 2001).

Un premier modèle a été exposé pour expliquer ces phénomènes (Dea, 1979). Des interactions s'établiraient entre les carraghénanes et les galactomannanes impliquant, d'une part, des doubles hélices du carraghénane et, d'autre part, les zones « lisses » le long de la chaîne de mannane. Chaque molécule de galactomannanes participerait ainsi, au réseau tridimensionnel et renforcerait la cohésion du gel (Multon, 1992).

La gomme de xantane, comme la caroube, ne gélifie par elle-même : elle ne possède que de très fortes propriétés épaississantes. Mais un mélange de ces deux gommes obtenu après chauffage et refroidissement produit un gel élastique. Le mécanisme proposé repose sur une transition de conformation du xantane qui lui permet de s'associer avec les régions « lisses » des galactomannanes (Multon, 1992).

➤ Propriété de stabilité

La dépolymérisation de la chaîne de mannane provoque une réduction significative de la viscosité, ceci se produit par exemple, quand des solutions de galactomannanes à pH très faible sont chauffées. À température ambiante, elles sont stables dans un intervalle de pH allant de 3 à 11, mais peuvent subir une dégradation par les micro-organismes, de ce fait elles devraient être stérilisées avant d'être conservées (Dionisio et Grenha, 2012)

Les solutions de gommes de guar et de tara montrent une très bonne stabilité au cours des traitements de congélation-décongélation, alors que celle de caroube devient partiellement insoluble suite à la congélation (Neukom, 1989).

II.9/ Intérêts des galactomannanes

II.9.1/ Intérêt technologique des galactomannanes

Les galactomannanes sont des hydrocolloïdes solubles qui forment des solutions stables et très visqueuses, ce sont des matières souples permettant d'améliorer différentes propriétés physicochimiques car considérés comme excellents agents de texture. Leur pouvoir épaississant est très élevé, c'est-à-dire s'ajoutés en très faibles quantités à un milieu aqueux, ils en augmentent considérablement la viscosité. Ainsi, l'absence de toute toxicité associée a permis leur utilisation dans de nombreux produits, en l'occurrence, l'industrie alimentaire (Canier et al., 2004; Srivastava et Kapoor, 2005; Chaires-Martinez et al., 2008).

Les galactomannanes sont des additifs alimentaires (Ganter et Reicher, 1999), du quels on a attribués le code E410. Ainsi, le comité mixte WHO/FAO d'experts des additifs alimentaires a évalué leur sécurité sanitaire et a établi une dose journalière admissible « non limitée ou non spécifiée » (Cruz, 1999).

En dehors de leur pouvoir épaississant et gélifiant, ces macromolécules peuvent être employées pour des propriétés très divers : stabilisation des suspensions et émulsions, pouvoir de rétention d'eau, pouvoir liant, formation de complexes avec les protéines. (Multon, 1992).

Employés seuls ou, le plus souvent, associés à d'autres hydrocolloïdes (Dionisio et Grenha, 2012), les galactomannanes sont utilisés dans, les soupes, les sauces, les potages, les émulsions (mayonnaises) et les divers assaisonnements. Les galactomannanes donnent une bonne onctuosité aux produits laitiers, mais sont souvent associés à des gélifiants (crèmes desserts, sorbets et crèmes glacées). Ils peuvent être également utilisés dans la conservation des produits à base de viande où ils assurent la rétention d'eau et empêchent la synérèse (charcuterie, produits carnés) et surtout. Ils sont aussi considérés comme substituts de gras dans les produits hypocaloriques.

De même, les pâtisseries et viennoiseries auxquelles on les ajoute ne rassissent pas. Ils sont utilisés aussi dans les bonbons, les aliments pour bébés, les boissons alcoolisées et non alcoolisées et dans les produits en poudre « purées instantanées » (Kök et al., 1999; Lazaridou et al., 2000; Srivastava et Kapoor, 2005; Bouzouita et al., 2007; Cerqueira et al., 2009).

Ainsi par exemple, et à des doses de 0.1 à 0.2 %, ils permettent de maintenir l'homogénéité des sauces pendant leur transfert, avant jutage des conserves, et d'éviter ainsi des séparations de phases préjudiciables à la qualité des produits (Multon, 1992). Enfin, ces polysaccharides sont utilisés dans la microencapsulation de bactéries probiotiques (*Lactobacillus* sp) (López-Franco et al., 2013).

Les autres applications industrielles non alimentaires des galactomannanes concernent la photographie, la papeterie (agent de consolidation), la cosmétique et le biomédical. Les gommes utilisés en technologie pharmaceutique et produits cosmétiques sont généralement des gommes non purifiées (Srivastava et Kapoor, 2005; Patmore et al., 2003).

L'utilisation de tels agents concerne également les domaines de la textile, la détergence, l'agrochimie, les matériaux de construction, des fluides de forage et de nombreux autres formulations (béton, pétrole, encre, cirage) (Sittikijyothin *et al.*, 2005).

II.9.2/ Intérêt physiologique des galactomannanes

Les galactomannanes sont des fibres solubles (Ganter et Reicher, 1999), ils échappent à l'hydrolyse par les enzymes digestives, et ne sont pas absorbés dans la partie supérieure du tube digestif, sont hypocalorique mais ils agissent par modulation de la digestion et du métabolisme d'autres nutriments (Dakia, 2011).

L'importance diététique des gommes est associée à leurs effets à différents niveaux de l'appareil gastro-intestinal, depuis l'estomac au gros intestin. La plupart de leurs actions dans la partie supérieure du tube digestif est associées à leur capacité de produire de grande viscosité (à faible concentration), affectant de ce fait, l'absorption des nutriments, et par conséquent, les concentrations postprandiales des nutriments dans le sang. Les autres effets bénéfiques sont liés à la fermentation des gommes par la microflore dans le gros intestin (Edwards, 2003).

En plus de diminuer la réponse glycémique et insulinémique (Malkki et Virtanen, 2001), les galactomannanes sont bénéfiques pour la prévention du développement des maladies cardio-vasculaires, tels l'hypertension et l'hypercholestérolémie (FDA, 1994), de même que pour la régulation de l'appétit et la perte de poids (Howarth *et al.*, 2001). Ces effets dépendent de la structure chimique de ces polysaccharides aussi bien que de leurs interactions physiques et chimiques avec d'autres nutriments ingérés. Par exemple, ces hydrocolloïdes peuvent protéger l'amidon et d'autres nutriments contre l'action des enzymes digestives menant à une plus grande résistance à l'hydrolyse et à l'action digestive (Cruz, 1999).

II.9.2.1/ Effet sur la glycémie postprandiale, la réponse insulinique et le diabète

Les fibres solubles (gommes, pectines, guar) présentent un intérêt dans le contrôle de la glycémie. En effet, elles ralentissent l'absorption intestinale des glucides en augmentant la viscosité du contenu intestinal d'où un étalement de la réabsorption intestinale des glucides (Roberfroid, 2002).

Plusieurs mécanismes d'actions ont été proposés quant au contrôle du taux de glucose sanguin par les fibres alimentaires solubles. Jenkins et son équipe, ont été les premiers à suggérer que la viscosité induite par les polysaccharides serait le facteur clé dans l'abaissement de la réponse glycémique. En fait, la viscosité agirait principalement à deux niveaux, soit en ralentissant la vitesse du vidange gastrique (Jenkins et al., 1978), et en diminuant l'absorption du glucose dans la lumière du petit intestin (Makelainen, 2007), le passage des nutriments de l'estomac vers la partie supérieure de l'intestin se trouverait alors ralenti, ce qui aurait pour effet d'augmenter le temps d'absorption des sucres et d'abaisser le pic de glycémie (Edwards, 2003).

Ainsi des études menées par Jenkins et al. (2002) ont montré que l'augmentation de la viscosité provoquée par les fibres solubles a été associée à la diminution du glucose sanguin. Ces études ont été conduites sur des aliments liquides contenant un type de polysaccharides à une concentration déterminée dont la viscosité a été mesurée. Par la suite, ces produits liquides ont été consommés afin de déterminer l'abaissement de la glycémie postprandiale et la diminution de la sécrétion d'insuline. Ces études démontrent que l'abaissement de la glycémie postprandiale est en lien avec la viscosité des polysaccharides utilisés.

Plusieurs chercheurs sont d'avis que les fibres alimentaires solubles diminuent l'absorption des nutriments en augmentant la résistance aux mouvements de convection des contractions intestinales en raison de la viscosité qu'ils induisent (Makelainen et al., 2007), cela aurait pour effet de ralentir la diffusion du glucose vers l'épithélium intestinal. De plus, les fibres solubles élèveraient la viscosité du mucus de la paroi intestinale, amplifiant d'autant plus l'efficacité de la barrière de diffusion mucusale (Wursch et Pi-Sunyer, 1997). Chevallier (2012) quant à lui, rapporte que l'ingestion de galactomannanes entraîne la formation d'un gel visqueux qui modifie le métabolisme des glucides en diminuant leur biodisponibilité, en les enserrant dans un magma, l'action des enzymes digestives s'en trouve réduite.

Le mode d'action des galactomannanes sur la réponse glycémique a été particulièrement étudié sur les gommes de guar. Celles-ci, lorsqu'elles sont peu ou pas hydrolysées, présentent une viscosité importante susceptible de diminuer la réponse glycémique et insulinaire d'un repas complexe (incorporation à environ 6% de la matière sèche du repas). Ces fibres visqueuses agissent par trois mécanismes dont les effets s'ajoutent: ralentissement de la vidange gastrique, diminution de la digestion de l'amidon et ralentissement de l'absorption

des nutriments. Ainsi l'adjonction de guar à l'alimentation des diabétique de type 2 induit une diminution des élévations glycémiques postprandiales et une amélioration de la sensibilité à l'insuline en aigu. En chronique, la prise de guar (15g/j) induit une diminution de la réponse glycémique d'un repas test et une réduction de 0.5% de l'hémoglobine glyquée ainsi qu'une amélioration du profil lipidique chez les diabétiques de type 2 (Roberfroid, 2002).

Gatenby *et al.* (1996) ont démontré que le pain de gomme de guar (7.6 g par repas) a réduit de manière significative la glycémie postprandiale et l'insulinémie chez les diabétiques non-insulino-dépendant

Srichamroen *et al.* (2008) ont démontré que l'incorporation de 5% de galactomannanes de fenugrec dans le régime alimentaire des rats pendant trois semaines, provoque une diminution significative de la glycémie postprandiale et de la réponse d'insuline par rapport au témoin.

II.9.2.2/ Effet sur l'hypercholestérolémie et maladies cardiovasculaires

Les maladies cardiovasculaires sont parmi les principales causes de mortalité dans le monde (Viuda-Martos *et al.*, 2010). Parmi les facteurs de risques reconnus, on trouve l'hypercholestérolémie, le cholestérol LDL élevé, le cholestérol HDL abaissé, et l'hypertriglycéridémie à jeun et postprandiale (Roberfroid, 2002). Une manière bien établie de prévention d'hypercholestérolémie et de maladies cardiovasculaires est d'augmenter la prise de fibres alimentaires hydrosolubles (Theuwissen *et Mensink*, 2008). Diverses études épidémiologiques ont montré une association entre une prise plus élevée de fibres solubles et un risque de maladies cardiovasculaires plus réduit dû à une réduction de concentration plasmatique en cholestérol total (Castro *et al.*, 2003).

Plusieurs mécanismes ont été suggérés pour élucider les effets des gommages/fibres visqueuses tels que l'augmentation d'excrétion d'acides biliaires, la réduction d'émulsification des lipides, d'activité lipasique et gastrique, un affaiblissement d'absorption du cholestérol et une réduction de sa synthèse hépatique (Favier, 1997; Castro *et al.*, 2003; Dionisio *et Grenha*, 2012). Quelques autres mécanismes, tels qu'un changement du statut hormonal (une diminution d'insulinémie postprandiale peut en partie moduler la sécrétion de lipides par le foie) (Grisard *et al.*, 2001), la production d'acides gras à courte chaîne par fermentation dans le colon peut également être impliqués (Castro *et al.*, 2003).

Selon Theuwissen et Mensink (2008), les gommes peuvent se lier aux acides biliaires dans la lumière intestinale, en abaissant leur absorption, et diminuant ainsi, leur cycle entéro-hépatique. En conséquence, la synthèse hépatique de nouveaux acides biliaires à partir du cholestérol est nécessaire. Afin de restaurer leurs besoins en cholestérol, les hépatocytes expriment alors des LDL-récepteurs qui captent le cholestérol circulant. Ainsi, le taux de cholestérol circulant en excès sous forme de LDL-cholestérol diminue. Les galactomannanes augmentent la viscosité du bol alimentaire, un autre mécanisme susceptible de diminuer l'absorption des acides biliaires et du cholestérol.

Zavaral et al. (1983) ont montré que des produits alimentaires contenant du LBG sont des moyens efficaces pour abaisser la lipidémie chez des personnes sains ou hypercholestérolémiques. Ainsi des études *in vitro* avaient suggéré que le propionate (acide gras volatil produit dans le côlon par la fermentation des gommes) peut inhiber la synthèse intra-hépatique du cholestérol (Roberfroid, 2002).

Demigné et al. (1998) ont démontré l'effet hypocholestérolémique de la gomme de gar chez le rat, en affectant le cycle entéro-hépatique des acides biliaires et en augmentant l'excrétion des stérols et des sels biliaires.

Ramulu et al. (2011) ont étudié l'effet hypolipidémique des galactomannanes chez des rats obèses recevant des régimes alimentaires contenant 2.5 et 5% de galactomannanes de fenugrec pendant une période de 9 mois, ils ont enregistré une perte de poids des rats et une réduction significative des paramètres lipidiques.

II.9.2.3/ Devenir des galactomannanes dans le gros intestin

Pellikaan et al. (2010) ont montré que l'introduction de 1% de LBG dans le régime de porcelets après sevrage augmente la concentration de lactate et le nombre de lactobacilles dans le jéjunum, ainsi que les concentrations du butyrate et du valérate dans le cæcum aux dépends d'acétate, ce qui a un effet modulateur sur l'activité de la microflore intestinal.

Chez des porcelets ayant reçus 5% de galactomannanes de fenugrec dans leur régime, le nombre de *Lactobacillus* sp à celui d'*Echerechia coli*, *Hafnia* sp et de *Shigella* sp, cette augmentation a été couplée à une production d'AGCC (Zentek et al., 2012).

Chapitre III: LA FERMENTATION LACTIQUE DU LAIT

III.1/ Le lait

III.1.1/ Généralités et définitions

Le lait est sécrété par les glandes mammaires des femelles mammifères dont l'activité chez la vache commence à la mise bas et se poursuit pendant une dizaine de mois, tant que dure la traite. Il s'agit d'un fluide aqueux opaque, blanc, légèrement bleuté ou plus ou moins jaunâtre selon la teneur en β -carotène de sa matière grasse, d'une saveur douceâtre et d'un pH (6,6 à 6.8) légèrement acide, proche de la neutralité (Vilain, 2010).

Le lait est synthétisé dans les acini à partir d'éléments puisés dans le sang et, le plus souvent remaniés pour donner les substances spécifiques du lait dont les principales, en masse, sont le lactose, les caséines, la β -lactoglobulines, l' α -lactalbumine, les acides gras courts (C4 à C10) et l'acide citrique.

III.1.2/ Composition chimique du lait

Le lait est un mélange liquide de nombreuses substances dont certaines, telles le lactose ou les caséines n'appartiennent qu'à lui est une multitude de constituants qu'on peut néanmoins classer en un petit nombre de catégories comme pour toute autre matière vivante (Vilain, 2010).

Selon Debry (2001), le lait, proche du plasma sanguin, est un sérum comportant une émulsion de matière grasse, une suspension de matière protéique caséuse, du lactose, des sels minéraux, des protéines solubles et des traces d'éléments divers.

III.1.2.1/ L'eau

L'eau est l'élément quantitativement le plus important, elle représente les 9/10 du lait (Veysseire, 1975). En elle, sont dispersés tous les autres constituants du lait, tous ceux de sa matière sèche.

L'eau se mêle intimement au lactose, l'absorbe, dispersent incomplètement les caséines, se sépare des matières grasses et les assemble en volumineux globules (Mathieu, 1986).

III.1.2.2/ Les protéines

Le lait contient en moyenne 3.5% de protéines. Cette teneur varie selon l'alimentation de l'animal, les saisons et les cycles de lactation (Fredot, 2005). Tous les laits de mammifères ont la même composition protéique de base et il y a de fortes homologues de structure entre les protéines de lait des différentes espèces. On distingue deux grands groupes de protéines: les protéines des caséines et les protéines du lactosérum. Les caséines représentent 80% des protéines du lait de vache; les 20 % restants sont constitués par la β -lactoglobuline, l' α -lactalbumine, la sérumalbumine et par un grand nombre de protéines diverses (enzymes, immunoglobulines, lactoferrine bovine...) (Vilain, 2010).

Les caséines représentent la partie protéique la plus intéressante en technologie laitière, notamment en technologie fromagère. Elles coagulent lorsque le lait s'acidifie ou qu'on lui ajoute de la présure tandis que les protéines sériques restent en solution dans ces conditions (Mathieu, 1986).

III.1.2.2.1/ Les caséines

La caséine est une substance hétérogène, complexe protéique phosphoré à caractère acide qui précipite dans le lait à pH 4,6 (Cayot et Lorient, 1998). Elle représente 27 à 30 g/l, elle est composée de plusieurs fractions caséiniques dont environ 50% d' α -caséine, 30% de β -caséine, 15% de κ -caséine et de 5% de γ -caséine (Goucheron, 2004).

Dans le lait (pH 6,6), les caséines forment en association avec plusieurs composants salins minéraux et organiques, des agrégats de grandes dimensions: les micelles, caractérisées par leur grande richesse en eau, environ 77.5% et l'importante quantité de plusieurs de leurs constituants minéraux, en l'occurrence, le calcium et le phosphate (Mathieu, 1986).

La micelle est constituée d'un ensemble de sous-unités, les submicelles, groupant une douzaine de monomères des différents types de caséines dans des proportions variables, associées les unes aux autres par du phosphate du calcium. Le cœur de la micelle serait hydrophobe, formé par les parties apolaires des caséines, entouré d'une enveloppe hydrophile et polaire formé en majorité de sub-micelles riches en caséines κ (figure 8) (Luquet et Corrieu, 2005). La taille de la micelle de caséine est d'environ 180 nm, celle des submicelles est de 8 à 20 nm (Lenoir, 1985).

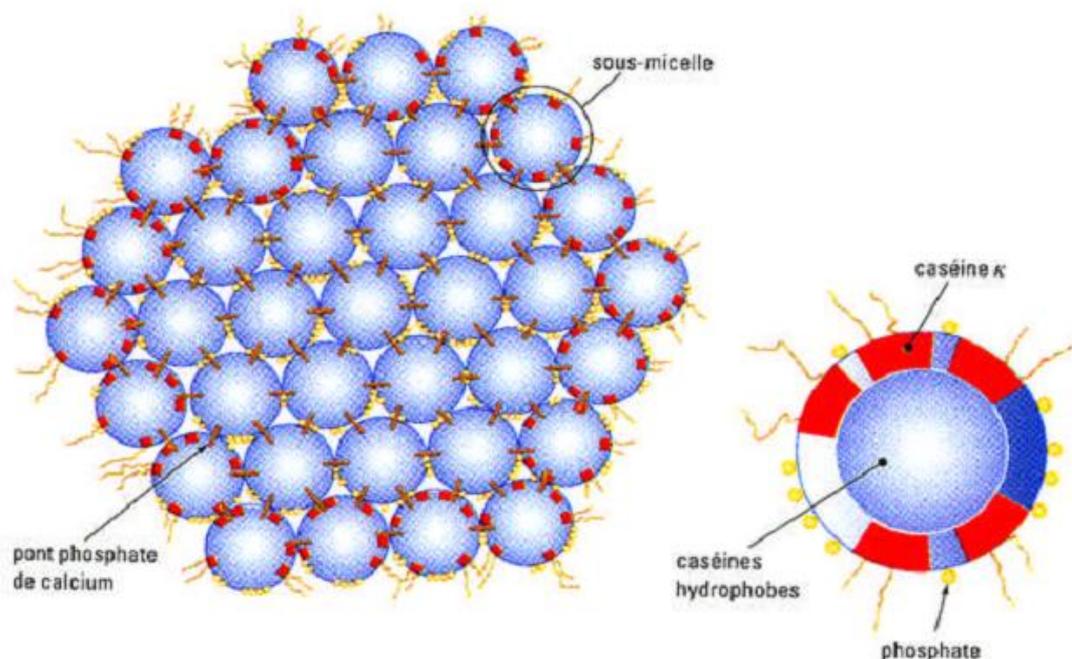


Figure 8: Modèle de micelle de caséine et sous-micelle de caséine (Vignola *et al.*, 2002).

La micelle est composée de 92% de protéines et de 8% de minéraux. De ces 8% de minéraux, 90% se retrouve sous forme de phosphate de calcium micellaire ou colloïdal et 10% sous forme d'ions citrate et d'ions magnésium (Cayot et Lorient, 1998).

III.1.2.2./ Les protéines du lactosérum

Les protéines de lactosérum se définissent comme la fraction protéique soluble obtenue lors de la précipitation des caséines à pH 4.6 à 20°C. Elles sont un coproduit de la fabrication fromagère (Soupe, 2004).

Les protéines de lactosérum sont principalement composées de la β -lactoglobuline (50%), l' α -lactalbumine (20%), les immunoglobulines (10%), l'albumine de sérum bovin (10%) et la lactoferrine (2,8%) (Cayot et Lorient, 1998). Les protéines majeures, la β -lactoglobuline et l' α -lactalbumine, dictent les propriétés fonctionnelles des protéines de lactosérum (Ziegler et Foegeding, 1990).

➤ La β -lactoglobuline

La β -lactoglobuline est une protéine globulaire. Sa structure primaire comprend 162 acides aminés totalisant un poids moléculaire de 18 000 Da. Au pH physiologique, cette

protéine est présente sous forme de dimère. Sa structure ordonnée démontre la présence de 45% de feuillets- β , 10% d'hélices- α et 45% d'enroulements au hasard (Fox, 1989).

➤ **L' α -lactalbumine**

L' α -lactalbumine est une petite protéine globulaire qui compte 123 résidus d'acides aminés et un cation soit, Ca^{++} . Elle possède également une portion hydrophobe qui semble être le site de fixation de la galactosyltransférase, laquelle joue un rôle dans la synthèse du cholestérol (Vignola et al., 2002).

➤ **Les immunoglobulines**

Ce sont des glycoprotéines jouant le rôle d'anticorps qu'on répartit en cinq catégories : IgG₁, IgG₂, IgA, IgM et IgE. Leurs points isoélectriques varient de 5.5 à 8.3. Elles possèdent une forme structurale commune (Vignola et al., 2002). Dans le lait de vache elles ne forment que le 1/10 des protéines solubles (0.5 à 0.7 g/l); mais leur proportion s'accroît d'une manière considérable dans le colostrum (12 g/l à la fin du premier jours et 80 g/l dans le colostrum de la première heure) (Alais et al., 2003).

➤ **La sérumalbumine**

C'est une protéine de poids moléculaire élevé, égal à 65000 Da, elle s'identifie à celle du sang. Très soluble dans l'eau, elle est constituée de trois domaines identiques notés I, II et III, elle possède 17 ponts disulfures inter-peptidiques qui se répartissent d'une manière égale entre les trois domaines, et un groupe thiol. Elle représente environ 5 à 6% de la fraction « albumines ». La sérumalbumine joue un rôle de transporteur (Goucheron, 2004).

➤ **Les protéines à activité biologique (les enzymes)**

Ce sont des substances organiques produites par des cellules ou des organismes vivants, agissant comme catalyseurs dans les réactions biochimiques. Environ 60 enzymes principales ont été répertoriées dans le lait dont 20 sont des constituants natifs (Blanc, 1982).

Une grande partie se retrouve dans la membrane des globules gras, le lait contient de nombreuses cellules (leucocytes, bactéries) qui élaborent des enzymes. Ces enzymes peuvent jouer un rôle très important en fonction de leurs propriétés (Got, 1997).

III.1.2.3/ La matière grasse du lait

La matière grasse du lait est composée principalement de triglycérides (98%), de phospholipides (1%) et d'une fraction insaponifiable constituée en grande partie de cholestérol et de β -carotène (1%) (Vignola *et al.*, 2002). Cette composition est variable et fonction de la race et de l'alimentation de la vache laitière et varie, en moyenne, entre 35 et 45 ‰ (g/kg) (Fredot, 2005).

Le lait contient des acides gras saturés (70%) et des acides gras mono (acide oléique) et polyinsaturés (acides linoléique, acide linoléique, acide arachidonique), qui représentent la plus faible proportion mais sont les plus importants au niveau nutritionnel.

III.1.2.4/ Les glucides

Ils représentent près de 4.8 g pour 100 g, la quasi-totalité des glucides est sous forme de lactose hydraté qui est synthétisé dans la glande mammaire; une très faible partie est sous forme de polyosides libres ou de glucides combinés (Vierling, 2008).

Le lactose est le seul sucre libre et quasi exclusif dans le lait, il a un rôle surtout énergétique. Il se digère facilement par la lactase produite par la muqueuse intestinale qui l'hydrolyse en glucose et galactose (Vignola *et al.*, 2002). Chez les personnes intolérantes au lactose, la production d'enzyme disparaît et le lactose reste dans le tube digestif entraînant des troubles lors de la consommation du lait. Le lactose non digéré est alors métabolisé par certaines bactéries intestinales (Vilain, 2010). En effet, les bactéries transforment le lactose en acide lactique. Cette transformation parfois gênante est souvent utilisée en industrie laitière (Alais, 1984). Le lait contient également une cinquantaine d'oligosaccharides bien répertoriés présents à l'état libre, mais en quantités souvent négligeables (0.1 g/litre) (FAO, 1995).

III.1.2.5/ Les vitamines

Dans le lait des ruminants, seules les vitamines liposolubles sont d'origine alimentaire et les conditions de vie de l'animal exercent une influence sur les teneurs vitaminiques du lait, les productions estivales offrent donc un plus grand intérêt que les laits de stabulation. Au contraire, la vitamine C offre un taux relativement constant en raison de sa synthèse régulière dans l'épithélium intestinal.

Le lait et ses dérivés sont des sources notables en vitamine A, B₁₂ et B₂; dans une moindre mesure en vitamine B₁, B₆ et PP. Par contre ils ne contiennent que peu de vitamines E, acide folique et biotine (Adrian, 1987).

III.1.2.6/La matière saline

Le lait contient tous les éléments minéraux indispensables à l'organisme notamment, le calcium et le phosphore (Brule, 1987), ils constituent environ 9 g/l. Les matières minérales ne se sont pas exclusivement sous la forme de sels solubles (molécules et ions). Une partie importante se trouve dans la phase colloïdale insoluble (micelles de caséines) (Neville, 1995).

Les principaux macroéléments rencontrés dans le lait sont : le Calcium, le Phosphore, le Magnésium, le Potassium, le Sodium et le Chlore (Neville, 1995). Le lait contient également les oligoéléments indispensables pour l'organisme humain tels que le Zinc, le Cuivre, le Fluor, l'Iode et le Molybdène (Gueguen, 1995).

III.1.2.7/ Eléments biologiques du lait

Un lait, même recueilli aseptiquement et provenant d'un animal parfaitement sain, contient toujours des cellules, parmi lesquelles on distingue :

➤ *Les cellules issues du sang et de la glande mammaire de l'animal*

Quatre types de cellules sont présents dans le lait: les Polynucléaires (0-11%), les Lymphocytes (10-27%), les Macrophages (66-88%) et les Cellules épithéliales (0 -7%) (Lee et al, 1980).

➤ *Des microorganismes divers (Bactéries, levures et moisissures)*

Le lait, même provenant d'une traite effectuée dans des conditions de propreté et d'hygiène normales, renferme de nombreux germes dont le développement rapide est assuré par la température à sa sortie de la mamelle, mais aussi par sa richesse en nutriments, telle que des bactéries : bactéries lactiques, microbes saprophytes (coliformes, bactéries protéolytiques et lipolytiques), et bactéries pathogènes (*Brucella*, *Listeria monocytogenès* et staphylocoques...), des moisissures du genre: *Mucor*, *Aspergillus* et *Rhizopus* et des levures (*Saccharomyces*, *Candida* et *Rhodotorula* (Veysseire, 1975; Fredot, 2005).

III.2/ La fermentation lactique du lait

III.2.1/ Définitions

La fermentation lactique correspond à la transformation du lactose du lait en acide lactique, sous l'action des microorganismes spécifiques appelés bactéries lactiques. Elle s'accompagne des modifications biochimiques, physicochimiques et organoleptiques du produit (Beal et Soldini, 2003).

Selon la réglementation française, un lait fermenté est un produit laitier composé exclusivement de matières premières d'origine laitière (lait et constituants du lait), ayant subi une pasteurisation et une fermentation par des micro-organismes spécifiques et caractérisé par une teneur en acide lactique minimale (0.6%). Il peut être additionné de certains ingrédients lui conférant une saveur spécifique (sucre, arôme, préparations de fruits), à condition que cette addition n'excède pas 30% du poids du produit fini (Mahaut, 2000).

III.2.2/ Les différents types de laits lactofermentés

Les laits fermentés à l'aide de bactéries lactiques peuvent être classés en deux catégories en fonction des microorganismes utilisés. Ils peuvent être thermophiles, avec une température optimale de croissance proche de 45°C ou mésophiles, avec une température optimale de croissance proche de 30°C (Luquet et Corieue, 2005).

III.2.2.1/ Laits fermentés obtenus par action de bactéries lactiques thermophiles

C'est dans cette catégorie que se classe le yaourt (Luquet et Corieue, 2005), qui résulte de la fermentation du lait par deux bactéries lactiques thermophiles: *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus Bulgaricus*. Cette fermentation conduit à la prise en masse du lait. Le coagulum obtenu est ferme, sans exsudation de lactosérum. Il peut être consommé en l'état ou après brassage lui donnant une consistance crémeuse ou liquide (FAO, 1995).

En France, la norme AFNOR NF V 04-600 (2001) définit le yaourt ou yoghourt comme un « lait fermenté obtenu par le développement des seules bactéries lactiques thermophiles spécifiques dites *Streptococcus Salivarus subsp. thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* qui doivent êtreensemencées simultanément et se trouver vivantes dans le produit fini à raison d'au moins 10 millions de bactéries par gramme rapportées à la partie

lactée ». La quantité d'acide lactique libre ne doit pas être inférieure à 0.7 g.100 g⁻¹ lors de la vente au consommateur » (Mahaut, 2000).

III.2.2.2/ Laits fermentés obtenus par action de bactéries lactiques mésophiles

Les principales bactéries utilisées sont différentes sous-espèces de *Lactococcus lactis* et *Leuconostoc mesenteroides*, plus rarement *Pediococcus acidilactici*. Ces laits fermentés sont souvent rencontrés dans les pays scandinaves, dans les pays de l'est, au moyen orient et au Etat-Unis (Luquet et Corieu, 2005).

III.2.3/ Les ferments lactiques (bactéries lactiques)

Les bactéries lactiques sont définies comme des bactéries qui fermentent le glucose pour produire surtout l'acide lactique. Elles furent et sont encore utilisées sous la forme de levains artisanaux, mais le développement de l'industrie de transformation, en particulier de L'industrie laitière, a conduit à la production de ferments industriels capable d'assurer à la fois la qualité et la constance du produit. Les bactéries lactiques produites comme ferments commerciaux sont des cultures pures ou un mélange appartenant aux genres: *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Bifidobacterium* (Leveau et Bouix, 1993).

Les bactéries lactiques utilisées dans l'alimentation sont considérées comme non pathogènes et se font attribuer le qualificatif anglo-saxon d'organismes GRAS (Generally Regarded As Safe) (Dacosta, 2000). Elles sont utilisées pour la fermentation d'un grand nombre de produits d'origine animale ou végétale (Doleyres, 2003). Ce sont des cellules vivantes, procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes. Ce sont des cocci ou des bâtonnets (Bourgeois et Larpent, 1989), Gram positives, immobiles, asporulées, anaérobies mais aérotolérantes, et ne possédant pas de catalase, de nitrate réductase, et de cytochrome oxydase. Elles ont des exigences nutritionnelles nombreuses (acides aminés, peptides, sels, acides gras et glucides) (Holzapfel et al., 2001).

Onze genres bactériens figurent dans la catégorie des bactéries lactiques: *Aerococcus*, *Alloicoccus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus* et *Vagococcus*. Les bactéries du genre

Bifidobacterium ne sont pas considérées comme des bactéries lactiques typiques, mais leur usage se répand en industrie laitière.

Il est possible de les classer suivant la nature des produits du métabolisme bactérien obtenus à partir des glucides. En effet les bactéries homolactiques strictes produisent uniquement de l'acide lactique, alors que les bactéries hétérolactiques peuvent produire de l'acide acétique, de l'éthanol et du CO₂ en plus de l'acide lactique (Doleyres, 2003).

Les bactéries homo-fermentaires utilisent la voie glycolytique de Embden-Meyerhof-Parnas (EMP), dans la dernière étape de la glycolyse, les bactéries lactiques convertissent l'acide pyruvique en acide lactique et régénèrent ainsi du NAD⁺ à partir du NADH. Les bactéries hétéro-fermentaires utilisent les voies du tagatose-6-phosphate et de la glycolyse, mais aussi celle des pentoses-phosphate (figure 9). Une production des acides formique et acétique peut avoir lieu, notamment en aérobiose (Desmazaud, 1986).

III.2.3.1/ Propriétés des bactéries lactiques

III.2.3.1.1/ Propriétés technologiques des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques contribuent à la texture, à la saveur des aliments ainsi qu'à la production de composés aromatiques. Elles inhibent la prolifération de micro-organismes par la production de composés inhibiteurs telles les bactériocines et en abaissant le pH par la production d'acide lactique (Doleyres, 2003).

➤ Production d'acide

L'activité acidifiante est une des principales fonctions des bactéries lactiques en technologie alimentaire. Elle est due à la production d'acide lactique d'où une diminution du pH favorable à la conservation des aliments, et qui confère au produit fini une saveur acide.

En plus de son impact organoleptique, l'acide lactique, par son action sur la diminution de pH, a un rôle protecteur contre d'éventuelles contaminations par des germes indésirables (flore d'altération ou pathogène).

L'acide lactique aide à déstabiliser les micelles de caséines et la formation du gel résulte de la coagulation des protéines du lait suite à la diminution du pH.

La vitesse d'acidification du lait dépend de la composition du milieu, plus ou moins adapté à la croissance des bactéries lactiques, mais également de la température d'incubation. Ainsi les espèces thermophiles, utilisées dans le cas du yaourt, du fait même des températures de culture, acidifient le lait plus rapidement que les espèces mésophiles (Luquet et Corieu, 2005).

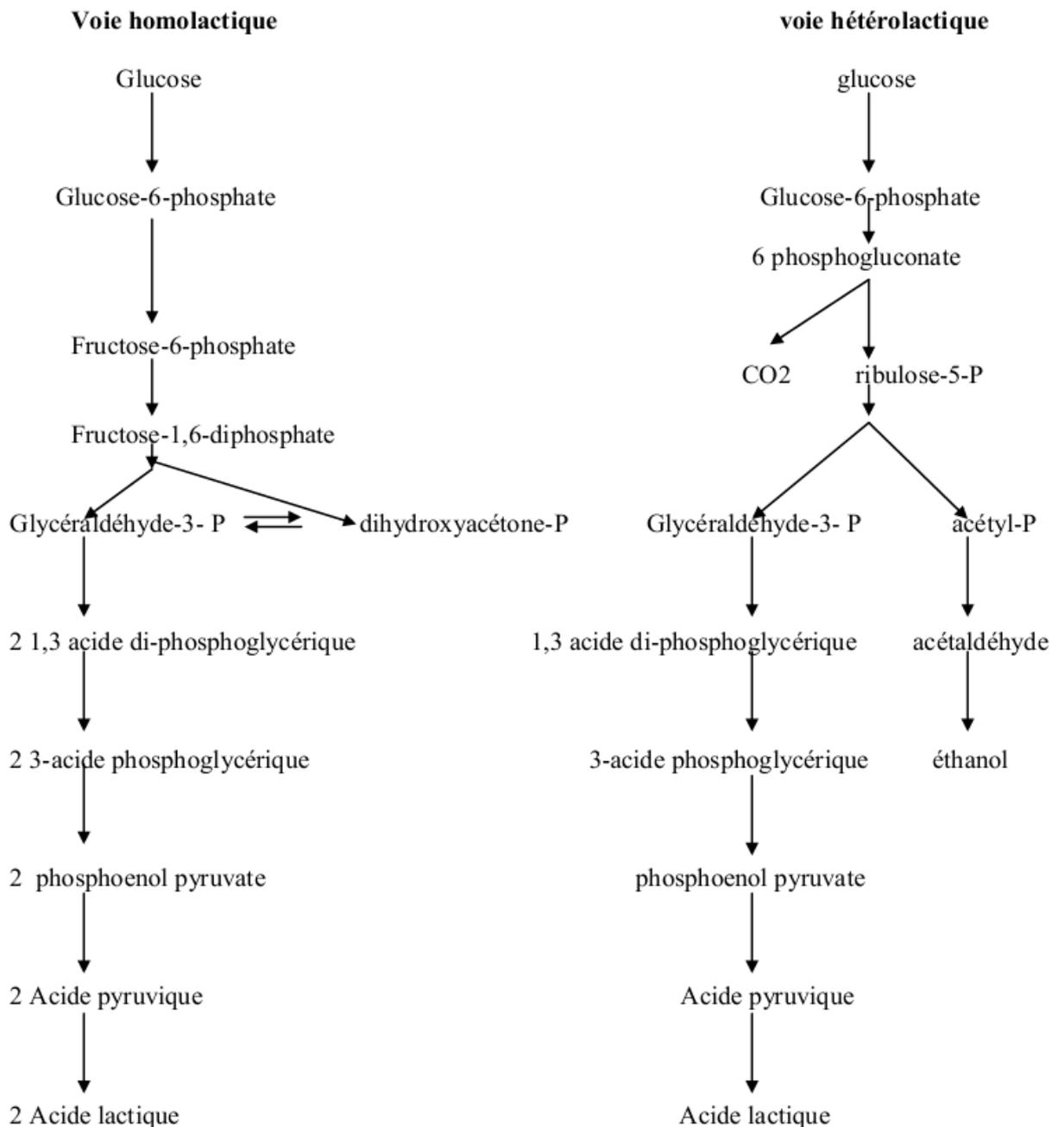


Figure 9 : Dégradation du glucose par les bactéries lactiques (De Roissart et Luquet, 1994).

➤ **Activité protéolytique**

Pour satisfaire leur besoin en acide aminés les bactéries doivent dégrader la fraction protéique du lait constitué de caséines et de protéines sériques, leur système protéolytique est constitué de deux types d'enzymes distinctes : les protéases et les peptidases.

L'activité protéolytique est également un des critères de sélection des bactéries utilisées dans la production de yoghourt.

Lactobacillus bulgaricus possède des protéases localisées, pour l'essentiel, au niveau de la paroi cellulaire. Cette activité protéasique permet d'hydrolyser la caséine en polypeptide.

Streptococcus thermophilus est considérée comme ayant une faible activité endopeptidasique. Elle dégrade les polypeptides par son activité exopeptidasique en acides aminés libres.

Cependant, une activité protéasique trop importante peut engendrer, au cours de la conservation du caillé à basse température, la formation de peptides hydrophobes responsables de défauts organoleptiques et notamment d'amertume dans le produit fini. La caractérisation des souches sur la base du critère production de composés amers, ne concerne donc que les lactobacilles (Luquet et Corieu, 2005).

➤ **Activité texturante**

La texture et l'onctuosité constituent, pour le consommateur, d'importants éléments d'appréciation de la qualité des produits laitiers fermentés. Certaines souches bactériennes produisent, à partir du glucose, des polysaccharides qui, en formant des filaments, limitent l'altération du gel par les traitements mécaniques et contribuent à la viscosité du yaourt. Les polysaccharides excrétés par les bactéries lactiques sont appelés exopolysaccharides (EPS) (Vignola et al., 2002), qui, selon une étude portant sur plusieurs souches serait essentiellement composés de rhamnose, arabinose, et manose (Schmist et al., 1994).

Il est couramment admis que la production des EPS est le résultat de l'action exercée par *Streptococcus thermophilus*. Mais selon Tamine (1999), *Lactobacillus bulgaricus* possède une aptitude à produire des EPS composés de galactose, glucose, rhamnose à des rapports

4/1/1 (Luquet et Corieu, 2005). La production d'EPS est affectée par la température, le pH et la composition du milieu de culture (Vignola et al., 2002).

➤ Production d'arômes

Les bactéries lactiques synthétisent un certain nombre d'arômes, le diacétyle et l'acétaldéhyde étant considérés comme les plus importants. La production de diacétyle est généralement associée à la fermentation du citrate. Cette fermentation dépend du pH du milieu, de la présence d'oxygène, de l'agitation du milieu, de la teneur en citrate et de certains facteurs de croissance (oligoéléments par exemple) (Vignola et al., 2002).

Pette et Lolkema (1950) ont été les premiers à suggérer que l'acétaldéhyde serait le composé aromatique principal du yaourt. Cependant, Schultz et Hingst (1954) ont montré que certains produits, même avec une faible quantité d'acétaldéhyde ont un arôme typique du yaourt, suggérant que l'acétaldéhyde n'est pas le seul composé responsable de l'arôme. En effet une longue liste de composés volatils a été identifiée (formique, acétique, propionique, acétone, acétoïne, diacétyle) (Luquet et Corieu, 2005).

Enfin, la production d'acide lactique intervient également sur le goût des produits fermentés, soit directement dans les produits frais, soit indirectement en agissant sur les activités enzymatiques pendant l'affinage (Doleyres, 2003).

III.2.3.1.1/ Propriétés thérapeutiques des bactéries lactiques

De nos jours, les bactéries lactiques sont, de plus en plus, recherchées pour des qualités nutritionnelles et thérapeutiques dans des préparations appelées probiotiques (Leveau et Bouix, 1993). En effet, le probiotique se définit comme « un microorganisme vivant qui est lorsqu'il est ingéré en quantité adéquate, il exerce un effet positif sur la santé » (Dacosta (2001).

Certaines souches de bactéries lactiques ont été décrites comme ayant des effets bénéfiques sur la santé humaine. Des travaux de plus en plus nombreux montrent ou suggèrent en effet les effets bénéfiques de ces bactéries (Drouault et Corthier, 2001).

Les bactéries probiotiques devraient être capables de survivre en grand nombre aux conditions acides de l'estomac et aux sels biliaires de l'intestin lors de la consommation du

produit, puis d'adhérer aux cellules épithéliales de l'intestin afin de produire les effets bénéfiques désirés le plus longtemps possible (Tamime et al, 1995).

Ainsi, pour exercer leurs effets bénéfiques sur la santé, les bactéries probiotiques doivent survivre en grand nombre au procédé de fabrication, à la lyophilisation éventuelle et à l'entreposage qui s'en suit. Il est en effet généralement admis qu'un nombre minimal de 10^7 cellules viables par gramme de produit est nécessaire pour exercer un effet probiotique (Ishibashi et Shimamura, 1993). L'effet bénéfique dû à l'administration de bactéries probiotiques pourrait s'expliquer par plusieurs mécanismes (Larpent et Larpent-Gourgaud, 1997; Vignola, 2002):

- **L'inhibition des bactéries pathogènes et maintien d'une flore intestinale normale**
 - Par production à partir des glucides de la ration alimentaire d'acides organiques (acide lactique, acide acétique...), qui limitent le développement des entérobactéries;
 - Le dioxyde d'hydrogène produit par les *Lactobacillus* limite le développement des salmonelles;
 - La production de bactériocines (peptides antimicrobiens);
 - La stimulation de l'activité des macrophages et de la production des IgA dans la lumière intestinale qui inhibent l'adhésion des bactéries pathogènes à la surface des muqueuses en agglutinant les bactéries en se fixant sur les adhésines et en interférant avec les interactions adhésine-récepteurs cellulaires.

- **Activité anticarcinogène**
 - L'inhibition de l'initiation d'un cancer par destruction de substances pré-cancérigènes présentes dans l'organisme (nitrosamines) et par l'inhibition des bactéries productrices d'enzymes (nitroréductase...) qui catalysent la conversion de substance cancérigènes;
 - Il a été montré que certaines activités enzymatiques bactériennes retrouvées dans les selles étaient incriminées dans le cancer colique induit par la diméthylhydrazine chez le rat, et que l'administration d'une souche de *Lactobacillus sp* diminuait ces activités et retardait le délai d'apparition de la tumeur (Bouhnik, 1993).

➤ **Atténuation des problèmes d'intolérance au lactose**

- Certaines bactéries probiotiques « *Lactobacillus* » excrètent la β -galactosidase facilitant la digestion du lactose.

➤ **Réduction de la teneur sérique en cholestérol**

Des tests in vitro ont montré une réduction du taux de cholestérol dans un milieu de culture avec certains *Lactobacillus* (Zhang et al., 2008). Plusieurs hypothèses ont été émises pour expliquer ce fait, comme l'assimilation du cholestérol par les bactéries ou l'hydrolyse des sels biliaires conjugués.

Les acides biliaires, synthétisés par le foie à partir du cholestérol, sont "recyclés" et utilisés en moyenne trois fois pendant un même repas. L'hydrolyse des sels biliaires conjugués rend nécessaire la synthèse de sels biliaires supplémentaires, ce qui conduirait à une réduction du cholestérol (Liong et Shah, 2005).

➤ **Amélioration de la valeur nutritionnelle**

La stimulation de l'activité enzymatique des bactéries endogènes permettant une meilleure assimilation des aliments, ainsi que les activités « lactasique et invertasique » des cellules épithéliales du tractus digestif.

III.2.4/ Intérêt des laits lactofermentés

Divers types de produits laitiers fermentés existent à travers le monde. Leur nature dépend du type de lait utilisé, le prétraitement, les conditions de fermentation et le traitement ultérieur. La fermentation du lait implique principalement les bactéries lactiques. Historiquement, les produits laitiers fermentés ont été produits pour prolonger la durée de conservation du lait.

Les produits laitiers fermentés ajoutent leurs propriétés propres aux qualités nutritionnelles du lait. En particulier, l'acidification constitue du point de vue hygiénique un atout majeur. En effet, elle prévient la croissance de la plupart des germes pathogènes et assure, par des moyens qui peuvent être très simple, la conservation du lait (FAO, 1995).

La fermentation du lait par des micro-organismes particuliers induit des changements dans le goût, la texture, la couleur, la saveur, et les propriétés nutritives du lait. Elle fournit toute une gamme de produits finis (Duboc *et al.*, 2001). C'est un moyen peu coûteux et une technologie qui préserve les aliments, améliore leurs valeurs nutritives et améliore leurs propriétés sensorielles (Steinkrauss, 1996). Elle peut également conduire à la désintoxication, la destruction d'éléments indésirables présents dans les aliments crus comme le cyanure, les tanins et les polyphénols (Blandino *et al.*, 2003) et aussi à la dégradation du lactose (Fox et Thomson, 2007). De plus, les laits fermentés ont plusieurs effets bénéfiques sur la santé humaine (Roberfroid, 2002).

Le lactose est l'élément ayant subi le plus de transformations lors du processus de fermentation. En effet, environ 1/3 du lactose s'est décomposé en galactose et en glucose qui lui, s'est transformé en acide lactique. Les bactéries lactiques, responsables de ce phénomène, semblent avoir un effet bénéfique sur les consommateurs, surtout ceux qui présentent un déficit de « lactase », une enzyme indispensable à la décomposition du lactose et par conséquent, une bonne digestion du lait. Les bactéries lactiques sécrètent de la lactase, ce qui fait que la personne présentant un déficit de cette enzyme est capable de consommer les laits fermentés (FAO, 1995).

Un certain nombre de travaux chez l'animal montrent que l'ingestion de laits fermentés est susceptible de modifier la flore intestinale de l'hôte, en particulier de diminuer la quantité de germes indésirables. Plusieurs études depuis les années 50 indiquent que l'ingestion de lait fermenté par *Lactobacillus acidophilus* est susceptible de réduire le nombre d'*Escherichia coli* dans les selles qui contiennent alors considérablement plus de *Lactobacillus acidophilus*. Cette propriété semble avoir été utilisée avec succès dans le cas d'enfants souffrant de diarrhées à *Escherichia coli* (FAO, 1995).

Arai *et al.*, (1980) ont démontré par leurs travaux, que la flore intestinale des souris qui ont consommé des laits fermentés contient dix fois plus de *Bifidobacterium sp* que celles du groupe qui a reçu un régime témoin de laboratoire (FAO, 1995).

L'ingestion de laits fermentés semble entraîner des modifications des défenses immunitaires à plusieurs niveaux. C'est ainsi que l'on a suggéré la possibilité d'une augmentation de certains immunoglobulines après ingestion de yaourt. D'autres recherches

consernent une possible stimulation de la production de cytokines, protéines importantes dans la régulation du système immunitaire ainsi que pour leur action antibactérienne et antivirale (FAO, 1995).

Arai *et al.* (1980) signalent que la longévité des souris est accrue chez celles qui consomment un régime enrichi en lait fermenté par rapport à deux autres lots recevant un régime témoin de laboratoire (FAO, 1995).

III.2.5/ Principaux défauts résultant de la fabrication de laits fermentés (cas du yaourt)

La texture d'un aliment englobe tous ses attributs structuraux et rhéologiques, pouvant être analysés soit de façon mécanique ou sensorielle (Sodini *et al.*, 2004).

Visuellement, le yaourt devrait présenter une texture brillante, lisse, uniforme, et exempte de grains (Tamime *et Robinson*, 1999). Malgré des efforts concertés et un contrôle rigoureux des procédés de fabrication, il n'est pas rare d'observer des variations dans la texture des yogourts. Les causes possibles de l'apparition de défauts sont diverses: changement des conditions d'incubation (température et/ou durée), un déséquilibre des ferments modifiant le développement d'acide ou le profil de post-acidification, un manque de consistance du mélange laitier (niveau de protéines), une activité protéolytique de certaines souches psychrophiles ou la présence d'enzymes dans le lait (Lucey, 2004).

III.2.5.1/ Synérèse

L'expulsion du lactosérum à la surface des gels lactiques appelée synérèse est indésirable (Lucey *et Singh*, 1998). Ce défaut est directement remarqué par le consommateur lors de l'ouverture d'un pot de yaourt.

Il est connu que l'expulsion du lactosérum est favorisée si les liens entre les protéines sont brisés. Deux mécanismes peuvent causer ce bris. La première est due à la relaxation des liaisons intermoléculaires protéines-protéines induites par le mouvement thermique. La seconde est provoquée suite à un stress interne dans la matrice. À cause du mouvement Brownien et de la déformation des filaments ou des liaisons entre les protéines, le gel tend à se refermer sur lui-même ayant pour effet de créer une pression endogène sur le lactosérum et possiblement de la synérèse (Van Vliet *et al.*, 1991).

Ce défaut peut survenir suite à une contamination lactique importante dans la matière première. L'hydrolyse des protéines par les bactéries psychrotrophes résulte en une perte de leur capacité de rétention d'eau. Une concentration insuffisante en solides totaux ou une température de solubilisation inadéquate lors de la standardisation de protéines peut également engendrer l'expulsion du lactosérum de la matrice (Tamime et Robinson, 1999). L'utilisation inappropriée d'un agent stabilisant et des fluctuations de température durant la fabrication et la conservation sont également des facteurs influençant la séparation du lactosérum (Clark et Plotka, 2004).

III.2.5.2/ Les défauts de texture

Les défauts de texture sont un gel trop mou ou trop ferme, une faible onctuosité, une sensation râpeuse ou sableuse en bouche (Clark et Plotka, 2004). Une fermeté excessive ressemblant à une texture de pouding peut être causée par un taux élevé de solides totaux, une quantité abusive de stabilisants causant une sur-stabilisation caséique ou une faible température de fermentation. Un réseau de faible structure est dû à une quantité insuffisante de solides totaux, un traitement thermique incomplet, une faible acidité ou une température de fermentation trop élevée. Le manque d'onctuosité est fréquemment la résultante d'un yogourt réduit en matière grasse. La sensation en bouche râpeuse ou sableuse est occasionnée par la présence de larges agrégats de protéines de l'ordre de 1 à 5 mm (Lucey et al., 1997). Une production excessive d'acide lactique, une température d'homogénéisation ou d'incubation élevée, une utilisation abusive de ferments lactiques et une stabilisation incorrecte du réseau sont aussi associées à ce type de défaut (Clark et Plotka, 2004).

III.2.5.3/ Effet des hydrocolloïdes

En industrie alimentaire, il est d'usage d'ajouter des agents stabilisants à la formulation des yogourts. Le rôle principal de ces additifs alimentaires est d'obtenir un yogourt de bonne stabilité avec la texture désirée. Les agents de texture utilisés sont des macromolécules hydrosolubles (hydrocolloïdes) qui conduisent à une fixation de l'eau et donc une augmentation de la viscosité (Tamime et Robinson, 1999).

Ces macromolécules sont essentiellement des polyosides d'origine végétale ou microbienne, qui se dissolvent ou se dispersent aisément dans l'eau pour aboutir à une augmentation très grande de la viscosité du milieu, et parfois à un effet gélifiant, pour de très

faibles concentrations (<1%). La formation d'un gel en milieu aqueux implique l'association de chaînes en solution entre elles, de segments de chaînes entre eux, au niveau des zones de jonction. Au fur et à mesure que les chaînes s'organisent entre elles, le gel devient de plus en plus rigide. Un gel peut donc être défini comme un réseau macromoléculaire tridimensionnel solide retenant entre ses mailles la phase liquide du système (Carnier *et al.*, 2004). Ces macromolécules forment aussi, des réseaux tridimensionnels par des liaisons avec les constituants du yaourt (Doublier *et al.*, 1992), parmi les agents stabilisants employés on trouve la pectine, la gélatine, la carraghénane, la gomme de xanthane, l'amidon et la gomme de caroube (Clark *et Plotka*, 2004).

Dépendant de leurs propriétés fonctionnelles et de leur concentration, ils peuvent gélifier ou simplement accroître la viscosité du gel. Par conséquent, ils contribuent à limiter la synérèse et à donner une texture lisse. Les fabricants recommandent les quantités à employer. Un des critères pour choisir le stabilisant est son effet sur le goût et l'arôme du yogourt. Les agents stabilisants généralement employés sont la pectine, la gélatine, la carraghénane, la gomme de xanthane, l'amidon et la gomme de caroube (Clark *et Plotka*, 2004).

Un autre facteur influençant l'emploi d'un type d'agents stabilisants dépend des propriétés finales désirées. Par exemple, Hess *et al.* (1997) ont étudié la fermeté, la viscosité et la résistance à la synérèse de yaourt produit avec trois mélanges commerciaux de stabilisateurs. Le premier mélange composé de gélatine, carraghénane, gomme de caroube et dextrose, additionné à raison 0.2% (p/p) dans la formulation alimentaire, a donné une structure et une sensation en bouche désirables pour des yogourts à boire. Une autre poudre contenant de la pectine et de l'amidon modifié, additionnée à 0.6% (p/p), a produit un yogourt de meilleure fermeté que le premier mélange. Le dernier ingrédient composé d'amidons modifiés et de gélatine, ajouté à 1% (p/p) dans le lait a donné un yaourt de bonne fermeté comparable à celle de la crème anglaise, et a présenté un taux de synérèse moins élevé. L'ajout de pectine ou d'alginate (0.2%) augmente significativement la capacité de rétention d'eau du gel (Shukla *et al.*, 1988).

De plus, Les travaux de Keogh *et O'Kennedy* (1998) ont démontré qu'un mélange de xanthane et de gomme de caroube (0.3%) augmente la capacité de rétention d'eau du caillé lactique.

Chapitre IV: MATERIEL ET METHODES

Notre expérimentation a été réalisée au niveau du laboratoire de bio-ressources naturelles locales, faculté des sciences biologiques et agronomiques de l'université Hassiba Ben Bouali à CHLEF et le laboratoire des microorganismes bénéfiques des aliments fonctionnels et de la santé (LMBAFS) à la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Abdelhamid Ibn Badis de MOSTAGANEM, durant la période Mai 2012-Avril 2013.

IV.1/ Matériel

IV.1.1/ Matériel végétal

Les graines de caroube, source de galactomannanes, ont été obtenues à partir des gousses de caroube récoltées de la région de Sidi Lakhder, wilaya de Mostaganem en Juillet 2011. Elles ont été conservées à l'abri de la lumière et de l'humidité dans des sacs opaques hermétiquement étanches.

IV.1.2/ Le lait écrémé

Le lait écrémé (0% de matière grasse, spray skimmed milk powder, Belgomilk CVBA-Belgium) utilisé dans notre expérimentation nous a été fourni par la laiterie des ARIBS de la wilaya d'Ain-Defla.

IV.1.3/ Les ferments lactiques

Le mélange de ferments lactiques comportant *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbruekii* ssp *bulgaricus* de référence YF-L811 conditionné sous forme lyophilisée (Hansen CHR (Danemark) a été utilisé dans ce travail.

Les deux souches bénéfiques sont représentées par la souche de référence *Bifidobacterium animalis* ssp *lactis* Bb12 (CHR Hansen, Danemark), et la souche expérimentale bénéfique *Lactobacillus rhamnosus* LbRE-LSAS (issue de la collection de notre laboratoire LMBAFS, Mostaganem).

IV.2/ Méthodes

IV.2.1/ Obtention des galactomannanes à partir des graines de caroube

L'obtention des galactomannanes des graines de caroube passe par deux étapes : l'extraction de la gomme brute et sa purification (figure 10).

IV.2.1.1/ Préparation de la gomme brute

La gomme brute de caroube est obtenue en broyant les endospermes des graines de caroubes, après séparation des autres parties de la graine (les enveloppes tégumentaires et le germe).

Premièrement, les gousses de caroube sont concassées, les graines sont récupérées et triées. Ensuite, les téguments sont enlevés à l'eau bouillante selon le protocole décrit par [Dakia et al. \(2008\)](#):

- 100 g de graines de caroubes (780 graines) sont immergées dans 800 ml d'eau distillée chauffée à 100°C pendant une heure dans un bain marie, les graines absorbent de l'eau et gonflent sans destruction des enveloppes tégumentaires;
- Les graines sont ensuite récupérées de l'eau et lavées, les enveloppes sont séparés manuellement, les radicules sont éliminés après fente des endospermes. Ces derniers seront séchés à 100°C pendant une à deux heures jusqu'au poids constant, broyés en fines particules et tamisés pour obtenir une farine de gomme brute.

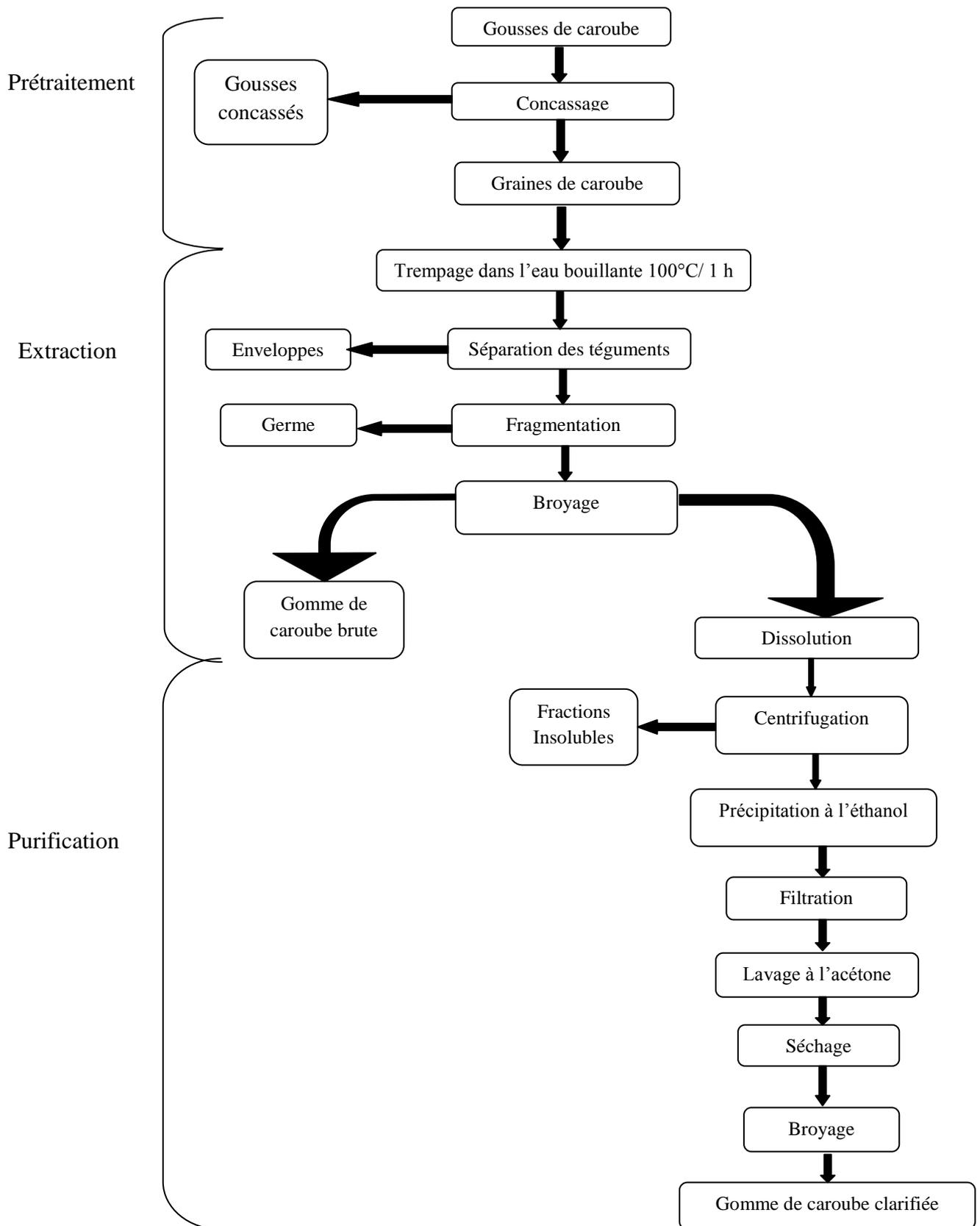


Figure 10: Extraction et purification des galactomannanes de graines de caroube (Prajapati *et al.*, 2013).

IV.2.1.2/ La purification de la gomme brute de caroube

La gomme brute de caroube a subi une étape de clarification selon la méthode décrite par [Bouzuïta et al. \(2000\)](#) et [Rocha et al. \(2009\)](#). Son principe consiste en une solubilisation dans l'eau distillée et une précipitation à l'éthanol:

- 1.3 g de gomme brute est dissoute dans 100 ml d'eau distillée;
- La suspension obtenue est agitée pendant une heure à température ambiante puis chauffée à 80 °C pendant 30 min sous agitation continue;
- La solution de LBG obtenue est refroidie, puis centrifugée pendant une heure. Le matériel insoluble est ensuite éliminé et le surnageant (galactomannanes purs solubles) est récupéré pour subir une étape de précipitation par ajout de deux volumes d'éthanol à la suspension de LBG, sous agitation continue. La préparation est laissée reposée pendant 30 min;
- Le précipité fibreux formé est récupéré par filtration, lavé deux fois à l'acétone et une fois à l'éther diéthylique, séché à 30°C pendant 24h et broyé pour obtenir les galactomannanes purs.

IV.2.2/ Fermentation du lait écrémé en présence ou en absence de LBG

IV.2.2.1/ Revivification et vérification de l'identité des souches

Avant de procéder aux cultures, les différentes souches bactériennes utilisées ont été sujettes aux analyses biochimiques de leurs profils fermentaires et à la coloration de Gram.

Les résultats obtenus confirment l'appartenance des souches lactiques aux espèces mentionnées.

IV.2.2.2/ Préparation du lait stérilisé

La poudre de lait est reconstituée à 10 % (P/V) dans de l'eau distillée et est stérilisé par tyndallisation dans un bain-Marie à une température de 80°C pendant 30 min. L'opération est répétée trois jours consécutifs ([Marshall et al., 1982](#)).

IV.2.2.3/ Préparation du mélange lait écrémé/LBG

➤ Préparation des solutions de LBG

Des concentrations finales de 0.01, 0.02, 0.05 et 0.1% de LBG dans le lait écrémé ont été choisies en tenant compte des travaux de [Hess et al. \(1997\)](#); [Sanchez et al. \(2000\)](#); [Ünal et al., \(2003\)](#) et [Everett et McLeod \(2005\)](#).

Le lait écrémé reconstitué et les solutions de LBG sont préparés séparément, comme a été décrit par [Sanchez et al. \(2000\)](#) et [Ünal et al. \(2003\)](#).

➤ Préparation des solutions lait écrémé/LBG

Des solutions de LBG sont préparées en dispersant la poudre de galactomannanes purs dans l'eau distillée, agitées et chauffées à 80°C pendant 1h avant d'être conservé à 4°C pendant 16-18h.

La solution lait écrémé/LBG est ainsi préparée par ajout de deux volumes équivalents (1:1) de lait écrémé reconstitué et de différentes solutions de LBG. Le mélange est ensuite agité et chauffé à 85°C pendant 5 min. les dispersions finales contiennent 10 % de matière sèche de lait écrémé et des concentrations de 0.01, 0.02, 0.05 et 0.1% (P/V) de LBG.

IV.2.2.4/ Conditions et types de cultures envisagées

IV.2.2.4.1/ Préparation de l'inoculum

De jeunes cultures de 24h de starters (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbruekii* ssp. *bulgaricus*) et de souches bénéfiques sont ajustées à une concentration cellulaire approximative de 10^6 à 10^7 UFC/ml. Chacune de ces cultures est utilisée pour inoculer des échantillons de lait stérile à raison de 3%.

Les cultures de 24h sont collectées des bouillons MRS (*Lactobacillus delbruekii* ssp *bulgaricus* et *Lactobacillus rhamnosus*), MRS cystéiné (*Bifidobacterium animalis* ssp *lactis*) ou de bouillon M₁₇ (*Streptococcus thermophilus*), centrifugées et lavées deux fois et ensuite propagées dans le lait écrémé à raison d'une concentration finale approximative de 10^6 UFC/ml.

IV.2.2.4.2/ Les différents types de cultures

- **Culture des starters lactiques (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*) en absence ou en présence d'une souche bénéfique.**

Des inocula de 3% (1.5 % de chaque monoculture en absence d'une souche bénéfique ou 2% de starters et 1% d'une souche bénéfique) sont propagés dans des flacons contenant le lait écrémé stérile (témoin) ou le lait additionné de LBG et distribués dans des tubes stériles de 10 ml. Ainsi, les tubes de lait sont incubés à 42°C en aérobiose jusqu'à coagulation et la fermentation est stoppée volontairement à pH 4.7 par refroidissement des échantillons. Les laits ainsi fermentés sont conservés à +4°C pendant 28 jours.

IV.2.2.5/ Les milieux de cultures utilisés et les conditions de croissance

La composition des milieux de culture ci-après, est calculée pour un litre de milieu de culture. Tous les milieux préparés (bouillons ou gélose) sont autoclavés à 121°C/15min.

La mise en culture des bactéries lactiques a été faite dans le milieu MRS liquide. Le même milieu, acidifié à pH 5.4 et solidifié par l'ajout de 10 g d'agar-agar, a été utilisé pour le dénombrement de la souche lactique *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* (Dave et Shah, 1996).

- **Milieu MRS (De Man, Rogosa et Sharpe) (De Man et al., 1960)**

Glucose.....	20 g
Peptone.....	10 g
Extraits de viande de bœuf	8 g
Acétate de sodium, 3H ₂ O.....	5 g
Extrait de levure.....	4 g
K ₂ HPO ₄	2 g
Citrate d'ammonium.....	2 g
MgSO ₄ .7H ₂ O.....	0.2 g
MnSO ₄ .4H ₂ O.....	0.05 g
H ₂ O.....	1000 ml
Tween 80.....	1.0 ml
pH.....	6.5±0.2

Le milieu MRS-LP à pH 6.8 est utilisé pour le dénombrement de *Bifidobacterium animalis* ssp *lactis* Bb12 et qui consiste à ajouter la mixture LP: 3g de chlorure de lithium, 2g de propionate de sodium et 5ml d'acide propionique (Vinderola et Reinheimer, 1999).

La gélose MRS acidifiée à pH 5.2 additionnée de 50mg/l de vancomycine est utilisée pour le dénombrement des *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS (Saxelin et al., 1999).

➤ **Milieu M17 (Terzaghi et Sandine, 1975)**

Peptone tryptique de de caseine.....	10 g
Peptone pepsique de viande.....	2.5 g
Peptone papaique de soja.....	5 g
Extrait de levure.....	2.5 g
Extrait de viande.....	5 g
Dglycérophosphate de sodium.....	13 g
MgSO ₄	0.25 g
Lactose.....	5 g
Acide ascorbique.....	0.5 g
H ₂ O.....	1000 ml
pH.....	7.1±0.1

➤ **Dilution simple (DS) (Nebra et Blanch, 1999)**

Peptone.....	1 g
NaCl.....	8.5 g
L-cysteine-HCl.....	0.5 g
H ₂ O.....	1000 ml
pH.....	7.0±0.2

IV.2.3/ La cinétique d'acidification

La cinétique d'acidification du lait est suivie par la mesure du pH à des intervalles de 2h à compter du démarrage (0 h) jusqu'à la fin de fermentation (pH 4.7).

Le pH a été mesuré avec une sonde de pH-mètre déigital (pH 211, HANNA instruments, France).

Les vitesses maximales d'acidification ($\Delta\text{pH max}/\Delta t$) de chaque culture bactérienne sont calculées selon l'équation donnée par [Desjardins et al. \(1991\)](#) :

$$\Delta\text{pH max}/\Delta t = \text{pH}_1 - \text{pH}_2 / t_2 - t_1$$

Où pH_1 et pH_2 sont les valeurs de pH enregistrées aux temps t_1 et t_2 de la phase exponentielle, respectivement.

IV.2.4/ La cinétique de croissance

Un prélèvement d'échantillon de lait de 1ml est effectué à des intervalles de 2 h du démarrage (0 h) jusqu'à la fin de la fermentation (pH 5).

Le dénombrement des cellules est effectué après une série de dilutions au 1/10 dans la solution dilution simple (DS). L'agitation au vortex permet d'homogénéiser les échantillons prélevés.

Le dénombrement des colonies est effectué sur un aliquot de 100 μ l dans une culture en masse.

Les vitesses spécifiques maximales de croissance ($\mu \text{ max}/\Delta t$) de chaque culture bactérienne sont calculées selon l'équation donnée par [Desjardins et al. \(1991\)](#) :

$$\mu \text{ max}/\Delta t = \ln X_2 - \ln X_1 / t_2 - t_1$$

Où X_1 et X_2 représentent les quantités de biomasse accumulées aux temps t_1 et t_2 de la croissance exponentielle, respectivement.

Le temps de génération (T_g) est calculé comme suit :

$$T_g = \ln 2 / \mu$$

Où Ln : Logarithme népérien.

IV.2.5/ Suivi de l'évolution post fermentaire du lait écrémé conservé à 4°C

IV.2.5.1/ Suivi de la post-acidification du lait

L'évolution de l'acidité post-fermentaire du yaourt au cours de sa conservation à 4°C a été déterminée par mesure hebdomadaire de son pH durant une période de 28 jours.

IV.2.5.2/ Détermination de la survie des souches bactériennes dans le lait fermenté conservé à 4°C.

La survie des souches bénéfiques a été déterminée à chaque semaine sur un échantillon de 1ml de lait fermenté dilué au 1/10 avec une solution stérile de DS (0.1% de peptone : P/V) permettant le dénombrement des colonies obtenues après incubation sur milieu approprié.

Le taux de survie est calculé selon l'équation rapportée par [Ustunol et Gandhi \(2001\)](#) :

$$\text{Viabilité \%} = (\text{UFC à la } n^{\text{ième}} \text{ semaine d'entreposage} - \text{UFC initial}) \times 100$$

IV.2.5.3/ Mesure et suivi de la viscosité du lait écrémé

La viscosité développée dans le lait fermenté est mesurée à l'aide d'un viscosimètre (Digital viscometer SNB-1) équipé de quatre mobiles de rotation, après 1, 7, 14, 21 et 28 jours d'entreposage.

Le lait fermenté est un fluide viscoélastique rhéofluidifiant. Toute manipulation énergétique modifie ses propriétés rhéologiques. De ce fait une attention particulière est portée aux échantillons du lait fermenté destinés à la mesure de viscosité.

Le principe de la viscosité tel que conçu par Brookfield est d'appliquer une force de mouvement à un produit en mettant en rotation un mobile de taille fixe. La résistance du produit aux mouvements de rotation du mobile est enregistrée à l'aide d'un ressort spiralé interne, puis convertie en unité viscosimétrique.

Le coefficient de viscosité μ (Pa.s) est le rapport de la contrainte τ (Pa) sur la vitesse de cisaillement γ (s^{-1}). Dans ce but, un viscosimètre (Brookfield Engineering Labs.Inc, USA) a été utilisé pour mesurer la viscosité. Le viscosimètre est muni de mobiles cylindriques selon la nature du produit (le mobile utilisé dans le cas du yaourt est le numéro 3).

IV.2.5.4/ Mesure et suivie de la synérèse

La synérèse du lait fermenté est mesurée à l'aide d'une seringue selon [Tamime et al. \(1996\)](#). La quantité du lactosérum expulsée de 10 ml d'échantillon du lait fermenté est exprimée en millilitres de lactosérum. L'indice de synérèse, exprimé en pourcentage, a été déterminé en divisant la quantité (ml) de lactosérum recueillie par la quantité du lait fermenté de départ.

IV.2.6/ Analyse statistique

Trois répétitions indépendantes ont été réalisées pour chaque test. Une analyse statistique (analyse de variance à un facteur : ANOVA) a été réalisée pour déterminer les différences significatives entre les différentes concentrations de LBG ($P < 0.05$). Les résultats sont exprimés en moyenne \pm l'écart type. Le logiciel utilisé pour le traitement de nos résultats est XLStat Pro 7.5.

Chapitre V: RESULTATS ET DISCUSSION

V.1/ Obtention des galactomannanes à partir des graines de caroube

La gomme brute de caroube est composée majoritairement de galactomannanes. D'une manière générale, elle contient environ 91% de galactomannanes, 4% de protéines, 1% de cellulose et de lignine, 1% de lipides et 1% de minéraux (Da Silva *et al.*, 1990). La purification de la gomme brute permet d'éliminer une série de composés comme les protéines, les lipides, les minéraux, la lignine et la cellulose.

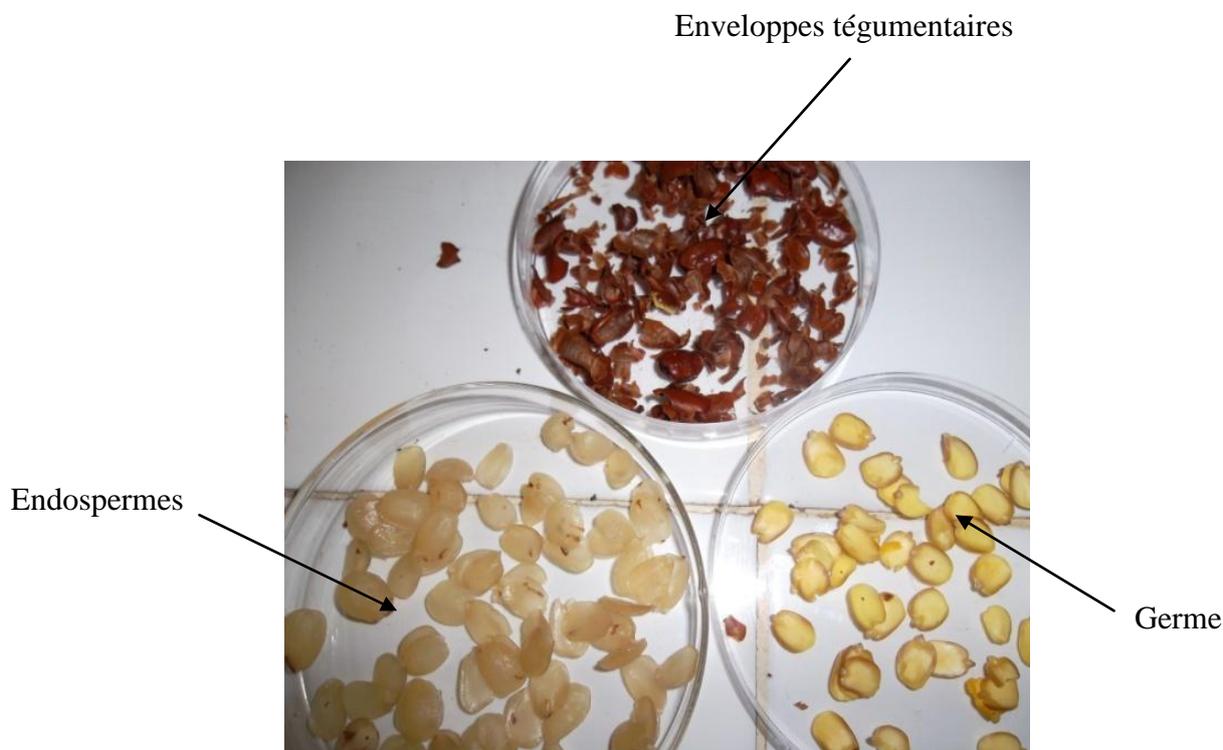
V.1.1/ Extraction de la gomme brute

L'obtention des endospermes de graines de caroube est difficile en raison de la solidité et de la dureté de l'enveloppe brune recouvrant les graines. Toutefois, leur trempage dans l'eau chaude à 100°C pendant une heure a conduit à une augmentation considérable de leur volume (figure 11) grâce à la capacité de la gomme de caroube (endosperme) de se lier à l'eau. Ainsi, l'enveloppe tégumentaire est facilement brisée et le germe est séparé (manuellement) des endospermes (Dakia *et al.*, 2007).



Figure 11: Trempage des graines de caroube à 100°C pendant 1 heure.

La [figure 12](#) montre le résultat de la séparation des graines de caroube en leurs trois composants constitutifs (enveloppes, endospermes et le germe).



[Figure 12](#) : Séparation des trois composants constitutifs enveloppes, germe et endospermes de la graine.

La couleur de la gomme brute obtenue était jaunâtre, ceci est dû selon [Avalone et al. \(1997\)](#) aux certains résidus des téguments et au passage de certains pigments ou substances tanniques des enveloppes vers les endospermes.

V.1.2/ Purification de la gomme brute

Les propriétés de la gomme brute de caroube sont globalement semblables aux propriétés des galactomannanes qui la constituent. Cependant, il est intéressant de travailler avec de la gomme purifiée car quelle que soit l'origine géographique de la graine, la purification permet d'obtenir un produit plus standardisé. Elle élimine également une majorité de composés insolubles et diminue ainsi, d'éventuelles interférences à une bonne activité des ferments lactiques.

La purification par précipitation à l'alcool permet d'éliminer les fibres (cellulose et lignine) et les lipides et de diminuer considérablement les quantités de minéraux et de protéines (Da Silva *et al.*, 1990; Andrade *et al.*, 1999).

La figure 13 illustre les étapes de la purification de la gomme de caroube pour obtenir les galactomannanes de caroube purs utilisés dans notre expérimentation.

La première étape de la purification consiste à solubiliser la gomme brute dans l'eau distillée (figure 13, a). Cette dernière est partiellement soluble à froid ce qui requiert un traitement thermique pour la solubiliser totalement. Dakia *et al.*, (2008) rapportent que cette solubilisation est plus efficace à 80°C. Ainsi, Pollard *et al.* (2007) ont enregistré des pourcentages de solubilisation de l'ordre de 50% à 5°C et de 90% à 85°C.

La centrifugation de la solution permet de décanter les résidus insolubles (matières insolubles dans l'eau: composants cellulaires et polysaccharides insolubles) (figure 13, b) qui seront éliminées par filtration (Pollard *et al.*, 2007).

Les polysaccharides solubles (galactomannanes) sont récupérés du surnageant par ajout d'éthanol (figure 13, c) (Pollard *et al.*, 2007). Les galactomannanes qui sont insolubles dans l'éthanol forment un précipité blanc, qui est récupéré par filtration, lavé à l'acétone pour éliminer les traces d'éthanol (figure 13, d), puis séché (figure 13, e) et broyé pour obtenir les galactomannanes purifiés (figure 13, f).

Andrade et ses collaborateurs (2007), rapportent que le taux de galactomannanes rencontrés dans les gommes purifiées est de l'ordre de 98%, ce qui indique que la purification a permis d'éliminer une série de composés comme les protéines, les lipides, les minéraux, la lignine et la cellulose. Ainsi, la purification améliore la qualité des polysaccharides et élimine les saveurs indésirables. La gomme purifiée est plus claire et les solutions sont plus stables; ceci est dû selon Bouzouita *et al.* (2007) à l'élimination des impuretés et des enzymes endogènes.

Dans trois essais successifs de purification de 1.3 g de gomme brute, nous avons récupéré respectivement, 1.13, 1.08 et 1.11 g de galactomannanes purs, ce qui correspond à un rendement de l'ordre de 85,12±1.58%.

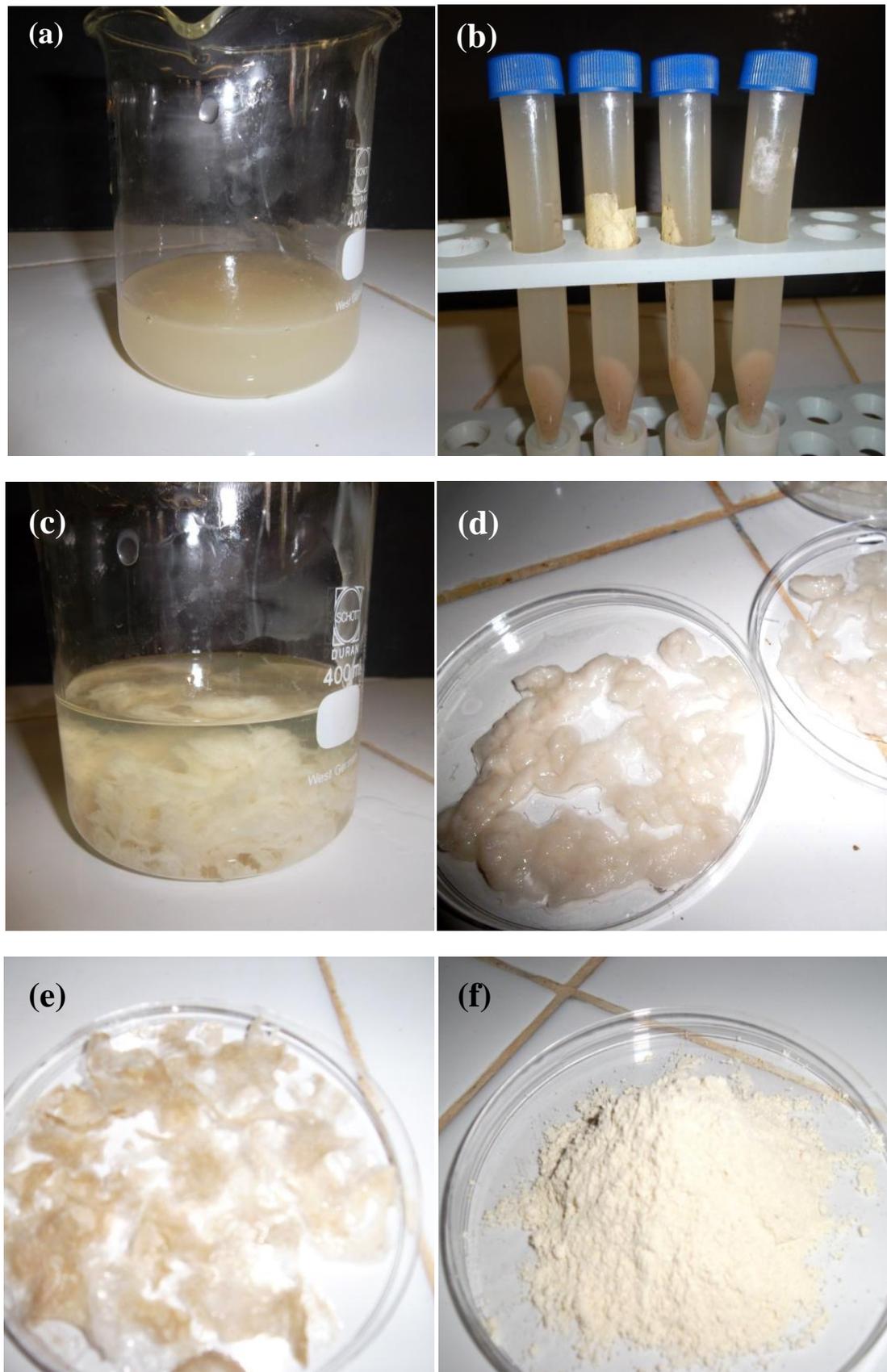


Figure 13: Les étapes de la purification de la gomme de caroube: solubilisation (a), centrifugation (b), précipitation à l'éthanol (c), lavage à l'acétone (d) et séchage (e).

V.2/ Fermentation du lait écrémé en présence et en absence de LBG

V.2.1/ Effet du LBG sur la cinétique d'acidification du lait et la croissance des souches

V.2.1.1/ La cinétique d'acidification

Les résultats relatifs aux pH enregistrés après chaque 2h d'incubation du lait écrémé jusqu'à coagulation sont portés dans les [figures 15 et 16](#).

➤ Cas d'une culture associée entre les deux ferments lactiques et en absence d'une souche bénéfique

Les fermentations sont stoppées volontairement à un pH voisin de 5 par refroidissement rapide du lait fermenté.

Selon nos observations, ce pH, qui coïncide avec la coagulation du lait, oscille entre 4.88 et 5.02 selon l'échantillon considéré.



[Figure 14](#): La coagulation du lait écrémé après fermentation (en absence d'une souche bénéfique).

St. thermophilus et *Lb. bulgaricus* sont des bactéries lactiques homofermentaires qui produisent de l'acide lactique à partir du lactose du lait ([Tamime et al., 1999](#)). La production d'acide lactique conduit à un abaissement du pH. A l'approche du pH isoélectrique (pH 4.6), les micelles de caséines perdent leur stabilité stérique, causant ainsi leur floculation, elles précipitent en formant un coagulum ([figure 14](#)) ([Alais et Linden, 1994](#)). Ainsi nous avons aussi étudié l'impact des galactomannanes de caroube à différentes concentrations (0 à 0.1%) sur la vitesse de coagulation du lait écrémé.

Au démarrage (à 0 h), le pH de tous les échantillons (y compris le témoin) est voisin de 6.6, puis on assiste à une diminution progressive du pH jusqu'au environ 4.7 (figure 15).

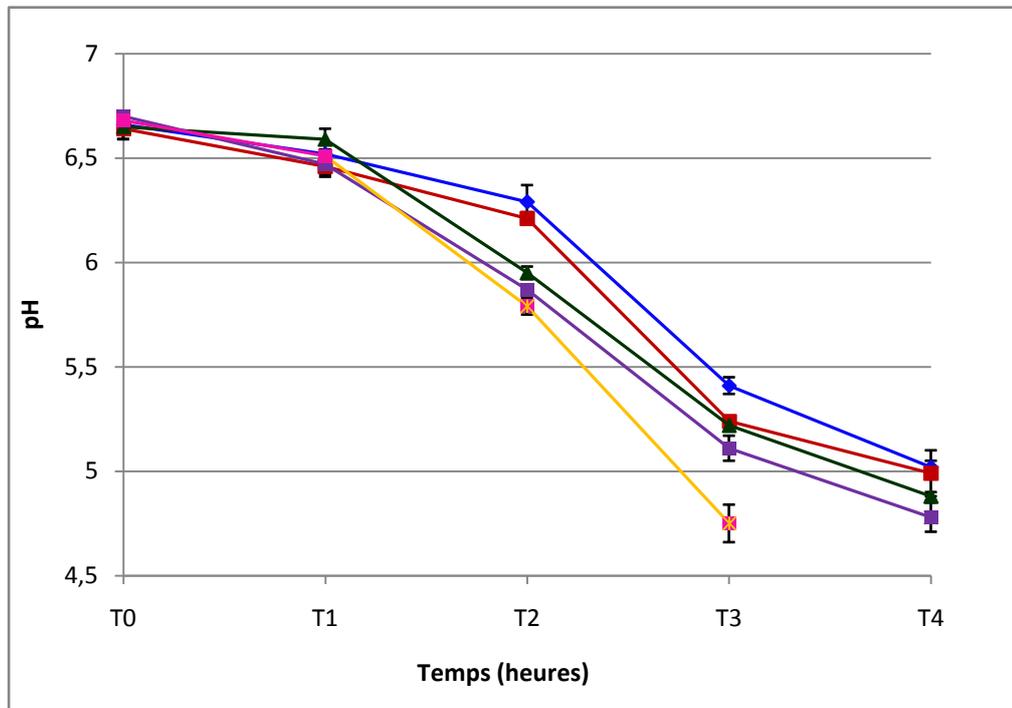


Figure 15: Cinétique d'acidification du lait écrémé par la culture mixte entre les deux starters du yaourt (*Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*) à 42°C et en présence de 0% (témoin) (■); 0.01% (■); 0.02% (■); 0.05% (■) à 0.1% (■) galactomannanes de caroube. Dans toutes les cultures, l'inoculum est à une concentration finale de 10^6 à 10^7 UFC/ml et utilisé à 3% (1 :1). Les valeurs représentent la moyenne (m) de 3 déterminations \pm Et, (n=3), $T_0=0h$, $T_1=2h$, $T_2=4h$, $T_3=6h$, $T_4=$ temps de coagulation (pH \approx 4.7).

D'après la [figure 15](#), on remarque que l'addition des galactomannanes dans le lait n'a aucune influence sur le pH initial du lait, il oscille dans tous les échantillons entre 6.64 et 6.70.

Nous avons constaté une faible vitesse d'acidification du milieu au début de fermentation pour toutes les concentrations testées de LBG. En effet, la diminution de pH entre 0 et 2h oscille entre 0.11 et 0.19 unité pH. Cette lenteur pourrait correspondre à une phase de latence et d'adaptation des souches lactiques au milieu lait, qui sera suivie d'une augmentation progressive de la vitesse d'acidification avec un maximum vers 4 à 6h de culture.

La vitesse spécifique maximale d'acidification du lait écrémé par la culture mixte entre les deux starters du yaourt *St. thermophilus* et *Lb. bulgaricus* enregistrée en absence de galactomannanes de caroube (LBG), est de l'ordre de 0.25 h^{-1} . Par ailleurs, celles enregistrées en présence de 0.01, 0.02, 0.05 ou 0.1 % LBG, sont respectivement de l'ordre de 0.26, 0.29, 0.30 et 0.33 h^{-1} ([Tableau 6](#)), avec des diminutions de pH de l'ordre de 1.65, 1.77, 1.92 et 1.93 unité pH par rapport à 1.64 unité pH en absence de LBG.

Le lait écrémé additionné de LBG requiert des temps de coagulation de plus en plus réduits au fur et à mesure de l'augmentation des concentrations de LBG. En effet, des valeurs de pH voisines de 4.7 sont obtenues à 6h15, 6h10, 6h05 et 6h00 en présence de 0.01, 0.02, 0.05 et 0.1% LBG, respectivement, comparés à 6h30 enregistrée en absence de ce polymère.

Ainsi, nous avons enregistré à la coagulation, des valeurs de pH de l'ordre de 4.94, 4.88, 4.78 et 4.75, enregistrées respectivement en présence de 0.01, 0.02, 0.05 et 0.1% de LBG par comparaison à la valeur 5.02 enregistrée dans le lait écrémé fermenté en absence de LBG.

Ces résultats montrent que des concentrations de 0.02 à 0.1% améliorent significativement ($P < 0.05$) la cinétique d'acidification du lait écrémé par les bactéries lactiques. Tandis qu'une concentration de 0.01% de LBG reste non significative.

A la différence de nos résultats, [Michael et al. \(2010\)](#) ont trouvé que des extraits végétaux ajoutés à des concentrations de 0.014 et 0.028 % augmentent le temps de coagulation du lait écrémé par *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbruekii* ssp. *bulgaricus* par rapport au témoin (absence d'extraits végétaux). Toutefois, il apparaît qu'aucune publication n'a été faite à notre connaissance sur l'effet des galactomannanes ou autres polysaccharides stabilisants sur la vitesse d'acidification du lait.

➤ **Cas d'une culture associée des deux ferments lactiques en présence d'une souche bénéfique (Bb₁₂ ou LBRE-LSAS)**

Toutes les cultures ou fermentations sont stoppées volontairement à un pH voisin de 5 par refroidissement rapide du lait fermenté.

Selon nos observations, ce pH, qui coïncide avec le début de la coagulation du lait, oscille entre 4.64 et 5.04 selon l'échantillon considéré.

Au démarrage (à 0 h), le pH de tous les échantillons (y compris le témoin) est voisin de 6.6 (figure 16).

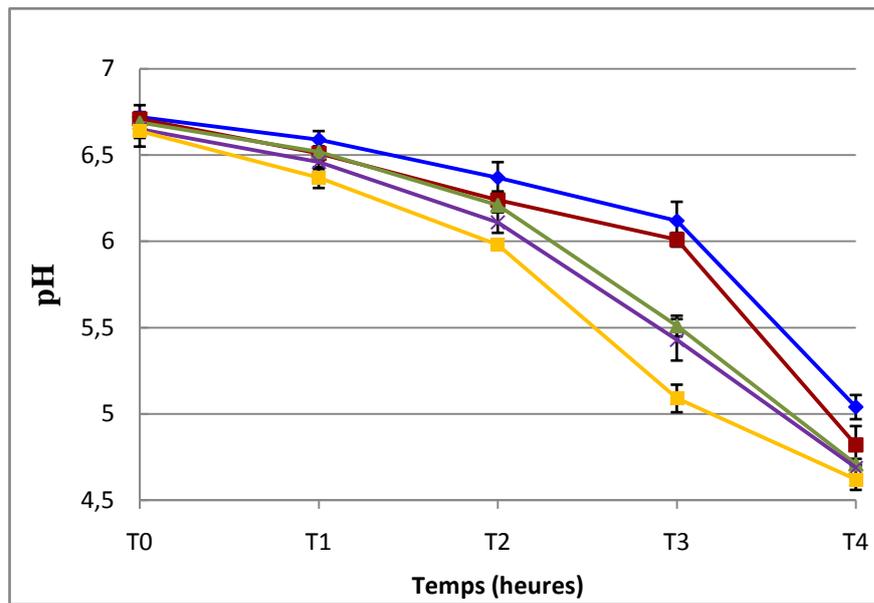
En absence de galactomannanes de caroube, les vitesses spécifiques maximales d'acidification du lait par les deux starters du yaourt (*St. thermophilus* et *Lb. bulgaricus*) en coculture avec l'une ou l'autre des souches bénéfiques (Bb12 ou LBRE-LSAS) sont respectivement, de l'ordre de 0.25 et 0.23 h⁻¹ avec des temps de coagulation respectifs de l'ordre de 6h40 et 6h45. Ceci représente des diminutions respectives de pH de l'ordre de 1.65 et 1.58 unités pH.

Par ailleurs, dans le cas de l'association entre ces deux même starters et la souche bénéfique Bb12, nous avons enregistré des vitesses spécifiques maximales d'acidification de l'ordre de 0.29 h⁻¹, 0.31 h⁻¹, 0.32 h⁻¹ et 0.33 h⁻¹; soient des diminutions de pH de l'ordre de 1.89, 1.94, 1.98 et 2.02 unités pH (figure 16 A) enregistrées respectivement en présence de 0.01, 0.02, 0.05 et 0.1% LBG.

En revanche, dans le lait fermenté par les deux starters lactiques et la souche bénéfique LBRE-LSAS, nous avons noté des vitesses spécifiques maximales d'acidification respectifs de l'ordre de 0.24, 0.30, 0.31 et 0.33 h⁻¹ avec des diminutions de pH de l'ordre de 1.67, 1.95, 1.96 et 2.02 unités pH. La coagulation est obtenue à 6h45, 6h30, 6h30, 6h25 et 6h05 pour les concentrations de 0.01, 0.02, 0.05 et 0.1% de LBG rajouté (figure 16 B).

L'analyse ANOVA a montré que la vitesse d'acidification du lait par les deux starters en présence de la souche bénéfique Bb12 est significativement ($P<0.05$) améliorée en présence de 0.01 à 0.1% de LBG, par contre celle du lait écrémé contenant les starters lactiques et la souche bénéfique LBRE-LSAS est améliorée ($P<0.05$) par l'addition de 0.02 à 0.1% de LBG.

A



B

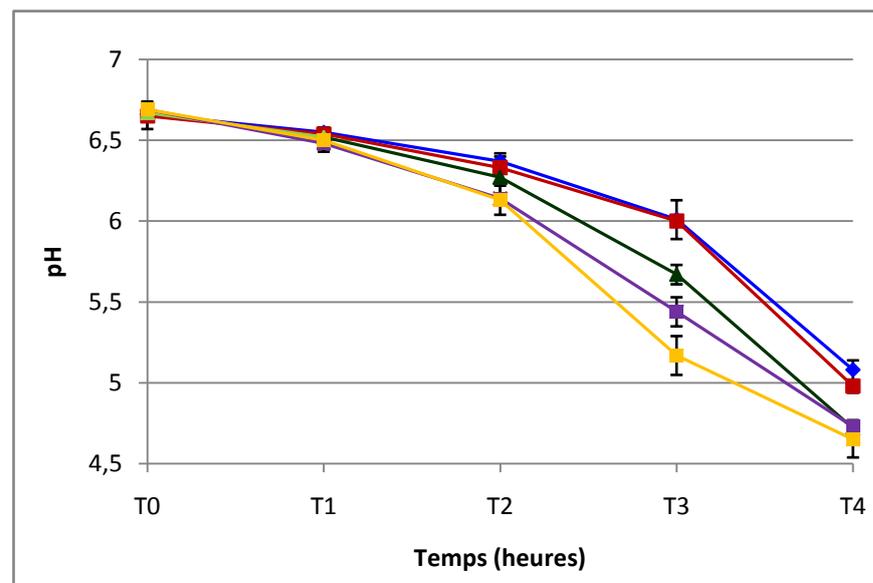


Figure 16: Cinétique d'acidification du lait écrémé par la culture mixte entre les starters du yaourt (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*) et une souche bénéfique: Bb12 (A) ou LBRE-LSAS (B) à 42°C et en présence de 0% (■) (témoin), de 0.01 (■), 0.02 (■), 0.05 (■) et 0.1% (■) de galactomannanes de caroube. Dans toutes les cultures mixtes, l'inoculum est à une concentration finale de 10^6 à 10^7 UFC/ml et utilisé à 3% (1:1:1). Les valeurs représentent la moyenne (m) de 3 déterminations \pm Et (n = 3). T₀ = 0h, T₁ = 2h, T₂ = 4h et T₃ = temps de coagulation (pH \approx 4.7).

Tableau 6: Taux de diminution du pH (ΔpH en unités pH) entre le début de fermentation et le point de coagulation du lait; et la vitesse spécifique maximale d'acidification ($V_A = \Delta\text{pH} / \Delta t$ en h^{-1}) dans les différentes cultures réalisées en absence et en présence de 0.01, 0.02, 0.05 ou 0.1% LBG.

Types de culture	Echantillon avec LBG									
	Témoin		0.01%		0.02%		0.05%		0.1%	
	ΔpH	V_A	ΔpH	V_A	ΔpH	V_A	ΔpH	V_A	ΔpH	V_A
St+Lb	1.64	0.25	1.65	0.26	1.77	0.29	1.92	0.30	1.93	0.33
St+Lb+Bb ₁₂	1.65	0.25	1.89	0.29	1.98	0.31	1.96	0.31	2.02	0.33
St+Lb+LBRE-LSAS	1.58	0.23	1.67	0.24	1.95	0.30	1.96	0.31	2.02	0.33

Luquet et Corieu (2005) rapportent que la vitesse d'acidification du lait dépend de la composition du milieu. En effet, nous avons remarqué que l'addition de LBG raccourcit la coagulation et augmente la vitesse d'acidification du lait.

Audet et al. (1988) ont montré par leur travaux que la métabolisation du lactose couplée à la production d'acides organiques par des souches de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* immobilisées dans un gel mixte de κ -carraghénane-galactomannanes de caroube était meilleure.

Il est admis que les galactomannanes exercent un effet protecteur sur les bactéries lactiques vis-à-vis les produits du métabolisme fermentaire, d'où une production importante d'acides et d'autres métabolites qu'en absence de ces polysaccharides.

V.2.1.2/ La cinétique de croissance

Les résultats relatifs à la cinétique de croissance des starters du yaourt (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbruekii* ssp. *bulgaricus*) et des deux souches bénéfiques étudiées (*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb 12 ou *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS) à 42°C dans le lait écrémé additionné ou non de LBG, sont exprimés en log UFC/ml et ont été enregistrés après chaque deux heures d'incubation jusqu'à coagulation du lait (pH≈4.7).

➤ Cas d'une culture associée des deux ferments lactiques en absence d'une souche bénéfique

Les quantités de cellules viables des deux souches lactiques *St. thermophilus* et *Lb. bulgaricus* atteintes à la coagulation du lait en absence de LBG (témoin), sont respectivement de l'ordre de 9.25 et 9.45 log UFC/ml (figure 17), avec des vitesses spécifiques maximales de croissance de l'ordre de 0.83 et 0.89 h⁻¹ et des temps de génération respectifs de l'ordre 0.83 et 0.77 h.

En revanche, en présence de 0.01, 0.02, 0.05 ou 0.1% de LBG, les quantités de cellules viables de streptocoque enregistrées à la coagulation sont respectivement de l'ordre de 9.43, 9.44, 9.55 et 9.69 log UFC/ml, avec des vitesses spécifiques maximales respectives de l'ordre de 0.97, 0.97, 1.00 et 1.05 h⁻¹ et des temps de génération respectifs de l'ordre de 0.71, 0.71, 0.69 et 0.65 h (figure 17).

Le bacille lactique quant à lui, affiche à la coagulation, des quantités de cellules viables de l'ordre de 9.49, 9.53, 9.56 et 9.72 log UFC/ml en présence de 0.01, 0.02, 0.05 ou 0.1% de LBG, respectivement (figure 17). Cette croissance correspond à des vitesses spécifiques maximales de croissance de l'ordre de 0.96, 0.97, 1.02 et 1.06 h⁻¹ soient des temps de génération de l'ordre de 0.72, 0.71, 0.67 et 0.64 h.

Nous avons remarqué qu'à la coagulation le nombre de cellules viables de *Lb. bulgaricus* est nettement supérieur à celui enregistré chez *St. thermophilus*.

Selon Luquet et Curieu (2005), les souches *St. thermophilus* présentent généralement une activité protéasique faible, voire parfois inexistante par l'absence de protéase de paroi (protéase négative). C'est la raison pour laquelle leur croissance est parfois limitée, du fait de

la quantité insuffisante en peptides et acides aminés initialement présents dans la matière laitière.

En revanche, *Lb. bulgaricus* est beaucoup plus protéolytique. Il lui est possible d'hydrolyser les caséines en peptides de faibles poids moléculaires et en acides aminés; assurant ainsi sa croissance et celle de *St. thermophilus* (Luquet et Curie, 2005).

De plus, nous avons remarqué de faibles quantités en cellules viables au cours des deux premières heures de fermentation comparées à celles accumulées vers 4 à 6 heures. Ceci correspond à une phase de latence et d'adaptation de nos souches aux nouvelles conditions du milieu lait.

Selon la FAO (1995), les bactéries ont besoin pour se développer, d'acides aminés et de peptides directement assimilables. Or, le lait n'en contient que de faibles quantités permettant seulement de démarrer la croissance bactérienne des streptocoques. Ensuite, les lactobacilles par leur activité protéolytique, attaquent la caséine et libèrent les peptides permettant ainsi aux streptocoques de poursuivre leur croissance. Ces derniers stimulent les lactobacilles par production d'acide formique. Lorsqu'on ensemence du lait avec les bactéries du yaourt, le pH (6,6-6,8) est favorable aux streptocoques et assure le démarrage de la fermentation lactique. L'acidité, en se développant, devient défavorable aux streptocoques qui seront alors relayés par les lactobacilles qui poursuivent leur activité fermentaire jusqu'à un pH d'environ 4.

Comme aucune information n'est disponible sur l'effet des galactomannanes ou autres agents stabilisants sur la croissance des bactéries lactiques. Dans le présent travail, nous suggérons un effet protecteur de ces polysaccharides sur les bactéries lactiques contre les conditions hostiles développées dans le milieu (acides organiques et autres agents antimicrobiens synthétisés par les cellules bactériennes au cours de leur croissance).

Une étude de comparaison de composition de la gomme de caroube brute et purifiée (LBG) faite par Kök (2007) a montré la présence de quelques oligosaccharides solubles dans la gomme de caroube brute comme le glucose, xylose, arabinose et galactose, ainsi les étapes de purification (solubilisation et précipitation à l'éthanol) permettent d'éliminer le matériel insoluble (protéines, lipides et cendres). De ce fait, nous pensons attribuer cette amélioration de croissance de bactéries lactiques dans le lait à ces oligosaccharides.

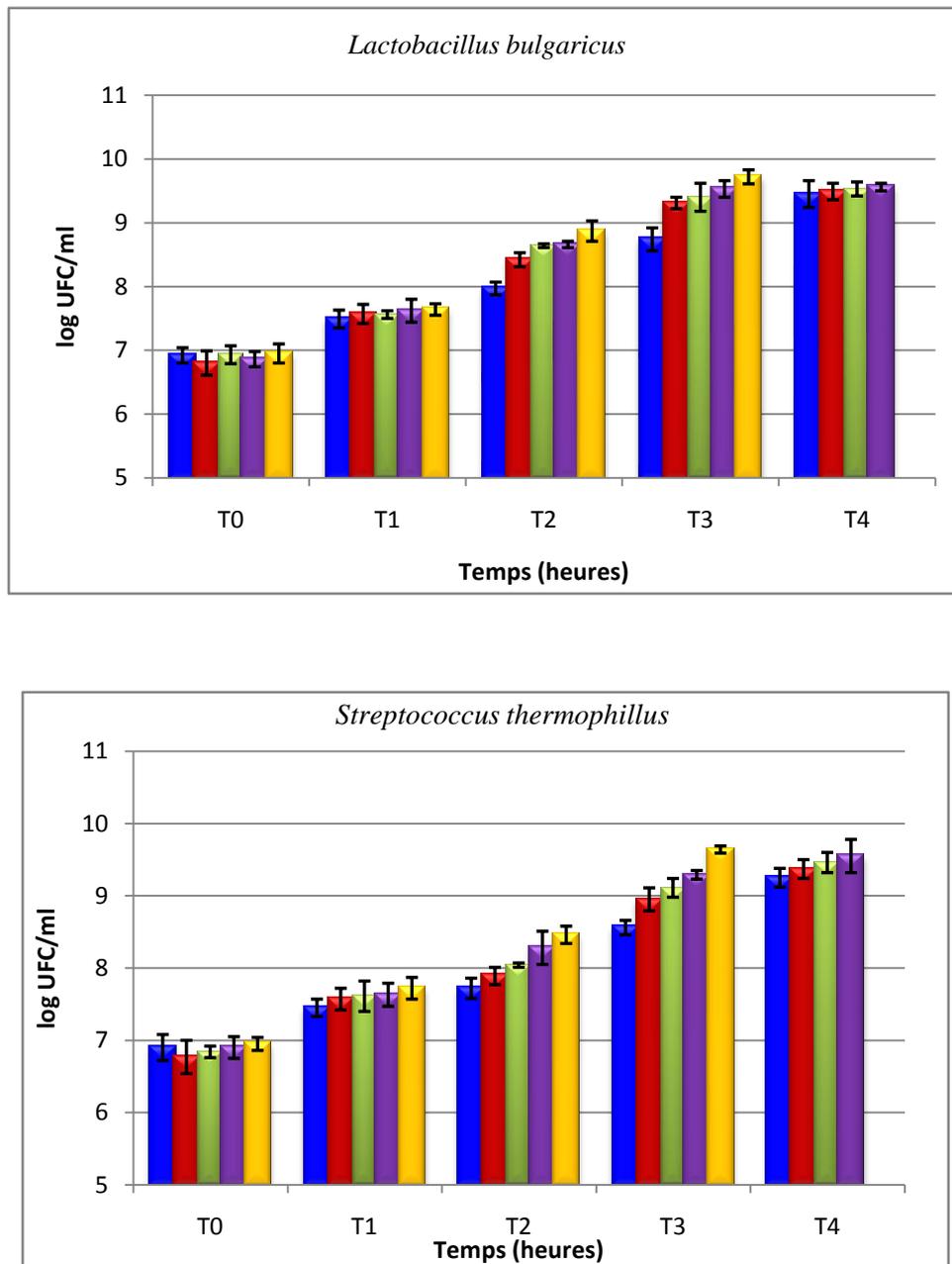


Figure 17: Cinétique de croissance des starters du yaourt (*Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*) à 42°C sur milieu lait écrémé et en présence de: 0% (■), 0.01% (■), 0.02% (■), 0.05% (■) ou 0.1% (■) galactomannanes de caroube. Dans toutes les cultures, l'inoculum initial est de l'ordre de 10^6 à 10^7 UFC/ml et utilisé à 3% (1:1). Les valeurs représentent la moyenne (m) de trois déterminations \pm Et (n=3). T0=0h, T1=2h, T2=4h et T3=6h, T4= temps de coagulation (pH \approx 4.7).

➤ **Cas d'une culture associée des deux ferments lactiques en présence d'une souche bénéfique**

Les nombre de cellules viables des deux starters du yaourt (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*) en culture mixte avec l'une ou l'autre des deux souches bénéfiques étudiées (*Bifidobactérium animalis* subsp. *lactis* Bb 12 ou *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS) en absence (témoin) ou en présence de LBG sont représentées dans les figures 18 et 19.

En absence de LBG et dans une culture mixte entre les deux starters du yaourt et l'une ou l'autre des souches bénéfiques (Bb12 ou LBRE-LSAS), *St. thermophilus* affiche des quantités de cellules viables de l'ordre de 9.32 et 9.73 log UFC/ml, avec des vitesses spécifiques maximales de croissance respectives de 1.12 et 1.25 h⁻¹ et des temps de génération respectifs de 0.61 et 0.55 h notés respectivement en présence de Bb12 et LBRE-LSAS, tandis que la souche *Lb. bulgaricus* accumule à la coagulation 9.62 et 9.85 log UFC/ml de cellules viables, avec des vitesses spécifiques maximales de croissance respectives de 1.23 et 1.26 h⁻¹; soient des temps de génération respectifs de l'ordre de 0.56 et 0.54 h notés respectivement en présence de Bb12 et LBRE-LSAS.

Par ailleurs, les niveaux de croissance de *St. thermophilus* en présence de la souche bénéfique Bb12 et de 0.01, 0.02, 0.05 ou 0.1% de LBG sont respectivement, de l'ordre de 9.40, 9.41, 9.56 et 10.04 log UFC/ml, soient des vitesses spécifiques maximales de croissance respectifs de l'ordre de 1.19, 1.21, 1.26 et 1.45 h⁻¹. Par contre, celles enregistrées en présence de la souche bénéfique LBRE-LSAS sont de l'ordre de 9.83, 9.85, 9.88 et 9.90 log UFC/ml, soient des vitesses spécifiques maximales de croissance respectives de l'ordre de 1.30, 1.32, 1.40 et 1.46 h⁻¹, notés respectivement aux concentrations de LBG étudiées.

La souche *Lb. bulgaricus* quant à elle, affiche à la coagulation des quantités de cellules viables de l'ordre de 9.66, 9.68, 9.73 et 10.14 log UFC/ml et des vitesses spécifiques maximales de croissance de 1.29, 1.31, 1.38 et 1.54 h⁻¹ en présence de la souche bénéfique Bb12, et 9.83, 9.82, 9.85 et 9.86 log UFC/ml et des vitesses spécifiques maximales de croissance respectives de 1.32, 1.34, 1.41 et 1.49 h⁻¹ en présence de la souche bénéfique LBRE-LSAS notés respectivement en présence de 0.01, 0.02, 0.05 ou 0.1 % de LBG.

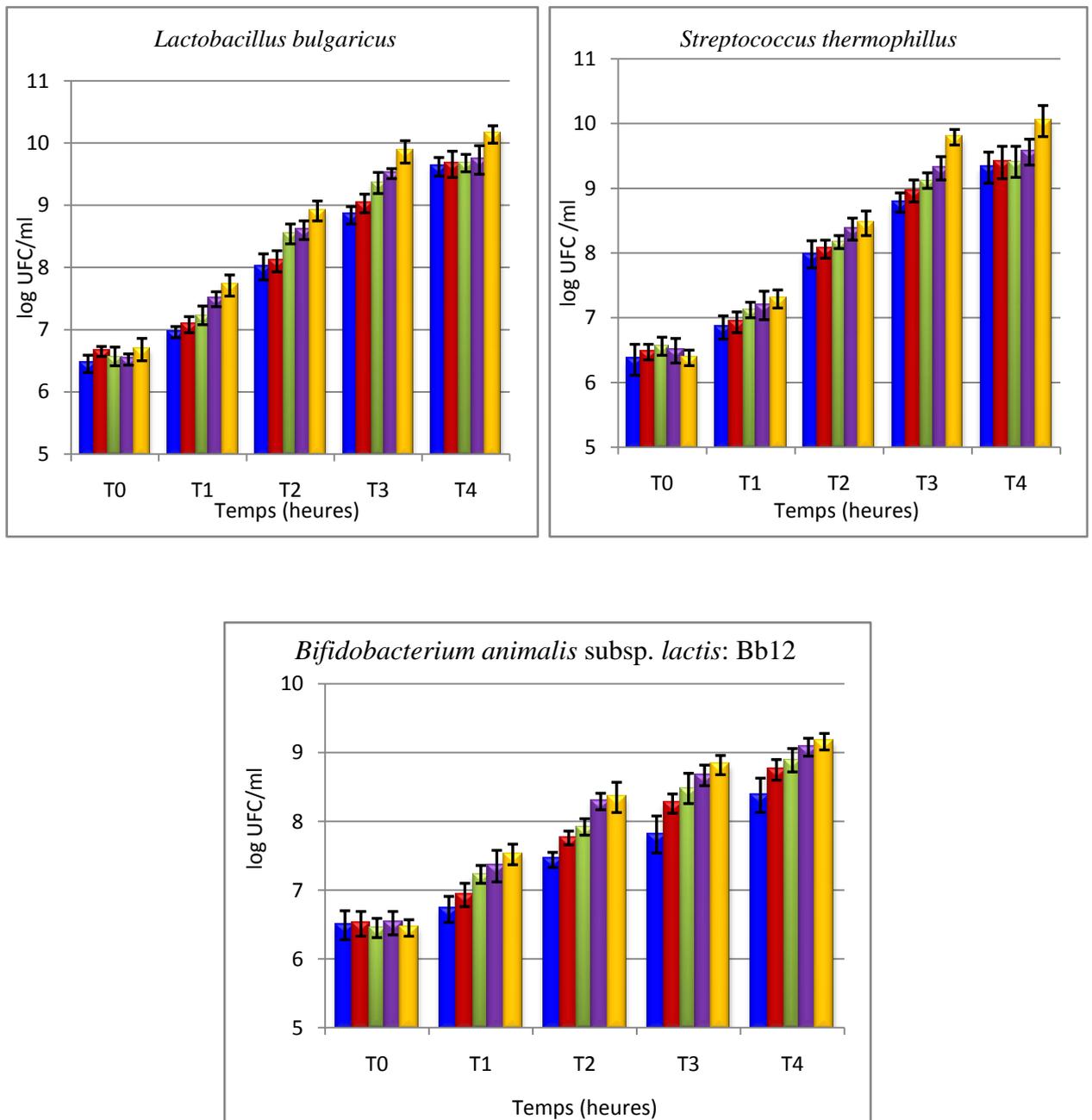


Figure 18: Cinétique de croissance des starters du yaourt (*Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*) et la souche bénéfique *Bifidobacterium animalis subsp. lactis*: Bb 12 à 42°C sur milieu lait écrémé et en présence de: 0% (■) (témoin), 0.01% (■), 0.02% (■), 0.05% (■) ou 0.1% (■) galactomannanes de caroube. Dans toutes les cultures, l'inoculum initial est de l'ordre de 10^6 à 10^7 UFC/ml et utilisé à 3% (1:1:1). Les valeurs représentent la moyenne (m) de trois déterminations \pm Et (n=3). T₀=0h, T₁=2h, T₂=4h et T₃=6h, T₄= temps de coagulation (pH \approx 4.7).

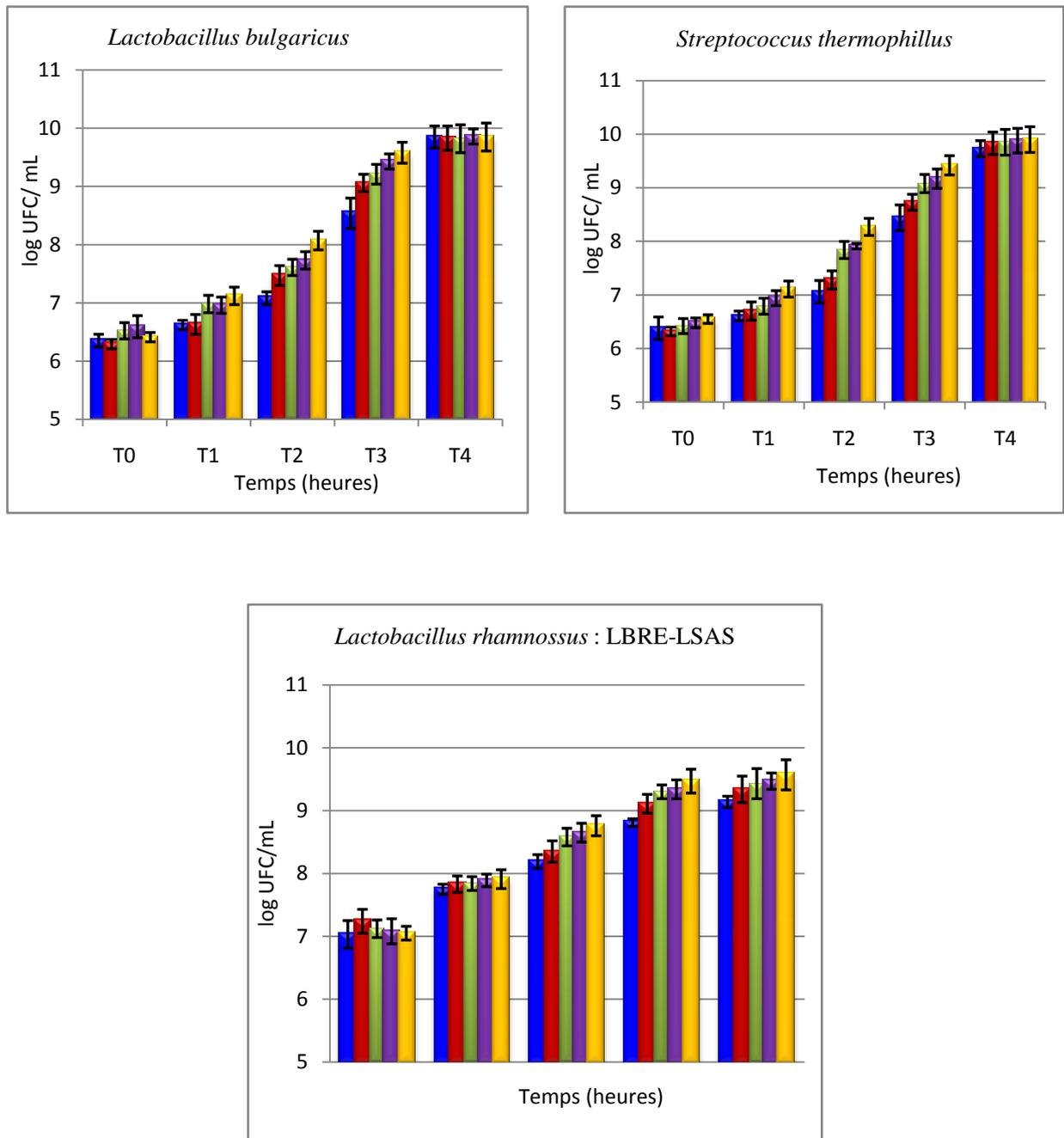


Figure 19: Cinétique de croissance des starters du yaourt (*Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*) et la souche bénéfique *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS à 42°C sur milieu lait écrémé en présence de: 0% (■) (témoin), 0.01% (■), 0.02% (■), 0.05% (■) ou 0.1% (■) de galactomannanes de caroube. Dans toutes les cultures, l'inoculum initial est de l'ordre de 10^6 à 10^7 UFC/ml et est utilisé à 3% (1:1:1). Les valeurs représentent la moyenne (m) de trois déterminations \pm Et (n=3). T₀=0h, T₁=2h, T₂=4h et T₃=6h, T₄= temps de coagulation (pH \approx 4.7).

Nous avons remarqué que les vitesses de croissance de *St. thermophilus* et *Lb. bulgaricus* ont été améliorées en présence d'une souche bénéfique comparées à la culture associées entre les deux starters du yaourt, ceci pourrait être attribué à la production de facteurs de croissance par les souches bénéfiques.

En ce qui concerne les souches bénéfiques Bb12 et LBRE-LSAS, on enregistre à la coagulation et en absence de LBG, des quantités de cellules viables respectives de l'ordre de 8.38 et 9.14 log UFC/ ml ; soient des vitesses spécifiques maximales de croissance respectives de l'ordre de 0.65 et 0.99 h⁻¹ et des temps de génération de 1.05 et 0.69 h.

Les bactéries lactiques du yaourt expriment une activité aminopeptidase et dipeptidyl-aminopeptidase plus élevée comparées aux bactéries bénéfiques. En conséquence, les ferments lactiques se développent plus rapidement dans le lait, tandis que les bactéries bénéfiques se développent lentement en raison de leur faible activité protéolytique (Shihata et Shah, 2000).

L'addition du LBG au lait améliore significativement ($p < 0.05$) la vitesse de croissance des souches bénéfiques. En effet, la souche bénéfique Bb12 affiche à la coagulation 8.75, 8.89, 9.08 et 9.16 log UFC/ml de cellules viables; soient des vitesses spécifiques maximales de croissance respectives de 0.80, 0.88, 0.95 et 1.02 h⁻¹ (temps de génération: 0.85, 0.77, 0.72 et 0.67 h) notées respectivement en présence de 0.01, 0.02, 0.05 et 0.1% de LBG.

En revanche, les quantités de cellules viables de la souche bénéfique LBRE-LSAS sont plus élevées et sont de l'ordre de 9.34, 9.43, 9.47 et 9.57 log UFC/ml quand respectivement 0.01, 0.02, 0.05 ou 0.1% de LBG a été rajouté. La culture témoin qui n'a pas été additionnée de LBG a affiché une valeur de 9.14 log UFC/ml. Les vitesses spécifiques maximales de croissance respectives et enregistrées par cette même souche sont de l'ordre de 1.04, 1.13, 1.15 et 1.25 h⁻¹, et qui correspondent à des temps de génération de l'ordre de 0.66, 0.61, 0.60 et 0.55 h.

Le [tableau 6](#) présente un résumé des vitesses de croissance enregistrées chez les starters du yaourt et les souches bénéfiques dans les différentes cultures réalisées et en présence ou non de LBG. D'après les résultats illustrés dans ce tableau, et ceux du test ANOVA, les galactomannanes de graines de caroube améliorent significativement ($P < 0.05$) la vitesse de croissance des bactéries lactiques dans le lait écrémé.

D'après [Ustunol et Gandhi \(2001\)](#), le temps de génération est calculé pour mesurer l'efficacité de la source carbonée, susceptible de moduler la vitesse de croissance du microorganisme.

D'une manière générale, nous avons noté que le temps de génération des bactéries lactiques et des souches bénéfiques a été considérablement raccourci ($P < 0.05$) en présence de LBG, et il apparaît que ces polymères ont une influence positive sur la multiplication cellulaire.

Au contraire à la gomme de caroube, [El-Sayed et al. \(2002\)](#) ont trouvé que la gomme de xanthane n'a aucun effet significatif sur l'évolution du nombre de cellules viables de bactéries lactiques dans le lait.

[Prajapati et al. \(2013\)](#) ont montré que les galactomannanes de caroube utilisés dans l'encapsulation des médicaments sont dégradés au niveau du colon par la microflore et qu'ils sont susceptibles à l'action des enzymes bactériennes bénéfiques qui sont présentes.

[Sadek et al. \(2006\)](#) ont montré que l'ajout de 0.1% de gomme de xanthane dans le laitensemencé par 2% de *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus acidophilus* et *Lactobacillus rhamnosus* a permis un bon développement de ces bactéries, une population de $10.08 \log$ UFC/ml était obtenue à la coagulation.

Tableau 7: Vitesses spécifiques maximales de croissance (μ max en h^{-1}); temps de génération (Tg en h) et temps de coagulation (Tc en h) des souches bénéfiques en absence (Témoin) et en présence des ingrédients protéiques.

Types de culture	Témoin			Echantillon avec LBG											
				0.01%			0.02%			0.05%			0.1%		
	μ max	Tg	Tc	μ max	Tg	Tc	μ max	Tg	Tc	μ max	Tg	Tc	μ max	Tg	Tc
St+Lb	0.83	0.83	6h30	0.92	0.75	6h15	0.97	0.71	6h10	1.00	0.69	6h05	1.05	0.65	6h00
St+Lb	0.89	0.77	6h30	0.95	0.72	6h15	0.99	0.69	6h10	1.02	0.67	6h05	1.06	0.65	6h00
St+Lb+Bb12	1.12	0.61	6h40	1.19	0.57	6h25	1.21	0.55	6h20	1.26	0.54	6h10	1.45	0.46	6h05
St+Lb+Bb12	1.23	0.56	6h40	1.29	0.53	6h25	1.31	0.52	6h20	1.38	0.50	6h10	1.54	0.44	6h05
St+Lb+B12	0.65	1.05	6h40	0.80	0.85	6h25	0.88	0.77	6h20	0.95	0.72	6h10	1.02	0.67	6h05
St+lb+LBRE-LSAS	1.25	0.55	6h45	1.30	0.52	6h30	1.32	0.52	6h30	1.40	0.49	6h15	1.46	0.46	6h05
St+lb+LBRE-LSAS	1.26	0.55	6h45	1.32	0.54	6h30	1.34	0.50	6h30	1.43	0.48	6h15	1.49	0.49	6h05
St+lb+LBRE-LSAS	0.99	0.69	6h45	1.04	0.66	6h30	1.13	0.61	6h30	1.15	0.60	6h15	1.25	0.55	6h05

V.2.2/ Effet du LBG sur l'évolution post-fermentaire du lait fermenté au cours de l'entreposage à 4°C pendant 28 jours

V.2.2.1/ Evolution du pH du lait fermenté à 4°C

La [figure 20](#) montre les résultats de variation du pH du lait écrémé fermenté en présence et en absence de LBG durant la période de stockage réfrigéré à 4°C. Cette variation semble similaire pour toutes les concentrations de LBG testés (0 à 0.1%). En effet, tous les lots ont montré une diminution progressive des valeurs de pH durant cette période.

[Luquet et Corieu \(2005\)](#) rapportent qu'après fermentation du lait et au cours de la conservation du produit laitier à basse température, l'activité acidifiante des ferments se poursuit.

Le pH initial du lait fermenté (à la coagulation) en absence ou en présence de LBG est compris entre 4.62 et 5.08 ([figure 20](#)). Nous avons observé qu'il décroît graduellement du premier jour d'entreposage jusqu'à la fin de la période de stockage, et ce pour tous les lots de laits fermentés. Les résultats du test ANOVA révèlent que les galactomannanes de graines de caroube n'ont aucun effet significatif ($P < 0,05$) sur la prévention de la post-acidification du lait durant la période de stockage réfrigéré ([figure 28](#)).

D'après [Bourgeois et Larpent \(1996\)](#), les bactéries du yaourt ne se multiplient pas à 4°C mais conservent néanmoins une activité métabolique. C'est ainsi l'acide lactique est encore produit à partir du lactose, ce qui abaisse légèrement le pH et augmente la saveur acide du yaourt.

Si le maintien des yaourts au froid empêche la multiplication bactérienne, il n'arrête pas complètement leur activité métabolique. Bien que lente, la production d'acide lactique se poursuit ([FAO, 1995](#)); d'où un abaissement du pH du lait fermenté conservé à basse température.

Selon [Lourens-Hattingh et Viljoen \(2001\)](#), La post-acidification est un phénomène se produisant souvent dans les yaourts, caractérisés par la production excessive d'eau oxygénée et d'acide lactique par *Lactobacillus Bulgaricus*.

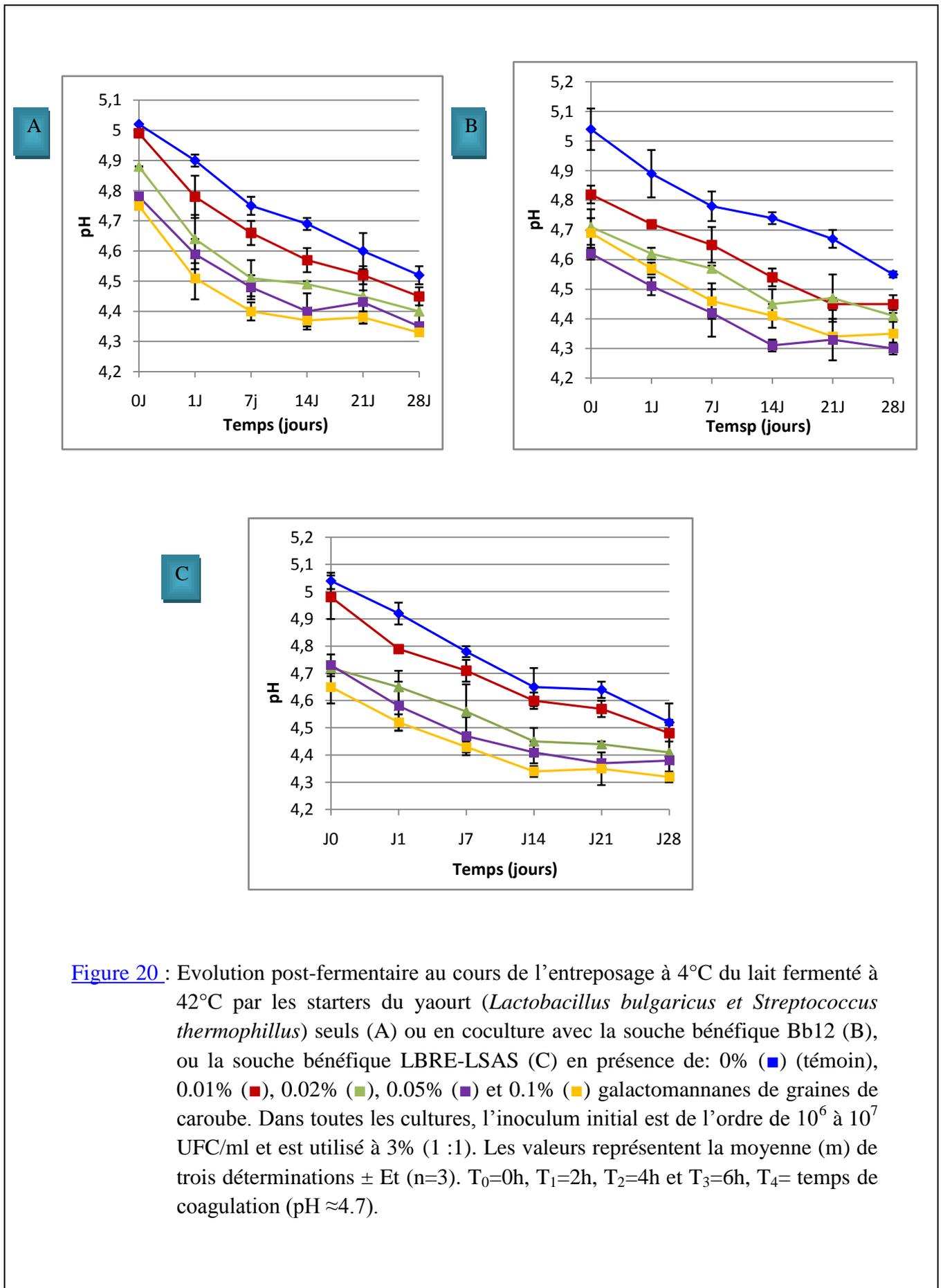


Figure 20 : Evolution post-fermentaire au cours de l'entreposage à 4°C du lait fermenté à 42°C par les starters du yaourt (*Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*) seuls (A) ou en coculture avec la souche bénéfique Bb12 (B), ou la souche bénéfique LBRE-LSAS (C) en présence de: 0% (■) (témoin), 0.01% (■), 0.02% (■), 0.05% (■) et 0.1% (■) galactomannanes de graines de caroube. Dans toutes les cultures, l'inoculum initial est de l'ordre de 10^6 à 10^7 UFC/ml et est utilisé à 3% (1 :1). Les valeurs représentent la moyenne (m) de trois déterminations \pm Et (n=3). $T_0=0h$, $T_1=2h$, $T_2=4h$ et $T_3=6h$, $T_4=$ temps de coagulation (pH \approx 4.7).

Ainsi, on note que la post-fermentation du lait est plus importante entre le premier et le 14^{ème} jour d'entreposage au froid (figure 20). Les abaissements de pH enregistrés durant cette période sont situés dans un intervalle de 0.26 à 0.42 unités pH pour les différents échantillons de lait écrémé fermenté qu'il soit additionné ou non de LBG. Cependant, les fluctuations de pH sont peu prononcées (0.01 à 0.17 unités pH) entre le 14 et le 28^{ème} jour d'entreposage. Ceci est dû probablement à une atténuation de l'activité métabolique des bactéries lactiques à cause du pH du milieu qui devient de plus en plus acide.

D'une manière générale, le pH diminue lors de l'entreposage au froid dans un intervalle compris entre 4.92 à 4.51 après 24 heures de conservation, pour atteindre en fin d'entreposage des valeurs comprises entre 4.55 à 4.52 en absence de LBG, 4.40 à 4.5 en présence de 0.01 à 0.02% LBG et jusqu'à 4.30 à 4.38 en présence de 0.05 à 0.1% LBG (figure 20).

Nous avons remarqué que la diminution du pH en présence de LBG est plus importante qu'en absence de LBG mais reste non significative ($P < 0.05\%$).

El-Sayed *et al.* (2002) ont enregistré des diminutions de pH de 4.14 à 3.65, de 3.96 à 3.60 et 4.08 à 3.80, respectivement, en présence de 0.05% de gomme de xanthane, 0.005 ou 0.01 % d'un mélange de gomme de xanthane, de LBG et de gomme de guar au cours de 10 jours de conservation à 4°C.

D'une manière globale, nos résultats correspondent avec les travaux publiés d'Ünal *et al.* (2003) qui ont montré que le pH du yaourt écrémé additionné de LBG diminue fortement entre le premier et le 14^{ème} jour de conservation.

Michael *et al.* (2010) ont remarqué que la diminution du pH du yaourt additionné d'extraits végétaux est significative qu'un yaourt non additionné de ces extraits au cours de la conservation au froid, il diminue de 4.46 à 4.40 après un jour de conservation.

Dans le présent travail et après 21 jours d'entreposage, nous avons noté une légère augmentation de 0.01 à 0.03 unités pH dans certains échantillons de lait fermenté, ceci est dû probablement aux enzymes protéolytiques qui continuent à hydrolyser les protéines et peuvent ainsi entraîner une baisse de la viscosité ou de la rigidité du gel et surtout faire apparaître des peptides à saveur amère (Bourgeois et Larpent, 1996).

V.2.2.2/ Viabilité des bactéries lactiques et des souches bénéfiques au cours de l'entreposage à 4°C

La conservation frigorifique à 4°C est utilisée dans le but de garder un nombre minimum de cellules viables et qui est fixé à 10^6 log UFC/ml par la législation (AFSA, 2005). En effet, la viabilité des bactéries pendant la conservation à 4°C jusqu'à la consommation est une propriété très importante des cultures destinées à être utilisées comme probiotiques. Toutefois, de telles activités ne joueront pas un rôle efficace dans la matrice alimentaire sauf si elles sont présentes en un nombre suffisant de cellules viables au moment de la consommation. Pour cette raison, tout changement dans la population de bactéries viables pendant la durée de vie prévue du produit en question devrait être connu.

Dans notre étude, la viabilité des souches *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb 12 et *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS a été évaluée pendant une durée de stockage de 28 jours à 4°C. Cette période est celle au cours de laquelle la sécurité microbiologique et la salubrité des produits laitiers fermentés sont maintenues pour une température de stockage précise.

➤ Cas d'une culture associée des deux ferments lactiques en absence d'une souche bénéfique

Les résultats relatifs à l'évaluation de la viabilité de *St. thermophilus* et *Lb. bulgaricus* dans le lait écrémé fermenté en présence de 0 à 0.1% de galactomannanes de graines de caroube, entreposé à 4°C sont illustrés dans la [figure 21](#).

Il apparaît que la viabilité des bactéries lactiques est affectée par la durée d'entreposage au froid, en diminuant progressivement au cours de la période de réfrigération. Toutefois et à la différence du lait fermenté en absence de LBG, le nombre des cellules lactiques viables à la fin d'entreposage réfrigéré reste supérieur à $\log 7$ UFC/ml en présence de 0.02 à 0.1% LBG (et qui dépasse le niveau requis par la législation qui est fixé à $6 \log$ UFC/ml), il est compris entre 6.11 et 6.23 \log UFC/ml en présence de 0.01% LBG, tandis qu'il est de l'ordre de seulement 5 \log UFC/ml en absence de LBG.

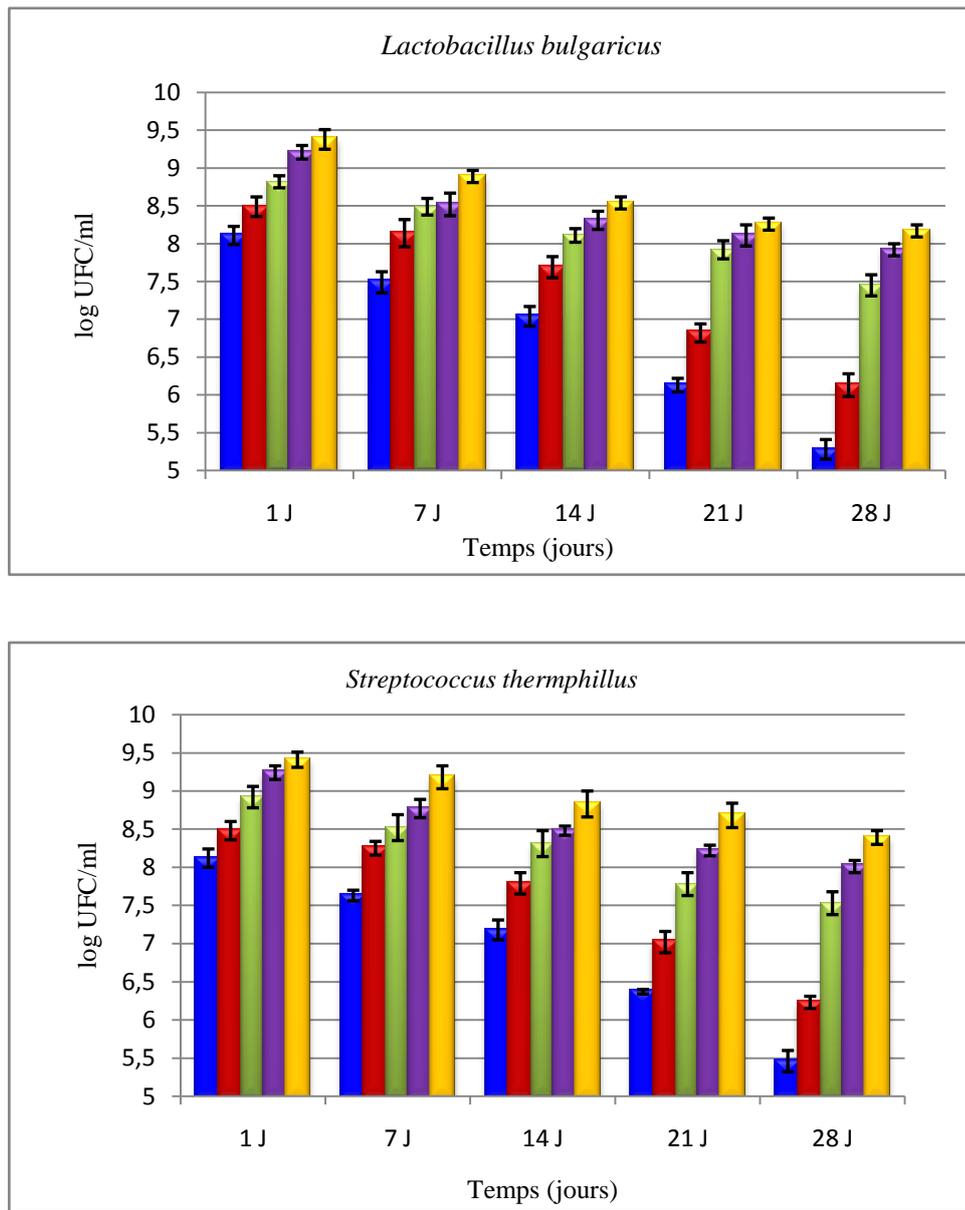


Figure 21: Viabilité au cours de l'entreposage à 4°C pendant 28 jours des bactéries lactiques dans le lait écrémé fermenté à 42°C par *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* en présence de 0% (■) (témoin), 0.01% (■), 0.02% (■), 0.05% (■) et 0.1% (■) de galactomannanes de caroube. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 3 déterminations \pm Et (n = 3).

Au premier jour de conservation, *St. thermophilus* a enregistré en absence de LBG une perte de 1.1 log UFC/ml de cellules viables par rapport à 0.95, 0.52, 0.31 et 0.28 log UFC/ml enregistré respectivement, en présence de 0.01, 0.02, 0.05 et 0.1% de LBG. Ces pertes augmentent au cours de la période de conservation réfrigérée du lait fermenté. En effet, le nombre de cellules viable restantes enregistré après une, deux, trois et quatre semaines de conservation est de l'ordre de 7.63, 7.18, 6.37 et 5.46 log UFC/ml, et qui correspondent à des pertes respectives de l'ordre de 1.62, 2.07, 2.88 et 3.79 log UFC/ml.

Toutefois, ces pertes sont diminuées en présence de LBG, en effet, nous avons enregistré en fin d'entreposage, des quantités de cellules viables de l'ordre de 6.23 à 7.53 log UFC/ml en présence de 0.01 à 0.02% LBG, 8.01 à 8.39 log UFC/ml en présence de 0.05 à 0.1% LBG comparées à seulement 5.46 log UFC/ml en absence de ce polysaccharide.

D'une manière générale, les pertes en cellules viables de *St. thermophilus* enregistrées en présence de 0.01 à 0.1% de LBG étaient comprises entre 0.28 et 0.95 log UFC/ml après 24 heures de conservation à 4°C, ces pertes augmentent pour atteindre 0.51 à 1.18 log UFC/ml après une semaine de conservation, et 0.86 à 1.64 log UFC/ml après deux semaines de conservation jusqu'à 1.01 à 2.41 log UFC/ml après trois semaines de conservation. En revanche, Ces pertes restent inférieures à celles enregistrées en absence de LBG, où les pertes de viabilité bactérienne ont été calculées à 1.62, 2.07, 2.88 log UFC/ml après une, deux et trois semaines, respectivement.

En fin d'entreposage, le taux de cellules viables de *St. thermophilus* enregistré est de l'ordre de 66.06, 79.76, 83.87 et 86.58% en présence de 0.01, 0.02, 0.05, et 0.1% de LBG respectivement ce qui correspond à 6.23, 7.53, 8.01 et 8.39 log UFC/ml de cellules viables par rapport à seulement 5.86 log UFC/ml en absence de ce polysaccharide.

La souche lactique *Lb. bulgaricus* quant à elle enregistre au premier jour d'entreposage et en absence de LBG 8.11 log UFC/ml de cellules viables; soit une perte de 1.34 log UFC/ml, et 8.03 log UFC/ml après une semaine de conservation (diminution de 1.42 log UFC/ml). Cette viabilité diminue progressivement où en enregistre 7.64 log UFC/ml de cellules viables après deux semaines de conservation et 6.43 log UFC/ml après trois semaines pour finir à seulement 5.28 log UFC/ml à la fin d'entreposage.

Par contre, et en présence de 0.01, 0.02, 0.05 ou de 0.1% LBG, nous avons enregistré respectivement, des pertes de l'ordre de 1.35, 1.07, 1.03 et 0.83 log UFC/ml après une semaine de conservation. Ces pertes augmentent durant la conservation au froid mais restent faibles par rapport au témoin. Et même si cette atteinte de la viabilité de *Lb bulgaricus* s'accroît en deux semaines de conservation.

A la fin d'entreposage, nous avons enregistré des pertes de viabilité de l'ordre de 3.36, 1.78, 1.67 et 1.55 log UFC/ml en présence respectivement, de 0.01, 0.02, 0.05 et 0.1% LBG; ce qui correspond à des taux de viabilité de l'ordre de 6.11, 7.045, 7.92 et 8.12 log UFC/ml par rapport à seulement 5.28 log UFC/ml en absence de LBG.

D'une manière générale, le nombre de cellules viables de la souche *Lb. bulgaricus* et *St. thermophilus* enregistré à la fin d'entreposage oscillent entre 6.13 à 8.17 log UFC/ml et 6.23 à 8.39 UFC/ml en présence de 0.01 à 0.1% de LBG, pour seulement 5.28 et 5.46 log UFC/ml en absence de LBG, respectivement.

D'après ces résultats, on remarque des améliorations très significative ($p < 0.05$) de la survie des souches lactiques en présence de LBG, le taux d'amélioration dépend de la concentration des galactomannanes additionnée dans le lait écrémé. Ainsi, notre étude a montré que pendant l'entreposage réfrigéré, la survie de *Lb. bulgaricus* était plus affectée que celle de *St. thermophilus*. Cette observation a également été auparavant rapportée par de nombreux auteurs (Kim et al., 1993; Dave et Shah, 1997 et Akalin et al., 2004).

➤ Cas d'une culture associée des deux ferments lactiques en présence d'une souche bénéfique

Les Figures 22 et 23 représentent respectivement, les résultats de l'évolution dans le lait fermenté conservé à 4°C pendant 28 jours, de la viabilité de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus* et des souches bénéfiques *Bifidobacterium animalis* ssp *lactis* Bb12 ou *Lactobacillus rhamnosus* LbRE-LSAS en présence de 0 à 0.1% galactomannanes de graines de caroube.

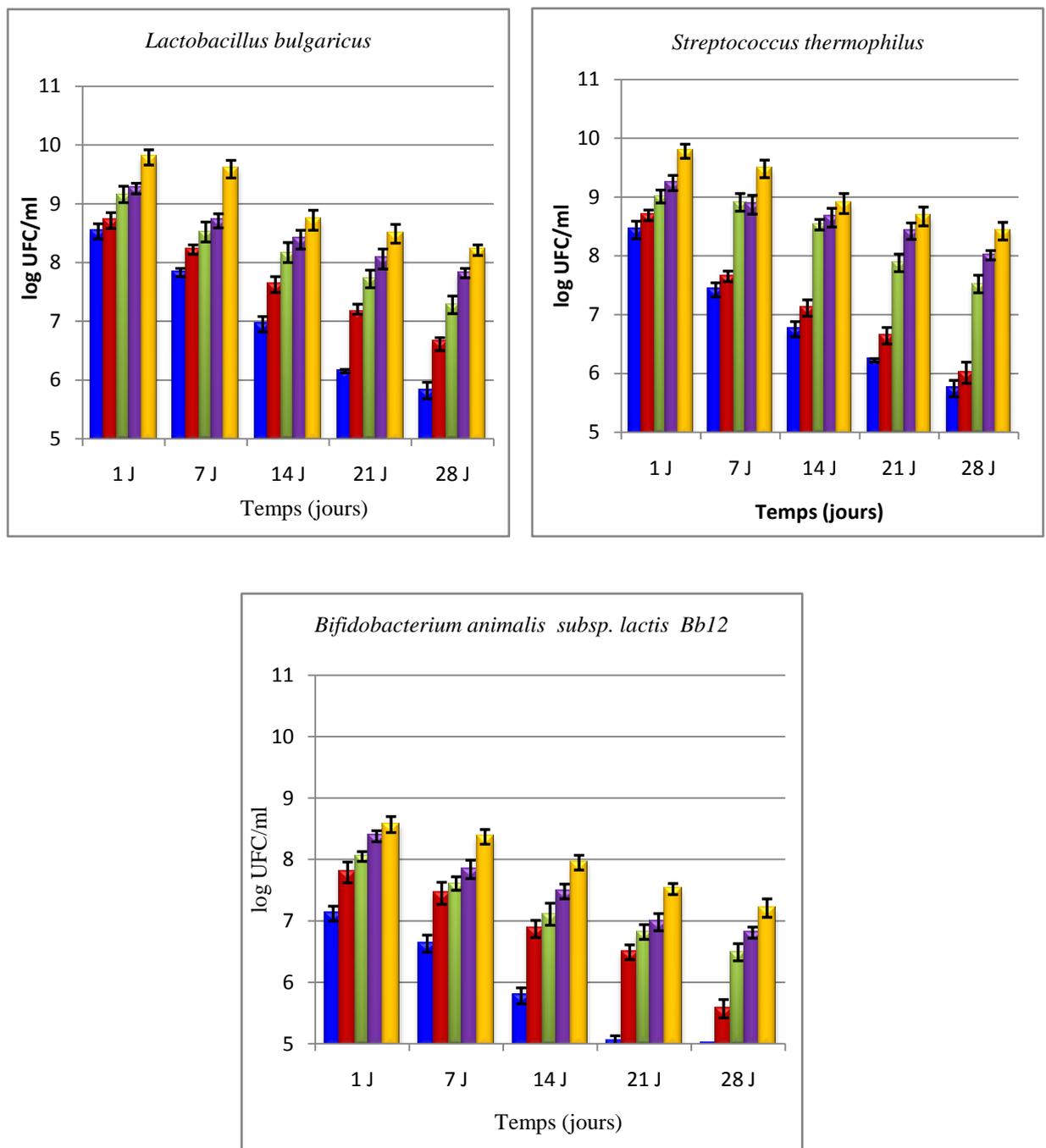


Figure 22: Viabilité au cours de l'entreposage à 4°C pendant 28 jours des bactéries lactiques dans le lait fermenté à 42°C par *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* en cococulture avec la souche bénéfique *Bifidobacterium animalis subsp. lactis Bb12* en présence de 0% (■), 0.01% (■), 0.02% (■), 0.05% (■) ou 0.1% (■) galactomannanes de caroube. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 3 déterminations \pm Et (n = 3).

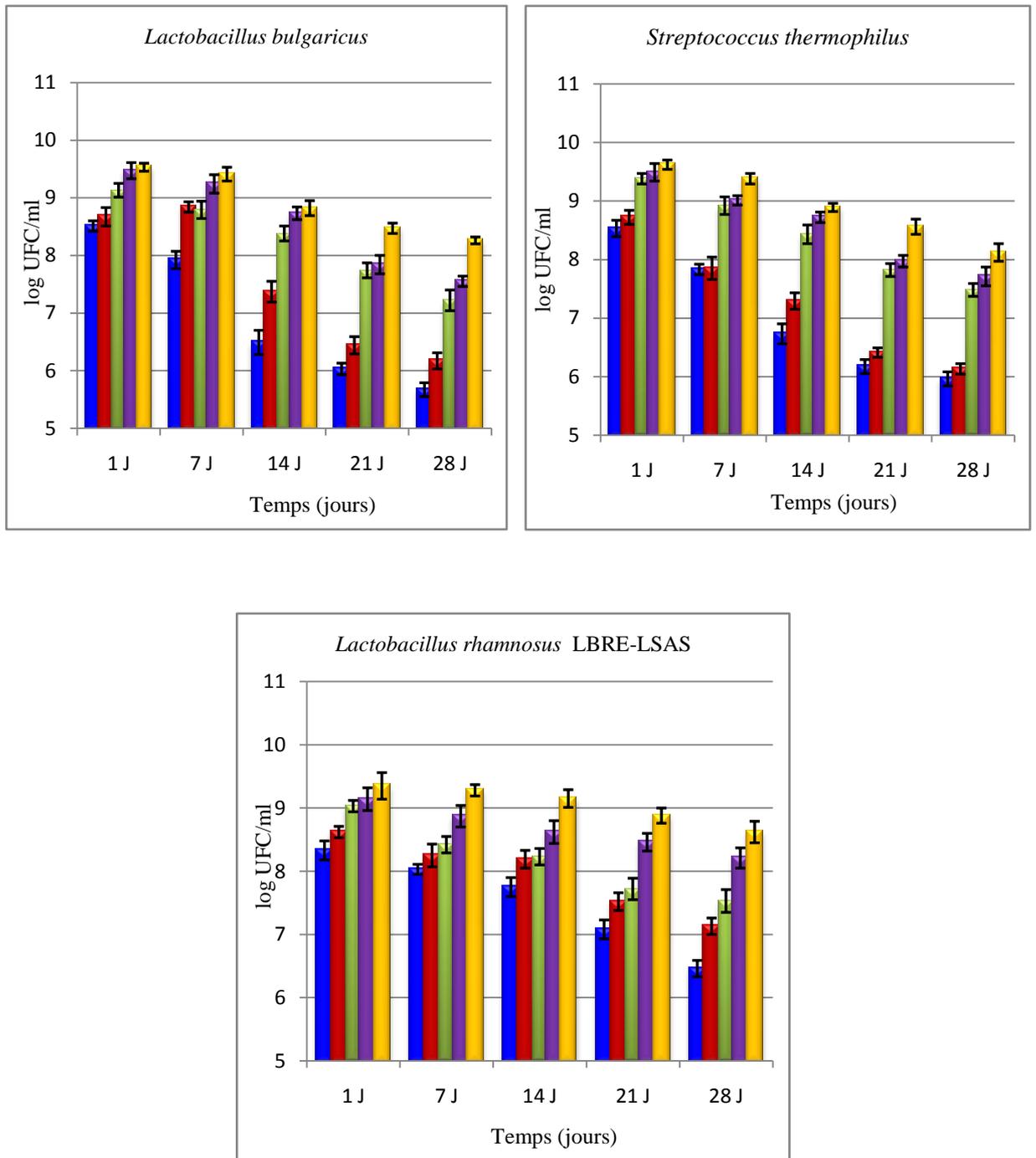


Figure 23: Viabilité au cours de l'entreposage à 4°C pendant 28 jours des bactéries lactiques dans le lait fermenté à 42°C par *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* en coculture avec la souche bénéfique *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS en présence de 0% (■) (témoin), 0.01% (■), 0.02% (■), 0.05% (■) ou 0.1% (■) galactomannanes de caroube. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 3 déterminations \pm Et (n = 3).

L'association des starters lactiques *St. thermophilus* et *Lb. bulgaricus* avec l'une ou l'autre des souches bénéfiques a engendré un effet positif sur la viabilité des starters. Au 1^{er} jour d'entreposage, les pertes de viabilité de *St. thermophilus* en culture mixte avec Bb12 et en présence de 0.01, 0.02, 0.05 et 0.1% de LBG étaient de l'ordre 0.71, 0.50, 0.32 et 0.26 log UFC/ml, respectivement; comparées à 0.88 log UFC/ml pour le témoin. Dans le même ordre et en fin d'entreposage, les pertes étaient de l'ordre de 3.39, 1.89, 1.55 et 1.36 log UFC/ml par rapport à 3.58 log UFC/ml en absence de LBG. Par contre, celles enregistrés au premier jour et en culture mixte entre ces deux ferments avec LBRE-LSAS sont de l'ordre de 1.16, 0.72, 0.41 et 0.37 log UFC/ml par rapport à 1.32 log UFC/ml en absence de LBG, et atteignent en fin d'entreposage 1.64 à 3.67 log UFC/ml pour seulement 3.73 log UFC/ml en absence de LBG.

La viabilité du deuxième ferment *Lb. bulgaricus* était aussi affectée par l'effet négatif du froid. Dans les cultures enrichies en LBG, et en présence de Bb12 ou LBRE-LSAS, les pertes de viabilité de ce lactobacille après un jour de conservation fluctuent de 0.26 à 0.71 et 0.28 à 1.1 log UFC/ml respectivement. Ces pertes passent à 1.36 jusqu'à 3.39 log UFC/ml et 1.78 à 3.7 log UFC/ml en fin d'entreposage. Ces pertes de viabilité ne sont pas considérable (<0.05) comparées à celles enregistrées dans la culture témoin (3.58 et 3.77 log UFC/ml en culture mixte avec Bb12 et LBRE-LSAS respectivement).

Nos résultats montrent qu'au cours de l'entreposage à 4°C, la survie de *St. thermophilus* était plus élevée que celle de *Lb. bulgaricus* dans toutes les cultures, ce qui est en accord avec ceux rapportés par [Micanel et al. \(1997\)](#).

En ce qui concerne la viabilité des souches bénéfiques, les [figures 21 et 22](#) montrent une diminution progressive du nombre de cellules viables (Bb12 et LBRE-LSAS) au cours de l'entreposage réfrigéré. Cependant, pour exercer leur effet bénéfique sur la santé, les probiotiques doivent survivre en grand nombre au procédé de fabrication et à la période d'entreposage au froid qui s'ensuit. Il est, en effet généralement admis qu'un nombre minimal de 10⁷ cellules viables par gramme de produit est nécessaire pour exercer un l'effet escompté ([Izquierdo, 2009](#))

La souche bénéfique Bb12 a enregistré au premier jour d'entreposage et en absence de LBG, une perte de cellules viables de l'ordre de 1.26 unités logarithmique (7.12 log UFC/ml de cellules viable). Ces pertes augmentent progressivement durant la période d'entreposage le

nombre de cellules viables reste satisfaisant jusqu'au 7^{ème} jour où il représentait 6.63 log UFC/ml. Ce nombre décroît progressivement pour atteindre 5.78 et 4.26 log UFC/ml au 14^{ème} et 28^{ème} jour de conservation respectivement. Ce qui correspond à des pertes de viabilité de l'ordre de 24.12 log UFC/l à la fin d'entreposage.

Dans le présent travail, les galactomannanes de caroube améliorent significativement ($p < 0.05$) la viabilité des bifidobactéries dans le lait entreposé au froid. En effet, les pertes en cellules viables augmentent légèrement en présence de LBG, elles oscillent entre 1.21 à 1.88 log UFC/ml et 1.91 à 2.29 Log UFC/ml respectivement, notées aux 14^{ème} et 21^{ème} jour de conservation. A la fin de la conservation, nous avons enregistré 5.57, 6.49 à 4.81 et 70.21 log UFC/ml de cellules viables en présence de 0.01, 0.02 à 0.05 et 0.1% de LBG.

D'une manière générale, la viabilité de la souche bénéfique Bb12 était en fin d'entreposage de l'ordre de 63.65, 73.00, 75, et 78.71% en présence respectivement, de 0.01, 0.02, 0.05 et 0.1% LBG, alors qu'elle n'est que 55.60% en absence de ce polymère.

Les mêmes observations étaient aussi enregistrées dans les cultures mixtes avec LBRE-LSAS.

En revanche, il apparaît qu'elle conserve des taux de viabilité plus élevées ($p < 0.05$) comparée à la souche bifide.

Après 24 heure de stockage, une réduction de 0.72, 0.34, 0.32, et 0.22 log UFC/ml de cellules viables de LBRE-LSAS en présence respectivement de 0.01, 0.02, 0.05 et 0.1% LBG pour seulement 0.81 log UFC/ml en absence de LBG.

Ces pertes augmentent progressivement au cours de la période de conservation, en arrivant à la dernière semaine de stockage réfrigéré (28^{ème} jour), la viabilité de la souche bénéfique LBRE-LSAS dépasse 90% de cellules viables en présence de 0.1% LBG; ce qui représente des taux d'amélioration de 8.00 à 27.45% selon la concentration initiale de LBG additionnée dans le lait.

La différence dans la viabilité des souches probiotiques peut être attribuée à l'apparition d'un certain nombre de facteurs inhibiteurs comme l'acidité, le pH et l'oxygène (Dave et Shah, 1997 et Shah, 2000).

D'après ces résultats, on remarque que la viabilité des bactéries lactiques semble être améliorée ($p < 0.05$) par l'ajout de 0.02 à 0.1% de galactomannanes de graines de caroubier, en gardant après quatre semaines de conservation, un nombre de cellules viables dépassant le niveau requis par la législation, et qui est fixé à 6 log UFC/ml (AFSSA, 2005). Cette amélioration est d'autant plus importante tout en augmentant la teneur de LBG dans le lait.

Ramchandra *et al.* (2010) ont attribué un effet protecteur des exopolysaccharides sur les bactéries lactiques pendant leur conservation réfrigérée. De même, dans le présent travail nous avons attribué l'amélioration de la viabilité de nos bactéries à un effet protecteur de ces polysaccharides hydrocolloïdes vis-à-vis les produits du métabolisme fermentaire.

V.3/ Effet des galactomannanes de caroube sur la viscosité, la synérèse et l'apparence du lait fermenté

La texture et l'onctuosité constituent, pour le consommateur, d'importants éléments d'appréciation de la qualité du yaourt et des laits fermentés (FAO, 1995). En effet, à pH voisin de 4.6, les protéines du lait précipitent et forment un coagulum, ce dernier donnera la consistance et la viscosité du produit (Brochu *et al.*, 1984). Ce caillé possède, certes, une certaine consistance mais il demeure fragile, peu manipulable et risque de se briser facilement (Tamime et Robinson, 1999).



Figure 24: Observation visuelle de l'apparence de lait écrémé fermenté en présence (a) et en absence de galactomannanes (b).

Toutefois, nos résultats ont montré que le lait fermenté en présence de très faibles concentrations de LBG (0.01 à 0.1%) présente une texture brillante, lisse, uniforme, et exempte de grains (figure 24).

D'après El-Sayed et al. (2002), Les gommés stabilisantes, comme la gomme de xanthane, sont employées pour améliorer la texture et la fermenté des yaourts, et pour qu'ils gardent de bonnes propriétés rhéologiques pendant l'entreposage réfrigéré du produit.

Les résultats relatifs à la viscosité développée dans le lait fermenté et son évolution au cours de l'entreposage à 4°C pendant 28 jours, sont indiqués dans la figure 25.

Des différences significatives ($P < 0.05$) étaient observées dans la viscosité du lait fermenté par les différents types de culture en présence des différentes concentrations de galactomannanes de graines de caroube. La viscosité la plus élevée, était obtenue dans les laits fermentés par la culture mixte par les deux starters du yaourt *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* seuls ou avec de la souche bénéfique LBRE-LSAS et en présence de 0.05 ou de 0.1% de LBG.

La viscosité initiale du lait fermenté (à 0 jour) dépend de la teneur de LBG additionnée dans le lait écrémé. En effet, elle varie entre 1.034 et 1.057 Pa.s en absence de LBG et atteint, respectivement, 1.037 à 1.074, 1.102 à 1.187, 1.312 à 1.337 et 1.399 à 1.582 Pa.s en présence de 0.01, 0.02, 0.05 et 0.1% de LBG.

Cette viscosité s'accroît avec le temps de conservation jusqu'à la deuxième semaine de conservation (14 jours) avant de décroître par la suite. La variation de la viscosité au cours des deux premières semaines de conservation peut être expliquée par les réarrangements protéiques qui ont lieu ce qui conduit à une augmentation de la viscosité au cours la de conservation (Abu Jdayil et Mohameed, 2002). Dans le présent travail, elle atteint son maximum au 14^{ème} jour de conservation, d'où nous avons enregistré 1.065 à 1.131, 1.129 à 1.166, 1.342 à 1.353 et 1.421 à 1.573 Pa.s en présence de 0.01, 0.02, 0.05 ou 0.1% de LBG comparées à 1.060 à 1.097 Pa.s en absence de LBG.

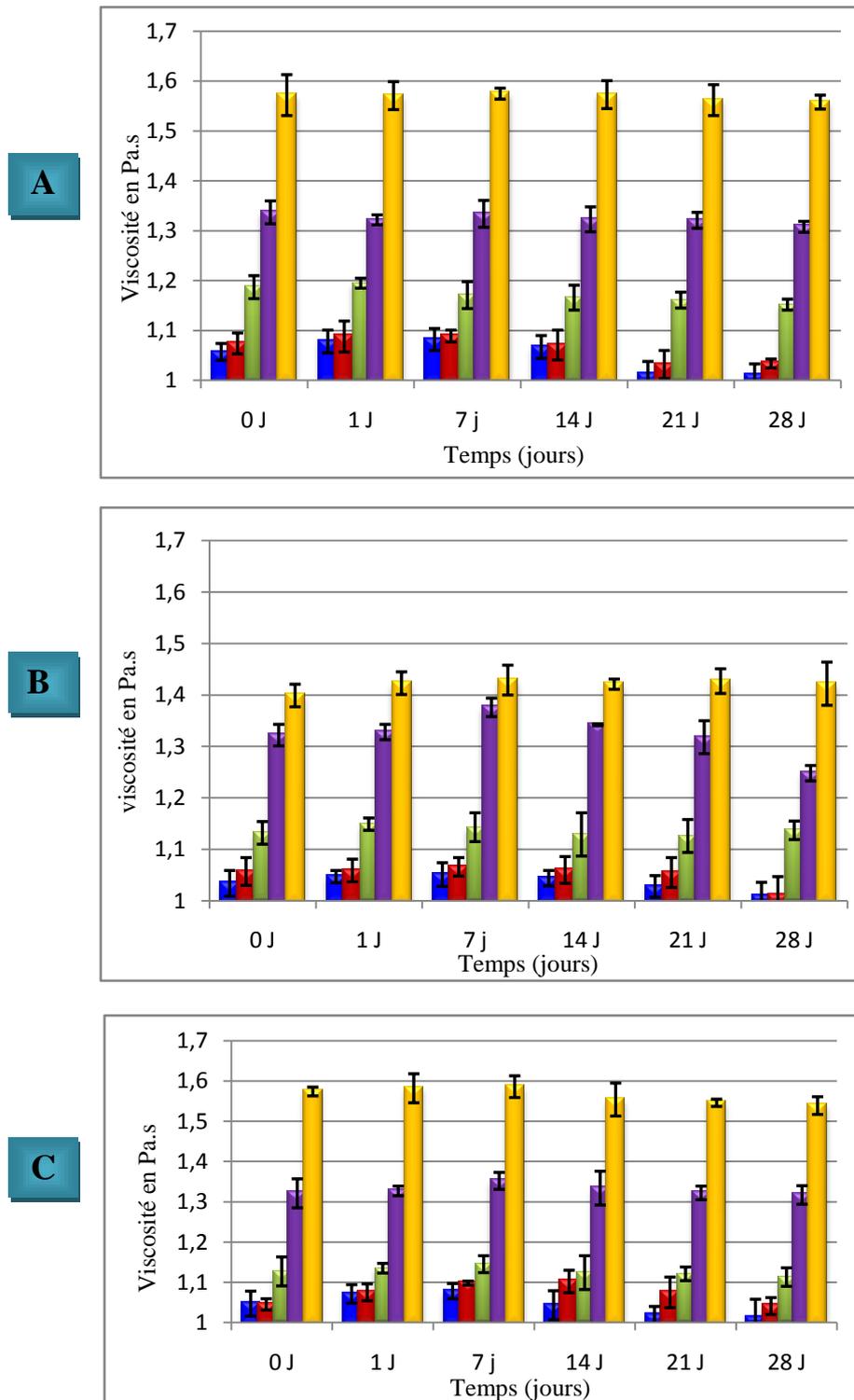


Figure 25: Viscosité (Pa.s) du lait fermenté à 42°C par la culture mixte entre les deux starters du yaourt (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*) seuls (A), avec la souche bénéfique *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* Bb12 (B), ou avec la souche bénéfique *Lactobacillus rhamnosus* LBRE-LSAS (C) en présence de 0% (■) (témoin), 0.01% (■), 0.02% (■), 0.05% (■) ou 0.1% (■) de galactomannanes de caroube. Les valeurs représentent la moyenne (m) de 3 déterminations \pm Et (n = 3).

Au 28^{ème} jour de conservation au froid, nous avons enregistré un abaissement des valeurs de viscosité dans tous les échantillons de lait fermenté, en effet ces valeurs varient entre 1.011 à 1.022, 1.012 à 1.034, 1.117 à 1.152, 1.248 à 1.308 et 1.422 à 1.538 Pa.s en présence de 0, 0.01, 0.02, 0.05 et 0.1% de LBG. Ces diminutions de pH sont dû selon [Bourgeois et Larpent \(1996\)](#), aux enzymes protéolytiques qui continuent à hydrolyser les protéines et peuvent ainsi entraîner une baisse de la viscosité ou de la rigidité du gel, de plus [Shihata et Shah \(2002\)](#), rapportent que les souches protéolytiques de *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* sont capables d'hydrolyser les protéines et peuvent conduire à la réduction de la viscosité des yaourts.

Par ailleurs [Ünal et al. \(2003\)](#) signalent que la conservation à froid pourrait influencer significativement la viscosité et la synérèse des produits laitiers fermentés.

Ainsi, le lait fermenté par la coculture entre les starters du yaourt *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* et en présence de 0.1% de LBG a affiché la viscosité la plus élevée après 14 jours de conservation. Nos résultats montrent aussi que le lait fermenté par une culture mixte entre les starters du yaourt et l'une ou l'autre des souches bénéfiques (Bb12 ou LBRE-LSAS) a une viscosité inférieure à celle obtenue dans le lait fermenté par les starters lactiques seuls.

D'une manière générale, la présence des galactomannanes de caroube a un effet très positif sur la viscosité du lait fermenté, que ce soit par les starters du yaourt seuls ou en coculture avec l'une ou l'autre des deux souches bénéfiques étudiées.

[Doublie et Thibault \(1984\)](#) rapportent que tous les hydrocolloïdes possèdent la propriété d'augmenter considérablement la viscosité du milieu aqueux pour de faibles concentrations souvent inférieures à 1% en retenant les molécules d'eau grâce à leur structure chimique riche en fonction alcool.

D'après [El-Sayed et al. \(2002\)](#), l'amélioration de la viscosité du yaourt par ajout des galactomannanes est due à la propriété gélifiante de ces polysaccharides.

Le [tableau 8](#) montre les changements du taux de synérèse (quantités de lactosérum expulsé hors du gel de lait coagulé synérèse) mesurés durant 28 jours de conservation à 4°C.

Tableau 8: Evolution du taux de synérèse dans le lait écrémé fermenté par les bactéries lactiques en absence ou en présence d'une souche bénéfiques, additionné de différentes concentrations de LBG (0 à 0.1%).

Type de culture	Concentration de LBG (%)	Temps (jours)				
		01	07	14	21	28
<i>Streptococcus thermophilus</i> + <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	0	<u>07.66±1.15</u>	<u>09.00±1.0</u>	<u>13.00±1.0</u>	<u>13.33±0.57</u>	<u>15.33±1.52</u>
	0,01	0±00	01±00	04.66±0.57	<u>07.00±0.9</u>	<u>09.66±0.57</u>
	0,02	0±00	0±00	0±00	00±00	02.00±00
	0,05	0±00	0±00	0±00	0±00%	0±00
	0,10	0±00	0±00	0±00	0±00	0±00
<i>Streptococcus thermophilus</i> + <i>Lactobacillus bulgaricus</i> + <i>Bifidobacterium animalis</i> ssp <i>lactis</i> : Bb12	0	<u>06.00±00</u>	<u>06±1.57</u>	<u>12±00</u>	<u>13±1.0</u>	<u>16.66±1.57</u>
	0,01	0±00	02±00	<u>05±1.0</u>	<u>07±0.33</u>	<u>10.33±1.52</u>
	0,02	0±00	0±00	0±00	01±0.1	02±0.4
	0,05	0±00	0±00	0±00	0±00	01.33±0.57
	0,10	0±00	0±00	0±00	0±00	0±00
<i>Streptococcus thermophilus</i> + <i>Lactobacillus bulgaricus</i> + <i>Lactobacillus rhamnosus</i> : LBRE-LSAS	0	<u>06±01</u>	<u>08.33±0.57</u>	<u>10±00</u>	<u>11.33±0.57</u>	<u>14.33±1.15</u>
	0,01	01±00	01±0.33	03±1.0	<u>07±1.0</u>	<u>09.33±1.52</u>
	0,02	0±00	0±00	02±00	01±00	02.33±0.57
	0,05	0±00	0±00	0±00	0±00	0±00
	0,10	0±00	0±00	0±00	0±00	0±00

Le lait fermenté additionné de LBG présente le taux de synérèse le plus faible. Il est compris entre 06 et 07% au premier jour de conservation en absence de LBG et nul (0%) en présence de 0.01 à 0.1% de LBG. Au cours de la période de conservation, ce taux a augmenté pour atteindre des valeurs comprises entre 06 et 09% après une semaine de conservation jusqu'à des valeurs comprises entre 14 et 16% au 28^{ème} jour de conservation et en absence de LBG.

Les taux de synérèse enregistré après une semaine de conservation et en présence de 0.01% de LBG sont compris entre 1 et 2%, ces valeurs augmentent légèrement pour atteindre 9 à 10% au 28^{ème} jour de conservation.

Le taux de synérèse enregistré dans le lait écrémé fermenté par les différents types de culture et en présence de 0.02 ou 0.05 % de LBG reste inférieur à 3% jusqu'au 28^{ème} jour de conservation.

Lucey *et al.* (1999) rapportent que le sérum de séparation (synérèse) qui se forme dans un produit laitier fermenté est dû à l'agrégation et à la sédimentation des particules de caséines durant le stockage. Ces mêmes auteurs ont montré par leurs travaux que l'utilisation de stabilisateurs est nécessaire pour prévenir la synérèse.

Dans le présent travail, le taux de synérèse diminue significativement ($p < 0.05$) tout en augmentant la teneur de LBG. Ainsi, il s'avère qu'une concentration 0.1% de LBG élimine complètement le problème de synérèse dans le lait écrémé fermenté et durant toute la période de conservation (28 jours). Ces résultats suggèrent que les galactomannanes de caroube contribuent à l'augmentation de la rétention d'eau au niveau du gel coagulé.

Camacho *et al.* (2005) rapportent que les interactions entre les micelles des caséines et les polysaccharides hydrocolloïdes favorisent le pouvoir de gélification du système. Ainsi Perissutti *et al.* (2002) ont montré que l'amélioration des propriétés rhéologiques est due à un effet synergique entre les protéines du lait et les galactomannanes en empêchant ainsi une séparation de phases.

Colonna et Thibault (1986) rapportent que les galactomannanes présentent la caractéristique d'affinité pour les molécules hydrophiles comme l'eau et permettent ainsi de contrôler la viscosité et la texture, et d'obtenir des laits fermentés. De même, Keogh *et*

O’Kennedy (1998) ont montré qu’un mélange de xanthane et de gomme de caroube (0.3%) augmente la capacité de rétention d’eau du caillé lactique.

Ünal *et al.* (2003) ont démontré que le problème de synérèse rencontré dans un yaourt préparé à partir d’un lait écrémé peut être prévenu en augmentant la teneur de matière sèche ou encore par l’ajout de LBG.

Le travail publié de Camacho *et al.* (2005) va dans le même sens de cette action positive, et ils rapportent que des mélanges (0 à 0.1%) de LBG- λ -carhagénane améliorent les propriétés rhéologiques des crèmes lactières.

Dépendant de leurs propriétés fonctionnelles et de leur concentration, les polysaccharides hydrocolloïdes peuvent gélifier ou simplement accroître la viscosité du gel. Par conséquent, ils contribuent à limiter la synérèse et à donner une texture lisse (Tamine et Robinson, 1999).

Selon Dakia *et al.* (2010), la viscosité intrinsèque des galactomannanes en solution est une propriété liée à la structure moléculaire de ces polymères.

Hess *et al.* (1997), ont étudié la fermeté, la viscosité et la résistance à la synérèse de yogourts produits avec trois mélanges commerciaux de stabilisateurs. Le mélange composé de gélatine, carraghénane, gomme de caroube et de dextrose, additionné chacun à raison 0.2% (p/p) dans la formulation alimentaire, a donné une structure et une sensation en bouche désirable pour des yogourts à boire, et a présenté le taux de synérèse très faible.

D’après Everett et McLeod (2005), les polysaccharides stabilisants (gélatine, pectine, alginate, la gomme arabique ou de guar et les LBG) sont additionnés dans le yaourt pour améliorer la consistance et prévenir le problème de synérèse.

Un autre effet positif des galactomannanes de graines de caroube sur les qualités organoleptiques du lait fermenté est le fait que l’ajout des de ce polysaccharide n’apporte aucune saveur particulière ou un goût indésirable au produit fini. Ceci est en accord avec les travaux de Teles et Flores (2007), qui ont trouvé qu’à la différence de la gomme de caroube, une forte concentration de gomme de xanthane ou de guar diminue l’acceptabilité organoleptique du produit.

CONCLUSION

L'objectif principal de la présente étude était de montrer l'impact des galactomannanes des graines de caroube sur les caractéristiques organoleptiques (viscosité, texture, onctuosité et aspect) d'un lait écrémé fermenté.

Nous avons adopté une méthode dite hydro-thermique décrite par [Dakia et al. \(2008\)](#) qui nous a permis de séparer l'albumen constitué en majorité de galactomannanes des autres parties constitutives de la graine caractérisée par ses enveloppes très dures et coriaces. La gomme de caroube brute a été obtenue en broyant les endospermes après leur séchage.

La gomme brute ainsi obtenue est purifiée par solubilisation dans l'eau distillée et précipitation à l'éthanol, ce qui nous a permis d'obtenir des galactomannanes purs et plus clairs. Le rendement de cette étape était de l'ordre de $85,12 \pm 1.58\%$.

L'étude de l'effet des galactomannanes de caroube sur la vitesse d'acidification du lait écrémé fermenté par une culture mixte entre les deux starters du yaourt (*St. thermophilus* et *Lb. bulgaricus*) en absence ou en présence d'une souche bénéfique (*Bifidobacterium animalis* ssp *lactis* Bb12 ou *Lactobacillus rhamnosus* LbRE-LSAS) montre une amélioration importante ($p < 0.05$) des profils fermentaires bactériens. En effet, ce polymère raccourcit la coagulation du lait de 05 à 45 minutes par rapport au témoin selon le type de culture et la teneur de LBG additionnée dans le lait.

Par ailleurs, la vitesse d'acidification du lait par les deux starters du yaourt était de 0.26 à 0.33 h^{-1} en présence de 0.01 à 0.1% de LBG par rapport à 0.25 h^{-1} en absence de ce dernier. Dans le cas d'une culture associée entre ces deux mêmes starters et une souche bénéfique, nous avons enregistré des vitesses spécifiques maximales d'acidification de 0.29 à 0.33 h^{-1} en présence de 0.01 à 0.1% de LBG par rapport à 0.25 h^{-1} en absence de LBG dans le cas de la culture mixte avec la souche bénéfique Bb12, celles enregistrées avec la souche bénéfique LBRE-LSAS sont comprises entre 0.24 et 0.33 h^{-1} en présence de LBG par rapport à 0.23 h^{-1} en absence de ce polymère.

Les galactomannanes de caroube exercent un bon effet stimulateur de la croissance des bactéries lactiques, où les quantités de biomasses accumulées en fin de coagulation sont significativement ($p < 0.05$) améliorées en présence de LBG; la vitesse spécifique maximale de

croissance de la souche *St. thermophilus* oscille entre 0.97 et 1.05 h⁻¹ en présence de 0.01 à 0.1% de LBG par rapport à 0.83 h⁻¹ en absence de ce polymère. Celles enregistrées avec la souche *Lb. bulgaricus* varie entre 0.95 et 1.06 h⁻¹ en présence 0.01 à 0.1% de LBG par rapport à 0.89 h⁻¹ en absence de ce dernier.

La vitesse de croissance des starters est encore améliorée en présence d'une souche bénéfique. En culture mixte avec la souche bénéfique Bb12, *St. thermophilus* affiche des vitesses maximales spécifiques de croissance de l'ordre de 1.19 à 1.45 h⁻¹ en présence de 0.01 à 0.1% de LBG par rapport à 1.12 h⁻¹ en absence de LBG. Par ailleurs, la souche *Lb. bulgaricus* affiche une vitesse spécifique maximale de croissance de l'ordre de 1.29 à 1.54 h⁻¹ en présence de 0.01 à 0.1% de LBG par rapport à 1.23 h⁻¹ en absence de LBG.

Ainsi en culture mixte avec la souche bénéfique LBRE-LSAS nous avons enregistré des vitesses de croissance de l'ordre de 1.32 à 1.46 h⁻¹ en présence de 0.01 à 0.1% de LBG par rapport à 1.25 h⁻¹ en absence de ce dernier pour la souche *St. thermophilus* et 1.26 à 1.49 h⁻¹ en présence de 0.01 à 0.1% de LBG par rapport à 1.26 h⁻¹ en absence de LBG pour la souche *Lb. bulgaricus*.

Les souches bénéfiques Bb12 et LBRE-LSAS quant à elles enregistrent en absence de LBG des vitesses spécifiques maximales de croissance de l'ordre de 0.65 et 0.99 h⁻¹ respectivement, par rapport à 0.80 à 1.02 h⁻¹ et 1.04 à 1.25 h⁻¹ en présence de 0.01 à 0.1% de LBG.

L'évolution des laits écrémés fermentés pendant l'entreposage réfrigéré à 4°C a été évaluée pendant 28 jours (date limite de consommation des laits fermentés) par un suivie hebdomadaire de la cinétique d'acidification du lait et de la survie des bactéries lactiques dans le lait.

Nous avons noté que le pH diminue progressivement pendant la période d'entreposage réfrigérée dans tous les échantillons de laits fermentés jusqu'à des valeurs comprises entre 4.52 et 4.55 dans les laits fermentés en absence de LBG et 4.50 à 4.30 dans les laits fermentés en présence de 0.01 à 0.1% de LBG en fin d'entreposage. Il apparait que les galactomannanes n'ont aucun effet protecteur sur la post-acidification du lait écrémé durant la période du stockage réfrigéré à 4°C car le pH diminue beaucoup plus dans les laits additionnés de LBG.

La viabilité des bactéries lactiques diminue progressivement au cours de la période de réfrigération. Cependant, elle se trouve significativement ($P < 0.05$) améliorée en présence de LBG. En effet, au 28^{ème} jour de conservation, les deux ferments *St. thermophilus* et *Lb. bulgaricus* ont enregistré respectivement, des taux de viabilité qui oscillent entre 66.06 à 86.58% et 64.59 à 84.05% en présence de 0.01 à 0.1% de LBG par rapport à 59.02% et 55.87% en absence de LBG.

En revanche et en présence de 0.01 à 0.1% de LBG, la viabilité de *St. thermophilus* et *Lb. bulgaricus* était de 64.78 à 85.86% et 68.78 à 88.99% par rapport à 57.58 et 58.49% en absence de LBG. En culture mixte avec la souche bénéfique Bb12, alors qu'elle est de l'ordre de 62.36 à 82.02% et 62.76 à 83.85% par rapport à 59.19 et 57.56% en absence de LBG.

La survie des souches bénéfiques est significativement ($p < 0.05$) améliorée en présence de LBG, où nous avons enregistré une amélioration de 8.04 à 23.10% de la survie de la souche bénéfique Bb12 et 5.65 à 19.39% de la souche bénéfique LBRE-LSASAS en présence de 0.01 à 0.1% de LBG par rapport au témoin.

Nos résultats montrent que le lait fermenté additionné du LBG a montré des résultats impressionnants, la viscosité du lait augmente tout en augmentant la teneur de LBG. En effet, des valeurs de l'ordre 1.574 Pa.s sont obtenues à la coagulation du lait enrichi en 0.1% LBG (1.074 Pa.s en absence de LBG). La viscosité du lait augmente légèrement au cours des deux premières semaines de conservation puis on enregistre un léger abaissement de la viscosité jusqu'au 28^{ème} jour d'entreposage.

Nos résultats ont montré que le problème de synérèse est complètement résolu en présence de 0.05 et 0.1% de LBG, tandis qu'il est atténuée à des valeurs relativement faibles (moins de 10%) en présence de 0.01% LBG et reste inférieur à 3% en présence de 0.02% LBG, alors qu'il atteint des valeurs comprises entre 06 et 16% en absence de LBG et en fin d'entreposage.

Références bibliographiques

- **Aafi A. (1996).** Note technique sur le caroubier (*Ceratonia siliqua L.*). Centre Nationale de la Recherche Forestière. Rabat (Maroc), pp : 10.
- **Abu Jdayil B. et Mohameed H. (2002).** Experimental and modeling studies of the flow properties of concentrated yogurt as affected by the storage time. *Journal of food engineering*, 52, pp: 359-365.
- **Acatris Inc. (2006).** Fenulife Science: Scientific evidence for blood sugar health, *Acatris Inc.*, Minneapolis, pp: 1-9.
- **Adrian J. (1987).** Les vitamines. In : CEPIL. Le lait matière première de l'industrie laitière. CEPIL –INRA, paris, 1987, pp : 113-119.
- **Ait Chitt M., Belmir M. et Lazrak A. (2007).** Production des plantes sélectionnées et greffées du caroubier. Transfert de technologie en Agriculture, N°153, IAV Rabat, pp : 1-4.
- **Alais C. et Linden G. (1994).** Abrégé de biochimie alimentaire, Ed Masson, Paris, pp : 162-170.
- **Alais C. (1984)** Science du lait. Ed. Sépaic, Paris, 1984.
- **Alais C., Linden G. et Miclo L. (2003).** biochimie alimentaire, 5^{ème} édition, Ed. tec et doc, Lavoisier, pp : 164-178.
- **Albanell E., Caja G., et Plaixats J. (1991).** Characterization of Spanish carob pod and nutritive value of carob kibbles. *Options Méditerranéennes* 16, pp : 135- 136.
- **Alves M.M., Garnier C., Lefebvre J. et Gonçalves M.P. (2001).** Microstructure and flow behaviour of liquid water-gelatin-locust bean gum systems. *Food Hydrocolloids*, 15(2), pp: 117-125.
- **Andrade C.T., Azero E.G., Luciano L. et Gonçalves M.P. (1999).** Solution properties of the galactomannans extracted from the seeds of *Caesalpinia pulcherrima* and *Cassia javanica*: comparison with locust bean gum. *International Journal Biological Macromolécules*, 267, pp: 181-185.

- **Avallone R., Plessi M., Baraldi M. et Monzani A. (1997).** Determination of chemical composition of carob (*Ceratonia siliqua*): protein, fat, carbohydrates, and tannins. *Journal of food composition and analysis*, 10, pp: 166-172.
- **Audet p., Paquin C. et Lacroix C. (1988).** Immobilized growing lactic acid bacteria with κ -carrageenan–locust bean gum gel, journal of applied microbiology biotechnology, vol.29, pp: 11-18.
- **Barracosa P., Osorio J., et Cravador A. (2007).** Evaluation of fruit and seed diversity and characterization of carob (*Ceratonia siliqua L.*) cultivars in Algarve region. *Scientia Horticulturae*, 114, pp: 250–257.
- **Battle I., et Tous J. (1997).** Carob tree. *Ceratonia siliqua L.* Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. Institute of Plant Genetic and Crops Plant Research. Gatersleben/International Plant Resources Institute. Rome. Italy.
- **Bayarri S., Chulia I. et Costell E. (2010).** Comparing λ -carrageenan and an inulin blend as fat replacers in carboxymethyl cellulose dairy desserts. Rheological and sensory aspects. *Food hydrocolloids* 24, pp: 578-587.
- **Beagger M., Andersen O., Neilsen J. D. et Rytting K. L. (1996).** Dietary fibre reduces blood pressure serum total cholesterol and platelet aggregation in rats. *British Journal Nutrition* 75: pp: 483- 493.
- **Beal C. et Soldini I. (2003).** Fabrication des yaourts et des laits fermentés, In Technique de d'ingénieur, traité agroalimentaire, F 6315.
- **Bengoechea, C., Romero, A., Villanueva, A., Moreno, G., Alaiz, M., Millán, F., Guerrero, A. et Puppo, M.C., (2008).** Composition and structure of carob (*Ceratonia siliqua L.*) germ proteins. *Food Chemistry* 107, pp: 675–683.
- **Bergmaier D. (2002).** Production d'oligosaccharides par fermentation avec cellules immobilisées de *Lb. Rhamnosus RW-9595 M* d'un milieu à base de perméat de lactosérum. Thèse de doctorat (Ph.D.) université Laval. Canada.

- **Bernardo-Gil M. G., Roque R., Roseiro L. B., Duarte L. C., Girio F., et Esteves P. (2011).** Supercritical extraction of carob kibbles (*Ceratonia siliqua* L.). *Journal Supercritical Fluids*, 59, pp: 36-42.
- **Berrougui H. (2007).** Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.), une richesse nationale aux vertus médicinales, *Maghreb Canada Express* Vol. 5, N° 9.
- **Biner B., Gubbuk H., Karhan M., Aksu M. et Pekmezci M. (2007).** Sugar profiles of the pods of cultivated and wild types of carob bean (*Ceratonia siliqua*L.) in Turkey. *Food Chemistry* 100, pp : 1453–1455.
- **Blanc F. (1982).** Les protéines du lait à activité enzymatique et hormonale. *Lait*, 62, pp : 350 -395.
- **Blandino, A., Al-Aseeri, M.E., Pandiella, S.S., Cantero, D., et Webb, C. (2003).** Cereal-based fermented foods and beverages. *Food Research International*, 36, pp: 527–543.
- **Boclé J. C., 2005.** Effets des probiotiques et des prébiotiques sur la flore et l’immunité de l’homme adulte, pp :1-128.
- **Bourgeois C.M et Larpent J. P. (1996).** Microbiologie alimentaires, aliments fermentés et fermentations alimentaires, Tome 2, Ed. Tec et Doc, Lavoisier, Paris.
- **Bourgeois, C.M. et Larpent, J.P. (1989).** Microbiologie alimentaire, Tome 2, Ed: Tec et doc, Lavoisier, pp: 3-15.
- **Bouzouita N., Khaldi A., Zgoulli S., Chebil L., Chekki R., Chaabounia M.M. et Thonart P. (2007).** The analysis of crude and purified locust bean gum: A comparison of samples from different carob tree populations in Tunisia. *Food Chemistry* 101, pp: 1508–1515.
- **Bravo L., Grados N. et Saura-Calixto F. (1994).** Composition and potential uses of mesquite pods (*Prosopis pallida* L): Comparison with carob pods (*Ceratonia siliqua* L), *Journal of Food and Agriculture*, vol. 65 (3), pp: 303-306.
- **Bresolin T.M., Milas M., Rinaudo M., Reicher F. et Gnater J.L. (1999).** Role of galactomannan composition on the binary gel formation with xanthan. *International Journal Biological Macromolécules* 26, pp : 225-231.

- **Brule G. (1987).** Les minéraux. In CEPIL. Le lait matière première de l'industrie laitière CEPIL-INRA, paris, 1987, pp : 87 -98.
- **Brummer Y., Cui W. & Wang Q. (2003).** Extraction, purification and physicochemical characterization of fenugreek gum. *Food Hydrocolloids*, 17, pp: 229-236.
- **Buckeridge M.S., Panegassi V.R., Rocha D.C., Dietrich S.M.C (1995).** Seed galactomannans in the classification and evolution of the leguminosae. *Phytochemistry* 38, pp: 871-875.
- **Bulut, S., Elibol, M., Ozer, D., (2004).** Effect of different carbon source on L(+) Lactic acid production by *Rhizopus oryzae*. *Biochemical Engineering Journal*, vol. 21, N°1, pp: 33-37.
- **Camacho M.M., Martinez-Navarrete N. et Chiralt A. (2005).** Rheological characterization of experimental dairy creams formulated with locust bean gum (LBG) and λ -carrageenan combinations. *International Dairy Journal* 15, pp: 243–248.
- **Carnier C., Bouriot S. et Doublier J.L. (2004).** Rôles des hydrocolloïdes en milieu laitier- influence de l'environnement ionique, in : minéraux et produits laitiers, Ed. : Tec et Doc., lavoisier, pp :391-408.
- **Castro I. A., Tirapegui J. et Benedicto M.L. (2003).** Effects of diet supplementation with three soluble polysaccharides on serum lipid levels of hypercholesterolemic rats. *Food Chemistry* 80, pp: 323–330.
- **Cayot P. et Lorient D. (1998).** Structures et technofonctions des protéines du lait. *Airlait Recherches: Tec et Doc, Lavoisier. Paris*, pp : 15-23.
- **Cerqueira M.A., Pinheiroa A.C., Souzaa B.W.S., Lima A.M.P, Ribeiro C., Miranda C., Teixeira J. A., Mpreira R. A., Coimbra M. A., Gonçalves M. P. et Vicente A., (2009).** Extraction, purification and characterization of galactomannans from non-traditional sources, *Journal Carbohydrat Polymers* 75, pp : 408-414.
- **Cerqueira M.A. (2010).** Development and Characterization of Edible Coatings to the Preservation of Cheese Quality. Universidade do Minho.

- **Cerqueira M.A., Bourbona A. I., Pinheiroa A.C., Martins J.T., Souzaa B.W.S., Teixeira J.A. et Vicente A. (2011).** Galactomannans use in the development of edible films/coatings for food applications. *Food Science and Technology* 22, pp: 662-671.
- **Cerqueira M.A., Souza B.W.S., Simões J. Teixeira J.A. Domingues M.R.M. et Coimbra M. A. et Vicente A. (2011).** Structural and thermal characterization of galactomannans from non-conventional sources, *Journal of Carbohydrate Polymers* 83, pp: 179-185.
- **Chaires-Martinez L., Salazar-Montoya J. A. et Ramos-Ramirez E. G. (2008).** Physicochemical and functional characterization of the galactomannan obtained from mesquite seeds (*Prosopis pallida*). *European Food Research and Technologie* 227, p p : 1669-1676.
- **Chevallier L. (2012).** Nutrition: principes et conseils. Ed: Elsevier-Masson.
- **Clark S. et Plotka V.C., 2004,** Yoghurt and sour cream: Operational procedures and processing equipment, In Handbook of food and beverage fermentation technology, Marcel Dekker Inc., New York, USA, pp: 159-182.
- **Colonna, M., et Thibault, M. (1986).** Propriétés fonctionnelles des pectines, Dans: Propriétés fonctionnelles des polysaccharides, APRIA, Tec & Doc, Paris, France, pp : 187-212.
- **Courtois J.E. et Le Dizet P. (1966).** Action de l' α -galactose du café sur quelques galactomannanes. *Journal of Carbohydrate Research*, 3, pp:141-151.
- **Craig W. J. et Nguyen T. (1984).** Caffeine and theobromine level in cacao and carob products. *Journal Food Science.* 49, pp: 302-305.
- **Cruz A. (1999).** Production and caracterisation of Prosopis seed galactomannan. Thèse de doctorat. Swiss Federal Institute of Technology. Zurich.
- **Da Silva J.A.L. et Gonçalves M.P. (1990).** Studies on a purification method for locust bean gum by precipitation with isopropanol. *Food Hydrocolloids*, 4, pp: 277-287.

- **Da Silva J.A.L., Gonçalves M.P. et Rao M.A. (1994).** Viscoelastic behaviour of mixtures of locust bean gum and pectin dispersions. *Journal Food Engineering*. 18 (3), pp: 211-228.
- **Daas P. J. H., Schols H.A. et De Jongh H. H. J. (2000).** On the galactosyl distribution of commercial galactomannans. *Carbohydrate research*, 329, pp: 609-619.
- **Dacosta Y., (2000).** Probiotiques et prébiotiques, le point des connaissances actuelles, Ed. : Yves Dacosta, Paris, pp: 171-203.
- **Dakia P. A., Watherlet B. et Paquot M. (2007).** Isolation and chemical evaluation of carob (*Ceratonia siliqua* L.) seed germ. *Food Chemistry*, 102, pp: 1368-1374.
- **Dakia P.A, Blecker C., Robert C., Wathelet B. et Paquot M. (2008).** Composition and physicochemical properties of locust bean gum extracted from whole seeds by acid or water dehulling pre-treatment. *Food Hydrocolloids* Vol. 22, N°5, pp: 807-818.
- **Dakia P.A. Wathelet B. et Paquot M. (2010).** Influence de la teneur en galactose sur les interactions moléculaires et sur les propriétés physicochimiques des galactomannanes en solution. *Biotechnologie Agronomie Société et Environnement* 14(1), pp : 213-223.
- **Dakia P.A. (2011).** Carob (*Ceratonia siliqua*L.) Seeds, Endosperm and Germ Composition, and Application to Health (Chapitre 35), in: *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*. Université d'Abobo-Adjame (UAA), Abidjan, Côte d'Ivoire. Elsevier.
- **Darmaun D. et Thibault R. (2006).** Chapitre 26: Métabolisme intestinal. Ed: Springer Verlag.
- **Dave R.I. et Shah NP. (1996).** Evaluation of media for selective numeration of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbruekii* ssp *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* and bifidobacteria. *Journal of Dairy Science*, 79: pp: 1529-1963.
- **Dave R.I., et Shah NP. (1997).** Effect of cysteine on the viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made with commercial starter cultures. *International Dairy Journal* 7, pp: 537–545.

- **De Man J.C., Rogosa M. et Sharpe M.E. (1960).** A medium for the cultivation of lactobacilli. *Journal Applied Bacteriology*. 23, pp: 130-135.
- **De Roissart, H. et Luquet, F.M. (1994).** Les bactéries lactiques, Ed. Uriage, Lorica, France, vol. 1, pp : 1-286.
- **De Souza C. F., Lucyczyn N., Ferraz F. A. et Sierakowski M. R. (2010).** *Caesalpinia ferrea* var. *ferrea* seeds as a new source of partially substituted galactomannan. *Carbohydrate Polymers*. Vol 82, issue3, pp : 641–647.
- **Debry G. (2001).** Lait, nutrition et santé, Ed : Tec et doc, Lavoisier, Paris, pp: 1-67.
- **Demigné et C., Marie-Anne L., Stephen R. Moundrast C. et Remesyt C. (1998).** Cholesterol lowering action of guar in the rat: changes in bile acids and sterols excretion and enterohepatic cycling of bile acids. *Nutrition Research*, Vol. 18. N°7, pp: 1215-1225.
- **Desjardins M.L., Roy D., et Goulet J. (1991).** β -Galactosidase and proteolytic activities of bifidobacteria in milk: A preliminary study. *Milchwissenschaft*, 46(1), pp: 11-13.
- **Desmazeaud M. (1996).** Les bactéries lactiques dans l'alimentation humaine: utilisation et innocuité. *Cahiers Agricultures*. 5 : pp : 331-342.
- **Dickinson E. (2003).** Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*, 17, pp : 25-39.
- **Doleyres Y. (2003).** Production en continue de ferments lactiques probiotiques par la technologie des cellules immobilisées, Thèse de doctorat, Université Laval, Québec.
- **Doublier J. L., Thibault J. F. et Axelos M. A. V. (1992).** Agents épaississants et gélifiants de nature glucidique. In additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires. Ed. Tec et Doc. Lavoisier, pp : 373-414.
- **Doyle J.P., Giannouli P., Martin E.J., Brooks M., et Morris E.R. (2006).** Effect of sugars, galactose content and chain length on freeze–thaw gelation of galactomannans, *Carbohydrate Polymers*, 64, pp: 391-401.

- **Drauoult S., et Corthier G. (2002).** Effets des bactéries lactiques ingérés avec des laits fermentés sur la santé. Institut national de la recherche agronomique INRA.
- **Duboc P. et Mollet B. (2001).** Applications of exopolysaccharides in the dairy industry, *International Dairy Journal*, 11 (9), pp: 759-768.
- **Dunstan D. E., Chen Y., Liao M. L., Salvatore R., Boger D.V. et Prica M. (2001).** Structure and rheology of the κ -carrageenan/locust bean gum gels. *Food hydrocolloids* 15, pp: 475-481.
- **Edwards, C.A. (2003).** Gums: Dietary importance, *Encyclopedic Food Science Nature*, pp: 3007-3012.
- **El Batal H., Hasib A., Ouatmane A., Dehbi F., Jaouad A. et Boull A. (2011).** Sugar composition and yield of syrup production from the pulp of Moroccan carob pods (*Ceratonia siliqua L.*). *Arabian Journal of Chemistry*. Enlarged. New York, NY: Marcel Dekker, pp: 776.
- **Everett D. W. et McLeod E. R. (2005).** Interactions of polysaccharide stabilisers with casein aggregates in stirred skim-milk yoghurt. *International Dairy Journal* 15, pp: 1175–1183.
- **Fadel F., Tahrouch S., Elmadidi S., Benddou A. et Hatimi A. (2011).** Etude morphométrique et physicochimique comparative du caroubier forestier et celui d'une plantation privée. *Bio Matec ECHO* vol 4, N° 7, pp : 3-10.
- **FAO (1995).** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. *Collection FAO: Alimentation et nutrition*. N°28, pp : 153-171
- **FAO/OMS (2003).** Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. WHO technical report series 916. Geneva, Switzerland: World Health Organization, pp: 3-108.
- **Favier M.L., Bost P.E., Guittard C., Demigne C. et Remesy C. (1997).** Reciprocal influence of fermentations and bile acid excretion on cholesterol-lowering effect of fermentable carbohydrate, *Nutrition Biochemical* 8, pp: 127-132.
- **FDA U.S.Food and Drug Administration (1994).** Center for food safety and applied nutrition: A food label in guide.

<http://www.fda.gov/Food/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/GuidanceDocuments/FoodLabelingNutrition/FoodLabelingGuide/default.htm>.

- **Flynn, N. E., Meininger, C. J., Haynes, T. E., et Wu, G. (2002).** The metabolic basis of arginine nutrition and pharmacotherapy. *Biomedicine Pharmacotherapy*, 56, pp: 427–438.
- **Fox A. T. et Thomson M. (2007).** Adverse reactions to cow's milk. *Pediatric Child Health*. 17(7): pp: 288–294.
- **Fox P.F. (1989).** The milk protein systems. In: Developments in dairy chemistry New York: Applied science publishers, pp: 1-53.
- **Fredot E. (2005).** Connaissances des aliments: bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique. Ed : Tec. et Doc. Lavoisier. Paris.
- **Ganter J.L.M.S. et Reicher F. (1999).** Water-soluble galactomannans from seeds of Mimosaceae spp. *Bioresource technology* 68, pp : 55-62
- **Gaonkar A.G. (1991).** Surface and interfacial activities and emulsion characteristics of some foods hydrocolloids. *Food Hydrocolloids*, 5, pp : 329-337.
- **Gaouar N. (2011).** Etude de la valeur nutritive de la caroube de différentes variétés Algériennes. Thèse de magister. Université Abou Bekr Belkaid- TLEMCEM.
- **Garti N., Slavin Y., et Aserin A. (1999).** Surface and emulsification properties of a new gum extracted from *Portulaca oleracea L.* *Food Hydrocolloids* 13, pp: 145–155
- **Gaucheron F., (2004).** *Minéraux et produits laitiers*, Ed. Tec et Doc, Lavoisier, Paris, pp : 301-320.
- **Gharnit N., El Mtili N., Ennabili A. et Sayah F., (2006).** Importance socio-économique du caroubier (*Ceratonia siliqua L.*) dans la Province de Chefchaouen (nord- ouest du Maroc), Rev. Tela Botanica, *Base de Données Nomenclaturale de la Flore de France BDNFF*, Vol.4, 02, N°33.
- **Gonçalves S. et Romano A. (2005).** Locust bean gum (LBG) as a gelling agent for plant tissue culture media. *Science Horticulture*, 106(1), pp : 129-134.
- **Got R. (1997).** Les enzymes du lait, *Nutrition et Aliment*, 25, pp : 291- 311.

- **Grizard D., Dalle M. et Barthomeuf C. (2001).** Changes in insulin and corticosterone levels may partly mediate the hypolipidemic effect of guar gum and low-molecular weight pectin in rats. *Nutrition Research* 21,pp: 1185-1190.
- **Gueguen, L. (1995).** Apports minéraux par le lait et les produits laitiers. *Cahier Nutrition and Diet*, 3, pp: 213-217.
- **Hansel W. (2008).** 350 plantes médicinales. Ed. Delachaux et Niestlé.
- **Hariri A, Ouis N., Sahnouni F., et Bouhadi D. (2009).** Mise en œuvre de la fermentation de certains ferments lactiques dans des milieux à base des extraits de caroube. *Revue microbiologie santé et environnement*, pp : 37-55.
- **Hess S.J., Roberts R.F. et Ziegler G.R. (1997).** Rheological properties of non-fat yogurt stabilized using *Lactobacillus delbruekii ssp. bulgaricus* producing exopolysaccharide or using commercial stabilizer systems, *Journal of Dairy Science*, 80, pp: 252-263.
- **Holzappel W.H., Haberer P., Geisen R., Björkroth J. et Schillinger U. (2001).** Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *American Journal of Clinical Nutrition* 73: pp: 365-373.
- **Howarth N.C., Saltzman E., et Roberts S.B. (2001).** Dietary fiber and weight regulation. *Nutrition Review* 59(5), pp: 129-139.
- **Huang X., Kakuda Y. et Cui W. (2001).** Hydrocolloides in emulsion: particle size distribution and interfacial activity. *Food hydrocolloids* 15, pp: 533-542.
- **Iserin P. (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales. Ed. Larousse, P: 186.
- **Ishibashi N. et Shimamura S. (1993).** Bifidobacteria: Research and development in Japan.
- **Izquierdo E., 2009.** Les protéines bactériennes entant que biomarqueurs de l'activité probiotique. Thèse de Doctorat, Université de Strasbourg, pp: 8-141.
- **Jenkins D. J.A., Kendall C. W.C., Augustin L.S.A., Franceschi S., Hamidi M., Marchie A., Jenkins A.L. et Makelainen M.A. (2002).** Glycemic index: overview of

implications in health and disease. *American Journal Clinical Nutrition* 76, pp: 266-276.

- **Jimenez R. et Brillon G. (2008).** Application de la membrane du globule gras du lait comme ingrédient : perspectives actuelles et futures, 2008. *Dairy Science and technologie*, 88, pp : 5-18.
- **Karababa E. et Cokuner Y. (2013).** Physical properties of carob bean (*Ceratonia siliqua L.*): An industrial gum yielding crop. *Industrial Crops and Products*. 42, pp: 440-446.
- **Keogh M.K. et O’Kennedy, B.T. (1998).** Rheology of stirred yogurt as affected by added milk fat, protein and hydrocolloids. *Journal of food science*, 63(1), pp: 108-112.
- **Kim S.J., Yong Cho S., Kim S.H., Song O.J., Shin I.S., Cha D.S., et Park H.J. (2008).** Effect of microencapsulation on viability and other characteristics in *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121. *LWT- Society of Food Science and Technologie*. 41, pp: 493-500.
- **Kivçak B., et Mart T. (2002).** Antimicrobial and Cytotoxic Activities of *Ceratonia siliqua L.* Extracts. *Turk Journal Biology* 26, pp: 197-200.
- **Kloek W., Luyten H. et van Vliet T. (1996).** Small and large deformation behaviour of mixtures of xanthan and enzyme modified galactomannans. *Food Hydrocolloids*. Vol. 10 (1), pp: 123–129.
- **Kök M.S., Hill S.E. et Mitchell J.R. (1999).** Viscosity of galactomannans during high temperature processing: influence of degradation and solubilisation. *Food Hydrocolloids*, 13 (6), pp: 535-542.
- **Kök M.S. (2007).** A comparative study on the compositions of crude and refined locust bean gum: In relation to rheological properties, *Carbohydrate polymers* 70, pp: 68-76.
- **Konaté I. (2007).** Diversité Phénotypique et Moléculaire du Caroubier (*Ceratonia siliqua L.*) et des Bactéries Endophytes qui lui sont Associées. Thèse de doctorat, Université Mohamed V (Rabat, Maroc).

- **Laneuville S. (2004).** Etude de l'interaction associative entre la β -lactoglobuline et le xanthane natif ou le xanthane traité aux hautes pressions hydrodynamiques, Thèse, Université Laval.
- **Larpent J.P. (1996).** Les bactéries lactiques, in microbiologie alimentaire: les fermentations alimentaires. Vol 2. Ed : Tec et Doc., pp : 5-13.
- **Lazaridou A., Biliaderis C. G. et Izydorczyk M., S. (2000).** Structural characteristics and rheological properties of locust bean galactomannans: a comparison of samples from different carob tree populations. *Journal Science Food Agriculture* 81, pp: 68-75.
- **Lee C.S., Wooding F. B. P. et Kemp P. (1980).** Identification, properties and differential counts of cell populations using microscopy of dry secretions, colostrum and milk from norma cows. *Journal dairy research*, 47, pp: 39-50.
- **Lenoir J. (1985).** Les caséines du lait. *Revue lait français*, 17-23, pp : 440.
- **Leveau J-Y. et Bouix M. (1993).** Microbiologie industrielle : les micro-organismes d'intérêt industriel. Tec et Doc Lavoisier, Paris.
- **Liong M. T. et Shah N. P., (2005).** Bile salt deconjugation and BSH activity of five bifidobacterial strains and their cholesterol co-precipitating properties. *Food Research International.*, 38, pp : 135-142.
- **Lizardo R., Cañellas J., Mas F., Torrallardona D. et Brufau J. (2002).** L'utilisation de la farine de caroube dans les aliments de sevrage et son influence sur les performances et la santé des porcelets. Journées de la Recherche Porcine. 34, pp : 97-101.
- **López-Franco Y.L., Cervantes-Montaña C.I., Martínez-Robinson K.G., Lizardi-Mendoza J. et Robles-Ozuna L.E. (2013).** Physicochemical characterization and functional properties of galactomannans from mesquite seeds (*Prosopis spp.*). *Food Hydrocolloids* 30, pp: 656-660.
- **Lourens-Hattingh A., et Viljoen B.C. (2001).** Review: yogurt as probiotic carrier, *Food International Dairy Journal* 11, pp: 1-17.

- **Lucas I. (2008)**. Compositional analysis of locally cultivated carob (*Ceratonia siliqua*) cultivars and development of nutritional food product for a range of market sectors. Master of Science in food science. Stellenbosch university.
- **Lucey J.A., Teo C.T., Munro P.A. et Singh H. (1997)**. Rheological properties at small (dynamic) and large (yield) deformations of acid gels made from heated milk, *Journal of Dairy Research*, 64 (4), pp: 591-600.
- **Lucey J.A., Tamehana M., Singh H., Munro P. A. (1999)**. Stability of model acid milk beverage: effect of pectin concentration storage temperature and milk heat treatment, *Journal of texture studies*, 30 (3), pp: 305-318.
- **Luquet F. M. et Corieu G., 2005**, Bactéries lactiques et probiotiques, Ed : Tec et Doc, Lavoisier, Paris.
- **Mahaut, M., Jeantet, R., Schuck, P. et Brulé. G. (2000)**. Les produits industriels laitiers, Ed : Tec et Doc, Paris, pp : 25-37.
- **Mahungu S.M. et Meyland I. (2008)**. Cassia gum, Chemical and Technical Assessment (CTA). Brussels, Belgium.
- **Makelainen H., Anttila H., Sihvonen J., Hietanen R.M., Tahvonen R., Salminen E., Mikola M., et Sontag-Strohm T. (2007)**. The effect of β -glucan on the glycemia And insulin index. *European Journal Clinical Nutrition* 61(6), pp: 779-785.
- **Makris D. P., et Kefalas P. (2004)**. Carob pods (*Ceratonia siliqua* L.) as a source of polyphenolic antioxidant. *Food Technology Biotechnology* 42, pp: 105- 108.
- **Malkki, Y. et Virtanen E. (2001)**. Gastrointestinal effects of oat bran and oat gum: A review. *Food Science and technology*, 34 (6), pp: 337-347.
- **Marshall V.M., Colle W.M., et Mabbitt L.A. (1982)**. Fermentation of specially formulated milk with single strains of bifidobacteria. *J. Soc. Dairy Technol.* 35, pp: 143-144.
- **Mathieu J. (1998)**. Initiation à la physico-chimie du lait. Ed. Tec et Doc .Lavoisier. Paris, pp 1-26, pp : 140-144.

- **Mathur N. K., 2012**, Industrial galactomannan polysaccharides. Ed. CRC press Taylor Francis group, pp: 10-11.
- **Mathur V. et Mathur N.K. (2005)**. Fenugrec and other lesser known legume galactomannan-polysaccharides Scope for developpents. *Journal of scientific and industrial research*, Vol. 64, pp: 475-481
- **Matthausa B. et Özcan M. (2011)**. Lipid evaluation of cultivated and wild carob (*Ceratonia siliqua L.*) seed oil growing in Turkey. *Scientia Horticulturae* 130, pp: 181–184.
- **Micanel N., Haynes I.N et Playne M.J., 1997**. Viability of probiotic cultures in commercial Australian Yogurts, *Australian Journal Dairy Technology*, 52, 1, pp: 24-27.
- **Michael M., Phebus R.K. et Schmidt K.A, (2010)**. Impact of a plant extract on the viability of *Lactobacillus delbruekii ssp bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* in nonfat yogurt, *International dairy journal*, 20, pp: 665-672.
- **Mulimani V. H. et Prashanth S.J. (2002)**. Investigating Plant Galactomannans. *Biochemistry and molecular biology education*. Vol. 30, N°. 2, pp: 101–103.
- **Nebra Y., et Blanch AR. (1999)**. A new selective medium for *Bifidobacterium* spp. *Applied Environmental Microbiology* 65, 5173– 5176.
- **Neukom H. (1989)**. Galactomannans: properties and applications. *Lebensm Wiss Technology* 22, pp: 41-45.
- **Neville M.C, Zhang P., Allen J.C. (1995)**. Minerals, ions, and trace elements in milk. A-ionic interactions in milk. In: Jensen RG. Handbook of milk composition. Academic Press, San Diego, 1995, pp: 577-592.
- **Nussinovitch A. (1997)**. Hydrocolloid applications: Gums technology in the food and other industries. Ed: Blackie Academic and Professional, an imprint of Chapman and Hall, pp: 2-6.

- **Oleynikov D.N. ET Rohin A.V. (2010).** Galactomannan from the seeds of chinese honey locust (*Gleditsia sinensis Lam.*). *Applied Biochemistry and Microbiology*. Vol. 46 N° 1, pp :103-107.
- **Patmore J.V., Goff H.D. et Fandes S. (2003).** Cryo-gelation of galactomannans in ice cream model systems. *Food Hydrocolloids*, 17(2), pp 161-169.
- **Pellikaan W. F., Andrès-Elias N., Durand A., Bongers L J G M., Schupen S. et Torrallarona D. (2010).** Effect of carob bean gum, spray dried porcine plasma and sanguinarine on fermentation activity in the gut of weanling pigs. *Livestock Science* 133, pp: 164-168.
- **Perissutti G.E. Bresolin T.M.B. et Ganter G.L.M.S. (2002).** Interaction between the galactomannan from *Mimosa scarbella* and milk proteins. *Food hydrocolloids*, 16, pp: 403-417.
- **Petit M. D. et Pinila J. M. (1995).** Production and purification of a sugar syrup from carob pods. *Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie*, 28, pp: 145-152.
- **Pette et Lolkema (1950).** In bactéries lactiques: aspects fondamentaux et technologiques. Vol₂. De Roissart H.et Luquet F. M., Ed : Lorica. Uriage, pp : 37-46.
- **Prajapati V.D., Jani G. K. et Moradiya N.G., 2013.** Locust bean gum: A versatile biopolymer, *Carbohydrate Polymers* 94, pp :814-821.
- **Prat R. et Rubinstein J. P. (2012).** Arbres et Arbustes: Caroubier (*Ceratonia siliqua*, Fabacées).
- **Ramchandra L. et Shah N.P., (2010).** Characterization of functional, biochemical and textural properties of symbiotic low-fat yogurt during refrigerated storage. *LWT-Food Science and Technology* 43, pp: 819-827.
- **Ramulu P., Veettil N., Giridharan et Udayasekhararao P. (2011).** Hypolipidemic effect of soluble dietary fiber (galactomannan) isolated from fenugreek seeds in WNIN (GR-Ob) obese rats. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 5(19), pp : 4804-4813.

- **Rejeb M. N. (1995).** Le caroubier en Tunisie: Situations et perspectives d'amélioration. Dans: Quel avenir pour l'amélioration des plantes? Ed. AUPELF-UREF. John Libbey Eurotext. Paris. pp: 79-85.
- **Rejeb M. N., Laffray D., et Louguet P. (1991).** Physiologie du caroubier (*Ceratonia siliqua L.*) en Tunisie. Physiologie des arbres et arbustes en zones arides et semi-arides. Group d'Etude de l'Arbre, Paris, France. P:417-426.
- **Renou F., Petibon O., Malhiac C. et Grisel M., 2013.** Effect of xanthan structure on its interaction with Locust bean gum: Toward prediction of rheological properties, *Food hydrocolloids*, 32, pp :331-340.
- **Richardson P.H., Willmer J. et Foster T.J. (1998).** Dilute properties of guar and locust bean gum in sucrose solutions. *Food Hydrocolloids*, 12, 339-348.
- **Rinaudo M. (2001).** Relation between the molecular structure of some polysaccharides and original properties in sol and gel state. *Food Hydrocolloids*, Vol 15, pp: 433-440.
- **Rizzo V., Tomaselli F., Gentile A., La Malfa S., et Maccarone E. (2004).** Rheological Properties and Sugar Composition of Locust Bean. Gum from Different Carob Varieties (*Ceratonia siliqua L.*). *Journal Agriculture Food Chemistry*. 52, pp: 7925–7930
- **Roberfroid M. (2002).** Aliments fonctionnels. Ed : Tec et Doc, Lavoisier, Paris.
- **Rocha C., Xaeira J. A. Hilliou L., Sampaio P. et Gonçalves M. P. (2009).** Rheological and structural characterization of gels from whey protein hydrolysates/locust bean gum mixed systems. *Journal of Food Hydrocolloids*, 23, PP: 1734-1745.
- **Roukas, T., (1999).** Citric acid production from carob pod by solid state fermentation. *Enzyme Microbiology and Technology* 24: pp: 54–59.
- **Sadek Z., El-Shafei K. et Murad H.A. (2006).** Utilisation of xanthan gum and inulin as prebiotics for lactic acid bacteria, *Deutsche Lebensmittel Rundschau* vol. 102, n°3, pp: 109-114.

- **Sánchez V.E., Bartholomai G.B. et Pilosof A.M.R. (1995).** Rheological properties of food gums as related to their water binding capacity and to soy protein interaction. *Lebensm Wiss Technology*, 28(4), pp: 380-385.
- **Sanchez, C., Paquin P. (1997).** Protein and protein-polysaccharides microparticules, In *Food proteins and their applications*, Marcel Dekker Inc., USA, p :503-528.
- **Santos, M., Rodrigues, A., Teixeira, J.A., (2005).** Production of dextrane from carob pod extract and cheese whey by *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B512 (f). *Biochemical Engineering Journal* 25, pp : 1–6.
- **Saxelin M., Grenov B., Svensson R., Fonden R., Reniero R., et Mattila S. (1999).** The technology of probiotics. *Trends Food Science Technology* 10, pp: 387-392.
- **Schmidt J. L., Tourneur C. et Lounoir J. (1994).** In bactéries lactiques : aspects fondamentaux et technologiques. Vol2. De Roissart H. et Luquet F. M., Ed : Loriga. Uriage, pp : 37-46.
- **Schultz et Hingst (1954), cité dans Luquet F. M. et Corieu G. (2005).** Bactéries lactiques et probiotiques, Ed : Tec et Doc, Lavoisier, Paris.
- **Shihata A., et Shah NP. (2000).** Proteolytic profiles of yogurt and probiotic bacteria. *Int Dairy Journal*. 10, pp: 401-408.
- **Secouard S., Grisel M. et Malhiac C. (2007).** Flavour release study as a way to explain xanthan-galactomannan interactions. *Food hydrocolloids* 21, pp: 1237-1244.
- **Shukla et al, 1988. Shukla, F.C., Jain, S.C. et Sekhon, K.S. (1988).** Effects of additives on the quality of yoghurt, *Indian Journal Dairy Science*, 41, pp: 467-468.
- **Sidina M.M., El Hansali M., Wahid N., Ouatmane A., Boulli A. et Haddioui A. (2009).** Fruit and seed diversity of domesticated carob (*Ceratonia siliqua* L.) in Morocco. *Scientia Horticulturae*, 123, pp: 110- 116.
- **Simoès J., Nunes F. M., Domingues M. R. et Coimbra M. (2011).** Demonstration of the presence of acetylation and arabinose branching as structural features of locust bean gum galactomannanes. *Carbohydrates polymers* 82, pp: 1476-1483.

- **Sittikijyothin W., Torres D. et Gonçalves M.P. (2005).** Modelling the rheological behaviour of galactomannan aqueous solutions. *Carbohydrate Polymers*, 59(3), pp: 339-350.
- **Soupe, J. (2004).** Ingrédients laitiers minéralisés industriels. Dans: Gaucheron F., *Minéraux et produits laitiers*. Paris : Tec et Doc, Lavoisier, Paris, pp : 301-320
- **Srichamroen A., Field C. J., Thomson A.B.R. et Basu T.K. (2008).** The Modifying Effects of Galactomannan from Canadian-Grown Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) on the Glycemic and Lipidemic Status in Rats. *Journal Clinical Biochemistry Nutrition*, 43, pp: 167–174.
- **Srivastava M. et Kapoor V.P. (2005).** Seed galactomannans: an overview. *Chemistry and Biodiversity*. Vol. 2.
- **Steijns, J. N. (2008).** Dairy products and health: Focus on their constituents or on the matrix? *International Dairy Journal*, 18: pp : 425–435.
- **Steinkraus KH. (1996).** Handbook of Indigenous Fermented Foods. 2nd Edition.
- **Sudhakar V., Singhal R.S. & Kulkarni P.R. (1996).** Starch-galactomannan interactions: functionality and rheological aspects. *Food Chemistry*, 55(3), pp: 259-264.
- **Sykes, G., Skinner, F.A. (1973).** Techniques for the isolation and characterization of *Actinomyces* and *Bifidobacterium* species, report of a panel discussion. *Appl. Bacteriol. Symp. Ser. No. 2*. Academic Press, New York, pp: 327–333.
- **Tamime A.Y, Marshall V.M.E, Robinson R.K. (1995).** Microbiological and technological aspects of milks fermented by bifidobacteria. *Journal Dairy Research*. 62, pp: 151-187.
- **Tamime A. Y. Barrantes E. et Sword M. (1996).** The effect of starch-based fat substitutes on the microstructure of set-type made from reconstituted skimmed milk powder. *Journal of dairy Technology*, 49, pp: 1-10.
- **Tamine, A.Y., Robinson, R.K. (1999).** Yoghurt Science and Technology, 2nd Ed. Cambridge: woodhead publishing.

- **Teggatz, J. A. et Morris H. A. (1990).** Changes in the rheology and microstructure of ropy yogurt during shearing. *Food Microstructure* 19, pp: 133-138.
- **Teles C.D. et Flores S.H. (2007),** The influence of additives on the rheological and sensory properties of nonfat yogurt. *International Journal of Dairy Technology*, Vol. 60, No. 4, pp: 270-276.
- **Terzaghi, B. E. et Sandine, W. E. (1975).** Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophages. *Applied Microbiology* 29, pp: 807-813.
- **Theuwissen E. et Mensink R.P. (2008).** Water-soluble dietary fibers and cardiovascular disease a review. *Physiology and Behavior* 94, pp: 285–292.
- **Tucker, S.C., (1992).** The developmental basis for sexual expression in *Ceratonia siliqua* (Leguminosae: Caesalpinioideae: Cassieae). *American Journal Botanic*, 79(3), pp: 318-327.
- **Turhan I., Katherine L. Bialka K., Demirci A., et Karhan M. (2010).** Ethanol production from carob extract by using *Saccharomyces cerevisiae*. *Bioresource Technology* 101, pp: 5290–5296.
- **Ünal B., Metin S., Isikli N.D. (2003).** Use of response surface methodology to describe the combined effect of storage time, locust bean gum and dry matter of milk on the physical properties of low-fat set yoghurt. *International Dairy Journal* 13, pp: 909-916.
- **Ustunol Z., et Gandhi H. (2001).** Growth and viability of commercial *Bifidobacterium* spp in honey-sweetened skim milk. *Journal Food Protection* 64 (11) pp: 1775-1779.
- **Van Vliet, T., van Dijk, H.J.M., Zoon, P. et Walstra, P. (1991).** Relation between syneresis and rheological properties of particle gels, *Colloid and Polymer Science*, 269, pp: 620-627.
- **Veysseire R. (1975).** Technologie du lait, Ed : Maison rustique, PARIS-F.
- **Viebke C. et Piculell L. (1996).** Adsorption of galactomannans onto agarose. *Carbohydrate Polymers*, 29, pp : 1-5.

- **Vierling E. (2008).** Aliments et boissons, filières et produits, Ed. Doin, pp: 15-38.
- **Vignola C. L., Foisy L., Ratel D. et Laprise A. (2002).** Science et technologie du lait. Transformation du lait. 3^{ème} édition. Canada.
- **Vilain, 2010 A. C. (2010).** Qu'est ce que le lait? *Revue française d'allergologie* 50, pp : 124-127.
- **Vinderola CG., et Reinheimer JA. (1999).** Culture media for the enumeration of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus* in the presence of yoghurt bacteria. *International Dairy Journal*, 9(8), pp: 497-505.
- **Viuda-Martos M., López-Marcos M.C., Fernández-López J., Sendra E., López-Vargas J.H. et Pérez-Álvarez J.A. (2010).** Role of Fiber in Cardiovascular Diseases: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. Vol. 9, (2), pp: 240–258.
- **Wang, Y., Belton, P. S., Bridon, H., Garanger, E., Wellner, N., Parker, M. L., et al. (2001).** Physicochemical studies of caroubin: A gluten-like protein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, pp: 3414-3419.
- **Wielinga, W.C. (1990).** Production and applications of seed gums.
- **Williams P.A., et Phillips G.O. (2003).** GUMS: Properties of Individual Gums, *Encyclopedic Food Science Nutrition*, pp: 2992-3001.
- **Würsch P., Pi-Sunyer F.X. (1997).** The role of viscous soluble fiber in the metabolic control of diabetes: a review with special emphasis on cereals rich in beta-glucan diabetes. *Care* 20, pp: 1774-1780.
- **Yousif A. K. et Alghzawi H. M. (2000).** Processing and characterization of carob powder. *Journal of Food and Chemistry*, Volume 69 (5), N° 3, pp : 283-287.
- **Zavoral J.H., Hannan P., Fields D.J., Hanson M.N., Frantz I.D., Kuba K., Elmer P. et Jacobs D.R. (1983).** The hypolipidemic effect of locust bean gum food products in familial hypercholesterolemic adults and children. *American Journal Clinical Nutrition*, 38(2), pp: 285-94.

- **Zhang M., Hang X., Fan D., Li H. and Yang X. (2008).** Characterization and selection of *Lactobacillus* strains for their effect on bile tolerance, taurocholate deconjugation and cholesterol removal. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24, pp: 7-14.
- **Ziegler G.R. et Foegeding, E.A. (1990).** Gelation of proteins. *Advances in Food and Nutrition Research*, 34, pp: 203-298.