



DEPARTEMENT D'AGRONOMIE

## MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

Mr. BENDERDOUCH Mohammed Fethallah

Mr. BOUROUBEY Abdelkader Amine

Pour l'obtention du diplôme de

### MASTER EN AGRONOMIE

**Spécialité : Contrôle de Qualité des Aliments**

#### THEME

**Effet d'incorporation d'écorce de *Punica granatum* L.,  
sur la qualité d'un lait fermenté type yaourt étuvé**

Soutenu publiquement le ...../...../2021

DEVANT LE JURY :

Présidente :	Mme. AIT CHABANE Ouiza	MCB	Univ. Mostaganem
Examineur :	M. BEKADA Ahmed Mohammed Ali	Professeur	C.U. de Tissemsilt
Examineur :	M. BEKADA Djamel Eddine	MCA	Univ. Mostaganem
Encadreur :	M. AIT SAADA Djamal	MCA	Univ. Mostaganem

Année universitaire : 2020-2021

---

## **Remerciements :**

*Tout d'abord, nous remercions Allah, notre créateur de nous avoir donné la force, la volonté et le courage afin d'accomplir ce modeste travail. La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui on voudrait témoigner toute notre reconnaissance.*

*Nos vifs remerciements s'adressent à tous les membres du jury en l'occurrence M. BEKADA A.M.A professeur à l'université de Tissemsilte à titre d'examineur d'avoir accepté de juger et d'enrichir cette étude, ainsi que Mme. AIT CHABANE O de l'université de Mostaganem pour ses conseils et orientation et d'avoir accepté de présider le jury de soutenance.*

*Nous tenons également à présenter nos remerciements les plus distingués à notre encadreur M«M. AIT SAADA. Djamel» maitre de conférences au département de Biologie de l'université de Mostaganem pour son soutien, ses conseils qui ont été précieux et qui nous ont permis de mener à bien notre mémoire de fin d'études.*

*Nos remerciements s'adressant aussi à tous les techniciens exerçant au laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition de l'université de Mostaganem.*

*Nos remerciements s'adressent également à toutes les personnes ayant participé de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.*

*Enfin, nous tenons à remercier tous ceux qui nous ont initiés aux valeurs authentiques de la vie humaine ; en signe d'un profond respect.*

---

## *Dédicaces*

*A mes plus chers au monde, à mes parents.*

*A mon père, grâce à ton soutien, tes conseils, tes orientations, ton aide et tes prières que je suis là. Espérant que je suis à la hauteur de tes pensées. Que dieu te donne de la santé et te protège pour nous.*

*A ma mère, grâce à ton amour, tes inquiétudes, tes sacrifices, tes encouragements, et tes prières que j'arrive là. Espérant que tu es satisfaite de ton fils. Que dieu te donne de la santé et te garde pour nous.*

*A mes frères « Abdennour, Hadj ». Pour leur appui et leur encouragement Je ne vous souhaite que du succès et du bonheur. Que dieu vous protège pour nous.*

*A mon petit frère « Mehdi ». Tu es mon bâton. Je te souhaite la réussite dans ton parcours. Que dieu te protège pour nous.*

*A M.AIT SAADA Djamel qui doit voir dans ce travail la fierté d'un savoir bien acquis. À mon collègue et mon binôme « Abdelkader » pour tout le moment de stress et de fatigue que j'ai partagés avec toi.*

*A mes Amis, merci pour votre aide. Je vous souhaite la réussite dans vos parcours académiques, professionnels et personnels.*

***Mohammed Fethallah***

---

## ***Dédicaces***

*Rien n'est aussi beau à offrir que le fruit d'un labeur qu'on dédie du fond du cœur à ceux qu'on aime et qu'on remercie en exprimant la gratitude et la reconnaissance durant toute notre existence.*

*Je dédie ce modeste travail : A ceux que j'aime : Mon père et ma mère qui ont toujours été présent pour me soutenir, me conseiller, sacrifient pour moi et m'avoir permis D'arriver à ce stade d'éducation.*

*A M.AIT SAADA Djamel qui doit voir dans ce travail la fierté d'un savoir bien acquis.*

*Je le dédie aussi à : Mes frère « Chakib, Nedjmeddine » et Ma chère Tante, qui m'ont soutenu et cru en moi lors de mon parcours. Et à ceux qui ont participé avec moi à ce travail, mon cher ami et binôme « Fethallah » Et a tous mes collègues et mes amis(e)*

*Toute la promotion 2020/2021*

***Abdelkader Amine***

---

## Résumé:

La thématique de recherche a porté sur l'évaluation de l'effet antimicrobien de l'extrait hydro-éthanolique de *Punica granatum* L., sur la croissance des germes spécifiques et la qualité d'un lait fermenté type yaourt étuvé. L'extrait de la plante objet de l'étude a été obtenu par macération d'une prise de matière végétale d'écorce de grenade dans une solution hydro-éthanolique. L'extrait récupéré, après filtration et évaporation, a été ensuite incorporé à 0, 2 et 4% dans la préparation d'un lait fermenté type yaourt étuvé. Les différentes mesures et contrôles ont été réalisées en triples essais périodiquement au 1<sup>er</sup>, 7<sup>ème</sup>, 14<sup>ème</sup> et 21<sup>ème</sup> jour de conservation des produits expérimentaux au froid à 4°C et ont porté sur : le pH, l'acidité, la viscosité, le dénombrement des germes spécifique du yaourt, et les tests organoleptiques dont (gout, adhésivité, cohésivité, fraîcheur, couleur...etc. Les résultats ont subi une analyse de variance en randomisation et une comparaison des moyennes deux à deux selon le test Newman et Keuls.

L'ajout d'extrait hydro-éthanolique de *Punica granatum* à une dose de 2% semble maintenir la qualité physicochimique et microbiologique des yaourts au cours de leurs conservations au froid dont l'acidité, le pH, la viscosité et même l'accroissement des germes *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* n'ont pas connu de grandes différences comparativement au témoin.

Par ailleurs, le lait fermenté additionné de 2% d'extrait de la plante riche en composés phénoliques a été très bien apprécié par le jury de dégustation et ce au même titre que le yaourt témoin.

**Mots clés :** *Punica granatum*, yaourt, extrait hydro-éthanolique, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*.

---

## **Abstract:**

This work dealt with the evaluation of the antimicrobial effect of the hydroethanolic extract of *Punica granatum L.* on the growth of specific germs and the quality of a fermented milk (yoghurt). The extract of the plant under study was obtained by maceration of a sample of pomegranate peel in a hydroethanolic solution. The extract recovered, after filtration and evaporation, was then incorporated at 0, 2 and 4% in the preparation of a fermented of yoghurt type. The various measurements and evaluations were carried out in triplicate periodically on the 1<sup>st</sup>, 7<sup>th</sup>, 14<sup>th</sup> and 21<sup>st</sup> day of conservation of the experimental products in the cold at 4°C and concerned: pH, acidity, viscosity, the count of the specific germs of the yoghurt. Organoleptic tests such as taste, adhesiveness, cohesiveness, freshness, color were also performed. The results were subjected to a randomized analysis of variance and a comparison of the means two by two according to the Newman and Keuls test.

The addition of hydro-ethanol extract of *Punica granatum* at a dose of 2% seems to maintain the physicochemical and microbiological quality of yoghurts during their cold storage whose acidity, pH, viscosity and even the increase of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* germs did not differ significantly from the control.

Moreover, the fermented milk with 2% of plant extract enriched with phenolic compounds was as well appreciated by the tasting panel as the control yogurt.

**Key words:** *Punica granatum*, yogurt, hydro-ethanol extract, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*.

## ملخص

تناول هذا العمل تقييم التأثير المضاد للميكروبات لمستخلص الهيدروإيثانول من قشر الرمان *Punica granatum L*. على نمو جراثيم معينة ونوعية الحليب المخمر (الزبادي). تم الحصول على مستخلص النبات قيد الدراسة عن طريق نقع عينة من قشر الرمان في محلول مائي إيثانولي. المستخلص المسترجع ، بعد الترشيح والتدفئة ، أدرج بعد ذلك عند 0 و 2 و 4% في تحضير مخمر من نوع الزبادي. تم إجراء القياسات والتقييمات المختلفة في ثلاث نسخ بشكل دوري في اليوم الأول والسابع والرابع عشر والحادي والعشرين من حفظ المنتجات التجريبية في البرد عند 4 درجات مئوية والمتعلقة: الأس الهيدروجيني ، الحموضة ، اللزوجة ، عدد الجراثيم المحددة الزبادي. كما تم إجراء اختبارات الحسية مثل الذوق ، والالتصاق ، والتماسك ، والنضارة ، واللون. تم إخضاع النتائج لتحليل عشوائي للتباين ومقارنة المتوسطات اثنان في اثنين حسب اختبار نيومان وكيولس.

يبدو أن إضافة مستخلص الإيثانول المائي من *Punica granatum* بجرعة 2 % يحافظ على الجودة الفيزيائية والكيميائية والميكروبيولوجية للزبادي أثناء التخزين البارد الذي لا تختلف حموضته ودرجة حموضته ولزوجته وحتى زيادة بكتيريا *Streptococcus thermophilus* و *Lactobacillus bulgaricus* بشكل كبير من السيطرة.

علاوة على ذلك ، تم تقدير الحليب المخمر بنسبة 2 % من المستخلص النباتي المخضب بمركبات الفينول من قبل لوحة التذوق مثل زبادي البدائي.

---

## Liste des abréviations :

**PSA**: Prostate Specific Antigen.

**HDL**: High density lipoprotein.

**LDL**: Low density lipoprotein.

**HPLC**: High performance liquid chromatography.

**EPPG**: Extrait de la poudre de la peau de grenade.

**LB**: *Lactobacillus bulgaricus*.

**ST**: *Streptococcus thermophilus*.

**F.I.L.**: Federation International du lait.

**EST** : Extrait sec total.

**CEE** : Communauté économique européenne.

**Kcal** : Kilocalorie.

**EFSA** : Autorité européenne de sécurité des aliments.

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé.

**MG** : Matière grasse.

**ATP** : Adénosine triphosphate.

**°D** : Degré dornique.

**J.O.R.A** : Journal Officiel de la République Algérienne.

**EEPG** : Effet d'extrait de *Punica granatum*.

---

## Liste des tableaux :

<b>Tableau 01.</b> Variétés de grenadier autorisées à commercialiser en Algérie.....	6
<b>Tableau 02.</b> Classification botanique de <i>Punica granatum</i> .....	7
<b>Tableau 03.</b> Valeurs nutritionnelles de la grenade, pour 100g de portion .....	9
<b>Tableau 04.</b> Principaux acides hydroxycinnamiques .....	18
<b>Tableau 05.</b> Principaux acides hydroxybenzoïques .....	19
<b>Tableau 06.</b> Activités biologiques des composés phénoliques .....	22
<b>Tableau 07.</b> Types et caractéristiques des yaourts .....	28
<b>Tableau 08.</b> Composition nutritionnelle du yaourt .....	29
<b>Tableau 09.</b> Normes microbiologiques pour les yaourts.....	34
<b>Tableau 10.</b> EEPG sur les variations de l'acidité titrable.....	46
<b>Tableau 11.</b> EEPG sur les variations de pH .....	47
<b>Tableau 12.</b> EEPG sur les variations de de la viscosité .....	48
<b>Tableau 13.</b> EEPG sur les variations du nombre de <i>Streptococcus thermophilus</i> .....	49
<b>Tableau 14.</b> EEPG sur les variations du nombre de <i>Lactobacillus bulgaricus</i> .....	50
<b>Tableau 15.</b> EEPG sur les variations du goût acide .....	51
<b>Tableau 16.</b> EEPG sur les variations de l'arrière-goût.....	52
<b>Tableau 17.</b> EEPG sur les variations du goût de fraîcheur .....	53
<b>Tableau 18.</b> EEPG sur les variations de la cohésivité.....	54
<b>Tableau 19.</b> EEPG sur les variations de l'adhésivité .....	55
<b>Tableau 20.</b> EEPG sur les variations de la couleur .....	56

---

## Liste des Figures :

<b>Figure 01.</b> Fleurs et fruits du Grenadier ( <i>Punica granatum</i> ).....	8
<b>Figure 02.</b> Feuilles de <i>Punica granatum</i> .....	10
<b>Figure 03.</b> Fleurs de <i>Punica granatum</i> .....	11
<b>Figure 04.</b> Structures de base des flavonoïdes .....	20
<b>Figure 05.</b> Schéma des interactions métaboliques de <i>S.thermophilus</i> et <i>Lb. bulgaricus</i> en culture mixte dans le lait .....	32

---

## Table des matières

Remerciements	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Résumé	
Introduction .....	1

### Partie 1 : Etude bibliographique :

#### Chapitre I: Généralités sur *Punica granatum*

1. Introduction .....	5
2. Production nationale .....	6
3. Classification .....	6
4. Description botanique .....	6
5. Valeur nutritionnelle et composition chimique .....	8
5,1. Ecorce .....	9
5,2. Feuilles .....	10
5,3. Fleurs .....	10
6. Utilisations .....	11
6,1. Usage empiriques et traditionnels .....	11
6,2. Activité antioxydante .....	12
6,3. Activité anti-inflammatoire .....	12
6,4. Activité anticancéreuse .....	12
6,5. Activité antidiabétique .....	13
6,6. Activité antimicrobienne .....	13
6,7. Activité antiulcéreuse .....	13
6,8. Action cicatrisante de la grenade .....	14
6,9. Effet protecteur neurologique .....	14
7. Utilisation agroalimentaire .....	14

---

7,1. Conservation des produits carnés .....	14
7,2. Alimentation animale .....	15
8. Utilisation industrielle .....	15
8,1. Tannage du cuire .....	15
8,2. Teinture et colorant .....	15
9. Autres intérêts santé de la grenade .....	15

## **Chapitre II : Les composés phénoliques des plantes médicinales**

1. Généralités sur les composés phénoliques.....	17
2. Structures et classifications des composés phénoliques.....	17
2,1. Acides phénoliques .....	18
2,2. Acides hydroxycinnamiques .....	18
2,3. Acides hydroxybenzoïques.....	19
2,4. Coumarines.....	19
2,5. Les stilbènes .....	19
2,6. Tannins hydrolysables (gallotannins et ellagitannins) .....	20
2,7. Flavonoïdes .....	20
3. Activités biologiques des polyphénols .....	21
3,1. Activité antioxydante .....	21
3,2. Activité antimicrobienne .....	21
3,3. Activité antibactérienne.....	21
3,4. Activité antifongique.....	21
4. Polyphénols dans les aliments.....	21
5. Polyphénols chez l'homme .....	23

## **Chapitre III : Bref aperçu sur les yaourts**

1. Généralités sur le lait .....	25
1,1. Lait cru.....	25

---

1,2. Caractéristiques organoleptiques .....	25
1,3. Caractéristiques physicochimiques .....	25
2. dérivés du lait .....	25
2,1. Lait fermenté.....	26
2,2. Caractéristiques organoleptiques .....	26
2,3. Caractéristiques physicochimiques .....	26
3. Procédé de fabrication.....	27
3,1. Fermentation .....	27
3,2. Réfrigération .....	27
3,3. Yaourt (Yoghourt).....	27
3,4. Types de yaourt .....	28
3,5. Composition nutritionnelle .....	29
3,6. Caractéristiques générales des bactéries spécifiques du yaourt .....	29
3,6,1. <i>Streptococcus thermophilus</i> .....	29
3,6,2. <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>Bulgaricus</i> .....	30
4. Intérêt et fonctions des bactéries du yaourt .....	30
4,1. Production d'acide lactique .....	30
4,2. Activité protéolytique.....	31
4,3. Activité aromatique .....	31
4,4. Activité texturant .....	31
4,5. Comportements associatifs des deux souches.....	32
5. Technologie du yaourt .....	32
5. 1. Préparation du lait.....	33
5,2. Traitement thermique.....	33
5,3. Ensemencement.....	33

---

6. Caractérisation du yaourt.....	33
6,1. Paramètres physico-chimiques.....	33
6,1,1. pH et taux d'acide lactique.....	33
6,1,2. Taux de matière grasse (MG) .....	33
6,1,3. Extrait sec total (EST).....	34
6,2. Paramètres microbiologiques .....	34
7. Comportement rhéologique .....	35
8. Intérêts nutritionnels et thérapeutiques du yaourt.....	35

## **Partie 2: Méthodologie**

1. Objectifs.....	38
2. Région de prélèvement et traitements préliminaires du matériel végétal .....	38
3. Extraction des composés bioactifs par usage du méthanol.....	38
4. Essai de fabrication d'un lait fermenté étuvé enrichi d'extraits.....	40
5. Préparation du levain.....	40
6. Technologie de fabrication des laits fermentés expérimentaux .....	41
7. Mesures et contrôles sur les laits fermentés .....	41
7,1. Paramètres physicochimiques .....	41
7,1,1. Acidité .....	41
7,1,2. pH.....	41
7,1,3. Viscosité.....	42
7,2. Analyses microbiologiques .....	43
7,2,1. <i>Streptococcus thermophilus</i> .....	43
7,2,2. <i>Lactobacillus bulgaricus</i> .....	43
7,3. Test organoleptique .....	43
8. Traitement statistique .....	44

---

## Partie 3 : Résultats et discussion

1. Résultats .....	46
1,1. Analyses physicochimiques .....	46
1,1,1. Acidité titrable.....	46
1,1,2. pH.....	47
1,1,3. Viscosité.....	47
1,2. Analyses microbiologiques .....	48
1,2,1. <i>Streptococcus thermophilus</i> .....	48
1,2,2. <i>Lactobacillus bulgaricus</i> .....	49
1,3. Qualité organoleptique .....	50
1,3,1. Goût Acide .....	50
1,3,2. Arrière-goût.....	51
1,3,3. Goût de fraîcheur.....	52
1,3,4. Cohésivité.....	53
1,3,5. Adhésivité.....	54
1,3,6. Couleur .....	55
2. Discussion .....	57

Conclusion

Références bibliographiques

---

## Introduction :

La phytothérapie ou soin par les plantes est une pratique traditionnelle où on profite des actifs présents dans les plantes (feuilles, racines, tiges, écorces) pour guérir certaines maladies. Sa popularité est en forte croissance à cause de la pollution et de la présence de substances chimiques dans les médicaments qui ont des effets secondaires et indésirables causant des complications dangereuses.

Le grenadier ou *Punica granatum* largement prisé et consommé en Algérie est connue comme plante médicinale depuis plus de 3000 ans. La grenade, écorce ou peau de grenade, notamment, ainsi que les fleurs sont beaucoup appréciées pour leurs propriétés médicinales intéressantes. Lors de la consommation de la grenade, une grande quantité d'écorce (environ 40% du fruit total) est générée or l'écorce renferme de nombreuses molécules actives biologiquement (**Calin et al., 2005**). **Shahid, en 2007** a en effet, dans une étude montrée que l'extrait méthanolique de l'écorce de grenade, présente une efficacité comparable à celle des antioxydants synthétiques classiques et améliore sensiblement la stabilité oxydative de l'huile de tournesol. La peau de grenade est en particulier riche en tanins, flavonoïdes et autres composés phénoliques (**Lie et al., 2006**). Plusieurs travaux ont aussi montré les propriétés antioxydantes et antibactériennes de la peau de grenade dans les systèmes modèles in vitro (**Opara et al., 2009 ; Alzoreky, 2009**).

Par ailleurs, depuis jadis des infusions à base d'écorces de grenade ont été utilisées pour soigner les dysenteries et ce remède a été longtemps préconisé dans la thérapeutique traditionnelle. L'écorce et la racine du grenadier possèdent éventuellement des propriétés vermifuges (**Rosenblat et al., 2006**).

Le yaourt est un aliment largement consommé dans le monde possédant une valeur nutritionnelle importante. C'est un aliment digeste très apprécié pour son goût et sa texture.

---

Beaucoup de progrès ont été réalisés de nos jours pour sa diversification et la formulation de nouveaux produits. Convient à toutes les tranches d'âge, le yaourt est obtenu par incubation de lait avec un mélange de *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* (JORA, 1998). D'autres ingrédients peuvent y être ajoutés, comme les fibres de fruits et légumes, de fruits secs ou légumes comme les céréales.

L'objectif de ce travail est de suivre la qualité physicochimique et organoleptique des laits fermentés type yaourt étuvé fortifiés d'extrait hydroéthanolique d'écorce de grenade au cours de 21 jours de la période de post-acidification lors de la conservation des produits au froid à 4 °C.

Pour réaliser cette étude, il a été procédé tout d'abord à une recherche bibliographique sur l'écorce de grenade (*Punica granatum L.*), ses bienfaits sur la santé humaine et les méthodes d'extraction des principaux composés bioactifs constitutifs. Cette partie a été complétée par des généralités sur les laits fermentés dont le yaourt ferme. Ensuite une étude expérimentale a été entreprise où sont décrits le matériel et méthodes utilisées ainsi que les résultats obtenus et les principales conclusions tirés. Eventuellement, un volet recherche développement à entreprendre en perspectives dans un avenir proche a été évoqué à la fin du manuscrit.

---

## **Partie 1 : Etude bibliographique**

---

## **Chapitre 1 : Généralités sur *Punica granatum L.***

## Chapitre I : Généralités sur *Punica granatum*

### 1. Introduction :

Le grenadier, originaire du Moyen-Orient et de l'Asie (*Punica granatum* L.), est parmi les premières plantes cultivées par l'humanité. Cependant, sa consommation a été limitée à cause de la difficulté d'en extraire les arilles juteux. Grâce à de nombreuses études scientifiques sur les bienfaits sur la santé, la production et la consommation des grenades est en augmentation depuis le vingt et unième siècle. Les fruits ainsi que les graines, l'écorce et les fleurs sont utilisés pour leurs propriétés médicinales. La plus ancienne représentation qui nous ait été transmise sous forme d'image se trouve dans une tombe de l'époque d'Amenhotep IV (1375- 1358 avant notre ère) près de Tell el Amarna (Egypte) (Benzi, 1999).

D'abord disséminé par les nomades arabes, puis introduit en Chine au début du IIème siècle avant JC, le grenadier est importé à Rome par les Romains de retour des guerres puniques, après leur victoire sur les Carthaginois. Plus tard, le grenadier sera introduit dans la péninsule ibérique, où le nom de son fruit, la grenade, sera donné à l'une des plus grandes villes d'Espagne. Ce fruit est mentionné dans le livre sacré du coran comme de nombreuse plantes comestibles et non comestibles.

Le fruit et l'écorce, à la fois, sont connus pour avoir des niveaux élevés de substances phyto-chimiques, y compris les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tannins. La caractéristique diverse des substances phyto-chimiques est responsable de leur potentiel antioxydant. De nombreux sous-produits sont obtenus à partir de l'écorce 'peau dont notamment les tannins hydrolysables.

Récemment, les extraits de l'écorce de grenade ont fait l'objet de nombreuses études scientifiques confirmant leurs propriétés thérapeutiques telles que les activités anti-oxydantes, anti-inflammatoires, anti-cancer, anti-ulcère. Les extraits présentent des propriétés antimicrobiennes contre les pathogènes présents dans les aliments et améliorent leur conservation. Ce travail est consacré à la préparation d'un yaourt comportant un extrait de l'écorce de grenade réalisé en utilisant l'éthanol aqueux comme solvant d'extraction des composés phénoliques constitutifs. Le but est d'incorporer l'extrait de l'écorce aux nombreux bienfaits au yaourt tout en évaluant sa qualité. Un compromis est trouvé entre la qualité du yaourt et les propriétés inhibitrices de

l'extrait. Nous commencerons par décrire le grenadier, ses fruits et l'écorce du fruit, objet de ce travail.

## 2. Production nationale :

La surface consacrée à la culture des grenadiers est relativement peu importante en Algérie. Quatorze variétés sont actuellement autorisées à la production et à la commercialisation par l'Etat (Tableau 01).

**Tableau 01.** Variétés de grenadier autorisées à commercialiser en Algérie (Inraa, 2006).

Variétés de grenadier commercialisées en Algérie		
Selection station	Corde travita	Doux de kolea
Messaad	Sefri	Zemdautomne
Spanish	Chelfi	moller huesso
Mellisse	Sulfani	Gajin
Espagne Rouge	Papers shell	

## 3. Classification :

Le grenadier (*Punica granatum*) a été décrit par Linné et introduit dans sa classification en 1753 (Tableau 24). Cette classification a été révisée en 1995, donnant naissance à la classification phylogénétique APGII, qui comporte 679 familles réparties dans 67 ordres. Il convient donc de retenir que dans cette nouvelle classification, la famille des Punicacées n'existe plus. Le grenadier appartient alors à la famille des Lythracées, famille comportant 52 genres et 822 espèces (Spichiger, 1995).

## 4. Description botanique :

Le grenadier commun est un arbre fruitier de la famille des lythracées qui peut atteindre 6 m de haut. Ses fleurs rouge vif mesurent 3 cm de diamètre. Ses fruits, les grenades, contiennent en moyenne 600 graines pulpeuses. La grenade est une grosse baie ronde, de la taille d'une grosse orange, à écorce dure et coriace, de couleur rouge ou jaune beige, qui renferme de nombreux pépins de couleur rose à rouge. Seuls ses pépins sont comestibles, soit environ la moitié du fruit.

Dans chaque pépin, la graine est enrobée d'une pulpe gélatineuse de chair rouge transparente, sucrée chez les variétés améliorées, sinon d'un goût plutôt âcre (**Benoit, 2013**).

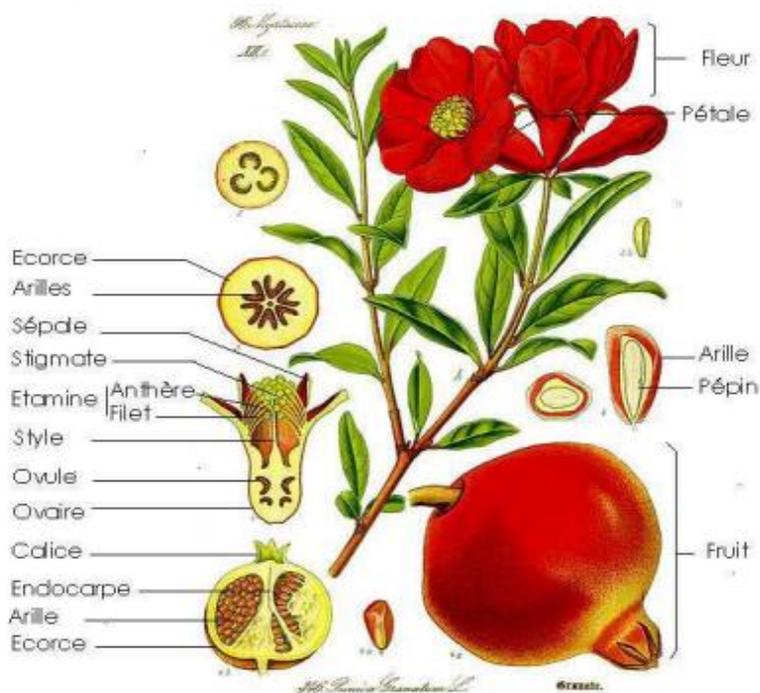
**Tableau 02.** Classification botanique de *Punica granatum* (**Spichiger, 2004**).

CLASSIFICATION TYPE	Classification 1753	Classification 2003
<b>Embranchement</b>	<i>Spermaphytes</i>	<i>Angiospermes</i>
<b>Sous-embranchement</b>	<i>Angiospermes</i>	<i>Dicotylédones vraies</i>
<b>Classe</b>	<i>Magnoliopsida</i>	<i>Rosidées</i>
<b>Ordre</b>	<i>Myrtales</i>	<i>Myrtales</i>
<b>Famille</b>	<i>Punicaceae</i>	<i>Lythraceae</i>
<b>Genre</b>	<i>Punicaceae</i>	<i>Punica</i>
<b>Espèce</b>	<i>Punica granatum</i>	<i>Punica granatum</i>

Le grenadier est un petit arbre monoïque auto fertile à port arbustif qui peut vivre jusqu'à 200 ans mais est le plus productif en fruits dans ses 20 premières années de fructification. Son écorce est gris beige et a tendance à se crevasser et à desquamer avec l'âge. Ses feuilles généralement caduques, même si certaines variétés sont persistantes sous certains climats, sont opposées et mesurent 3 à 7 cm de long sur 1 à 2 cm de large. Ses fleurs rouge vif mesurent 3 cm de diamètre. Elles apparaissent en trois vagues de mai à août. Les fruits de la première floraison sont ceux ayant un meilleur taux de nouaison (90 %) et qui donnent les plus gros fruits. Seul 1/3 des fleurs donne un fruit car les 2/3 des fleurs sont mâles.

Ses fruits, les grenades, sont des baies jaunes à rouge orangé contenant en moyenne 600 semences pulpeuses. La couleur des fruits n'indique pas le degré de maturité des semences. En effet, certaines variétés donnent des épidermes bien rouges bien avant la maturité. Selon les variétés, la maturité des fruits est atteinte entre 5 et 8 mois après la première floraison (**Wikipédia**). Depuis des milliers d'années, les propriétés astringentes de l'écorce du fruit et de

l'arbre sont très prisées en médecine, particulièrement comme vermifuge. Actuellement, la grenade est cultivée dans la plupart des régions à climat chaud, car il a besoin de fortes chaleurs pendant toute la période de fructification (Melgarejo, 1993). La **Figure 01** illustre les fleurs et fruits du grenadier.



**Figure 01.** Fleurs et fruits du Grenadier (*Punica granatum*) (Flora, 1885).

## 5. Valeur nutritionnelle et composition chimique :

Déjà au XIXème siècle, le grenadier suscite un intérêt chez les chercheurs qui, avec des moyens très rudimentaires, ont ainsi mis en évidence certains principes actifs de cet arbre, tel que la pelletierine. Grâce aux relativement récents procédés d'analyse chimique, comme les techniques de chromatographie, de résonance magnétique ou encore de spectrométrie de masse, il a été possible d'identifier avec précision la composition des différents organes du grenadier synthétisée dans le (tableau 3) (Wald, 2009).

La grenade est une bonne source de fibres alimentaires et de folate et une très bonne source de vitamine C.

**Tableau 03.** Valeurs nutritionnelles de la grenade, pour 100 g de portion comestible (Usda, 2002).

Nutriments			
Eau : 81g	Fibres : 1g	Valeur énergétique : 74 2kcal	Valeur énergétique: 315kJ
Protéines : 0 95g	Lipides : 0 3g	Glucides : 16 2g	Sucres simples : 16 2g
Sels minéraux et oligo-éléments			
Potassium : 259mg	Phosphore : 8mg	Calcium : 3mg	Magnésium : 3mg
Sodium : 3mg	Fer : 300µg	Zinc : 120µg	Cuivre : 70µg
Vitamines			
Vitamine C : 11 4mg	Vitamine B : 30µg	Vitamine B2 : 30µg	Vitamine B3 : 300µg
Vitamine B5 : 590µg	Vitamine B6 : 200µg	Vitamine B9 : 6µg	Vitamine B12 : 0µg
Bêta-carotène : 20 µg	Vitamine D : 0µg	Rétinol : 0µg	Vitamine E : 0 55mg

### 5. 1. Ecorce :

L'écorce du fruit du grenadier est également appelée « malicorium », il s'agit de la partie dure du fruit. Elle représente environ 50% du poids total de la grenade (Calin et al., 2005). Elle est généralement utilisée séchée, sous la forme de morceaux brunâtres ou vert rougeâtre à l'extérieur, un peu verruqueux, brillants, jaunâtre sur la face intérieure concave, portant souvent l'empreinte des graines qui y étaient incrustées. Ces fragments sont de consistance coriace, ils sont formés d'un parenchyme de cellules à paroi minces, au milieu desquelles on distingue des groupes de cellules pierreuses et des faisceaux fibro-vasculaires. La saveur de l'écorce de grenade est amère et astringente (Wald, 2009).

Les peaux (écorces) de grenade ont des teneurs élevées en substances phytochimiques. Des études ont montré que l'écorce renferme des composés bioactifs, notamment des acides

phénoliques, des flavonoïdes et des tanins hydrolysables. Les principaux acides phénoliques primaires identifiés sont l'acide ellagique, l'acide gallique, l'acide caféique, l'acide chlorogénique, l'acide syringique, l'acide férulique. La concentration de ces acides dépend des variétés et de la position géographique, des conditions climatiques et des pratiques de culture. Les variétés ayant des couleurs rouge sombre auraient des concentrations en acides phénoliques plus élevées que les variétés plus claires. Les flavonoïdes dépendent aussi des variétés et des conditions de culture. Les tanins identifiés sont les ellagitanins, la punicalagine, les granitins... L'activité antioxydante de l'écorce de grenadier est attribuée aux acides phénoliques, flavonoïdes et tanins

### 5,2. Feuilles :

Les feuilles du grenadier (**Figure 02**) contiennent des flavones, telles que la lutéoline et l'apigénine. Cette dernière possède des propriétés anxiolytiques. Elles renferment également des tanins, comme la punicaline et l'unicalagine (**Lanskye et Newman, 2007**).



**Figure 02.** Feuilles de *Punica granatum* (Wald, E. 2009).

### 5,3 Fleurs :

Les fleurs du grenadier (**Figure 03**) contiennent de l'acide gallique et des tri-terpènes comme l'acide ursolique, l'acide oléanolique, l'acide asiatique, l'acide maslinique (**Lanskye et Newman, 2007**).



**Figure 03.** Fleurs de *Punica granatum* (Jardin alpin, 2004).

## **6. Utilisations :**

L'écorce de grenade est employée en médecine humaine pour le traitement de maladies diverses, telles que les maladies de la peau, les vers parasites, les ulcères, la fièvre, les diarrhées, et les infections microbiennes. Ces dernières années, le grenadier a fait l'objet de plusieurs travaux de recherches scientifiques qui ont démontré ses effets antimicrobiens, antioxydants et même anticancers (Muna et al., 2015).

### **6.1. Usages empiriques et traditionnels :**

Les Egyptiens, au VII<sup>ème</sup> siècle avant J.C., connaissaient les effets vermifuges de l'écorce de grenade et mettaient à profit l'effet astringent du tanin contenu dans l'écorce, la fleur et le fruit du grenadier. Hippocrate recommandait l'usage de l'écorce sèche de grenade comme lavement pour la dysenterie ; La pharmacopée et la médecine traditionnelles chinoise font aussi référence au grenadier, ainsi, la peau de la grenade séchée est reconnue pour ses propriétés astringentes pour l'intestin, pour « arrêter le sang » et pour « chasser les parasites ». Elle est ainsi indiquée en cas de diarrhée chronique, dysenterie chronique, prolapsus rectal, spermatorrhée, accumulation des parasites, douleurs abdominales. La peau séchée de la grenade est alors utilisée en décoction, à raison de 2 8 à 5 g par jour, ou en usage externe, en lavage local avec la décoction ou par application de poudre de peau de grenade séchée. Ainsi, au XIX<sup>ème</sup> siècle, les fleurs et l'écorce du fruit du grenadier sont reconnues pour être toniques et astringentes, on les emploie dans le traitement des hémorragies passives, les écoulements muqueux avec atonie. A la même époque, il

semblerait que l'écorce du fruit du grenadier soit considérée, par les médecins persans et tibétains, comme remède des fièvres intermittentes (Wald, 2009). L'écorce, la peau et les feuilles sont utilisées pour calmer les perturbations gastriques et les diarrhées dues aux problèmes digestifs (Debji et al., 2013). Selon Al-Yahya (2005), l'extrait aqueux de l'écorce de grenade *Punica granatum* contient des substances qui réduisent la diarrhée par inhibition de la motilité intestinale ainsi que l'accumulation de fluide intestinal. Les écorces du fruit sont utilisées aussi contre les parasites intestinaux, en particulier le vers solitaire (ténia) et la dysenterie amibienne. Elles contiennent des alcaloïdes, dont la pelletiérine, vermifuge efficace contre le ténia, inscrite au Codex de la pharmacopée française depuis 1937 (Curtay et al., 2008).

### **6,2. Activité antioxydante :**

Des études in vitro ont montré que le jus de grenade et les extraits de graines du grenadier ont 2 à 3 fois la capacité antioxydante du thé vert ou du vin rouge en piégeant les radicaux libres et en diminuant le stress oxydatif des macrophages et la peroxydation lipidique chez les animaux (Basu et al., 2009). Dans le jus de grenade, les principaux polyphénols antioxydants sont les ellagitannins et les anthocyanines. Les ellagitannins comptent pour 92% de l'activité antioxydante du jus de grenade et sont concentrés dans l'écorce, les membranes et les moelles du fruit (Seeram et al., 2004).

### **6,3. Activité anti-inflammatoire :**

Des études in vivo ont montré que l'huile de graines pressées du grenadier inhibe la cyclo-oxygénase et la lipo-oxygénase. La cyclo-oxygénase, enzyme clé dans la conversion de l'acide arachidonique en prostaglandines (principaux médiateurs de l'inflammation), a été inhibée de 37% par l'extrait d'huile de graines pressées. La lipooxygénase, qui catalyse la conversion de l'acide arachidonique en leukotriènes, aussi médiateurs importants de l'inflammation, ont été inhibés de 75% par le même extrait (Schubert et al., 1999).

### **6,4. Activité anticancéreuse :**

Des études in vivo utilisant des lignées cellulaires du cancer de la prostate ont montré que divers extraits de grenadier (jus, huile de graine, écorce) inhibent potentiellement la prolifération et l'envahissement des cellules cancéreuses, causent une perturbation du cycle cellulaire, induisent

l'apoptose et inhibent le développement de la tumeur (Albrecht et al., 2004). Le mécanisme anticarcinogénique du grenadier peut être expliqué par une modulation des protéines régulatrices de l'apoptose (Malik et al., 2005). Une étude clinique en phase II portant sur 46 hommes ayant le cancer de prostate récurrent a illustré que 35% des patients montraient une diminution significative du taux sérique de PSA (Prostate SpecificAntigen) durant le traitement avec du jus de grenade. La même étude a indiqué que le grenadier pourrait affecter le cancer de prostate grâce à la combinaison de ses propriétés antiproliférative, apoptotique, anti-oxydante et anti-inflammatoire (Pantuck et al., 2006).

### **6,5. Activité antidiabétique :**

Une étude pilote sur des patients diabétiques de type 2 avec hyperlipidémie a démontré que le jus concentré de grenade diminue l'absorption et augmente l'excrétion fécale du cholestérol et réduit significativement le taux total de cholestérol et du LDL en améliorant les ratios total/HDL et LDL/HDL. La consommation du jus de grenade réduit significativement le stress oxydatif chez les patients diabétiques (Esmailzadeh et al., 2006) sans affecter les paramètres diabétiques (Rosenblat et al., 2006).

### **6,6. Activité antimicrobienne :**

L'écorce du fruit de *Punica granatum* possède donc, in vitro, une activité antibactérienne. La combinaison unique des tanins et des alcaloïdes issus de cette écorce, ainsi que leur action synergique, expliquent probablement cette activité antibactérienne non retrouvée dans d'autres fruits également riches en tanins et alcaloïdes (Prashanth et al., 2001).

### **6,7. Activité antiulcéreuse :**

L'écorce de grenade séchée en poudre présente un efficace traitement efficace contre l'acidité d'estomac et l'ulcère d'estomac (Championnière, 1850). L'extrait de peau de grenade possède une activité inhibitrice des ulcères de l'estomac induits par l'aspirine et l'éthanol grâce à ses propriétés antioxydantes. Pour des doses de 250 et 500 mg/kg d'extrait hydroalcoolique de grenade (70% méthanol v/v), le pourcentage d'inhibition est respectivement de 22 37% et 74 21% pour les ulcères induits par l'aspirine et de 21 95% et 63 41% pour ceux induits par l'éthanol (Ajaikumar et al., 2005).

## **6,8. Action cicatrisante de la grenade :**

Comparé à un produit topique antibactérien du commerce, une préparation à base d'extrait de peau de grenade (44% de composés phénoliques) à 5% a permis une bonne cicatrisation, nettement visible par examen histopathologique des blessures des rats Wistar utilisés. Au bout de 10 jours, les rats traités au gel à l'extrait de peau de grenade ont été guéris alors que 16 à 18 jours sont nécessaires à la cicatrisation des rats témoins (Murphy, 2004). Les analyses par HPLC montrent que les composants majoritaires de l'extrait sont la catéchine et l'acide gallique, molécules qui pourraient donc avoir un intérêt dermatologique (Murphy, 2004).

## **6,9. Effet protecteur neurologique :**

L'Alzheimer est la cause la plus courante de démence. Elle touche plus de 10% des adultes de plus de 65 ans. Des études suggèrent que l'alimentation affecte le développement de cette maladie. Une étude menée sur des souris transgéniques, alimentées par du jus de grenade, a démontré des effets bénéfiques sur les comportements et les signes neurologiques liés à la maladie d'Alzheimer. La consommation de jus de grenade pendant la gestation de la souris permet de protéger le cerveau du fœtus des lésions potentielles causées par un manque d'oxygène à la naissance (Hartman, 2006).

## **7. Utilisation en agroalimentaire :**

### **7,1. Conservation des produits carnés :**

Des études expérimentales ont montré que l'extrait de la poudre de la peau de grenade (EPPG) peut être utilisé comme conservateur naturel dans les produits carnés. Dans ces études *Listeria monocytogenes* a été utilisée comme référence. Dans une évaluation préliminaire par la méthode de diffusion sur disques la peau de grenade a montré un effet inhibiteur contre les cinq espèces étudiées, la sensibilité de ces souches est classée par ordre croissant comme suit : *Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. Aucune cellule viable de *Listeria monocytogenes* n'a été détectée après incubation dans un bouillon (BHI) en présence de (7 5% v/v) de la peau de grenade liquide, équivalent 24 7 mg de matière sèche peau de grenade par millilitre (PG/ml). Cette concentration a été considérée comme la Concentration minimale bactéricide de l'extrait de la peau de grenade testé (Hasmik, 2012).

## **7.2. Alimentation animale :**

Les déchets restants de la production du jus peuvent être utilisés par exemple comme matière première pour l'extrait de peau de grenade. La pratique de son utilisation comme source des antioxydants en alimentation de bétail est développée.

**Shabtay et al., (2008)** ont étudié l'effet de la supplémentation diététique des veaux avec les peaux fraîches de grenade et ont constaté qu'elles favorisaient des augmentations significatives de la prise d'alimentation dans le plasma, avec la tendance positive envers les gains de poids accru des veaux.

## **8. Utilisation industrielle :**

### **8.1. Tannage du cuir :**

Toutes les parties de l'arbre ont été utilisées comme sources de tannins lors du tannage des peaux. L'écorce du tronc contient 10 à 25% de tanins et était autrefois très utilisée dans la production du cuir au Maroc. L'écorce des racines contient 28% de tanins, les feuilles 11%, et l'écorce du fruit 26%. (**Lloyd, 1897 ; Morton, 1987**).

### **8.2. Teinture et colorant :**

L'écorce du fruit et les fleurs sont utilisées pour teindre le textile. L'écorce de la grenade, a été utilisée en Inde comme une teinture depuis les temps les plus anciens (**Lloyd, 1897 ; Morton, 1987**). De l'encre a été produite à partir des feuilles en les macérant dans du vinaigre (**Morton, 1987**).

## **9. Autres intérêts santé de la grenade :**

Le jus de grenade stimule le foie et la rate. Il renforce la qualité de sang, permettant de mieux nourrir les tissus. Il est très régénérant pour le cœur et le tissu reproducteur. Il est aussi très détoxifiant comme le jus de citron, mais sans acidité. Il donne de vitalité et stimule l'immunité physique et mentale (**Geneviene, 2012**). L'écorce, les racines de l'arbre, et parfois mêmes les écorces du fruit, sont utilisées contre les parasites intestinaux, en particulier le vers solitaire (ténia) et la dysenterie amibienne. Elles contiennent des alcaloïdes, dont la pelletiérine, vermifuge efficace contre le ténia, inscrite au Codex de pharmacopée française depuis 1937 (**Curtay et al., 2008**).

---

## **Chapitre II : Les composés phénoliques des plantes médicinales**

## Chapitre II : Les composés phénoliques des plantes médicinales

### 1. Généralités :

Les polyphénols ou composés phénoliques (**Mompon et al., 1996**) sont des micro-constituants végétaux abondants dans les aliments tels que les fruits et légumes. Ce sont molécules spécifiques reconnues pour leur forte bio-activité se traduisant par une large gamme de propriétés biologiques, notamment, des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes qui sont importantes dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel (**Macheix et al., 2005**). Le terme « polyphénol » a été introduit en 1980 en remplacement du terme tanin végétal. Il est défini comme composé phénolique hydrosoluble de masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 Dalton, ayant des capacités de précipiter les alcaloïdes et la gélatine (**Cowan, 1999**). L'élément structural fondamental qui caractérise les polyphénols est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones, auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside (**Bruneton, 1999 ; Balasundram et al., 2006**). Ces phytonutriments sont responsables de la pigmentation (teinte des feuilles, couleur des fruits et des fleurs) et jouent également un rôle dans la croissance, la reproduction et la protection des plantes contre les agressions pathogènes. Ils sont présents aussi dans diverses substances naturelles comme les fruits rouges, le raisin, etc. (**Laraoui, 2007**).

### 2. Structures et classifications des composés phénoliques :

La structure des composés phénoliques va du simple noyau aromatique de faible poids moléculaire jusqu'aux tanins complexes de très haut poids moléculaire. Ils peuvent être classés par le nombre et l'arrangement des atomes de carbone les composant, en fonction de la nature de leur squelette carboné et en fonction de la longueur de la chaîne aliphatique liée au noyau benzénique. Les composés phénoliques sont capables de se conjuguer à des oses ou à des acides organiques (**Chira et al., 2008**). Ils sont classés en phénols simples ( $C_6$  : hydroquinone), acides phénoliques ( $C_6-C_4$  : acide p-hydroxybenzoïque), coumarines ( $C_3-C_6$  : acide p-coumarique), naphthoquinones ( $C_6-C_4$  : juglone), stilbénoides ( $C_6-C_2-C_6$  : trans- resvératrol), flavonoïdes ( $C_6-C_3-C_6$  : kaempférol), isoflavonoïdes (daidzéine), et en anthocyanes (delphinidol). Les formes polymérisées sont les lignanes et les tanins condensés (**Garcia-Salas et al., 2010**). Les catégories de polyphénols les plus courantes sont les acides phénoliques, les stilbènes, les lignanes et les

flavonoïdes (Charles et al., 2005). Elles forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes (Beta et al., 2005).

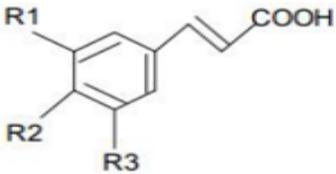
### 2,1. Acides phénoliques :

Ce sont des composés organiques (C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub> ou C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>) possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique (Thompson et al., 1984). Parmi les acides phénoliques figurent l'acide caféique, l'acide vanillique, l'acide férulique et l'acide gallique (Hale, 2003). Ils sont considérés comme substances phytochimiques avec des effets antioxydants, de chélation et anti-inflammatoire. Leur toxicité est faible et sont considérés, généralement, non toxiques (Psotová et al., 2003)

### 2,2. Acides hydroxycinnamiques :

Ils dérivent de l'acide cinnamique et ont une structure générale de base de type (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>). Ils existent souvent sous forme combinée avec des molécules organiques. Les degrés d'hydroxylation et de méthylation du cycle benzénique, conduisent à une réactivité chimique importante de ces molécules (Harrar, 2012). Le tableau 4 regroupe les principaux acides hydroxy- cinnamiques.

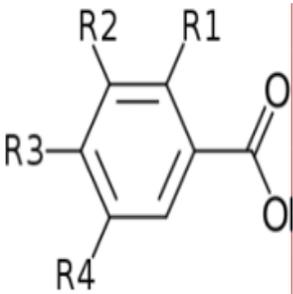
Tableau 4. Principaux acides hydroxycinnamiques (Sarni-Manchado et al., 2006)

STRUCTURE	R1	R2	R3	Acides phénoliques
	H	H	H	Acide cinnamique
	H	OH	H	Acid p-coumarine
	OH	OH	H	Acide caféique
	OCH3	OH	H	Acide férulique
	OCH3	OH	OCH3	Acide sinapique

## 2,3 Acides hydroxybenzoïques :

Ce sont des dérivés de l'acide benzoïque et ont une structure générale de base de type (C<sub>6</sub>- C<sub>1</sub>). Ces molécules existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides. Les acides hydroxybenzoïques les plus abondants (**Harrar, 2012**) sont répertoriés dans le tableau suivant.

**Tableau 5.** Principaux acides hydroxybenzoïques (**Sarni-Manchado et al., 2006**).

STRUCTURE	R1	R2	R3	R4	Acides phénoliques
	H	H	H	H	Acide benzoïque
	H	H	OH	H	Acide p-hydroxybenzoïque
	H	OH	OH	H	Acide protocatechine
	H	OCH <sub>3</sub>	OH	H	Acide vanillique
	H	OH	OH	OH	Acide gallique
	H	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	Acide syringique
	OH	H	H	H	Acide salicylique
	OH	H	H	OH	Acide gentisique

## 2,4. Coumarines :

Les coumarines dérivent des acides hydroxycinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale. Les coumarines ont fréquemment un rôle écologique ou biologique (**Harrar, 2012**).

## 2,5. Les stilbènes :

Les stilbènes représentent une petite famille de métabolites secondaires des plantes, ce sont des composés phénoliques de structure C<sub>6</sub>-C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> possédant deux noyaux benzéniques (A et B) reliés par un pont éthylène. La plupart des stilbènes des plantes dérivent du trans-resveratrol (3, 5, 4'-trihydroxy-trans-stilbène) (**Chira et al, 2008 ; Chong et al, 2009**).

## 2,6. Tannins hydrolysables (gallotannins et ellagitannins) :

Les tannins hydrolysables sont des polymères basés sur la structure fondamentale de l'acide gallique estérifié par du D-glucose (gallotannins). Ils sont d'abord caractérisés par le fait qu'ils peuvent être hydrolysés par hydrolyse chimique (acide ou alcaline) ou enzymatique. On suppose que l'ellagitannin dérive par liaison oxydatif de deux groupes esters galloyl adjacents d'un ester polygalloyl D-glucose. Plus de 1000 polymères décrit par Okuda (1993) et Nishioka (1990) au Japon. La distribution taxonomique des tannins hydrolysables est très restreinte, elle est associée principalement aux plantes herbacées dicotylédones et ils se retrouvent presque dans chaque partie de la plante (Haslam, 2007).

## 2,7. Flavonoïdes :

La majorité des flavonoïdes ont une structure chimique semblable : deux anneaux aromatiques liés par trois atomes de carbone qui forment un composé hétérocyclique oxygéné. Les flavonoïdes se divisent en six sous-catégories : les flavonols, les flavones, les isoflavones, les flavanols (catéchines et proanthocyanidines), les flavanones et les anthocyanidines (Charles et Benbrook, 2005).

Les flavonoïdes sont des pigments responsables des colorations jaunes, orange et rouge de différents organes végétaux. Ils sont les représentants les plus nombreux des polyphénols (plus de 6 000 molécules isolées) et les plus connus (Ghedira, 2005). Ils ont une origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbones (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C<sub>6</sub> (A et B), reliés par une chaîne en C<sub>3</sub> (Figure 4) (Bruneton, 1999).

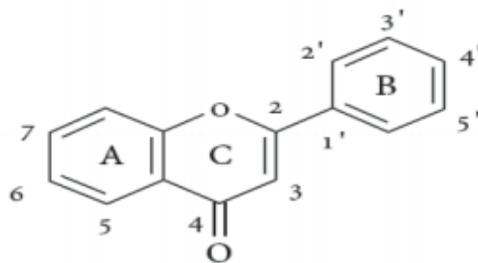


Figure 04. Structures de base des flavonoïdes (Bruneton, 1999).

### **3. Activités biologiques des polyphénols :**

Composant une classe chimique importante, les polyphénols ont des structures et des activités biologiques très variées.

#### **3.1. Activité antioxydante :**

Des travaux plus anciens ont montré que les polyphénols sont associés à de nombreux rôles physiologiques dont le principal est la capacité antioxydante (à faible concentration, retardent ou inhibent l'oxydation d'un substrat oxydable). C'est le potentiel à piéger des radicaux libres. Les flavonoïdes sont susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets nocifs des rayonnements UV (Hadi, 2004).

#### **3.2. Activité antimicrobienne :**

Les polyphénols sont des substances qui disposent des activités inhibitrices et mortelles pour de nombreux microorganismes procaryotes et eucaryotes (bactéries et champignons (Cowan, 1999)).

#### **3.3. Activité antibactérienne :**

Les flavonoïdes bloquent la synthèse des acides nucléiques d'*Escherichia coli*. Ils disposent d'un pouvoir inhibiteur sur les différentes fonctions de la membrane cytoplasmique.

#### **3.3. Activité antifongique :**

La majorité des polyphénols disposent d'une action antifongique remarquable. Le **Tableau 6** regroupe quelques activités biologiques des composés phénoliques.

### **4. Polyphénols dans les aliments :**

Dans les aliments, ils sont partiellement responsables des qualités sensorielles et alimentaires des aliments végétaux, ils peuvent contribuer à l'amertume (principalement les flavonones), l'astringence, la couleur, la flaveur, l'odeur et la stabilité de l'oxydation de l'aliment (Lugasi et al., 2004).

**Tableau 6.** Activités biologiques des composés phénoliques (Laraoui, 2007)

Polyphénols	Activités
Acide Phénols (cinamiques et benzoïques )	Antibactériennes Antifongique Antioxydantes
Coumarines	Protectrices vasculaires et antidémateuses
Flavonoïdes	Antitumorales Anticarcinogènes Anti-inflammatoires Hypotenseurs et diurétiques Antioxydantes
Anthocyanes	Protectrices capillaires veineux
Proanthocyanidines Antifongiques Anti-inflammatoires	Effet stabilisants sur le collagène Antioxydantes Antitumorales
Tannins galliques et catéchiques	Antioxydantes

Les effets bénéfiques des polyphénols intéressent particulièrement deux domaines la phytothérapie et l'hygiène alimentaire (Leong et al., 2002). Les polyphénols sont également utilisés comme additifs pour l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique. Les industriels commercialisent maintenant des aliments enrichis en polyphénols ou des suppléments

alimentaires. De plus, leur activité anti-oxydante assure une meilleure conservation des denrées alimentaires en empêchant la peroxydation lipidique. Dans l'industrie cosmétique, les composés phénoliques trouvent leur application pratique en luttant contre la production des radicaux libres néfastes dans la santé et la beauté de la peau. En phytothérapie, même si certaines indications sont communes à plusieurs classes (les propriétés vasculoprotectrices, sont par exemple aussi bien attribuées aux flavonoïdes qu'aux anthocyanes, tanins et autres coumarines), chaque classe chimique semble être utilisée pour des bénéfices spécifiques (**Hennebelle et al., 2004**).

### **5. Polyphénols chez l'homme :**

La capacité anti-radicalaire des métabolites secondaires du grenadier, plus particulièrement les flavonoïdes fait l'objet de nombreuses études dans le domaine des thérapeutiques antioxydants, pour compenser l'insuffisance des moyens naturels de protection dans certains désordres comme le vieillissement cellulaire et le cancer. Ces actions bénéfiques des composés bioactifs sont attribuées particulièrement à leur effet antioxydant qui est due à leurs propriétés redox en jouant un rôle important dans la destruction oxydative par la neutralisation des radicaux libres, piégeage de l'oxygène, ou décomposition des peroxydes (**Madi, 2010**).

---

## **Chapitre III : Bref aperçu sur les yaourts**

## Chapitre III : Bref aperçu sur les yaourts

### 1. Généralités sur le lait :

#### 1,1. Lait cru :

Le lait est le produit de la traite d'une femelle en bonne santé, ne doit pas contenir du colostrum. Les produits laitiers sont des aliments dérivés du traitement du lait modifiant ses qualités organoleptiques et bactériologiques. Le lait se compose principalement d'eau, de lipides (triglycérides), de protéines (caséines, albumines, globulines), de glucides (surtout le lactose) et de sels (sels d'acide phosphorique, sels d'acide chlorhydrique, etc.). Les enzymes (peroxydase, catalase, phosphatase), les vitamines (A, D, B1, B2, B6, B12, etc.), les lécithines (phospholipides), les nucléotides, les éléments cellulaires sont présents en petites quantités mais de par leur activité bactériologique, jouent un rôle important. Enfin, le lait contient aussi des microorganismes en quantité dépendant de la santé de la femelle laitière.

#### 1,2. Caractéristiques organoleptiques :

Le lait est, en général, un liquide blanc mat renfermant des micelles de caséinates qui le rendent opaques. Son odeur est faible et dépend de l'alimentation de la femelle laitière. Sa saveur est douceâtre en raison de la présence du lactose (Alais, 1984). C'est un liquide assez visqueux (jument, carnivores, femme) ou moins visqueux (brebis, vache).

#### 1,3. Caractéristiques physicochimiques :

Le pH du lait à la traite est compris entre 6,6 et 6,8 et renseigne sur sa fraîcheur. L'acidité titrable du lait mesure le pH initial du lait et aussi l'acidité développée par la fermentation lactique qui peut diminuer le pH jusqu'à 4. Elle indique le taux d'acide lactique formé à partir du lactose. Le degré DORNIC est le nombre de dixième de millilitres de soude utilisée pour titrer 10 millilitres de lait en présence de phénolphtaléine (Amariglio, 1986).

### 2. Dérivés du lait :

Le lait de vache est souvent transformé pour conserver ses qualités car il est facilement altérable à l'air ambiant. Parmi les dérivés du lait, on peut citer le lait pasteurisé, le lait en poudre, les crèmes, le beurre, le fromage, les laits fermentés (FAO, 1995).

### **2,1. Lait fermenté :**

Le lait caillé est un lait acidifié obtenu, soit par fermentation naturelle, soit après ensemencement à l'aide de levains lactiques préparés à l'avance, avec ou sans addition de substances coagulantes (présure, pepsine). La matière première peut être du lait cru ou du lait en poudre (**Seydi et al, 1993**). Les levains lactiques dégradent le lactose en acide lactique et confèrent par la suite une acidité favorable à la conservation du produit et à la coagulation de la caséine qui forme un gel avec très peu d'exsudation du lactosérum.

### **2,2. Caractéristiques organoleptiques :**

Les propriétés organoleptiques des laits caillés dépendent du lait de départ, du procédé de fabrication et de la maîtrise des micro-organismes responsables de la fermentation. Le gel sera blanc ou blanc mât selon le type de lait utilisé. Le lait s'aigrit en vieillissant. La saveur acide est la caractéristique la plus constante des laits caillés. Par défaut, un lait caillé peut avoir un goût anormal ou altéré : goût trop aigre, goût amer (**Dieng, 2001**). Le principal objet de la fermentation est la formation du gel qui sera donc, en général, plus visqueux que le lait initial. L'adjonction de poudre améliore la fermeté du lait caillé (**Brunet, 1991**). L'odeur peut être modifiée par certains ferments lactiques qui synthétisent des composés aromatisants.

### **2,3. Caractéristiques physicochimiques :**

L'extrait sec ou matière sèche du lait caillé, désigne tous ses constituants autres que l'eau. Il doit être au moins égal à l'extrait sec d'un lait normal. Le taux de matière grasse dépend du type de lait utilisé pour préparer les laits caillés. L'acidité des laits caillés résulte de la production d'acides organiques, en particulier d'acide lactique par les bactéries lactiques. Dans les laits caillés, on assiste à une augmentation progressive du taux d'acide lactique donc du degré DORNIC parallèlement à un abaissement du pH. Il serait souhaitable que ce taux d'acide lactique soit supérieur à 0,8 g pour 100 g de lait fermenté lors de la vente au consommateur. Cette valeur constitue le seuil de survie des germes indésirables dans le lait caillé (**Dieng, 2001**).

### 3. Procédé de fabrication :

#### 3.1. Fermentation :

La fermentation est un processus au cours duquel le lactose est transformé en acide lactique soit par des streptocoques et lactobacilles soit par des ferments lactiques spécifiques. L'acide lactique provoque la coagulation de la caséine. L'aigrissement contribue à le rendre plus sain et plus sûr. L'aigrissement inhibe et finit par détruire beaucoup de germes pathogènes (Salmonelles) ainsi que les coliformes nocifs. Les affections intestinales provoquées par la consommation du lait cru se produisent moins avec les produits fermentés.

#### 3.2. Réfrigération :

La réfrigération après le processus de fabrication a pour but d'entraver l'installation de la flore microbienne pathogène et d'augmenter la durée de conservation du produit.

Le développement des bactéries lactiques, responsables de l'acidification est fortement ralenti dès que la température du lait est abaissée au voisinage de 10°C. Leur développement est stoppé lorsque la température se situe au-dessous de 4°C, or il n'en est pas de même du développement de nombreux autres germes saprophytes de contamination qui peuvent se multiplier à basse température et provoquer de graves altérations du lait (Veyseyre, 1975).

#### 3.3. Yaourt (Yoghourt) :

Selon la norme A-11a de 1975 du Codex Alimentarius, on définit le yoghourt, ou yaourt, de la manière suivante : « le yoghourt est un produit laitier coagulé obtenu par fermentation lactique grâce à l'action de *Lactobacillus bulgaricus* et de *Streptococcus thermophilus* à partir du lait ou des produits laitiers et avec ou sans adjonction de lait en poudre, lait écrémé en poudre, lactosérum concentré ou en poudre, cultures lactiques, etc. Dans le produit fini, les micro-organismes doivent être à l'état viable et en quantités abondantes (Lamontagne, 2002). Le yaourt au moment de la vente au consommateur ne doit pas contenir moins de 0,8 g d'acide lactique pour 100 g de lait.

### 3,4. Types de yaourt :

Il existe plusieurs variétés de yaourt qui diffèrent par leur composition chimique, leur technologie de fabrication ainsi que leur saveur. Le **Tableau 7** résume les caractéristiques des différents types de yaourt.

**Tableau 7.** Types et caractéristiques des yaourts

Les différents types	Caractéristiques
<p><b>a) Selon la teneur en matière grasse :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>*Yaourt entier</li> <li>*Yaourt partiellement écrémé</li> <li>*Yaourt écrémé</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>MG minimum 3%</li> <li>MG moins de 3% et plus de 0 5%</li> <li>MG maximale 0 5%</li> </ul>
<p><b>b) Selon la technologie de fabrication :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>*Le yaourt étuvé ou ferme</li> <li>*Le yaourt brassé</li> <li>*Le yaourt à boire</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>*Ce sont des yaourts nature ou aromatisés, qui ont une texture ferme à surface lisse incubé et refroidi en pot.</li> <li>*Il présente une texture presque fluide. Amené à une consistance crémeuse après coagulation, incubé en cuve et refroidi avant le conditionnement.</li> <li>*Similaire au type brassé mais dont le Coagulum est réduit à l'état liquide avant conditionnement.</li> </ul>
<p><b>c) Selon les additifs alimentaires :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>*Yaourt aromatisé</li> <li>*Yaourt fruité</li> <li>*Yaourt light</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>*Addition d'arôme.</li> <li>*Addition de fruit.</li> <li>*Addition d'édulcorant sans sucre.</li> </ul>

### 3,5. Composition nutritionnelle pour 100g de yaourt :

Le Tableau 8 présente la composition nutritionnelle pour 100 g de yaourt.

**Tableau 8.** Composition nutritionnelle du yaourt. (Table Ciquel 2008)

Composition Types	Energie (kcal/100g)	Protéines (g/100g)	Lipides (g/100g)	Glucides (g/100g)	Calcium (mg/100g)	Vitamine B2 (mg/100g)
Yaourt nature au lait entier	71	3,8	3,6	5,1	126	0,21
Yaourt nature au lait partiellement écrémé	47	4,0	1,0	4,8	143	0,25
Yaourt nature au lait écrémé (0% MG)	42	4,4	0,0	5,0	143	0,20

### 3,6. Caractéristiques générales des bactéries du yaourt :

#### 3,6,1. *Streptococcus thermophilus* :

Le streptocoque thermophile (*Streptococcus thermophilus*) est une bactérie alimentaire présente seulement dans la fermentation du lait où elle est utilisée en association avec la bactérie *Lactobacillus delbrueckii subs. Bulgaricus* pour la fabrication du yaourt. C'est un coccus Gram positif sphérique à ovoïde non motile, de 0,7 à 0,9 µm de diamètre, se présentant en paires et en chaînes, dont certaines peuvent être très longues. La bactérie a une température de croissance optimale de 40-45 °C, un minimum de 20-25 °C et un maximum proche de 47-50 °C. Le *Streptococcus thermophilus* n'hydrolyse pas l'arginine. Il fermente un nombre limité de sucres, dont le lactose, le fructose, le saccharose et le glucose. Il est unique parmi les streptocoques car il ne possède pas d'antigène spécifique de groupe (Harnett, 2011). En plus de son pouvoir acidifiant, il est responsable de la texture dans les laits fermentés. Il augmente la viscosité du lait

par production de polysaccharides (composés de galactose glucose, ainsi que de petites quantités de rhamnose, arabinose et de mannose) (Bergamaier, 2002).

### **3,6,2 *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* :**

C'est un bacille Gram Positif. Il est isolé sous forme de bâtonnets ou des chainettes. Il possède un métabolisme strictement fermentaire avec production exclusive d'acide lactique comme principal produit final à partir des hexoses de sucres par voie d'embden Meyerhof. Il est incapable de fermenter les pentoses.

Il est notamment connu pour son utilisation dans la fabrication du yaourt et laits fermentés en association avec *Streptococcus thermophilus*. Dans le cas de production de laits fermentés, il est responsable de l'acidification du milieu et joue ainsi un rôle dans la texture et l'aromatisation (acétaldéhyde). Enfin, il a un fort rôle nutritionnel dans la composition du yaourt.

Cette bactérie lactique a un métabolisme strictement homofermentaire, c'est-à-dire qu'elle transforme le glucose en lactate (acide lactique) selon un rendement de 100 % (1 glucose → 1 lactate + 2 ATP, très exigeante en calcium et en magnésium à une température optimale de croissance d'environ de 42 °C. Cette bactérie a un rôle essentiel dans le développement des qualités organoleptiques et hygiénique du yaourt (Marty-teyssset et al, 2000).

## **4. Intérêt et fonctions des bactéries du yaourt :**

### **4,1. Production d'acide lactique :**

Les bactéries lactiques (homofermentaire) produisent l'acide lactique qui joue le rôle de coagulant et antimicrobien et permet de concentrer et de conserver la matière sèche du lait (Schmidt, 1994). L'acidité du yaourt se situe, en général, entre 100 et 130 °D (Loones, 1994). L'acide lactique durant la fabrication du yaourt aide à déstabiliser les micelles de caséines, ce qui conduit à la formation du gel. Il donne au yaourt son goût distinct et caractéristique, comme il contribue à la saveur et l'aromatisation du yaourt (Tamime, 1999). Il intervient aussi comme inhibiteur vis-à-vis des micro-organismes indésirables (Leory et al., 2002). L'importance de l'acide lactique dans la fabrication du yaourt est donc primordiale.

#### 4,2. Activité protéolytique :

Les bactéries du yaourt dégradent la fraction protéique du lait constituée de caséine et protéines sériques pour les besoins en acides aminés. Pour la protéolyse, elles utilisent deux types d'enzymes distinctes : les protéases et les peptidases.

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

*St. thermophilus* est considéré comme ayant une faible activité endopeptidique. Il dégrade les polypeptides par son activité exopeptidasique en acides aminés libres.

#### 4,3. Activité aromatique :

C'est principalement le lactose qui intervient dans la formation dans une fermentation de type hétérofermentaire de composés volatils et aromatiques responsables de la saveur et l'appétence du yaourt. Parmi ceux-ci, l'acide lactique confère au yaourt son goût acidulé. L'acétaldéhyde, qui provient en grande partie de la thréonine, joue un rôle essentiel dans ces caractéristiques organoleptiques recherchées. Sa production, due principalement au lactobacille, est augmentée lorsque ce dernier est en association avec le streptocoque qui en élabore de faibles quantités.

Le diacétyle contribue à donner un goût délicat qui est dû à la transformation de l'acide citrique et, secondairement, le lactose par certaines souches de streptocoques. D'autres composés (acétone, acétoïne,...etc.) contribuent à l'équilibre et à la finesse de la saveur. Ceci résulte d'un choix avisé des souches, de leur capacité à produire dans un juste rapport les composés aromatiques et du maintien de ce rapport au cours de la conservation des levains et de la fabrication (**Anonyme, 1995**).

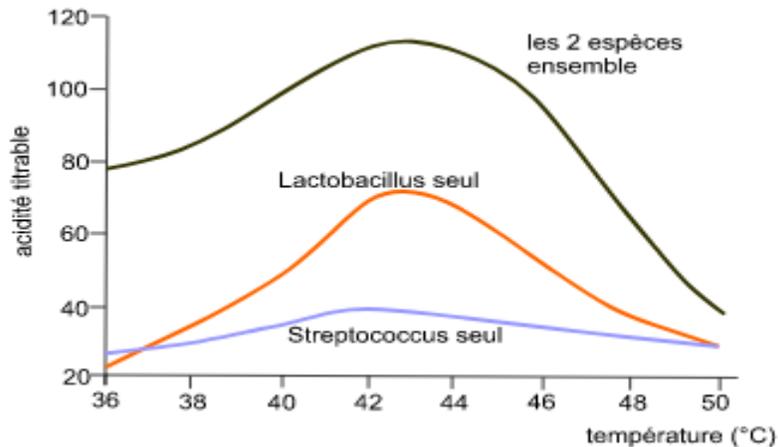
#### 4,4. Activité texturant :

La texture et l'onctuosité constituent, pour le consommateur, d'importants éléments d'appréciation de la qualité du yaourt. 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.

#### 4,5. Comportements associatifs des deux souches :

*St. thermophilus* et *Lb. bulgaricus* se développent en association (appelée protocoopération) dans des cultures mixtes ayant un intérêt à la fois d'ordre technologique et nutritionnel.

Ces deux bactéries, par leur activité acidifiante, ont un effet bénéfique du point de vue qualité hygiénique du produit. En parallèle, elles engendrent des produits secondaires qui contribuent à la qualité organoleptique du yaourt. D'un point de vue nutritionnel, l'activité fermentaire de ces espèces lactiques favorise une solubilisation des différents constituants du lait, améliorant ainsi leur biodisponibilité (Courtin et al., 2002 ; Ngounou et al., 2003). Grâce à cette action conjointe (Figure 05), les deux espèces croissent rapidement et métabolisent suffisamment de lactose en acide lactique pour que la fermentation soit terminée en 3 à 4 heures, là où chacune aurait passé 12 à 16 heures pour obtenir la même acidité.



**Figure 5.** Schéma des interactions métaboliques de *S.thermophilus* et *Lb. bulgaricus* en culture mixte dans le lait (Jeantet et al., 2008 ; Béal 1991).

#### 5. Technologie du yaourt :

En production industrielle, le processus de fabrication est divisé en quatre grandes phases. Selon le type de yaourt désiré, yaourt ferme ou brassé, l'étape de la fermentation se situe différemment par rapport à celle du conditionnement (Catherine et al., 2003).

### **5,1. Préparation du lait :**

Après une standardisation en matières grasses, le lait est enrichi en matière sèche, généralement par rajout de poudre de lait écrémé ou de protéines de lactosérum ou caséinates. Le lait est ensuite homogénéisé à une pression élevée et à 70 °C.

### **5,2. Traitement thermique :**

Le chauffage à 90 à 95 °C pendant 3 à 5 minutes détruit les micro-organismes pathogènes et indésirables. Il dénature aussi environ 85 % des protéines solubles du lait qui vont ensuite se fixer sur les micelles de caséine. Ces modifications se traduisent après fermentation par une amélioration de la fermeté des gels (**Journal of Dairy Science 1989**).

### **5,3. Ensemencement :**

Après refroidissement de la température de fermentation à 42–45 °C (optimal pour le développement symbiotique des bactéries lactiques), l'ensemencement s'effectue avec une souche de *Streptococcus thermophilus* (ST) et de *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* (LB) dans un rapport de 2S/1L (**Tec & doc, 2008**).

## **6. Caractérisation du yaourt :**

### **6,1. Paramètres physico-chimiques :**

#### **6,1,1. pH et taux d'acide lactique :**

La Fédération Internationale du Lait (F.I.L), préconise une teneur de 0,7% d'acide lactique. Cette valeur est respectée dans certains pays avec une variabilité allant de 0,6 à 1,5%. Certaines normes imposent un pH inférieur à 4,5 ou 4,6 (**Luquet et al., 2005**)

La réglementation Algérienne exige que, lors de la mise en consommation, la quantité d'acide lactique libre contenu dans le yaourt ne doit pas être inférieure à 0,8g pour 100g de produit. Selon l'article (02) de l'arrêté interministériel du 07 Octobre 1998, qui apprécie les spécifications techniques des yaourts (**JORA 1998**)

#### **6,1,2. Taux de matière grasse (MG) :**

Il doit être au minimum inférieur à 3% (m/m) dans le cas des yaourts (nature, sucré ou

aromatisé), compris entre 0,5 et 3% dans le cas des yaourts partiellement écrémés et 0,5% dans les yaourts écrémés (Ozer et al., 1998).

### 6,1,3. Extrait sec total (EST) :

La matière sèche est la fraction massique des substances restantes après dessiccation complète de l'échantillon. Elle est exprimée en pourcentage ou en g/l (Nongonierma et al., 2006).

## 6,2. Paramètres microbiologiques :

Selon la norme nationale de 1998 ; n°35 parue au journal officiel, les yaourts ne doivent contenir aucun germe pathogène.

Selon la CEE (2005), « Un critère microbiologique pour un aliment définit l'acceptabilité d'un procédé, d'un produit ou d'un lot de produit basé sur l'absence ou la présence, ou le nombre de micro-organismes/ ou une quantité de leur(s) toxine/ métabolites, par unité de masse, de volume ou de surface ». Il permet une interprétation des résultats obtenus. Les résultats s'interprètent en fonction du plan d'échantillonnage qui fixe :

« n » ou nombre d'unités constituant l'échantillon ;

« m » le critère microbiologique (nombre de micro-organismes) dont la valeur est précisée pour un micro-organisme donné ;

« M » : seuil d'acceptabilité au-delà duquel le produit n'est plus satisfaisant ;

« S » : seuil au-delà duquel le produit doit être considéré comme « corrompu ou toxique » ;

« c » : nombre d'unités de l'échantillon donnant des valeurs comprises entre m et M ;

« d » : nombre d'unités de l'échantillon dont le résultat est positif.

**Le tableau 9.** Résume les normes microbiologiques pour les yaourts.

**Tableau 9.** Normes microbiologiques pour les yaourts (LOMPO et al., 2006)

GERMES	NORMES (UFC/ ml)
Bactéries lactiques	< 10 <sup>8</sup>
Coliformes totaux	<10
Coliformes thermo tolérants	<1
E. coli	<1

## 7. Comportement rhéologique :

La transformation du lait en yaourt s'accompagne aussi d'un changement des propriétés rhéologiques en passant d'un liquide à un gel à destruction non réversible. Les additifs et les étapes du procédé de fabrication jouent un rôle primordial sur ce comportement (**Paci kora 2004**).

## 8. Intérêts nutritionnels et thérapeutiques du yaourt :

Les produits laitiers fermentés sont largement consommés et présentent des caractéristiques nutritionnelles et probiotiques bien spécifiques (**Serra et al., 2009 ; Sodini et al., 2012**).

Le yaourt contient relativement peu de calories (en moyenne 60 kcal pour un pot de 125 g de yaourt nature classique) et couvre seulement 2 à 5% d'un besoin énergétique moyen de 2200 kcal. Les protéines du yaourt sont particulièrement intéressantes tant d'un point de vue quantitatif que qualitatif. En effet, les protéines sont rassasiantes et favorisent l'assimilation du calcium.

Les yaourts sont des aliments pauvres en matières grasses, ils en contiennent, en moyenne, de 0 à 4% selon la nature du lait utilisé pour sa fabrication (lait entier, partiellement écrémé ou écrémé).

Le lactose, le sucre du lait, est l'unique sucre d'un yaourt nature ; sa teneur s'élève seulement à 4 g/100 g.

Le yaourt contient un minimum de 10 millions de ferments par gramme de produit. Les études scientifiques ont montré que ces ferments confèrent au yaourt des effets sur la santé : à ce titre, ils font partie des ferments appelés « probiotiques » (**OMS, 2003**).

La synthèse de la lactase, l'enzyme qui digère le lactose, a tendance à décliner avec l'âge. Ce phénomène physiologique naturel est d'ordre génétique et n'est pas une pathologie. Or, parce que les ferments lactiques des yaourts sont vivants et actifs tout au long du transit digestif, leur capacité à digérer le lactose profite à l'organisme. Non seulement la consommation de yaourt ne cause aucune difficulté digestive aux personnes qui digèrent mal le lactose, mais elle leur est recommandée pour pouvoir bénéficier de tous les avantages nutritionnels du lait. Ce bénéfice des ferments du yaourt a été confirmé dernièrement par un avis positif de l'EFSA (autorité européenne de sécurité des aliments) rendu le 19 octobre 2010 : « Les ferments vivants du yaourt, dans le yaourt, améliorent la digestion du lactose chez les personnes qui le digèrent mal ».

Dans les années 1950, des micro-organismes ont été commercialisés pour leurs bénéfices santé dans des préparations pharmaceutiques à base de levures. Depuis, plusieurs études scientifiques ont suggéré que certains laits fermentés diminuent la fréquence et la durée des épisodes de diarrhées aiguës chez les enfants. L'Organisation mondiale de la Santé (OMS) recommande la consommation de yaourt au cours du traitement de certaines diarrhées aiguës.

La consommation de yaourt permet de prévenir les maladies coronariennes et serait plus efficace que le lait, pour maintenir une cholestérolémie basse (**Jeantet et al., 2008**).

## **Partie 2 : Méthodologie d'étude**

---

## Méthodologie

### 1-Objectifs :

D'une façon générale, les objectifs escomptés à travers cette étude expérimentale se sont articulés autour de deux points essentiels :

1. Faire une d'extraction des principaux composés bioactifs du matériel végétal, objet de l'étude (écorce de *Punica granatum*) par usage d'une solution hydroalcoolique, à savoir, l'éthanol aqueux.
2. Procéder ensuite à des essais d'incorporation de l'extrait hydro-éthanolique riche en composés phénoliques d'écorce de *Punica granatum* à différentes doses dans la fabrication d'un yaourt étuvé en vue de suivre leurs effets sur la stabilité et la qualité des produits transformés (laits fermentés) durant 21 jours de stockage au froid à 4 °C.

### 2. Région de prélèvement et traitements préliminaires du matériel végétal :

Le matériel végétal ayant servi à cette étude (écorce de *Punica*) a été prélevé dans la région de Mostaganem.

La matière végétale a ensuite été étalée sur du papier journal, puis séchée à l'air ambiant. Les échantillons séchés ont été enfin broyés dans un broyeur à lame de cuisine puis mis dans des bocaux hermétiques et conservés à sec (température ambiante) et à l'abri de l'humidité ainsi que de la lumière.

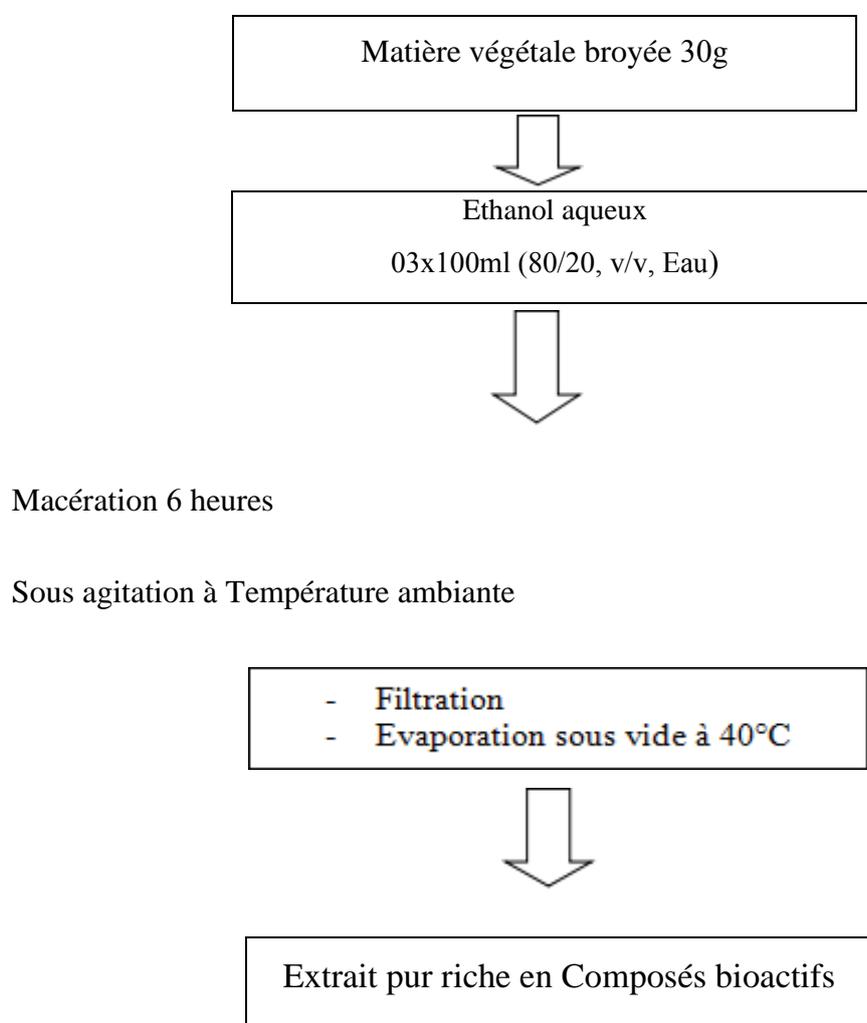
### 3. Extraction des composés bioactifs par usage de l'éthanol aqueux :

Pour l'extraction des principaux composés bioactifs tels les polyphénols contenus dans l'écorce de *Punica granatum*, nous avons opté pour l'utilisation d'une méthode décrite par **Sultana et al., 2009** Cette méthode d'extraction n'est qu'un procédé d'extraction discontinu solide-liquide par macération et qui consiste à laisser tremper le solide dans un solvant à température ambiante durant quelques temps et à extraire les constituants solubles par évaporation du solvant sous vide.

L'extraction des composés bioactifs de la plante a été réalisée par l'usage de l'éthanol aqueux comme solvant d'extraction. Elle a été effectuée sur une prise d'échantillons de 30g de

matière végétale mélangée avec 3 x 100 ml de solvant aqueux (80/20, solvant/eau, v/ v). L'extraction par macération à froid du mélange a été laissée ensuite se poursuivre pendant 6 heures à température ambiante sous agitation. La durée de l'extraction a été choisie pour favoriser la dépolymérisation des principaux composés constitutifs de la plante tels que la lignine ainsi que les substances pectiques et permettre une meilleure solubilisation des principaux composés bioactifs.

L'extrait hydro-éthanolique obtenu a été filtré en utilisant un papier filtre Whatman N°3 ayant une porosité de 0,3 µm et débarrassé du solvant par évaporation sous vide à 45°C. Le protocole d'extraction est schématisé sur la Figure 6.



**Figure 6.** Etapes d'extraction des composés phénoliques d'écorce de *Punica granatum* (Sultana et al., 2009).

#### **4-Essai de fabrication d'un lait fermenté étuvé enrichi d'extraits d'écorce de *Punica granatum* :**

Le lait cru destiné à la fabrication des laits fermentés expérimentaux type yaourt est un lait pasteurisé fabriqué par l'unité GIPLAIT de Mostaganem.

L'extrait pur à l'éthanol aqueux d'écorce de *Punica granatum* récolté dans la région de Mostaganem -Algérie a été incorporé au cours du procès de fabrication d'un lait fermenté type yaourt étuvé (directement dans le lait cru pasteurisé refroidi et maintenu chauffé à 45 °C) à des taux variables de 0, 2 et 4%, respectivement.

Les échantillons de lait enrichis d'extrait d'écorce de *Punica granatum* ont été par la suiteensemencés avec les souches spécifiques du yaourt à un taux de levains de 3% et à un rapport de souches *Streptococcus thermophilus* (St) sur *Lactobacillus bulgaricus* (Lb) de 2St/1Lb (V/V). Aucun additif pouvant masquer les caractéristiques organoleptiques et rhéologiques n'a été ajouté aux produits transformés (ni saccharose, ni arôme, ni autre additifs).

Chaque concentration d'extrait étudié a été représentée par un nombre de répétitions de trois pots d'une capacité de 100 ml de produit fini; soit un nombre total de 09 échantillons expérimentaux.

#### **5. Préparation du levain :**

Un volume de 750 ml de lait servant à la préparation du ferment a été préparé à un taux de 130 g/l de poudre de lait « Candia », puis a subi une pasteurisation à l'ébullition durant 2 minutes. Ce lait a étéensemencé après refroidissement à 45°C avec 0.5 g d'une prise de souches lactiques lyophilisées pures de *Streptococcus thermophilus* et 0.25 g d'une souche pure de *Lactobacillus bulgaricus*. Le laitensemencé aux deux ferments spécifiques du yaourt a enfin été étuvé à 45°C pendant 1 heure.

Le levain prêt à l'emploi avec un rapport de souches de 2 *Streptococcus thermophilus* pour 1 *Lactobacillus bulgaricus* (2S/1L, v/v) a étéensemencé dans les laits destinés à la fabrication des yaourts expérimentaux à un taux de 3%.

## 6. Technologie de fabrication des laits fermentés expérimentaux :

Le lait utilisé dans l'étude est un lait cru de vache pasteurisé conservé au froid à 4 °C. Il a été fourni par l'unité étatique de fabrication de lait et dérivés « GIPLAIT » relevant de la Wilaya de Mostaganem.

Après un léger chauffage à 45°C, à des prises (de 03 X 100ml) d'échantillons de lait maintenus à cette température a été additionné l'extrait à l'éthanol de l'écorce de *Punica granatum* récolté dans la région de l'étude à raison de 0, 2 et 4%, respectivement. Les échantillons ont enfin étéensemencés à 3% avec un levain lactique renfermant un rapport de souches *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* de 2S/1L. Les pots des différentes préparations ont ensuite été sertis par du papier aluminium et orientés à la fermentation pendant 4 heures dans une étuve réglée à 45°C.

Au terme de la fermentation les produits expérimentaux une fois caillés ont été conservés au froid positif à 4°C dans un réfrigérateur pendant une période de conservation de 21 jours.

## 7. Mesures et contrôles sur les laits fermentés :

Les analyses expérimentales ont été réalisées durant la période de post acidification : au 1<sup>er</sup>, 07<sup>ème</sup>, 14<sup>ème</sup> et 21<sup>ème</sup> jour de stockage des produits expérimentaux au froid positif de 4°C.

### 7,1 Paramètres physicochimiques :

#### 7,1,1 Acidité :

L'acidité a été déterminée d'une façon précise par titration de 10 ml d'une prise de yaourt à l'aide d'une soude caustique NaOH préparée à 1/9 N en présence de 4 à 5gouttes de phénophtaléine.

#### 7,1,2 pH :

Le dosage du pH a été réalisé par un pH-mètre étalonné par deux solutions : l'une acide et l'autre basique.

### 7,1,3 Viscosité :

La viscosité est établie par l'utilisation d'un tube capillaire avec une vitesse débitante assez petite pour que la loi de Poiseuille puisse s'appliquer. Le débit volumique Q :

$$Q = (R^4/8\eta)(\Delta\rho/L)$$

Un tube capillaire est un tube de très petite section de sorte que les effets de la viscosité sur le profil des vitesses de l'écoulement est important.

$(\Delta\rho/L)$  est la chute de pression par unité de longueur, qui est due à la viscosité. Elle est uniforme tout le long du tube.

Lorsque le liquide est immobile, la différence en pression entre le haut et le bas de la colonne de liquide est pratiquement nulle, car la pression atmosphérique est pratiquement uniforme autour du dispositif.

Mais si le liquide s'écoule en régime stationnaire, la perte de charge horizontale vaut  $(\Delta\rho/L) = \rho_{liq} g$  où  $\rho_{liq}$  est la masse volumique du liquide. Le débit volumique devient :

$$Q = (R^4/8\eta) / \rho_{liq} g$$

La durée nécessaire pour l'écoulement d'un volume V donné de liquide avec un débit Q vérifie la relation :

$$Q = v/\tau = \text{quantité de liquide écoulé} / \text{durée de l'écoulement}$$

On obtient la relation donnant la viscosité du liquide :

$$\eta = (R^4/8 v_{liq}) / \rho_{liq} \tau$$

On peut déduire la viscosité cinématique

$$v = (\eta / \rho_{liq}) = \kappa \cdot \tau$$

**R** rayon du tube en (m)  
**v** : viscosité cinématique en ( $m^2.s^{-1}$ )  
 **$\rho_{liq}$**  : Masse volumique du liquide en (kg/l)  
**g**: accélération de la pesanteur en (  
**T** : Temps d'écoulement en second (s)  
**k** : constante du viscosimètre utilisé ( $k=0,1413$ ).

## 7,2 Analyses microbiologiques :

Une prise d'essai de 5g du lait fermenté à analyser a été additionnée à 45 ml d'eau physiologique. Cette solution a constitué la première dilution ( $10^{-1}$ ). Des dilutions décimales, allant jusqu'à  $10^{-5}$ , ont été ensuite effectuées à l'eau physiologique.

### 7,2,1 *Streptococcus thermophilus* :

Le dénombrement des germes a été réalisé par culture d'une prise d'essai à partir de la dilution ( $10^{-5}$ ) sur un milieu de culture sélectif « M17 ». 1 ml de la prise de la dilution a été ensemencé en profondeur sur milieu M17 et incubé à  $42^{\circ}C$  pendant 24 à 48 h.

### 7,2,2 *Lactobacillus bulgaricus* :

Le dénombrement des germes a été effectué par culture d'une prise d'essai à partir de dilution ( $10^{-5}$ ) sur un milieu de culture sélectif « MRS » incubé à  $42^{\circ}C$  pendant 48 à 72 h.

## 7,3 Test organoleptique :

Chaque 7 jour durant toute la période de post acidification, la qualité des laits fermentés expérimentaux a été évaluée par un jury composé de 10 panelistes, qui ont apprécié selon une échelle de notation variable de 1 à 10 les produits selon les critères suivants :

- **Gout acide** : Consiste à apprécier l'ampleur gustative de l'acidité développée par les germes lactiques ensemencés dans le produit lors de sa mise en bouche.
- **Gout de fraîcheur** : Consiste à apprécier l'ampleur de la sensation de fraîcheur du produit lors de sa mise en bouche.
- **Cohésivité** : Consiste à déterminer la capacité maximale de déformation de l'échantillon avant de se rompre lorsqu'il est écrasé entre les doigts.

- **Adhésivité** : Exprime l'intensité des forces inter faciales développées entre la surface d'une cuillère et celle de l'échantillon lors d'une prise de produit.
- **Couleur** : Consiste à apprécier l'ampleur visuelle de la couleur blanchâtre du produit.
- **Arrière-goût** : Exprime l'ampleur de la sensation d'amertume du produit mis en bouche.

## 8. Traitement statistique :

Le logiciel de traitement des données expérimentales utilisé est la version DEMO STAT BOX 6,4.

Les résultats paramétriques ont été traités statistiquement par une analyse de variance mono factorielle en randomisation totale suivie d'une comparaison des moyennes deux à deux selon le test de NEWMAN et KEULS. Par contre, les données relatives au test organoleptique ont été analysées statistiquement par le test non paramétrique de FRIDMAN. Les effets significatifs du facteur étudié ont été déterminés aux deux seuils de probabilités à  $p < 0,05$  et à  $p < 0,01$ .

## **Partie 3 : Résultats et discussion.**

**1. Résultats :**

**1,1 Analyses physicochimiques :**

**1,1,1 Acidité titrable :**

Au premier jour de la phase de fermentation de 4 heures, les laits fermentés additionnés à 2 et 4% d'extrait hydro-éthanolique de *Punica granatum* riches en composés phénoliques ont présenté des valeurs d'acidité variables respectivement de 70 67 à 72 00 °D, Ces résultats ont été nettement plus faibles ( $p < 0,05$ ) que la valeur moyenne de 76 °D enregistrée dans le yaourt standard. En revanche, aux 7<sup>ème</sup> et 14<sup>ème</sup> jours, les échantillons expérimentaux ont montré des moyennes d'acidité similaires ( $p > 0,005$ ) et variables de 75 à 84 33°D et de 79 66 à 92 33°D, respectivement.

A la fin de la période de post acidification, au 21<sup>ème</sup> jour, le lait fermenté préparé à 2% d'extrait de *Punica granatum* a montré une acidité relativement plus élevée ( $p < 0,001$ ) que le témoin ; 90 vs 84 67 °D, en moyenne. Au contraire, à des taux sévères d'addition d'extrait de la plante de 4%, l'acidité semble diminuer significativement ( $p < 0,001$ ) à 78 33 °D par comparaison au yaourt standard qui a accusé une valeur d'acidité plus élevée (84 67 °D) (**Tableau 10**).

**Tableau 10.** Effet d'ajout d'extrait hydro-éthanolique d'écorce de *Punica granatum* sur les variations de l'acidité titrable (°D) des laits fermentés type yaourt étuvé au cours d'un entreposage de 21 jours au froid positif de 4°C.

Périodes (Jours)	Doses (%) d'extrait d'écorce de <i>Punica granatum</i> incorporées.			Effet des doses d'extrait incorporées
	0%	2%	4%	
1 <sup>er</sup> Jour	76 <sup>a</sup>	70 67 <sup>b</sup>	72 00 <sup>ab</sup>	p < 0 05
	±	±	±	
	1 00	1 53	3 00	
7 <sup>ème</sup> Jour	79 67	84 33	75	p > 0 05
	±	±	±	
	8 93	0 153	2 65	
14 <sup>ème</sup> Jour	83 33	92 33	79 66	p > 0 05
	±	±	±	
	7 09	8 08	3 06	
21 <sup>ème</sup> Jour	84 67 <sup>b</sup>	90 <sup>a</sup>	78 33 <sup>c</sup>	p < 0 01
	±	±	±	
	1 53	1 73	1 16	

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes, suivies d'écarts-types correspondantes avec un nombre de répétitions n égale à 3 ; p > 0,05 : Effet non significatif du facteur étudié (doses d'extrait hydro-éthanolique de *Punica granatum* incorporées dans le yaourt) ; p < 0,05 : Effet significatif du facteur étudié ; p < 0,01 : Effet hautement significatif du facteur étudié ; a,b,c...etc : Groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

### 1,1,2 pH :

Globalement, durant l'expérimentation, au 1<sup>er</sup> comme au 7<sup>ème</sup> et 21<sup>ème</sup> jour d'entreposage, le pH des laits fermentés type yaourt étuvé a tendance à augmenter ( $p < 0,05$ ) en fonction des taux d'extrait hydro-éthanolique de *Punica granatum* variables de 0, à 2 et à 4% incorporés ; de 4 3 à 4 52 ; de 4 12 à 4 28 et de 4 12 à 4 26, en moyenne respectivement.

Cependant, au 14<sup>ème</sup> jour, cette tendance n'est pas respectée. En effet, les laits fermentés préparés à 2 et 4% ont marqué une plus faible valeur d'acidité que le témoin ( $p < 0,05$ ) ; 4 04 et 4 14 contre 4 19 pour le yaourt standard, en moyenne (**Tableau 11**).

**Tableau 11.** Effet d'ajout d'extrait hydro-éthanolique d'écorce de *Punica granatum* sur les variations de pH des laits fermentés type yaourt étuvé au cours d'un entreposage de 21 jours au froid positif de 4°C.

Périodes (Jours)	Doses (%) d'extrait d'écorce de <i>Punica granatum</i> incorporées.			Effet des doses d'extrait incorporées
	0%	2%	4%	
1 <sup>er</sup> Jour	4 3 <sup>b</sup>	4 48 <sup>a</sup>	4 52 <sup>a</sup>	p < 0 01
	±	±	±	
7 <sup>ème</sup> Jour	0 03	0 03	0 02	p < 0 05
	4 12 <sup>b</sup>	4 12 <sup>b</sup>	4 28 <sup>a</sup>	
14 <sup>ème</sup> Jour	0 03	0 08	0 31	p < 0 05
	4 19 <sup>a</sup>	4 04 <sup>b</sup>	4 14 <sup>ab</sup>	
21 <sup>ème</sup> Jour	0 01	0 64	0 06	p < 0 01
	4 12 <sup>b</sup>	4 16 <sup>b</sup>	4 26 <sup>a</sup>	
	0 02	0 04	0 04	

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes, suivies d'écarts-types correspondantes avec un nombre de répétitions n égale à 3 ;  $p > 0,05$  : Effet non significatif du facteur étudié (doses d'extrait hydro-éthanolique de *Punica granatum* incorporées dans le yaourt) ;  $p < 0,05$  : Effet significatif du facteur étudié ;  $p < 0,01$  : Effet hautement significatif du facteur étudié ; a,b,c...etc : Groupes homogènes de comparaison des moyennes deux à deux selon le test de Newman et Keuls.

### 1,1,3 Viscosité :

Durant l'expérimentation les résultats de viscosité semblent être périodiquement disparates.

Toutefois, aux 1<sup>er</sup>, 7<sup>ème</sup> et 21<sup>ème</sup> jours de stockage, l'échantillon préparé à 2% d'extrait de

*Punica granatum* s'avère accusé de meilleures ( $p < 0,01$ ) valeurs de viscosité que le yaourt standard ; avec 27 93 vs 21 57 m<sup>2</sup>/s, 97 36 vs 83 29 m<sup>2</sup>/s et 47 vs 17 24 m<sup>2</sup>/s, en moyenne, respectivement.

Par ailleurs, les médiocres résultats ( $p < 0,05$ ) par rapport au témoin ont été enregistrés dans les laits fermentés à 4% d'extrait d'écorce de grenadier et ceci durant les 3 phases de post acidification ; 20 16 vs 21 55 m<sup>2</sup>/s au 1<sup>er</sup> jour ; 37 30 vs 83 29 m<sup>2</sup>/s au 7<sup>ème</sup> jour et 42 68 contre 72 69 m<sup>2</sup>/s au 14<sup>ème</sup> jour d'entreposage (**Tableau 12**).

**Tableau 12.** Effet d'ajout d'extrait hydro-éthanolique d'écorce de *Punica granatum* sur les variations de la viscosité (m<sup>2</sup>/s) des laits fermentés type yaourt étuvé au cours d'un entreposage de 21 jours au froid positif de 4°C.

Périodes (Jours)	Doses (%) d'extrait d'écorce de <i>Punica granatum</i> incorporées.			Effet des doses d'extrait incorporées
	0%	2%	4%	
1 <sup>er</sup> Jour	21 57 <sup>b</sup> ± 1 097	27 93 <sup>a</sup> ± 0 826	20 16 <sup>b</sup> ± 2 012	p < 0 01
	83 29 <sup>b</sup> ± 2 61	97 36 <sup>a</sup> ± 0 845	37 30 <sup>c</sup> ± 0 845	
7 <sup>ème</sup> Jour				p < 0 01
14 <sup>ème</sup> Jour	72 69 ± 19 715	59 42 ± 16 46	42 68 ± 11 585	p > 0 05
	17 24 <sup>b</sup> ± 0 71	47 <sup>a</sup> ± 1 698	44 72 <sup>a</sup> ± 1 2	
21 <sup>ème</sup> Jour				

Les résultats sont exprimés en valeurs moyennes, suivies d'écarts-types correspondantes avec un nombre de répétitions n égale à 3 ; p > 0,05 : Effet non significatif du facteur étudié (doses d'extrait hydro-éthanolique de *Punica granatum* incorporées dans le yaourt) ; p < 0,05 : Effet significatif du facteur étudié ; p < 0,01 : Effet hautement significatif du facteur étudié ; a,b,c...etc : Groupes homogènes de comparaison des moyennes deux a deux selon le test de Newman et Keuls.

## 1,2 Analyses microbiologiques

### 1,2,1 *Streptococcus thermophilus*

Au 1<sup>er</sup> jour de la période de post acidification, les laits fermentés sans et avec extrait de *Punica granatum* ont présenté un nombre identique de germes *Streptococcus thermophilus* ( $p > 0,05$ ) ; 49 10<sup>5</sup> à 55 10<sup>5</sup> UFC/ml.

Aux 7<sup>ème</sup>, 14<sup>ème</sup> et 21<sup>ème</sup> jours de stockage, les essais expérimentaux fortifiés à 2 et 4% d'extrait de la plante ont présenté une même prolifération microbienne ; 113,10<sup>4</sup> vs 52 10<sup>5</sup>UFC/ml, 37 10<sup>5</sup> à 40 10<sup>5</sup> UFC/ml et 37 à 75 UFC/ml, successivement. Toutefois le nombre de ces germes *Streptococcus thermophilus* semble rester relativement faible ( $p < 0,05$ ) par comparaison à celui du témoin évalué à 104 10<sup>5</sup> et 90 10<sup>5</sup> et 145 10<sup>5</sup> UFC/ml, en moyenne, respectivement (**Tableau 13**).

**Tableau 13.** Effet d'ajout d'extrait hydro-éthanolique d'écorce de *Punica granatum* sur les variations du nombre de *Streptococcus thermophilus* (UFC/ml) des laits fermentés type yaourt étuvé au cours d'un entreposage de 21 jours au froid positif de 4°C.

Périodes (Jours)	Doses (%) d'extrait d'écorce de <i>Punica granatum</i> incorporées.			Effet des doses d'extrait incorporées
	0%	2%	4%	
1 <sup>er</sup> Jour	55 10 <sup>5</sup>	51 10 <sup>5</sup>	49 10 <sup>5</sup>	$p > 0,05$
7 <sup>ème</sup> Jour	104 10 <sup>5a</sup>	52 10 <sup>5ab</sup>	116 10 <sup>4b</sup>	$p < 0,05$
14 <sup>ème</sup> Jour	90 10 <sup>5a</sup>	37 10 <sup>5b</sup>	40 10 <sup>5b</sup>	$p < 0,05$
21 <sup>ème</sup> Jour	247 10 <sup>5a</sup>	75 10 <sup>5b</sup>	37 10 <sup>5b</sup>	$p < 0,05$

Les résultats sont exprimés en valeurs moyenne, avec un nombre de répétitions n égale à 3 ;  $p > 0,05$  : Effet non significatif du facteur étudié (doses d'extrait hydro-éthanolique de *Punica granatum* incorporées dans le yaourt) ;  $p < 0,05$  : Effet significatif du facteur étudié ;  $p < 0,01$  : Effet hautement significatif du facteur étudié ; a,b,c...etc : Groupes homogènes de la comparaison des moyennes deux à deux selon le test de newman et keuls.

### 1,2,2 *Lactobacillus bulgaricus*

La prolifération du germe spécifique *Lactobacillus bulgaricus* n'a pas connu périodiquement du 1<sup>er</sup> jusqu'au 21<sup>ème</sup> jour de conservation de grands changements ( $p > 0,05$ ) dans les yaourts expérimentaux préparés avec et sans extrait hydro-éthanolique de *Punica granatum* ; 118 10<sup>4</sup> UFC/ml, en moyenne (**Tableau 14**).

**Tableau 14.** Effet d'ajout d'extrait hydro-éthanolique d'écorce de *Punica granatum* sur les variations du nombre de *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* (UFC/ml) des laits fermentés type yaourt étuvé au cours d'un entreposage de 21 jours au froid positif de 4°C.

Périodes (Jours)	Doses (%) d'extrait d'écorce de <i>Punica granatum</i> incorporées.			Effet des doses d'extrait incorporées
	0%	2%	4%	
1 <sup>er</sup> Jour	233 10 <sup>3</sup>	266 10 <sup>3</sup>	70 10 <sup>4</sup>	p > 0 05
7 <sup>ème</sup> Jour	38 10 <sup>3</sup>	36 10 <sup>3</sup>	33 10 <sup>3</sup>	p > 0 05
14 <sup>ème</sup> Jour	290 10 <sup>4</sup>	193 10 <sup>4</sup>	103 10 <sup>4</sup>	p > 0 05
21 <sup>ème</sup> Jour	250 10 <sup>4</sup>	35 10 <sup>5</sup>	103 10 <sup>4</sup>	p > 0 05

Les résultats sont exprimés en valeurs moyenne, avec un nombre de répétitions n égal à 3 ; p > 0,05 : Effet non significatif du facteur étudié (doses d'extrait hydro-éthanolique de *Punica granatum* incorporées dans le yaourt) ; p < 0,05 : Effet significatif du facteur étudié ; p < 0,01 : Effet hautement significatif du facteur étudié ; a,b,c...etc : Groupes homogènes de la comparaison des moyennes deux a deux selon le test de newman et keuls.

### 1,3. Qualité organoleptique

#### 1,3,1. Goût Acide

Durant l'expérimentation, les laits fermentés fortifiés d'extrait hydro-éthanolique d'écorce de *Punica granatum* à 2 et 4% ont été mieux appréciés au plan de l'acidité par les panélistes que le yaourt témoin (p<0,05) ; 14 5 vs 16 vs 29 5, somme des rangs au 1<sup>er</sup> jour, 19 vs 17 5 vs 26 5 somme des rangs au 7<sup>ème</sup> jour et 16 5 vs 20 vs 26 5 somme des rangs au 14<sup>ème</sup> jour de stockage.

Par contre, en fin de la période de post acidification, les dégustateurs n'ont décelé aucune différence de goût acide entre les produits expérimentaux (p>0,05) ; 17 5 à 25 5, somme des rangs (Tableau 15).

**Tableau 15.** Effet d'ajout d'extrait hydro-éthanolique d'écorce de *Punica granatum* sur les variations du goût acide (somme des rangs) des laits fermentés type yaourt étuvé au cours d'un entreposage de 21 jours au froid positif de 4°C.

Périodes (Jours)	Doses (%) d'extrait d'écorce de <i>Punica granatum</i> incorporées.			Effet des doses d'extrait incorporées
	0%	2%	4%	
1 <sup>er</sup> Jour	29 5 <sup>a</sup>	14 5 <sup>b</sup>	16 <sup>b</sup>	p < 0 01
7 <sup>ème</sup> Jour	26 5 <sup>a</sup>	19 <sup>b</sup>	17 5 <sup>b</sup>	p < 0 05
14 <sup>ème</sup> Jour	26 5 <sup>a</sup>	16 5 <sup>b</sup>	20 <sup>ab</sup>	p < 0 05
21 <sup>ème</sup> Jour	25 5	23	17 5	p > 0 05

Les résultats sont exprimés en sommes de rangs, avec un nombre de panelistes n=10 ; p > 0,05 : Effet non significatif du facteur étudié (doses d'extrait hydro-éthanolique de *Punica granatum* incorporées dans le yaourt) ; p < 0,05 : Effet significatif du facteur étudié ; p < 0,01 : Effet hautement significatif du facteur étudié ; a,b,c...etc : Groupes homogènes de la comparaison des moyennes deux a deux selon le test de newman et keuls.

### 1,3,2. Arrière-goût

Pendant l'étude, un arrière-goût très prononcé (p<0,01) a été détecté par les panélistes dans les yaourts additionnés d'extrait d'écorce de *Punica granatum* à une dose sévère de 4% ; avec des sommes des rangs par rapport au témoin de 29 contre 19 5 au 1<sup>er</sup> jour, de 29 contre 18 5 au 7<sup>ème</sup> jour, de 29 5 contre 16 au 14<sup>ème</sup> jour et de 26 5 contre 23 au 21<sup>ème</sup> jour.

Apparemment, durant ces périodes respectives, le yaourt à 2% d'extrait de la plante a été le mieux apprécié (p<0 05) ; 11 5, 12 5, 14 5 et 10 5 somme des rangs, respectivement (**Tableau 16**).

**Tableau 16.** Effet d'ajout d'extrait hydro-éthanolique d'écorce de *Punica granatum* sur les variations de l'arrière-goût (somme des rangs) des laits fermentés type yaourt étuvé au cours d'un entreposage de 21 jours au froid positif de 4°C.

Périodes (Jours)	Doses (%) d'extrait d'écorce de <i>Punica granatum</i> incorporées.			Effet des doses d'extrait incorporées
	0%	2%	4%	
1 <sup>er</sup> Jour	19 5 <sup>b</sup>	11 5 <sup>c</sup>	29 <sup>a</sup>	p < 0 01
7 <sup>ème</sup> Jour	18 5 <sup>b</sup>	12 5 <sup>c</sup>	29 <sup>a</sup>	p < 0 01
14 <sup>ème</sup> Jour	16 <sup>b</sup>	14 5 <sup>b</sup>	29 5 <sup>a</sup>	p < 0 01
21 <sup>ème</sup> Jour	23 <sup>a</sup>	10 5 <sup>b</sup>	26 5 <sup>a</sup>	p < 0 01

Les résultats sont exprimés en sommes de rangs, avec un nombre de panelistes n=10 ; p > 0,05 : Effet non significatif du facteur étudié (doses d'extrait hydro-éthanolique de *Punica granatum* incorporées dans le yaourt) ; p < 0,05 : Effet significatif du facteur étudié ; p < 0,01 : Effet hautement significatif du facteur étudié ; a,b,c...etc : Groupes homogènes de la comparaison des moyennes deux à deux selon le test de newman et keuls

### 1,3,3. Goût de fraîcheur

Comparativement au témoin, les meilleurs résultats (p<0 01) de goût de fraîcheur ont été obtenus dans les laits fermentés supplémentés d'extrait de *Punica granatum* à 2% ; alors que les médiocres scores (p<0 01) ont été remarqués dans les produits à 4% d'extrait de la plante : soit une somme des rangs de 13 vs 26 vs 21 au 1<sup>er</sup> jour, de 11 vs 25 5 vs 23 5 au 7<sup>ème</sup> jour, de 11 vs 23 vs 26 au 14<sup>ème</sup> jour et de 13 vs 25 vs 22 au 21<sup>ème</sup> jour (**Tableau 17**).

**Tableau 17.** Effet d'ajout d'extrait hydro-éthanolique d'écorce de *Punica granatum* sur les variations du goût de fraîcheur (somme des rangs) des laits fermentés type yaourt étuvé au cours d'un entreposage de 21 jours au froid positif de 4°C.

Périodes (Jours)	Doses (%) d'extrait d'écorce de <i>Punica granatum</i> incorporées.			Effet des doses d'extrait incorporées
	0%	2%	4%	
1 <sup>er</sup> Jour	21 <sup>a</sup>	13 <sup>b</sup>	26 <sup>a</sup>	p < 0 01
7 <sup>ème</sup> Jour	23 5 <sup>a</sup>	11 <sup>b</sup>	25,5 <sup>a</sup>	p < 0 01
14 <sup>ème</sup> Jour	26 <sup>a</sup>	11 <sup>b</sup>	23 <sup>a</sup>	p < 0 01
21 <sup>ème</sup> Jour	22 <sup>a</sup>	13 <sup>b</sup>	25 <sup>a</sup>	p < 0 01

Les résultats sont exprimés en sommes de rangs, avec un nombre de panelistes n=10 ; p > 0,05 : Effet non significatif du facteur étudié (doses d'extrait hydro-éthanolique de *Punica granatum* incorporées dans le yaourt) ; p < 0,05 : Effet significatif du facteur étudié ; p < 0,01 : Effet hautement significatif du facteur étudié ; a,b,c...etc : Groupes homogènes de la comparaison des moyennes deux à deux selon le test de newman et keuls

### 1,3,4. Cohésivité

Au cours des 2 premières semaines de post acidification, les laits fermentés préparés à 2 et 4% d'extrait de *Punica granatum* ont accusé une cohésivité plus intense que le témoin (p<0 01) ; 14 5 vs 19 vs 26 5 somme des rangs au 1<sup>er</sup> jour et 19 vs 19 vs 25 somme des rangs au 7<sup>ème</sup> jour. Toutefois, aux 14<sup>ème</sup> et 21<sup>ème</sup> jours, les échantillons à 4% d'extrait de la plante ont noté une faible cohésivité par comparaison au témoin ; 30 vs 16 et 29 vs 18 somme des rangs, respectivement. Durant, ces deux périodes d'essais le yaourt à 2% d'extrait est resté meilleur

au plan de la cohésivité que le témoin ( $p < 0,01$ ) ; 14 et 13, somme des rangs successivement (Tableau 18).

**Tableau 18.** Effet d'ajout d'extrait hydro-éthanolique d'écorce de *Punica granatum* sur les variations de la Cohésivité (somme des rangs) des laits fermentés type yaourt étuvé au cours d'un entreposage de 21 jours au froid positif de 4°C.

Périodes (Jours)	Doses (%) d'extrait d'écorce de <i>Punica granatum</i> incorporées.			Effet des doses d'extrait incorporées
	0%	2%	4%	
1 <sup>er</sup> Jour	26 5 <sup>a</sup>	14 5 <sup>b</sup>	19 <sup>b</sup>	$p < 0,01$
7 <sup>ème</sup> Jour	25	19	19	$p > 0,05$
14 <sup>ème</sup> Jour	16 <sup>b</sup>	14 <sup>b</sup>	30 <sup>a</sup>	$p < 0,01$
21 <sup>ème</sup> Jour	18 <sup>b</sup>	13 <sup>b</sup>	29 <sup>a</sup>	$p < 0,01$

Les résultats sont exprimés en sommes de rangs, avec un nombre de panelistes  $n=10$  ;  $p > 0,05$  : Effet non significatif du facteur étudié (doses d'extrait hydro-éthanolique de *Punica granatum* incorporées dans le yaourt) ;  $p < 0,05$  : Effet significatif du facteur étudié ;  $p < 0,01$  : Effet hautement significatif du facteur étudié ; a,b,c...etc : Groupes homogènes de la comparaison des moyennes deux à deux selon le test de newman et keuls.

### 1,3,5. Adhésivité

Au 1<sup>er</sup> jour, l'adhésivité des produits semble être comparable ( $p > 0,05$ ) ; 17 à 24 somme des rangs.

En revanche, pendant les trois dernières semaines de post acidification, les meilleurs adhésivités ( $p < 0,01$ ) ont été obtenus avec les laits fermentés à 2% d'extrait de *Punica granatum*, suivis de ceux du témoin et ceux à 4% d'extrait ; avec des valeurs de somme des

rangs de 14 5 vs 17 5 vs 28 au 7<sup>ème</sup> jour, de 12 5 vs 29 5 vs 29 au 14<sup>ème</sup> jour et de 14 5 vs 15 5 vs 30 au 21<sup>ème</sup> jour (**Tableau 19**).

**Tableau 19.** Effet d'ajout d'extrait hydro-éthanolique d'écorce de *Punica granatum* sur les variations de l'adhésivité (somme des rangs) des laits fermentés type yaourt étuvé au cours d'un entreposage de 21 jours au froid positif de 4°C.

Périodes (Jours)	Doses (%) d'extrait d'écorce de <i>Punica granatum</i> incorporées.			Effet des doses d'extrait incorporées
	0%	2%	4%	
1 <sup>er</sup> Jour	24	17	19	p > 0 05
7 <sup>ème</sup> Jour	17 5 <sup>b</sup>	14 5 <sup>b</sup>	28 <sup>a</sup>	p < 0 01
14 <sup>ème</sup> Jour	18 5 <sup>b</sup>	12 5 <sup>c</sup>	29 <sup>a</sup>	p < 0 01
21 <sup>ème</sup> Jour	15 5 <sup>b</sup>	14 5 <sup>b</sup>	30 <sup>a</sup>	p < 0 01

Les résultats sont exprimés en sommes de rangs, avec un nombre de panelistes n=10 ; p > 0,05 : Effet non significatif du facteur étudié (doses d'extrait hydro-éthanolique de *Punica granatum* incorporées dans le yaourt) ; p < 0,05 : Effet significatif du facteur étudié ; p < 0,01 : Effet hautement significatif du facteur étudié ; a,b,c...etc : Groupes homogènes de la comparaison des moyennes deux à deux selon le test de newman et keuls.

### 1,3,6. Couleur :

Du 1<sup>er</sup> au 21<sup>ème</sup> jour de conservation, en fonction des taux d'incorporation d'extrait hydroéthanolique de *Punica granatum* L., l'échantillon préparé à 2% d'extrait a été le mieux apprécié par les panelistes au plan de la couleur que ceux préparés à 0 et 4% d'extrait (p<0 01) ; soit des valeurs de somme de rangs respectives de 14 5 vs 28 vs 17 5 au

1<sup>er</sup> jour, de 14 5 vs 28 vs 17 5 au 7<sup>ème</sup> jour, de 14 5 vs 27 vs 16 5 au 14<sup>ème</sup> jour et de 14 5 vs 28 vs 17 5 au 21<sup>ème</sup> jour (**Tableau 20**).

**Tableau 20.** Effet d'ajout d'extrait hydro-éthanolique d'écorce de *Punica granatum* sur les variations de la Couleur (somme des rangs) des laits fermentés type yaourt étuvé au cours d'un entreposage de 21 jours au froid positif de 4°C.

Périodes (Jours)	Doses (%) d'extrait d'écorce de <i>Punica granatum</i> incorporées.			Effet des doses d'extrait incorporées
	0%	2%	4%	
1 <sup>er</sup> Jour	28 <sup>a</sup>	14 5 <sup>b</sup>	17 5 <sup>b</sup>	p < 0 01
7 <sup>ème</sup> Jour	28 <sup>a</sup>	14 5 <sup>b</sup>	17 5 <sup>b</sup>	p < 0 01
14 <sup>ème</sup> Jour	27 <sup>a</sup>	14 5 <sup>b</sup>	16 5 <sup>b</sup>	p < 0 01
21 <sup>ème</sup> Jour	28 <sup>a</sup>	14 5 <sup>b</sup>	17 5 <sup>b</sup>	p < 0 01

Les résultats sont exprimés en sommes de rangs, avec un nombre de panelistes n=10 ; p > 0,05 : Effet non significatif du facteur étudié (doses d'extrait hydro-éthanolique de *Punica granatum* incorporées dans le yaourt) ; p < 0,05 : Effet significatif du facteur étudié ; p < 0,01 : Effet hautement significatif du facteur étudié ; a,b,c...etc : Groupes homogènes de la comparaison des moyennes deux a deux selon le test de newman et keuls.

## 2. Discussion :

L'extrait hydroéthanolique de l'écorce de grenade renferme de nombreux composés bénéfiques pour la santé humaine, dont les composés phénoliques ayant des activités antimicrobiennes prouvées (**Madi, 2010**).

Il ressort de cette étude que la préparation des laits fermentés supplémentés d'extrait hydroéthanolique de *Punica granatum* L., comme additif naturel en substitution aux additifs chimiques à effets néfastes pour la santé utilisés souvent d'une manière frauduleuse tel les sorbates de potassium demeure une alternative intéressante et viable avec un grand spectre d'activités santé (antioxydants, antimicrobiens...etc.) pouvant contribuer à la production d'un nouveau produit alicament très recherché par les consommateurs. Ceci pourrait sans doute attirer l'attention des scientifiques pour investiguer davantage les propriétés exceptionnelles de cet extrait riche en composés phénoliques de *Punica granatum* L. allié aux effets probiotiques des souches spécifiques des laits fermentés tels les yaourts.

Lors de la fabrication du yaourt, la fermentation lactique est une réaction chimique entre les bactéries spécifiques (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*) et le lactose du lait. Les ferments se développent au profit du lactose (glucide du lait) et ils provoquent ainsi la formation d'acide lactique qui fait lentement coaguler la caséine (protéine du lait) (**Courtin et al., 2002**). La fermentation est arrêtée au pH  $\approx$  des caséines du lait par la mise au réfrigérateur des produits à 4°C. En présence de lactase, enzyme sécrétée par les bactéries lactiques, le lactose est hydrolysé en glucose et galactose, puis le glucose est transformé à son tour en acide lactique. Cette réaction est favorisée à une température de 45°C. Plus on laisse le lait fermenter longtemps plus le pH diminue, car la quantité d'acide lactique augmente et la solution devient donc plus acide (**Luquet et al, 2005**).

L'acidité des laits fermentés additionnés d'extrait hydroéthanolique d'écorce du fruit de *Punica granatum* L., semble différemment affectée par le taux d'extrait. En effet, l'acidité du lait fermenté renfermant 2% d'extrait à la fin de la période de post-acidification a atteint une valeur de 90 00 ° D contre 84 67 pour le témoin. Par contre, pour le lait à 4% d'extrait, l'acidité a diminué à 78 33 °D ; soit une diminution de 7 47%. Apparemment, cette situation est inversée pour le pH des produits qui ont connu de nettes augmentations en fonction des taux d'extrait de la plante incorporés. Par ailleurs, la sensation de goût acide chez les panélistes a été la moins appréciée pour les laits fortifiés d'extrait à 2 et 4% que le témoin durant l'expérimentation mais à la fin de la post-acidification, cette différence de goût acide n'a pas été décelée. De tels résultats résultent sans doute de l'effet antimicrobien qu'ont exercé les composés phénoliques contenus dans l'extrait d'écorce de *Punica granatum* L., sur les germes spécifiques du yaourt dont l'activité à produire du lactate par fermentation du lactose semble être affecté notamment à de fort taux d'incorporation de 4% d'extrait étudié.

En effet, il est bien connu que l'écorce de grenade contient une grande proportion de polyphénols à effets antimicrobiens cintre plusieurs germes pathogènes et banaux à Gram<sup>-</sup> et à Gram<sup>+</sup> (**Rongai et al., 2015 ; Hassan et al., 2013**). Comme l'écorce représente environ 50% de la totalité du fruit de grenade, il constitue une source non négligeable de composés bioactifs. (**Singh et al., 2002 ; Orak et al., 2012**). Les punicalagines (tanins hydrolysables) et les acides galliques sont les principaux composants de l'écorce et ont été corrélés avec l'activité antimicrobienne de l'extrait (**Rongai et al., 2017 ; Rongai et al., 2018**). Toutefois, la composition en polyphénols dépend de la méthode d'extraction. L'extrait hydroéthanolique semble contenir une concentration plus élevée en anthocyanines que d'autres extraits selon **Romeo et al., (2015)**.

Par ailleurs, d'après **Seydi et al., (1993)** l'acidité normale d'un yaourt industriel varie de 80 à 100 °D ; alors que celle d'un lait caillé artisanal varie de 94 à 140 °D. Les valeurs enregistrées

dans le cas des laits fermentés expérimentaux ont avoisiné environ 80°D ; ce qui les situe dans le domaine d'un yaourt normal. L'acidification des produits au cours de la période de post-acidification a été ralentie par le refroidissement à 4 °C concomitante à l'action antimicrobienne de l'extrait de *Punica granatum* L. Selon **Brunet (1991)**, l'acidité du yaourt doit s'inscrire dans l'intervalle 80-120 °D au bout de 24 jours. C'est le cas des laits fermentés supplémentés d'extrait de *Punica granatum* L., étudiés. En générale, la forte acidité des produits peut être évitée en respectant simplement la chaîne de froid.

Les résultats de la cinétique du dénombrement de *Lactobacillus bulgaricus* obtenus dans cette étude montrent que dans l'ensemble l'effet de l'addition de l'extrait hydroéthanolique de *Punica granatum* n'est pas significatif ( $p > 0,05$ ) malgré une légère diminution observée indiquant un effet bactéricide faible sur ce germe. En ce qui concerne la bactérie *Streptococcus thermophilus*, dont le rôle principal est la fermentation du lactose du lait en acide lactique et la production d'exopolysaccharides sa prolifération s'avère nettement diminuer selon l'augmentation du taux d'extrait et donc de composés phénoliques de *Punica granatum* L., ramenés dans le produit.

Le mécanisme d'action des composés phénoliques des extraits de *Punica granatum* tel que suggérés par certains auteurs semble indiquer une action directe antimicrobienne et/ou une activation de résistance des plantes traitées. Des essais in vitro ont montré une action inhibitrice contre la germination de la conidie et la croissance de mycélium de la majorité de pathogènes de champignon, y compris, *Botrytis cinerea*, *Penicillium digitatum*, *Penicillium expansum*, *Penicillium italicum*, *Alternaria alternata*, *Stemphylium botryosum*, *Colletotrichum acutatum sensu stricto*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus parasiticus*, *Monilinia laxa* and *Monilinia fructigena* (**Rongai et al., 2015 ; Li Destri et al., 2016**). **Akhtar et Foss (2015)** ont signalé que les composés polyphénoliques de l'extrait de l'écorce peuvent se combiner avec les protéines de la membrane cellulaire fongique et provoquer la

mort cellulaire en augmentant sa perméabilité. En outre, les extraits peuvent diminuer le gradient de pH autour de la membrane et provoquer la mort cellulaire en augmentant également sa perméabilité. En outre, les extraits de l'écorce de *Punica granatum* exercent une activité antimicrobienne élevée contre les bactéries à Gram positif et négatif. Ils sont efficaces contre les pathogènes tels que *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis*, *Pseudomonas syringae pv. actinidiae*, *Pseudomonas syringae pv. syringae*, *Erwinia carotovora* and *Xanthomonas campestris* (Rongai et al., 2015 ; Hassan et al., 2013) et aussi contre les pathogènes dans les aliments tels que la salmonelle (*Salomonella ssp*) et *L. monocytogène* (Belgacem et al., 2020)

Cet extrait de *Punica granatum* peut être mis ainsi à profit de l'industrie laitière comme additif naturel pour combattre d'autres germes nocifs pouvant contaminer par exemple le yaourt durant sa conservation tout en préservant les deux germes spécifiques *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* procédant un effet probiotique recherché.

Au fait, le yaourt est le résultat de la symbiose de ces deux bactéries lactiques qui sont présentes. Chaque bactérie stimule la croissance de l'autre. Ce lien symbiotique donne un produit différent des produits obtenus par les bactéries simples, prises séparément. Grâce à la symbiose des deux bactéries, la fermentation a lieu plus rapidement que s'il n'y avait qu'une seule espèce de bactérie. En effet, beaucoup de recherches ont montré que grâce à la croissance associative de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*, le taux de production d'acide lactique, d'exo polysaccharides et la croissance sont plus élevés que dans les cultures contenant une seule de ces bactéries lactiques (Jeantet et al, 2008 ; Béal 1991).

. Beaucoup d'auteurs ont travaillé sur la symbiose entre ces deux germes. D'après Pette et Lolkema (1950), les aminoacides produits par *L. bulgaricus* sont des stimulants pour *S. thermophilus* dont le plus important est la valine. Bautista et al., (1966), indiquent seulement

la glycine et l'histidine comme stimulants tandis que **Bracquart et al., (1966)** signale une combinaison de la glutamine, la méthionine, l'histidine, l'arginine, la phénylalanine et le tryptophane est nécessaire pour la stimulation. D'autres auteurs mentionnent aussi la leucine (**Shankar and Davies 1978**). Il a aussi été suggéré que la faible activité de protéinase et celle élevée de dipeptidase d'acides de *S. thermophilus* sont compensées par les activités inverses de *L. bulgaricus* en croissance associée (**Rabie et Desmazeaud 1993**). Quant à la stimulation de *L. bulgaricus* par *S. thermophilus*, certaines études ont montré l'effet synergétique des acides formique et pyruvique dans la stimulation de la production de l'acide lactique par *L. bulgaricus* (**Higashio et al., 1977**).

Cet effet associatif a été relativement altéré dans le cas des *Streptococcus thermophilus* par l'ajout d'extrait de *Punica granatum* L., dont la prolifération a été relativement freinée à de fort taux d'incorporation de 4% dans les produits.

Il est bien établi que les germes *Streptococcus thermophilus* assurent le démarrage de la fermentation et sont en grande partie responsables dans la production d'avantage de lactate et d'exopolysaccharides à l'origine du goût acidulé et de la viscosité des produits qui sont nettement sécrétés dans le milieu jusqu'à la fin de fabrication lorsque le pH avoisine 4,6 ou les *Lactobacillus bulgaricus* prennent le relais et achèvent la fermentation des yaourts conservés au froid à 4 °C (**Luquet et al, 2005**). Ainsi, la baisse de l'accroissement des germes *Streptococcus thermophilus* peut expliquer en partie les réductions de la viscosité constatées dans les produits fortifiés à de forts taux d'extrait de *Punica granatum* L., de 4%. Néanmoins, l'étude a montré que les laits fermentés à 2% d'extrait de *Punica granatum* durant les trois dernières semaines de post-acidification, présentent une meilleure adhésivité que celle du témoin et leurs homologues à 4% ayant accusée de médiocres résultats. D'ailleurs, au quatorzième et vingt-et-unième jour, les échantillons additionnés de 4%

d'extrait de l'écorce ont conservé moins leur stabilité (cohésivité plus faible) que le témoin contrairement au yaourt à 2% d'extrait dont la cohésivité a été nettement meilleure.

L'augmentation de 2 à 4% du taux d'extrait d'écorce dans les laits fermentés a eu comme conséquence, l'apparition d'un arrière-goût très affirmé avec une meilleure appréciation par les dégustateurs pour les laits à 2% d'extrait. Quant au goût de fraîcheur, il s'avère aussi que les laits fermentés supplémentés d'extrait d'écorce de *Punica granatum* L., à 2% et conservés pendant 21 jours au froid positif de 4 °C ont été les mieux acceptés par les panélistes que ceux préparés à 4%. Ces réponses peuvent être dues probablement à certaines composés bioactifs non identifiés à ce jour constitutifs de l'écorce de grenade qui ont certainement freiné ou masqué la production normale par *L. bulgaricus* d'acétaldéhyde considéré comme étant le principal composant volatil à l'origine de l'arôme du yaourt (**Hamdan et al., 1971 ; Singh et al 1982**).

Enfin, Les normes du journal officiel de la république Algérienne (**JORA, 1998**) servant d'appui au contrôle dans l'industrie des yaourts doivent tenir compte du nombre de bactéries lactiques spécifiques qui doit être inférieur à  $10^7$  UFC/ml ; alors que celui des coliformes totaux doit être inférieur à 10 UFC/ml et ceux des coliformes thermo tolérants ainsi que d'*E coli* doivent être inférieur à 1UFC/ml. Les yaourts fortifiés d'extrait de *Pinica granatum* L préparés à 2% dans cette étude présentent un nombre de bactéries lactiques proche de la normale au même titre que le témoin standard; ce qui est très prometteur pour concevoir un yaourt renfermant les bienfaits des probiotiques combinés aux multiples effets santé des composés bioactifs d'écorce de *Punica granatum* L.

## Conclusion :

Ce travail concerne l'incorporation de l'extrait hydroéthanolique de l'écorce de grenade *Punica granatum* L. récoltée dans la région de Mostaganem au nord-ouest de l'Algérie dans un lait fermenté type yaourt étuvé. A travers les résultats obtenus, il peut être conclu que les extraits de l'écorce de grenade qui constituent environ 40% du fruit peuvent être valorisés en les incorporant dans un yaourt afin d'obtenir un aliment fonctionnel à caractère nutritionnel et thérapeutique particulier.

Les résultats de cette étude ont montré que l'extrait hydro-éthanolique de *Punica granatum* L., semble différemment affecter l'acidité des laits fermentés. A la fin de la période de post-acidification, l'acidité du yaourt additionné de l'extrait à 2% a augmenté de 6 29% mais pour le lait fermenté supplémenté de l'extrait à 4%, elle s'avère diminuer de 7 48% ; correspondant à une diminution du pH de 1 3% et une augmentation de 3 4%, respectivement.

Il ressort de cette étude que l'activité du germe *Streptococcus thermophilus* dans le yaourt a diminué avec l'addition de l'extrait hydro-éthanolique à 2 et à 4% qui exerce des effets antimicrobiens certains contre la croissance de ce germe comparativement au témoin.

Toutefois, les deux extraits semblent présenter la même prolifération microbienne en ce qui concerne l'effet de l'extrait hydro-éthanolique sur la croissance du germe *Lactobacillus bulgaricus*, il peut être noté que ce dernier n'a pas été affecté par l'ajout d'extrait de *Punica granatum* L ( $p > 0.05$ ).

La viscosité des yaourts supplémentés d'extrait hydro-éthanolique semble être affectée d'une manière inversement proportionnelle aux doses d'extrait incorporées. L'échantillon préparé à 2% d'extrait présente une viscosité cinématique dans l'ensemble plus élevée que celle du témoin. L'inverse est observé pour l'échantillon à 4 % d'extrait.

Concernant la qualité organoleptique, d'une manière générale, les panelistes ont mis en évidence une détérioration des différents critères gustatifs mesurés en fonction des taux d'extrait hydro-éthanolique incorporé dans les produits. Toutefois, le lait fermenté à 2% a été mieux apprécié par les dégustateurs que le yaourt standard. Par contre, l'essai expérimental préparé avec 4% d'extrait hydro-éthanolique de *Punica granatum* n'a pas accusé de différence significative par comparaison au témoin.

D'une manière générale, le yaourt à 2% d'extrait a été mieux apprécié par rapport à celui à 4% sur les plans de l'acidité, l'arrière-goût, la fraîcheur, la cohésivité, l'adhésivité et la couleur. Apparemment donc, le taux de 2%, de par les résultats obtenus et l'appréciation des dégustateurs, constitue le meilleur taux d'incorporation de l'extrait hydro-éthanolique.

Ce travail préliminaire montre qu'il est possible de valoriser un déchet ménager, type écorce de grenade en incorporant son extrait hydro-éthanolique dans un lait fermenté type yaourt pour le valoriser davantage et le rendre plus intéressant du point de vue nutritif, en l'occurrence, en l'enrichissant en polyphénols et en le dotant d'un pouvoir antioxydant intéressant faisant de lui, un aliment bénéfique pour l'organisme et donc fonctionnel.

## Références :

**Ajaikumar KB, Asheef M, Babu BH, Padikkala J (2005).** The inhibition of gastric mucosal injury by *Punica granatum* L. (pomegranate) methanolic extract. *J. Ethnopharmacol.*, 96: 171-176.

**Akhtar, S.; Ismail, T.; Fraternali, D.; Sestili, P. (2015).** Pomegranate peel and peel extracts: Chemistry and food features. *Food Chem.* 174, 417–425. et Foss et al

**ALAIS C.- (1984).** Science du lait : principes des techniques laitières.- 4ème édition, Paris : Edition SEPAIC.-,814p.

**Albrecht, M. Jiang. W Kumi-Diaka ,J. Lansky, E.P.Gommersall ,L.M .et Patel ,A.(2004).** Pomegranate extracts potently suppress proliferation, xeno graft growth, and invasion of human prostate cancer cells. *J Med Food.* Fall;7(3):274-83.

**Al-Yahya, M.A. (2005).** Etudes préliminaires phytochimiques et pharmacologiques de l'écorce de grenade (*Punica granatum* L), *Journal Pakistanais des Sciences biologiques* 8(3) : 479-481, ISSN 1028-8880.

**AL-ZorekyNS., (2009).** Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit peels. *International Journal of Food Microbiology.* 134, 244-248.

**AMARIGLIO S.- (1986).** Lait fermenté, yaourt, lait aromatisé emprésuré, lait gélifié aromatisé In contrôle de la qualité des produits laitiers.- Paris,imp.com.- 2ème trim.-, pp 343-663.

**ANONYME, (1995).**

**ARRÊTÉ INTERMINISTÉRIEL (du 25 janvier 1998) (JORA)** relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées. Ministère du commerce.JORA N°35.Algérie.

**Balasundram N., Sundram K. et Samman S. (2006).** Phenolic compounds in plants and agro-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry.* 99: 191–203.

**Basu ,A. Penugonda , K. (2009).** Pomegranate juice: a heart-healthy fruit juice. *NutrRev.*67(1):49-56.

- Bautista, E. S., R. S. Dahiya, and M. L. Speck. (1966).** Identification of compounds causing symbiotic growth of *Streptococcus thermophiles* and *Lactobacillus bulgaricus* in milk. I. Dairy Res. 33:299-307.
- Belgacem, I.; Schena, L.; Teixidó, N.; Romeo, F.; Ballistreri, G.; Abadias, M.(2020).**Effectiveness of a pomegranate peel extract (PGE) in reducing *Listeria monocytogenes* in vitro and on fresh-cut pear, apple and melon.Eur. Food Res. Technol. 246, 1765–1772.
- Benoit Bock. (2013).** Tela Botanica : Base de données Nomenclature de la flore en France. BDNFF, 4p.
- Benzi F. (1999).** L'histoire des plantes en Méditerranée : art et botanique. Editions actessud ,175 :80-81.
- Beta, T; Nam, S; Dexter, J.E; Sapirstein, H.D. (2005).** Phenolic content and antioxidant activity of pearled ureat and roller – milled fractions, Creal Chem: 2005, pp 390 -393.
- Bracquart, P., D. Lorient, and C. Alias. (1978).** Effects of amino acids and small peptides on the acidification of milk by *Streptococcus thermophilus*. 20thIntl. DairyCongr., ParisE:512-513.
- BRUNET A.P.- (1991).** « Bifidus actif », un progrès dans la fabrication des laits fermentés Th. Méd. Vét., Toulouse,70p.
- BRUNET A. P. (1991).** "Bifidus actif"~ un progrès technologique dans la fabrication des laits fermentés Th. : Méd. Vét. : Toulouse, TOU 3 - 4019.
- Bruneton ,J. (1999).** Phytochimie. Plantes médicinales. Pharmacognosie. 3eme édition, Paris, France. pp : 125165.
- Bruneton J., (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3<sup>ème</sup> éd. Lavoisier, Paris. 1120 p.
- Cacciola, S.O.; Rapisarda, P.; Schena, L. (2017).** Evaluation of a Pomegranate Peel Extract (PGE) as Alternative Mean to Control Olive Anthracnose.Phytopathology. 107, 1462–1467.

**Calin, S. A et Carboneli, B, A. (2005).** La grenade cultivée en Espagne Punica lagine antioxydante du jus de grenade et de l'extrait de grenade dans les l'aliment fonctionnelle du fruit. Livre. Natural ontioxidantgranatum+ et université Miguel Hernandez (EDS), Murcia Espagne, 77p.

**Catherine Béalet Isabelle Sodini (2003).** « Fabrication des yaourts et des laits fermentés » rédigé par Catherine BÉAL, Isabelle SODINI et paru en 2003.

**Cazin ,F.J. (1868).** Traité pratique et raisonné des plantes médicinales indigènes et acclimatées. De l'envol (EDS) 1189 p.

**Championnière J. L. (1850).** Journal de médecine et de chirurgie pratique : à l'usage des mediciens praticiens. Imprimerie de Crapelet (EDS), Paris, 21p.

**Charles et Benbrook, (2005)** Charles M., BenbrookPh.D.(2005). Accroître la teneur en antioxydantsdes aliments grâce à l'agriculture et à latransformation alimentaire biologiques. The Organic Center.p8.

**Charles M., BenbrookPh.D.(2005).** Accroître la teneur en antioxydantsdes aliments grâce à l'agriculture et à latransformation alimentaire biologiques.*TheOrganic Center*.p8.

**Chira et al., (2008).** Chira, K., Suh, J. H., Saucier, C., Teissédre, P. I. (2008). Les polyphénols du raisin. Phytothérapie, 6 : 75-82.

**Chong J., Poutaraud A. et Huguency P. (2009).** Metabolism and roles of stilbenes in plants. Plant Science, 177 : 143–155.

**COURTIN P., MONNET M. and RUL F. (2002).**Cell- wall proteinases PrtS and Prt B have a different role in streptococcus thermophilus / Lactobacillus bulgaricus mixed cultures in milk. Microbiology, 148, 3413 -3421.

**Cowan M.M. (1999).**Plant Products as Antimicrobial Agents.Clinical Microbiology Research. 12 (4), 564-582.

**Curtay, J.P. Jacob, L. Jung, R.R. & Kaplan, M. (2008).**Jus de grenade fermenté, la grenade, "aliment-plus" un nouvel outil puissamment cardiovasculaire et anti-cancer dans l'arsenal de la nutrithérapie. Macro pietteur (EDS), Paris, 73p.

**Debji, B., Harish, G., Pragati Kumar, B., Duraivel, S., Aravind G., Sampath Kumar, K.P. (2013).**Utilisations médicinales de *Punica granatum* et ses bénéfices sur la santé. Journal of pharmacognosy and Phytochemistry, Volume 1 Issue 5, ISSN : 2278-4136.

**DIENG M.- (2001).** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits caillés industriels commercialisés sur le marché Dakarois Th. Méd. Vét., Dakar, n°10 91p.

**Esmailzadeh ,A. Tahbaz, F. Gaieni, I. Alavi-Majd ,H.Azadbakht ,L. (2006).** Cholesterol lowering effect of concentrated pomegranate juice consumption in type II diabetic patients with hyperlipidemia.Int J Vitam NutrRes;76(3):147-51.

**FAO. – (1995).** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine In Alimentation et nutrition.

**Flora von Deutschland, O.W.T. Schweiz, O.U.D. (1885).** Permission granted to use under GFDL by Kurt Stueber Gera. Germany.

**Foss, S.R; Nakamura, C.V; Ueda-Nakamura, T.; Cortez, D.A.; Endo, E.H.; Dias Filho, B.P. (2014).** Antifungal activity of pomegranate peel extract and isolated compound punicalagin against dermatophytes. Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob. 2014, 13, 32.

**Garcia-Salas P., Morales-SotoA. Segura-Carretero A. et Fernández-Gutiérrez A. (2010).** Phenolic-Compound-Extraction Systems for Fruit and Vegetable Samples.Molecules 15: 8813- 8826.

**Geneviene ,M. (2012).**Se soigner avec les jus frais selon l'Ayreda. Revue électronique n°143. Alternative (EDS), 3p.

**Ghedira K. (2005).** Les flavonoïdes : structures, propriétés biologiques, rôles prophylactiques et emplois en thérapeutique. Phytothérapie. 04 : 162-169.

**Hadi ,M. (2004).** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractères pro-oxydants ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Mémoire doctorat, Université Louis Pasteur Strasbourg, p 155.

**Hale A.L, (2003).**Screening Potato Genotypes for Antioxidant Activity, Identification of The Responsible Compounds, and Differentiating Russet Norkotah Strains Using Alp and Microsatellite Marker Analysis. Office of Graduate Studies of Texas AM University.enetics, p. 260.

**Hamdan, I. Y., I. E. Kunsman, and D. D. Deane. (1971).** Acetaldehyde production by combined yogurt cultures. I. DairySci. 54:1080-1082.

**Harrar, A. N. (2012).** Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de Rhamnus alaternus L. Thèse de magister, Université Ferhat Abbas-Setif, P 14.

**Hartman R. E., Shah A., Fagan A. M., Schwetye K. E., Parsadonian M., Schulman R. N., Finn M. B. et Holtzman D. M. (2006).** Pomegranate juice decreases amyloid load and improves behavior in a mouse model of Alzheimer's disease. Neurobiology of Disease, 24 : 506–515.

**Haslam E. (2007).** Review: Vegetable tannins – Lessons of a phytochemical lifetime. Phytochemistry, 68 : 2713–2721.

**Hasmik, H., Wilma, C., Hazeleger-Rijkelt, R., Beumer. (2012).** Inhibition de *Listeria monocytogenes* par l'extrait de l'écorce de grenade (*Punica granatum*) dans la viande à différentes températures. Control des aliments, 23(2012) 66-72.

**Hassan, N.A.; El-Feky, G.S.; Elegami, H.M. (2013).** Antibacterial Activity of Thirty-Two Pomegranate (*Punica granatum L.*) Accessions Growing in Egypt Fruit Peels. World Appl. Sci. J.21, 960–967.

**Hennebelle. T., Sahpaz. S., et Bailleul. (2004).** Polyphénols végétaux. Sources. Utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. Phytothérapie. vol. 2.no (1):36.

**Higashio, K., Y. Yoshioka, and T. Kikuchi. (1977).** Symbiosis in yoghurt culture. 1. Isolation and identification of a growth factor for *S. thermophilus* produced by *L. bulgaricus*. J. Agr. Chem. Soc. Jpn. 51:203-208.

**INRAA. (2006).** Deuxième rapport national sur l'état des ressources phylogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture

**J. Harnett, (2011).** J. Harnett, L. Pearce, in Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition), 2011.

**Jardin alpin, Jardin des plantes de Paris.**(14 juin 2004).

**Jeantet et al, (2008) in Driesse, (1981) ; Béal, (1991).** (Branger, Fabrication de produits alimentaires par fermentation).

**Jeantet Romain et al., (2008).** Les produits laitiers. Tec et Doc. 2 ème édition.185 p.

**JORA. N°86 du 18 Novembre (1998).** (Article 2 Page 22) Arrêté interministériel du 16 jourmadaethania 1419 correspondant au 7 octobre 1998 relatif aux spécifications techniques des yaourts et aux modalités de leurs mises à la consommation.

**LAMONTAGNE M.- (2002).** Produits laitiers fermentés In Science et Technologie du lait : transformation du lait Presses Internationales polytechniques, Canada.-600p.

**Lanskye ,P. Newman , R. A. (2007).** *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. Journal of ethnopharmacology. N°109. 206p.

**Laraoui.H. (2007).** docteur de l'université Louis pasteur "Etude Phytochimique l'Extrait Chloroformique de BupleurumAtlanticum. Universite El HadjLakhdarBatna.

**Leong. L., and Shui .G. (2002).** An investigation of antioxydant capacity of fruits in Singapore markets. Food Chem., vol. 76.No(1):69.

**LEORY F., DEGEEST B. and DE VUYST L. (2002).** A novel area of predictive modeling: describing the functionally of beneficial micro-organisms in foods. International Journal of Food Microbiology, 73, 251-259.

**Li Destri Nicosia, M.G.; Pangallo, S.; Raphael, G.; Romeo, F.V.; Strano, M.C.; Rapisarda, P.; Droby, S.; Schena, L. (2016).** Control of postharvest fungal rots on citrus fruit and sweet cherries using a pomegranate peel extract.PostharvestBiol. Technol.114, 54–61.

**Loones , A.(1994).** Laits fermentés par les bactéries lactiques : Aspects fondamentaux et technologiques. Vol2. De Roissart, H et Luquet, F.M(Ed) ; Lorica , Uriage, 135- 154.

**Lloyd J. U. (1897).***Punica granatum*. The western druggist, Chicago, 9 p.

**LOMPO L., NICULESCU N., BROUTAIN C., (2006).** Démarche d'élaboration d'un guide de bonnes pratiques d'hygiène : Maîtrise de la qualité dans la transformation laitière. – Ouagadougou : GRET44p.- Compte rendu atelier sous régional de restitution.

**Lugasi A., Hovari K., Sagi V., et Biro L. (2004).** Acta Biologica Szegediensis. 119-125.

**Luquet, F. M., Carrieu, G. (2005).** Bactéries lactiques et probiotiques. Collection sciences et techniques agroalimentaires, Ed lavoisier tec et Doc, Paris, Pp 307.

**Li Y., Guo C., Yang J., Wei J., Xu J. and Cheng S. (2006).** Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. Food chem. 96: 254-260.

**Macheix ,J. J .Fleuriet, A et Jay–Allemand , C . (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed Presses polytechnologiques et universitaires romandes. p4-5.

**Madi. A. (2010).** Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. Mémoire de magister. Univ.Mentouri. Constantine.31.

**Malik.A. Afaq,F. Sarfaraz ,S. Adhami, V.M. Syed ,D.N .Mukhtar ,H. (2005).** Pomegranate fruit juice for chemoprevention and chemotherapy of prostate cancer. Proc Natl Acad Sci U S A. 11;102(41):14813-8.

**MARTY-TEYSSET C. DE LA TORRE F. and GAREL J-R. (2000).** Increased production of hydrogen peroxide by lactobacillus delbruekiisspbulgaricus upon aeration: involvement. Applied and Environmental Microbiology, 66(1), 262-267.

**Melgarejo, P. (1993).** Selección y tipificación varietal de granado (*Punica granatum L.*) [Ph.D. thesis] Valencia. Spain : Univ. Politécnica de Valencia (UPV).

**Mompon, B. Lemaire, B. Mengal ,P. et Surbel, D. (1996).** Extraction des polyphénols : du laboratoire à la production industrielle. IN « Polyphénols 96 ». Ed INRA. 31-35.

**Morton J. (1987).** Pomegranate. In: Fruits of warm climates. Miami, Florida. p. 352–355.

**Muna H. AL-Saeed Rasha M. Othman Arwa H. AL-SaeedAL-Qadisiyah Journal of Veterinary Medicine Sciences, (2015), Volume 14, Issue 1, Pages 109-117.**

**Murphy, K.N. (2004).** Study on wound healing activity of *Punica granatum* peel. *J Med Food*. 2004 Summer;7(2):256-9.

**NGOUNOU C., NDJOUENKEU R., MBOFUNG F. et NOUBI I. (2003).** Mise en évidence de la biodisponibilité de calcium et du magnésium au cours de la fermentation du lait par des bactéries lactiques isolées du lait caillé du Zébu. *Journal of Food Engineering*, 57, 301-307.

**Nongonierma, A.B., Springett, M., Le Quéré, J.L., Cayot, P., et Voilley A. (2006).** Flavour release at gas/matrix interfaces of stirred yoghurt models. *International Dairy Journal*, 16 102-110.

**Opara L. U., Al-Ani M. R. & Al-shuaibi Y. S., (2009).** Physico-chemical properties, Vitamin C Content, and Antimicrobial Properties of Pomegranate Fruit (*Punica granatum*L.).*Food Bioprocess Technol* (2009) 2:315-312.

**Orak, H.H.; Yagar, H.; Isbilir, S.S. (2012).** Comparison of antioxidant activities of juice, peel, and seed of pomegranate (*Punica granatum* L.) and inter-relationships with total phenolic, tannin, anthocyanin, and flavonoid contents. *Food Sci. Biotechnol.* 21, 373–387.

**Ozer, B.H., Robinson, R.K., Grandison, A.S., Bell A.E. (1998).** Gelation properties of milk concentrated by different techniques.*International Dairy Journal*, 8, 793-799.

**Paci kora, E. (2004).** Interactions physico-chimiques et sensorielles dans le yaourt brasse aromatisé : quels impacts respectifs sur la perception et de la texture et de la flaveur Thèse de doctorat présentée à l'Institut National Agronomique. Paris. Grignon.Pp205.

**Pangallo, S.; Li Destri Nicosia, M.G.; Agosteo, G.E.; Abdelfattah, A.; Romeo, F.V.; Cacciola, S.O.; Rapisarda, P.; Schena, L. (2017).** Evaluation of a Pomegranate Peel Extract (PGE) as Alternative Mean to Control Olive Anthracnose. *Phytopathology*. 107, 1462–1467.

**Pantuck ,A.J. Leppert. J.T.Zomorodian, N. Aronson ,W.Hong ,J. et Barnard .RJ. (2006).** Phase II study of pomegranate juice for men with rising prostate-specific antigen following surgery or radiation for prostate cancer. *Clin Cancer Res*;12(13):4018-26.

**Pette, J. W., and H. Lolkema. (1950).** Yoghurt. II. Growth stimulating factors for *S. thermophilus*. *Neth. Milk Dairy J.* 4:209-224.

**Prashanth, D et Asha, M.K. (2001).** Antibacterial activity of *Punica granatum*. *Fitoterapia*. 2001. N°72. Pages 171-173.

**Psotová J., Lasovsky J. et Vicar J., (2003).** Metal-Chelating Properties, Electrochemical Behavior, Scavenging and Cytoprotective Activities of Six Natural Phenolics *Biomedical Papers*, Vol. 147, n. 2, p.p. 147-153.

**Rabier, D., and M. J. Desmazeaud. (1973).** Inventaire des différentes activités peptidasiques intracellulaires de *Streptococcus thermophilus*. *Biochimie* 55 :389-404.

**Romeo, F.V.; Ballistreri, G.; Fabroni, S.; Pangallo, S.; Li Destri Nicosia, M.G.; Schena, L. (2015).** Rapisarda, P. Chemical characterization of different sumac and pomegranate extracts effective against *Botrytis cinerea* rots. *Molecules*. 20, 11941–11958.

**Rosenblat, M. Hayek T, Aviram M. (2006).** Anti-oxidative effects of pomegranate juice (PJ) consumption by diabetic patients on serum and on macrophages. *Atherosclerosis*. Aug;187(2):363-71.

**Rongai, D.; Pulcini, P.; Pesce, B.; Milano, F. (2017).** Antifungal activity of pomegranate peel extract against fusarium wilt of tomato. *Eur. J. Plant Pathol.* 147, 229–238.

**Rongai, D.; Pulcini, P.; Pesce, B.; Milano, F. (2015).** Antifungal activity of some botanical extracts on *Fusarium oxysporum*. *Open Life Sci.* 10, 409–41.

**Rongai, D.; Pucci, N. (2016).** Esperienze preliminary sul cont enimento di alcuni batteri fitopatogeni attraverso l'utilizzo del l'estratto di *Punica granatum*. *Atti Giornate Fitopatol.* 2, 311–314. 48.

**Rongai, D.; Sabatini, N.; Pulcini, P.; Di Marco, C.; Storchi, L.; Marrone, A. (2018).** Effect of pomegranate peel extract on shelf life of strawberries: Computational chemistry approaches to assess antifungal mechanisms involved. *J. Food Sci. Technol.* 55, 2702–2711. [CrossRef].

**Rosenblat M, Hayek T, Aviram M. (2012).** HPLC/DAD/ESI-MS analyses and anti-radical activity of hydrolysable tannins from different vegetal species. *Food Chemistry*, 130 (212) 214-221.

**Sarni-Manchado, P. et Cheynier, V. (2006).** Les polyphénols en agroalimentaire.. Ed Lavoisier. p2- 10.

**SCHMIDT J.L., TOURNEUR C. et LENOIR J. (1994).** Fonction et choix des bactéries lactiques laitières in « bactéries lactiques ». Vol II. DE ROISSART H. et LUQUET F.M. Ed. Loriga, paris. 37-46.

**Schubert, S.Y. Lansky, E.P. Neeman ,I. (1999).** Antioxidant and eicosanoid enzyme inhibition properties of pomegranate seed oil and fermented juice flavonoids. *J Ethnopharmacol*;66(1):11-7.

**Seeram ,N.P. Lee, R. Heber, D. (2004).** Bioavailability of ellagic acid in human plasma after consumption of ellagitannins from pomegranate (*Punica granatum L.*) juice. *Clin Chim Acta*;348(1-2):63-8.

**Serra, M., Trujillo, A.J., Guamis, B., Ferragut, V. (2009).** Evaluation of physical proprieties during storage of set and stirred yoghurts made from ultra-high pressure homogenization-treated milk. *Food hydrocolloids*, 23: 82-91.

**SEYDI, Mg., NDIAYE M. (1993).** Acidité et flore microbienne de contamination du lait reconstitué caillé artisanal Sénégalais Dakar Médical, p. 61 - 66.

**Shabtay A., Eitam H., Tadmor Y., Orlov A., Meir A., Weinberg P. (2008).** Nutritive and antioxidative potential of fresh and stored pomegranate industrial by product as a novel beef cattle feed. *Journal of Agricultural and chemistry*, 56 (21), 10063-10070.

**Shahid, I., Saba, H., Mubeena, A., Muhammad, Z-U.H, Jamshed, A. (2008).** Efficacité de l'extrait de l'écorce de Grenadier dans la stabilisation d'huile de Tournesol sous des conditions accélérées. *Recherche international des aliments* 41(2008)-194-200).

**Shankar, P. A., and F. L. Davies. (1978).** Proteinase and peptidase activities of yogurt starter bacteria. *20th Intl. Dairy Congr.*, Paris E: 1467.

**Singh, J., and D. K. Sharma. (1982).** Yoghurt starters in skim milks. 1. Acid and flavour production and proteolytic activity by yoghurt starters. *Cult.Dairy Prod. J.* 17 :22-25.

**Singh, R.; Chidambara Murthy, K.; Jayaprakasha, G. (2002).** Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. *J. Agric. Food Chem.* 50, 81–86.

**Sodini, I. et Beal, C. (2012).** Fabrication des yaourts et laits fermentés. *Techniques de l'Ingénieur (F 6315).* Paris- France : Pp16.

**Spichiger R.E, Savolainen. V. (2004).** Botanique systématique des plantes à fleurs. Une approche phylogénétique nouvelle des Angiosperme des régions tempérées et tropicales. Editions Presses polytechniques et universitaires romandes. Troisième édition. 413 pages.

**Sultana, B., Anwar, F. and Ashraf, M. (2009).** Effect of extraction solvent/ technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules* 14: 2167–2180.

**Table Ciquel (2008).**

**TAMIME A.Y. and ROBINSON R.K. (1999).** Yogurt science and technology. 2nd Ed. Cambridge: woodhead Publishing.

**Tec & doc, (2008).** Les produits laitiers, Paris, Ed. Tec & doc, 2008, 185p.

**Thompsen ,J. C et Mottola, H. A. (1984).** Kinetics of the complexation of iron (II) with ferrozine. *Analytical Chemistry.* 56(4): 755-757.

**VEYSSEYRE R.- (1975).** Technologie du lait. 3<sup>e</sup> édition.- Paris, la Maison Rustique.

**Wald, E. (2009).** Le grenadier *Punica granatum* : Plante historique et évolution thérapeutique récentes. Université Henri Poincare. Thèse. 158p. 714p.