

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE ABDELHAMID IBN BADIS - MOSTAGANEM



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Agronomiques
Spécialité : Sciences et Technologies Alimentaires

THÈSE
PRESENTÉE POUR L'OBTENTION DE DIPLOME DE
DOCTORAT 3^{ème} cycle LMD

Par
M^{elle} ARIQUI Fatiha

THÈME

**Effet de certains additifs alimentaires naturels (pectine, gélatines
et protéines de lactosérum) sur les qualités des laits fermentés**

Soutenue publiquement le : 21/11/2017

Membres de jury

| | | | |
|---------------------------|------------|------------------------------|-------------------------------------|
| Bouderoua Kadour | Professeur | Président | Université de Mostaganem |
| Cheriguene Abderrahim | Professeur | Directeur de thèse | Université de Mostaganem |
| Ait Saada Djamel | MCA | Co-Directeur de thèse | Université de Mostaganem |
| Nemmiche Saïd | MCA | Examineur | Université de Mostaganem |
| Bekada Ahmed Mohammed Ali | Professeur | Examineur | Centre universitaire de Tissemsilet |
| Dilmi Bouras Abdelkader | Professeur | Examineur | Université de Chlef |

Laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition

Année universitaire : 2017/2018

Remerciements

Tout d'abord je remercie Dieu de m'avoir accordé la santé et les moyens de réaliser ce travail.

Je tiens à remercier sincèrement Monsieur Cheriguene A, professeur à l'université de Mostaganem, qui a eu l'amabilité de m'encadrer, ainsi pour sa sympathie, sa disponibilité et surtout ses conseils et orientations lors de toutes les étapes de mon doctorat.

Mes remerciements s'adressent aussi à mon co-directeur de thèse Monsieur Ait Saada D, maître de conférences à l'université de Mostaganem, qui a Co-encadré les recherches engagées au cours de cette thèse. Vous avez su me faire bénéficier de vos expériences et compétence, merci de m'avoir encouragé et surtout pour la confiance que vous avez accordée toute au long de ces années.

Mes sincères remerciements et ma considération s'adressent également à Monsieur Boudroua K, professeur à l'université de Mostaganem, pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider ce jury.

Ma reconnaissance la plus profonde s'adresse à Monsieur Dilmi Bouras AEK, professeur à l'université de Chlef, et à Monsieur Nemmiche Said, maître de conférences à l'université de Mostaganem, de l'honneur qu'ils me font en acceptant de faire partie du jury comme examinateurs. J'inscris mes remerciements les plus profonds et les plus sincères à Monsieur Bekada AMA, professeur au centre universitaire de Tissemsilet, d'avoir accepté de juger cette thèse. Je tiens à les remercier pour l'intérêt qu'ils ont accordé à la lecture de ce manuscrit et leur exprimer ma profonde gratitude.

Je n'oublie pas mes amis thésards.

J'exprime mon immense gratitude à toute ma famille.

Enfin, je salue et je remercie toute les personnes qui m'ont aidé.



Dédicaces

Je dédie ce travail

A la mémoire de mon père et je prie ALLAH

de lui accorder sa miséricorde et de l'admettre au paradis.

A ma mère

A mes frères et sœurs et mes belles sœurs

A mes neveux et nièces

A ceux qui de près ou de loin ont contribué

à la réussite de ce travail.

Résumé

L'étude expérimentale a porté sur l'extraction de la pectine, les protéines de lactosérum et la gélatine, et l'évaluation de ses propriétés techno-fonctionnelles. Une approche intégrée physico-chimique, microbiologique et sensorielles a été mis en œuvre pour étudier l'effet d'incorporation de ces additifs alimentaire naturel dans la matrice du lait fermenté type yaourt étuvé, en vue d'étudier la stabilité du produit au cours des périodes de fermentation et de post-acidification sur une durée de 21 jours sous froids positifs à 4°C. La pectine a été extraite dans une solution d'HCl chaude, une thermo-précipitation a été procédé pour l'obtention des protéines de lactosérum alors que la gélatine a été extraite par hydrolyse du collagène à partir d'ossein de bovin. Ensuite, les laits fermentés ont été préparés en faisant varier la concentration de l'additif incorporé. Les mesures et contrôle effectuées périodiquement sur les essais expérimentaux ont porté sur l'acidité, le pH, la viscosité, le dénombrement de *Streptococcus thermophilus*, la cohésivité, l'adhésivité, le goût, arrière-goût, exsudation de lactosérum et l'odeur. Il ressort des résultats obtenus, que l'acidité, la viscosité et le nombre de *Streptococcus thermophilus* augmentent avec l'accroissement de la concentration d'additif ajouté dans les essais expérimentaux. En effet, il apparait claire que la qualité organoleptiques des laits fermentés et l'aptitude à la conservation sont d'autant plus améliorées que le taux d'incorporation est élevé. Les produits ont accusé un goût meilleur et une texture plus ferme limitant même l'exsudation de lactosérum.

Mots clés : laits fermentés, pectine, gélatine, protéines de lactosérum, qualité, conservation, valorisation, *Citrus sinensis*.

Abstract

The experimental study relates to the extraction of pectin, whey protein and gelatin and understand their functional properties. Microbiological, physicochemical and sensory approach integrated has been implanted to study the effect of the incorporation of these natural food additives in the matrix of a fermented milk type set yogurt, to study the stability of the product during the periods of fermentation and post-acidification over a period of 21 days at 4°C. Pectin was extracted in hot HCl solution. Thermo-precipitation was carried out to obtain the whey proteins while the gelatin was extracted by hydrolysis of the collagen from bovine ossein. The fermented milk were prepared by varying the concentration of the incorporated additives. The measures and controls carried performed periodically on fermented milks experimental tests were carried out: pH, acidity, viscosity, the enumeration of *Streptococcus thermophilus*, cohesiveness, adhesiveness, taste, aftertaste, whey exudation and odor. It appears that the acidity, viscosity and number of *Streptococcus thermophilus* increased with increasing concentration of additive added in the experimental tests. Indeed, it seems clear that the quality of fermented milks and storability is more improved than the incorporation rate is high. The products showed a better test and a firmer texture limiting the whey exudation.

Keywords: fermented milks, pectin, gelatin, whey proteins, functional properties, quality, conservation, and valorization, *Citrus sinensis*.

الملخص

ركزت الدراسة التجريبية على استخراج البكتين، بروتين مصّل الحليب والجيلاتين وتقييم خصائصها الوظيفية، تم استخدام منهج فيزيوكيميائي، ميكروبيولوجي وحسي لدراسة تأثير دمج هذه المضافات الغذائية الطبيعية في تركيب الحليب المخمر من أجل دراسة استقرار المنتج خلال فترة التخمر وما بعد التخمر لمدة 21 يوم تحت درجة حرارة 4 م°. تم استخراج البكتين في محلول حمض HCl الساخن. كما تم إجراء ترسيب حراري للحصول على بروتينات مصّل الحليب في حين تم استخراج الجيلاتين من خلال تحليل الكولاجين الموجود في العظم البقري. بعد ذلك تم اعداد الحليب المخمر وذلك بتغيير تركيز المادة المضافة. شملت القياسات والاختبارات التي أجريت بشكل دوري على الاختبارات التجريبية ما يلي: الحموضة، اللزوجة، عدد *Streptococcus thermophilus*، التماسك، الالتصاق، المذاق، مصّل الحليب المطروح والرائحة. يتبين من خلال النتائج المحصل عليها زيادة في الحموضة، في اللزوجة وفي عدد *thermophilus Streptococcus* مع زيادة تركيز المادة المضافة في الاختبارات التجريبية. وعليه فإن الجودة الحسية للحليب المخمر والقدرة على الحفظ تحسنت أكثر مع زيادة تركيز المادة المضافة. كما أظهرت المنتجات طعم أفضل ونسيج أكثر تماسكا مما قلل من كمية مصّل الحليب المطروحة.

الكلمات المفتاحية: الحليب المخمر، بكتين، جيلاتين، بروتين مصّل الحليب، الخصائص الوظيفية، الجودة، التخزين، التثمين.

Table des matières

| | |
|--|-----------|
| Introduction | 1 |
| Partie 1. Etude bibliographique | 5 |
| Chapitre I. Yaourts..... | 5 |
| 1. Définition | 5 |
| 2. Matières premières du yaourt | 5 |
| 3. Intérêts nutritionnels du yaourt | 7 |
| 4. Technologie de fabrication des yaourts..... | 8 |
| 5. Accidents de fabrication..... | 13 |
| Chapitre II. Généralités sur les additifs alimentaires naturels | 18 |
| 1. Définition et classification | 18 |
| 2. Pectine | 20 |
| 3. Gélatine | 24 |
| 4. Protéines de lactosérum..... | 29 |
| Conclusion | 36 |
| Partie 2. Partie expérimentale | 39 |
| 1. Objectifs | 39 |
| 2. Intérêt de l'étude | 40 |
| 3. Matériels | 41 |
| 4. Méthodologie | 42 |
| 4.1. Procédé d'extraction de la pectine | 42 |
| 4.2. Procédé d'extraction de la gélatine | 43 |
| 4.3. Procédé d'extraction des protéines de lactosérum | 44 |
| 4.4. Préparation des levains | 45 |
| 4.5. Procédé de fabrication des yaourts expérimentaux | 46 |
| 5. Mesures et contrôles : | 48 |
| 5.1. Caractérisation de la pectine | 48 |
| 5.1.1. Humidité et cendre..... | 48 |
| 5.1.2. Détermination du poids équivalent..... | 48 |
| 5.1.3. Teneur en méthoxyle | 48 |
| 5.1.4. Teneur en acide galacturonique | 49 |
| 5.1.5. Degré d'estérification | 49 |
| 5.2. Propriétés techno-fonctionnelles de la gélatine..... | 49 |
| 5.2.1. Solubilité..... | 49 |
| 5.2.2. Pouvoir moussant | 50 |
| 5.2.3. Pouvoir émulsifiant | 51 |

| | |
|---|-----------|
| 5.2.4. Détermination du pH de la gélatine..... | 52 |
| 5.2.5. Détermination de la teneur en cendre et humidité..... | 52 |
| 5.3. Propriétés techno-fonctionnelles des protéines de lactosérum..... | 52 |
| 5.3.1. Solubilité..... | 52 |
| 5.3.2. Pouvoir moussant | 53 |
| 5.3.3. Pouvoir émulsifiant | 53 |
| 4.6.4. Teneur en cendre et humidité | 54 |
| 5.4. Analyses physicochimiques et microbiologiques | 55 |
| 5.4.1. Analyses physicochimiques | 55 |
| 5.4.1.1. pH et acidité..... | 55 |
| 5.4.1.2. Viscosité | 55 |
| 5.4.2. Analyses microbiologiques | 55 |
| 5.5. Test organoleptique | 56 |
| 6. Traitement statistique..... | 57 |
| Partie 3 : Résultats et discussion | 60 |
| Chapitre I. Essai d'incorporation de la pectine d'écorces de <i>Citrus sinensis</i> dans la fabrication d'un lait fermenté type yaourt ferme | 60 |
| 1. Résultats | 60 |
| 1.1. Caractéristique de la pectine..... | 60 |
| 1.2. Qualité physicochimique des laits fermentés additionnés de pectine..... | 61 |
| 1.2.1. pH | 61 |
| 1.2.2. Acidité | 62 |
| 1.2.3. Viscosité | 63 |
| 1.3. Qualité microbiologique des laits fermentés supplémentés de pectine | 64 |
| 1.3.1. <i>Streptococcus thermophilus</i> | 64 |
| 1.3.2. <i>Lactobacillus bulgaricus</i> | 66 |
| 1.4. Qualité organoleptique des laits fermentés supplémentés de pectine | 67 |
| 1.4.1. Goût | 67 |
| 1.4.2. Cohésivité | 68 |
| 1.4.3. Adhésivité | 68 |
| 1.4.4. Arrière-goût | 69 |
| 1.4.5. Exsudation du lactosérum | 70 |
| 2. Discussion | 71 |
| 2.1. Caractéristiques chimiques et techno fonctionnelles..... | 71 |
| 2.2. Qualités des yaourts additionnés de la pectine | 75 |
| Conclusion | 80 |

Chapitre 2 : Essai de valorisation des protéines de lactosérum dans la fabrication d'un lait fermenté type yaourt étuvé..... 82

1. Résultats..... 82

1.1. Composition chimique et propriétés techno-fonctionnels des protéines de lactosérum 82

1.1.1. Teneur en cendre et humidité 82

1.1.2. Solubilité..... 82

1.1.3. Pouvoir moussant 83

1.1.4. Pouvoir émulsifiant 83

1.2. Qualité physicochimique 84

1.2.1. pH 84

1.2.2. Evolution de l'acidité lactique 85

1.2.3. Evolution de la viscosité..... 88

1.3. Qualité microbiologique..... 90

1.4. Qualité organoleptiques..... 91

1.4.1. Cohésivité 91

1.4.2. Adhésivité..... 92

1.4.3. Goût 93

1.4.4. Arrière-goût 94

1.4.5. Exsudation de lactosérum..... 95

1.4.6. Odeur 95

2. Discussion 97

2.1. Caractérisation des protéines de lactosérum 97

2.2. Qualité des yaourts additionnés des protéines de lactosérum 99

Conclusion.....104

Chapitre 3 : Propriétés techno-fonctionnelles de la gélatine d'os de bovin et impact sur la qualité d'un yaourt étuvé 106

1. Résultats..... 106

1.1. Caractéristique et propriétés fonctionnelles de la gélatine..... 106

1.1.1. Rendement..... 106

1.1.2. Teneur en cendre et humidité 106

1.1.3. pH de gélatine..... 106

1.1.4. Solubilité..... 106

1.1.5. Pouvoir moussant 110

1.1.6. Pouvoir émulsifiant 110

1.2. Propriétés physicochimiques et microbiologique des yaourts additionnés de gélatine 111

1.2.1. pH 111

| | |
|---|------------|
| 1.2.2. Acidité | 113 |
| 1.2.3. Viscosité | 114 |
| 1.2.4. <i>Streptococcus thermophilus</i> | 116 |
| 1.3. Qualité organoleptique des yaourts additionnés de gélatine | 118 |
| 1.3.1. Acidité | 118 |
| 1.3.2. Adhésivité..... | 119 |
| 1.3.3. Cohésivité | 120 |
| 1.3.4. Odeur | 122 |
| 1.3.5. Arrière-goût | 122 |
| 2. Discussion | 123 |
| 2.1. Propriétés fonctionnelles de la gélatine..... | 123 |
| 2.2. Qualité des yaourts additionnés de gélatine | 129 |
| Conclusion | 137 |
| Conclusion générale..... | 139 |
| Références bibliographiques..... | 142 |
| Annexe..... | 159 |

Liste des abréviations

| | | |
|-------------|---|--------------------------------------|
| St. | : | <i>Streptococcus</i> |
| Lb. | : | <i>Lactobacillus</i> |
| HG | : | Homogalacturonane |
| RGI | : | Rhamnogalacturonane I |
| RGII | : | Rhamnogalacturonane II |
| XGA | : | Xylogalacturonane |
| BSA | : | Sérum albumine bovine |
| DM | : | Degré de méthylation |
| R | : | Rendement |
| MeO | : | Méthoxyle |
| AGU | : | Acide galacturonique |
| DE | : | Degré d'estérification |
| EM | : | Expansion de la mousse |
| SM | : | Stabilité de la mousse |
| ISE | : | Indice de la stabilité de l'émulsion |
| ICE | : | Indice de la capacité émulsifiante |
| t | : | Temps |
| GB | : | Gélatine d'os de bovin |
| GC | : | Gélatine commerciale |
| P | : | Poids |

Liste des figures

| | |
|---|-----|
| Figure 01. Diagramme de fabrication des yogourts..... | 10 |
| Figure 02. Structure de base de la pectine..... | 22 |
| Figure 03. Voies possibles de la conversion du collagène en gélatine..... | 26 |
| Figure 04. Diagramme de fabrication de la pectine..... | 42 |
| Figure 05. Procédés d'extraction de la gélatine des os de bovin..... | 43 |
| Figure 06. Diagramme d'extraction des protéines de lactosérum parthermo-précipitation..... | 45 |
| Figure 07. Etapes de la préparation de levain lactique..... | 46 |
| Figure 08. Evolution des teneurs moyennes en viscosité (Pas) des laits fermentés expérimentaux au cours des périodes de fermentation et de post-acidification..... | 63 |
| Figure 09. Variations du nombre de <i>Streptococcus thermophilus</i> (UFC/mL) des yaourts additionnés de la pectine..... | 65 |
| Figure 10. Variations du nombre de <i>Lactobacillus bulgaricus</i> (10^5 UFC/ml) des laits fermentés additionnés de la pectine..... | 66 |
| Figure 11. Evolution moyenne du pH des laits fermentés additionnés de protéines de lactosérum..... | 85 |
| Figure 12. Evolution moyenne de l'acidité titrable (°D) des laits fermentés additionnés de protéines de lactosérum..... | 87 |
| Figure 13. Evolution moyenne de la viscosité (Pas) des laits fermentés additionnés de protéines de lactosérum..... | 87 |
| Figure 14. Evolution moyenne du nombre de <i>Streptococcus thermophilus</i> des laits fermentés additionnés de protéines de lactosérum..... | 90 |
| Figure 15. pH de la gélatine bovine et la gélatine commerciale..... | 107 |
| Figure 16. Solubilité relative (%) des gélatines à différents pH..... | 108 |
| Figure 17. Solubilité relative (%) des gélatines à différentes concentrations de NaCl..... | 109 |
| Figure 18. Evolution moyenne de la viscosité (Pas) des laits fermentés additionnés de gélatine..... | 115 |
| Figure 19. Evolution du nombre de <i>Streptococcus thermophilus</i> des laits fermentés additionnés de gélatine..... | 117 |

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau 01. Composition chimique moyenne du lait de vache..... | 06 |
| Tableau 02. Valeur nutritionnelle moyenne des yaourts..... | 08 |
| Tableau 03. Principale altérations du yaourt..... | 14 |
| Tableau 04. Classification des additifs alimentaires selon leurs catégories..... | 19 |
| Tableau 05. Composition moyenne des lactosérums doux et acide..... | 29 |
| Tableau 06. Caractéristique de la pectine d'écorce de <i>Citrus sinensis</i> et la pectine commerciale..... | 60 |
| Tableau 07. Evolution des teneurs moyennes en pH des yaourts additionnés de pectine.... | 61 |
| Tableau 08. Evolution de l'acidité Dornic des yaourts additionnés de pectine..... | 62 |
| Tableau 09. Evolution de la viscosité des yaourts additionnés de pectine..... | 64 |
| Tableau 10. Evaluation sensorielle du goût (Sommes des Rangs) des laits fermentés additionnés de pectine au cours de la période de post-acidification..... | 67 |
| Tableau 11. Evaluation sensorielle de la cohésivité (sommets de rangs) des laits fermentés additionnés de pectine au cours de la période de post-acidification..... | 68 |
| Tableau 12. Evaluation sensorielle de l'adhésivité (sommets de rangs) des laits fermentés additionnés de pectine au cours de la période de post-acidification..... | 69 |
| Tableau 13. Evaluation sensorielle de l'arrière-goût (Sommes de rangs) des laits fermentés additionnés de pectine au cours de la période de post-acidification..... | 69 |
| Tableau 14. Evaluation sensorielle de l'exsudation du lactosérum (sommets de rangs) des laits fermentés additionnés de pectine au cours de la période de post-acidification..... | 70 |
| Tableau 15. Teneur en cendre et humidité des protéines de lactosérum et de la sérum albumine bovine..... | 82 |
| Tableau 16. Solubilité (%)des protéines de lactosérum et du sérum albumine bovine..... | 82 |
| Tableau 17. Expansion de la mousse (%) et Stabilité de la mousse (%) des protéines de lactosérum et du sérum albumine bovine..... | 83 |
| Tableau 18. Indice de la capacité émulsifiante (m^2/g) et de la stabilité de l'émulsion (min) des protéines de lactosérum et de la sérum albumine bovine à différents pH du milieu..... | 84 |
| Tableau 19. Evolution du pH des laits fermentés additionnés de protéines de lactosérum..... | 86 |
| Tableau 20. Evolution de l'acidité des laits fermentés additionnés de protéines de lactosérum..... | 88 |

| | |
|--|-----|
| Tableau 21. Evolution de la viscosité des laits fermentés additionnés de protéines de lactosérum. de protéines de lactosérum..... | 89 |
| Tableau 22. Evolution du nombre de <i>Streptococcus thermophilus</i> des laits fermentés additionnés de protéines de lactosérum..... | 91 |
| Tableau 23. Evolution sensorielle de la cohésivité (somme des rangs) des laits fermentés additionnés de protéines de lactosérum..... | 92 |
| Tableau 24. Evolution sensorielle de l'adhésivité (somme des rangs) des laits fermentés additionnés de protéines de lactosérum..... | 93 |
| Tableau 25. Evolution sensorielle du goût (somme des rangs) des laits fermentés additionnés de protéines de lactosérum..... | 94 |
| Tableau 26. Evolution sensorielle de l'arrière-goût (somme des rangs) des laits fermentés additionnés de protéines de lactosérum..... | 95 |
| Tableau 27. Evolution sensorielle de l'exsudation de lactosérum (somme des rangs) des laits fermentés additionnés de protéines de lactosérum..... | 96 |
| Tableau 28. Evolution sensorielle de l'odeur (somme des rangs) des laits fermentés additionnés de protéines de lactosérum..... | 96 |
| Tableau 29. Teneur en cendre et humidité des gélatines..... | 106 |
| Tableau 30. Solubilité (mg) des gélatines à différents pH..... | 107 |
| Tableau 31. Solubilité (mg) des gélatines à différentes concentration de NaCl..... | 109 |
| Tableau 32. Expansion de la mousse (%) et Stabilité de la mousse (%) des gélatines..... | 110 |
| Tableau 33. Indice de capacité émulsifiante (m^2/g) et l'indice de stabilité de l'émulsion (min) à différents concentration de la gélatine..... | 111 |
| Tableau 34. Evolution du pH des yaourts additionnés de gélatine..... | 112 |
| Tableau 35. Evolution de l'acidité($^{\circ}D$) des laits fermentés additionnés de gélatine..... | 113 |
| Tableau 36. Evolution de la viscosité (Pas) des laits fermentés additionnés de gélatine..... | 116 |
| Tableau 37. Evolution du nombre de <i>Streptococcus thermophilus</i> (UFC/ml) des laits fermentés additionnés de gélatine..... | 118 |
| Tableau 38. Evolution de l'acidité(sommes des rangs) des yaourts additionnés de gélatine... | 119 |
| Tableau 39. Evolution de l'adhésivité(sommes des rangs) des yaourts additionnés de gélatine..... | 120 |
| Tableau 40. Evolution de la cohésivité(sommes des rangs) des yaourts additionnés de gélatine..... | 121 |
| Tableau 41. Evolution de l'odeur (sommes des rangs) des yaourts additionnés de gélatine... | 121 |
| Tableau 42. Evolution de l'arrière-goût (sommes des rangs) des yaourts additionnés de gélatine..... | 122 |

Introduction

Le yaourt est le lait fermenté le plus consommé de par le monde grâce à ses propriétés organoleptiques et nutritionnelles très recherchées (Loveday et *al.*, 2013 ; Sahan et *al.*, 2008). Il est obtenu par la fermentation lactique du lait grâce à l'action des deux seules souches spécifiques: *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* (Kumar et Mishra, 2004; Sokolinska et *al.*, 2004). Les vertus santé de ce produit, l'éventail de saveurs ainsi que l'arrivée de yogourts enrichis en probiotiques sont responsables de l'augmentation de sa consommation. Néanmoins, les principaux défauts de ce produit fermenté demeurent soit la fermeté inadéquate du gel, les variations de viscosité et l'expulsion du lactosérum : la synérèse (Keogh et O'Kennedy, 1998 ; Lucey et *al.*, 1998).

La dynamique du marché des denrées alimentaires oblige les industriels à formuler constamment de nouveaux produits surtout les produits laitiers fermentés (yaourt) dont la consommation a connu une croissance très importante. Cette croissance est due aux progrès technologiques, qui ont permis d'améliorer les aspects spécifiques de ces produits par l'utilisation d'ingrédients tels que des agents de textures, des épaississants ou encore des gélifiants (Kar et Arslan, 1999).

En industrie alimentaire, il est d'usage d'ajouter aux mélanges à yogourt des agents stabilisants. Ces derniers ont pour but d'améliorer et de maintenir les caractéristiques désirées du produit final telles qu'une certaine fermeté, viscosité ou consistance, une texture adéquate et une sensation en bouche agréable. Les stabilisants généralement employés sont la pectine, la gélatine ainsi que les protéines de lactosérum (Sodini et *al.*, 2004). Dépendant de leurs propriétés fonctionnelles et leurs concentrations, ils peuvent gélifier ou accroître la viscosité du gel. Par conséquent, ils contribuent à limiter la synérèse et à donner une texture lisse.

La pectine est une macromolécule principalement extraite à partir de marcs de pommes et d'écorces d'agrumes. Elle occupe une place de choix dans de nombreuses applications, à la fois pour son image de produit naturel, pour ses propriétés nutritionnelles et surtout pour ses propriétés fonctionnelles (Mesbahi et *al.*, 2005 ; Combo et *al.*, 2011). Les protéines de lactosérum présentent un intérêt nutritionnel mais aussi techno-fonctionnels de par leurs propriétés gélifiantes et inter-faciale (émulsifiantes, moussantes). L'exploitation industrielle et commerciale de ces propriétés est née au départ de la volonté de valoriser les coproduits

notamment ceux issus de la fromagerie (lactosérum) (Jeantet et *al.*, 2008). La gélatine a depuis longtemps attiré l'attention des chercheurs comme source de protéine, stabilisant et améliorant des propriétés rhéologiques des produits alimentaires. C'est une protéine d'origine animale, obtenue par hydrolyse partielle de collagène contenue dans les os et la peau des animaux. Son utilisation est retrouvée aujourd'hui dans plusieurs domaines d'intérêts : industrie agro-alimentaires, pharmaceutiques, cosmétiques et photographiques (Schirber et Gareis, 2007).

Les objectifs de notre travail sont tout d'abord orientés à extraire certains additifs alimentaires naturels à savoir la pectine, la gélatine et les protéines de lactosérum. Nous envisageons ensuite leur incorporation dans un lait fermenté type yaourt étuvé afin de suivre leurs effets sur la qualité physicochimique, microbiologique et organoleptique des yaourts expérimentaux au cours de la période de fermentation et pendant la période de conservation à 4°C.

Partie 1. Etude bibliographique

Chapitre I. Yaourts

1. Définition

D'après le *codex alimentarius*, le yaourt est un produit laitier coagulé obtenu par la fermentation lactique grâce à l'action de *Lactobacillus delbruekii* sous espèce *bulgaricus* (*Lb. bulgaricus*) et de *Streptococcus salivarius* sous espèce *thermophilus* (*St. thermophilus*) à partir du lait frais que du lait pasteurisé (ou concentré, partiellement écrémé, enrichi en extrait sec) avec ou sans addition de substances (lait en poudre, poudre de lait écrémé, les protéines de lactosérum concentrés ou non, la caséine alimentaire...etc.). Les microorganismes du produit final doivent être viables et abondants (Vignola et al., 2002).

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

Le yaourt ou yoghourt résulte donc de la fermentation du lait par deux bactéries thermophiles : *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* (anciennement dénommés *Streptococcus thermophilus*), et *Lactobacillus delbruekii* subsp. *bulgaricus* (anciennement dénommés *Lactobacillus bulgaricus*). La fermentation conduit à la prise en masse du lait. Le coagulum obtenu est ferme, sans exsudation de lactosérum. Il peut être consommé en l'état ou après brassage lui donnant ainsi une consistance crémeuse ou liquide (Fredot, 2005).

2. Matières premières du yaourt

La principale matière première pour la fabrication des yaourts est le lait dont, pour l'essentiel, le lait de vache. Il est constitué d'environ 88% d'eau et de 12% de la matière sèche totale contenant des glucides, des protéines, des lipides et des minéraux (Jeantet et al., 2008). La composition chimique moyenne du lait est rapportée dans le Tableau 01.

Les constituants les plus abondants, après l'eau, sont les glucides essentiellement représentés par le lactose. Les principaux constituants protéiques sont les caséines. La β -lactalbumine est la protéine sérique la plus dominante (Vilain, 2010).

Une teneur faible en solides totaux peut causer une synérèse dans le produit fini qui se définit par une séparation entre le sérum et la structure solide, causant une accumulation de liquide à la surface du gel (Vignola et *al.*, 2002).

**Tableau 01. Composition chimique moyenne du lait de vache
(Tamime et Robinson, 1999)**

| Constituants | Teneurs (g/l) |
|---------------------------|----------------------|
| Eau | 874 |
| Glucides (lactose) | 48 |
| Matière grasses | 39 |
| Matière azotées | 32 |
| -Caséines | 26 |
| -Protéines sériques | 5 |
| -Azote non protéique | 1 |
| Minéraux | 7 |
| -Calcium | 1.2 |
| -Phosphore | 0.9 |
| -Potassium | 1.4 |
| Oligo-éléments | Traces |

Afin d'augmenter la viscosité apparente et la consistance des yaourts, la teneur en matière sèche du lait utilisé est augmentée au préalable jusqu'à 14 à 16% après concentration (par évaporation ou osmose inverse) ou, plus fréquemment, par addition de poudre de lait écrémé ou de protéines de lactosérum (Mahaut et *al.*, 2000).

Des agents de texture (épaississants ou gélifiants) sont aussi souvent ajoutés. Ils améliorent l'apparence, la viscosité et la consistance des yaourts. Les additifs les plus fréquemment utilisés sont : la gélatine, les alginates, les celluloses, les amidons et les pectines. Leurs concentrations sont déterminées en fonction de leur pouvoir épaississant et

leur pouvoir gélifiant. Dans certains cas, la réglementation fixe la quantité maximale autorisée (Vignola *et al.*, 2002).

3. Intérêts nutritionnels du yaourt

Les valeurs nutritionnelles du lait sont tout à fait transposables au yaourt. En effet, le yaourt concentre les qualités nutritionnelles du lait auxquelles s'ajoutent les propriétés apportées par les ferments lactiques. Plusieurs facteurs interviennent dans la composition finale de yaourt :

- les souches utilisées pour la fermentation du lait,
- la nature du lait utilisé (entier, demi-écrémé ou écrémé),
- l'ajout éventuel d'ingrédients qui intervient sur la composition des produits (sucres, arômes, fruits...),
- et les procédés de fabrication (température, durée de fermentation...).

Grâce à sa haute teneur en eau de plus de 80%, le yaourt est un aliment hydratant. Il contient du lactose qui est la source de carbone majoritaire. Pendant la fermentation, ce disaccharide est hydrolysé par la β -galactosidase bactérienne en glucose et galactose (Hutkins *et al.*, 1985 ; Zourari *et al.*, 1992). Le lactose et l'acide lactique peuvent avoir un rôle laxatif léger : en effet, en favorisant le développement des *Lactobacillus* dans l'intestin, ils diminuent la putréfaction intestinale et la constipation. De plus, la flore du yaourt survie au passage stomacal. Ainsi, les bactéries spécifiques du yaourt peuvent exercer une activité lactasique dans l'intestin qui peut pallier aux insuffisances souvent constatées en cet enzyme chez les adultes (Fredot, 2005).

Le yaourt est aussi une source de protéines avec environ 5 g de protéines par pot. Cette valeur est supérieure à la teneur en protéines du lait, suite à l'ajout de poudre de lait écrémé lors de la fabrication du yaourt. De plus les caséines et les protéines du lactosérum du yaourt constituent une source intéressante d'acides aminés assimilables car ces protéines sont plus digestibles que celles du lait suite à leur légère hydrolyse par les bactéries lactiques au cours de la transformation technologique (Thomas et Pritchard, 1987 ; Oberg et Obata., 1991 ; Zourari *et al.*, 1992).

La quantité de calcium est plus importante dans les yaourts par rapport au lait en raison de l'augmentation de l'extrait sec totale au terme de la fabrication. L'acidification par l'acide lactique du yaourt provoque une solubilisation du calcium dans le milieu qui sera alors mieux

assimilé (Fredot, 2005).Le Tableau 02 représente la valeur nutritionnelle moyenne des différents types de yaourts.

Tableau 02.Valeur nutritionnelle moyenne des yaourts(Fredot, 2005).

| | Protéines (g/100g) | Lipides (g/100g) | Glucides (g/100g) | Calcium (mg/100g) | Valeur énergétique (/100g) | |
|-------------------------------------|-----------------------|---------------------|----------------------|----------------------|-------------------------------|------|
| | | | | | kJ | kcal |
| Yaourt nature au lait entier | 4 | 3.5 | 5 | 150 | 300 | 70 |
| Yaourt nature maigre | 4 | - | 5 | 150 | 200 | 50 |
| Yaourt aux fruits | 4 | Variables | 18 | 130 | 500 | 100 |
| Yaourt aromatisé | 4 | Variables | 14 | 150 | 350 | 85 |
| Yaourt à boire sucré | 3 | 1.55 | 14 | 110 | 320 | 75 |

4. Technologie de fabrication des yaourts

Les procédés de fabrication du yaourt se caractérisent par trois étapes : la préparation du lait, la fermentation et les traitements post fermentaire du produit. Le diagramme de production diffère selon le type de produit : yaourt ferme ou brassé (Vignola et *al.*, 2002). La Figure 01 montre qu'il existe deux types de yaourts.

En technologie, trois types de yaourts, différent selon la consistance du gel formé :

- le yaourt ferme ou traditionnel, dont la fermentation se fait après conditionnement en pots,
- le yaourt brassé, dont la fermentation se fait en cuve, le coagulum obtenu est alors brassé pour être rendu plus ou moins visqueux puis conditionné en pots,
- et le yaourt à boire dont la texture est liquide.

La fabrication de ces types de yaourts peut être réalisée soit à partir de lait entier, ou de lait partiellement ou totalement écrémé.

4.1. Préparation et traitement

La teneur en matière sèche du lait mis en œuvre dans la fabrication du yaourt est un facteur important, car elle conditionne la viscosité et la consistance du produit. Les différents constituants du lait ont un impact considérable sur la qualité du yaourt.

Les protéines ont un rôle déterminant sur la structure et la texture du yaourt ; alors que la matière grasse et les glucides contribuent à l'onctuosité et à masquer l'acidité du produit. La teneur en matière grasse est ajustée en fonction des produits de 0.5 à 3.5%, et celle de l'extrait sec dégraissé à environ 14% (dont 5% de protéines). L'enrichissement est réalisé par concentration (évaporation ou osmose inverse) ou plus fréquemment par addition de poudre de lait écrémé ou de protéines de lactosérum à des doses variant de 1 à 3%. Le poudrage, effectué à 40°C environ pour une bonne réhydratation des poudres, est également suivi d'une étape de filtration (Jeantet et *al.*, 2008).

Le lactose, substrat des bactéries lactiques lors de la fermentation, est essentiel à la croissance bactérienne. Ce sucre simple est transformé en acide lactique et autres composés volatiles. Par conséquent, il influence la coagulation du caillé, l'aptitude du gel à la synérèse et la flaveur caractéristique du yaourt (Croguennec et *al.*, 2008).

L'autre paramètre qui influence la consistance du yaourt c'est la pasteurisation qui vise d'une manière générale à détruire les microorganismes pathogènes susceptibles de croître dans le lait ainsi que l'inactivation des enzymes telles que la lipase. Cette étape influence la texture, la coloration (réaction de Maillard) ainsi que le goût du produit fini (goût de cuit). Le traitement thermique a pour but aussi de dénaturer une partie importante des protéines solubles, ce qui a pour conséquence d'augmenter la capacité de rétention d'eau du yaourt et de permettre à ces protéines de se fixer sur les caséines. De point de vue technologique, l'application d'un traitement thermique intense permet de dénaturer graduellement les protéines du lactosérum. Le changement de conformation induit permet l'exposition du groupement thiol libre de la β -lactoglobuline, protéine majeure du lactosérum. La stabilisation du réseau caséique est réalisée grâce à l'association de la κ -caséine avec la β -lactoglobuline via un pont disulfure (Sava et *al.*, 2005). Ces interactions covalentes protéines-caséines augmentent la consistance et la viscosité du yaourt. Une dénaturation maximale de la β -lactoglobuline (> 99%) est recherchée pour l'obtention d'un yogourt aux caractéristiques désirées. D'autres liaisons sont également engendrées telles que les interactions entre l' α -lactalbumine et les caséines (Corredig et Dalgleish, 1999).

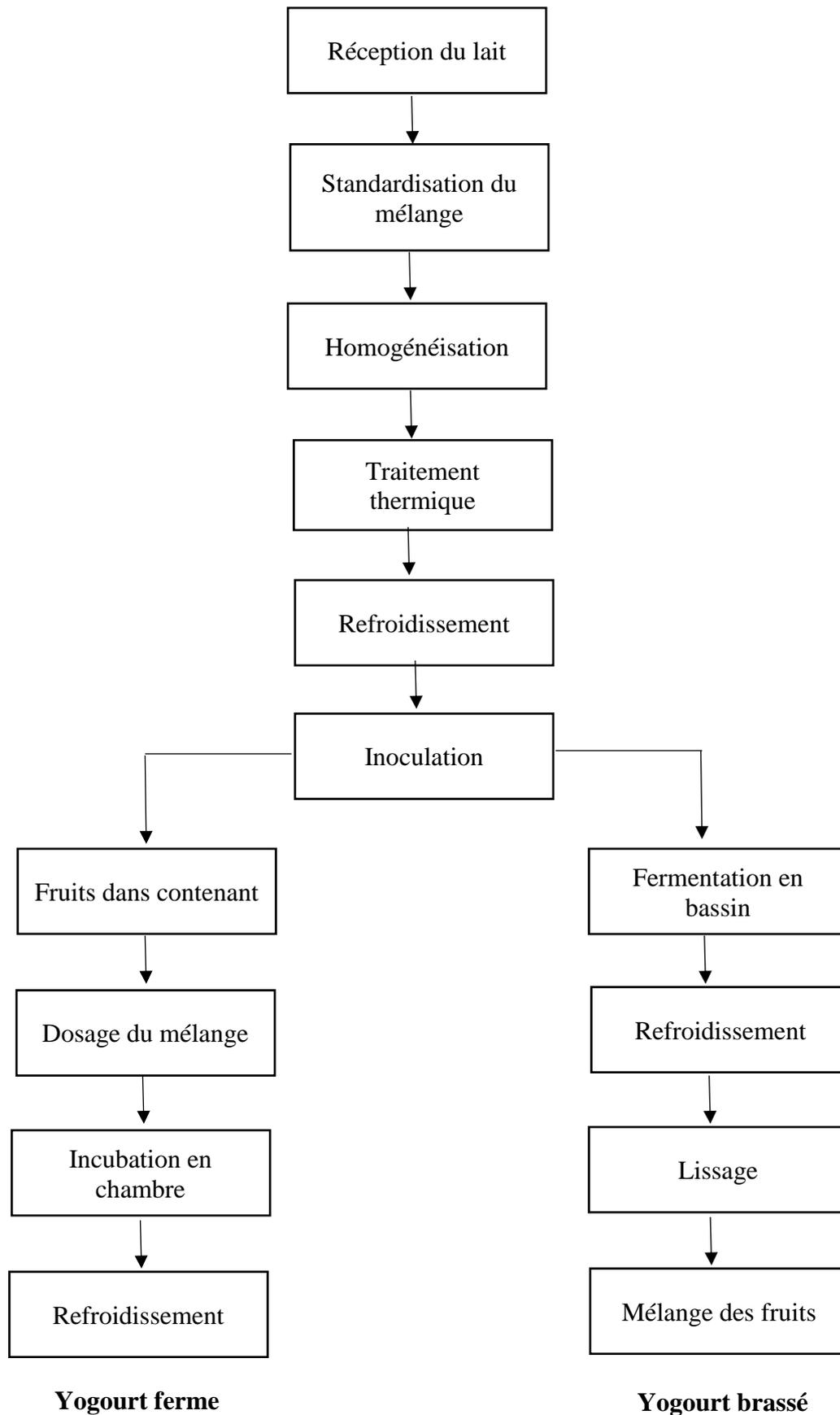


Figure 01. Diagramme de fabrication des yogourts (Vignola et al., 2002).

Le traitement thermique résulte en un mélange mixte de protéines sériques solubles, d'agrégats de protéines sériques et de micelles de caséines recouvertes de protéines sériques (Vasbinder et de Kruif, 2003). Un apport intense de chaleur peut engendrer des inconvénients tels qu'altérer la valeur nutritive du yaourt (perte de vitamines thermosensibles). La fermeté, la viscosité et la synérèse sont également affectées dues à une agrégation protéines sériques-caséines excessive (Lucey et *al.*, 1998 ;Shah, 2003).

4.2. Homogénéisation

L'homogénéisation est un traitement physique qui permet de réduire la taille des globules gras en évitant la remonté et la coalescence de la matière grasse pendant la gélification, limite la synérèse en améliorant la rétention de l'eau (par augmentation de la quantité de protéines absorbées sur la surface des globules gras) et améliore la texture par interaction entre globules gras et les caséines du produit fini (Croguennec et *al.*, 2008 ; Jeantet et *al.*, 2008).

4.3. Fermentation

Après pasteurisation, le lait refroidit à 45-50°C estensemencé de 2 à 3% d'un levain *Lactobacillus bulgaricus* et de *Streptococcus thermophilus* à des rapports de deux fois *Streptococcus thermophilus* sur 1 *Lactobacillus bulgaricus* pour un yaourt étuvé et jusqu'à 10 *Streptococcus thermophilus* sur 1 *Lactobacillus bulgaricus* pour un yaourt aux fruits (Mahaut et *al.*, 2000). L'incubation se fait à une température de 45 à 50°C, pendant 2 à 3 heures, un refroidissement énergétique au-dessous de 5°C bloque alors l'acidification et maintient le coagulum dans l'état de consistance souhaitable. L'objectif de l'incubation est d'atteindre une acidité variable de 70 à 80°D dans le cas des yaourts étuvés et de 100 à 120°D dans le cas des yaourts brassés (Dupin et *al.*, 1992).

Lors de la fermentation lactique, le lactose est principalement métabolisé en acide lactique par les souches *Lactobacillus delbruekii* ssp. *bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*. Ces bactéries possèdent des températures optimales de croissance entre 42 à 50°C et 37 à 46°C, respectivement (Mahaut et *al.*, 2000). Ces souches bactériennes agissent en synergie. Ce sont les streptocoques qui amorcent la fermentation en procurant aux lactobacilles les composantes requises à leur activité fermentaire telles que l'acide formique et le gaz carbonique. Quant aux lactobacilles, ceux-ci hydrolysent partiellement les caséines libérant ainsi de courts peptides et acides aminés qui favorisent la croissance des streptocoques (Mahaut et *al.*, 2000; Lamontagne, 2002; Clark et Plotka, 2004).

En outre, *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* produisent des composés carbonylés volatiles (l'acétaldéhyde, le diacétyl, l'acétoïne) et des exopolysaccharides qui participent, respectivement, à l'élaboration de l'arôme et de la texture du yaourt (Cerning et al., 1986). Selon les consommateurs qui préfèrent des yaourts plus ou moins acides ou plus ou moins aromatiques. Les caractères recherchés dépendent des souches utilisées et de la température d'incubation. L'abaissement de celle-ci de 1 à 3°C (42 - 44°C) favorise le développement des Streptocoques et donc la production d'arôme. Alors qu'une légère augmentation de cette température (46 – 47°C) favorise plutôt les lactobacilles et par conséquent la production d'acide (Vignola et al., 2002).

Durant la fermentation, l'abaissement graduel du pH engendre trois changements. Les micelles de caséines, chargées négativement au pH du lait, se neutralisent progressivement. À pH 4,6, point isoélectrique de ces protéines, la répulsion électrostatique minimale provoque l'agglomération des micelles de caséines. Au pH normal du lait, les micelles de caséines sont entourées de molécules d'eau permettant de les protéger et de les stabiliser. La neutralisation de charges diminue le degré d'hydratation (Tamine et Robinson, 1999 ; Van Vliet et al, 1991 ; Lucey, 2002).

Les conditions acides déstabilisent l'équilibre salin du lait. Avant la fermentation, les minéraux, principalement composés de calcium et de phosphore, se présentent sous deux formes en équilibre soit soluble ou liés aux micelles de caséines via des ponts de phosphates de calcium. En milieu acide, les minéraux sous forme colloïdale sont peu à peu dissous dans la phase aqueuse. La baisse de répulsion électrostatique des caséines, la déshydratation partielle ainsi que la dissolution des minéraux sous forme colloïdale entraînant la désorganisation des micelles. La résultante est la coagulation des protéines et la formation d'un réseau de caséines (Tamine et Robinson, 1999).

4.4. Refroidissement et conditionnement

Lorsque l'acidité est atteinte, il est procédé à un refroidissement rapide du produit fini pour bloquer la fermentation. Les ferments lactiques étant des espèces thermophiles, leur activité métabolique est ralentie au minimum à des températures de 10°C et moins. Elle dépende toutefois de la grosseur du contenant et de la viscosité du lait fermenté (Lamontagne, 2002).

Dans le cas des yaourts brassés, un brassage est réalisé au préalable par différentes techniques (lamellation du caillé par passage au travers d'un filtre ou d'un tamis ; agitation mécanique ; homogénéisation à basse pression pour les yaourts boisson) permettant

d'améliorer l'onctuosité du produit et de réduire la synérèse. Le refroidissement à 2-5°C est réalisé au moyen d'un échangeur à plaques, tubulaire ou à surface raclée (Vignola et *al.*, 2002).

5. Accidents de fabrication

Les principaux défauts de goût, texture et d'apparence parfois observés dans le yaourt ainsi que leurs causes sont représentés dans le Tableau 03.

5.1. Synérèse

L'un des défauts le plus apparent et le plus fréquemment retrouvé dans le yaourt est la synérèse. Phénomène indésirable, la synérèse se traduit par une exsudation du lactosérum de la matrice protéine, qui tend à remonter en surface du gel (Van Vliet et *al.*, 1991; Keogh et O'Kennedy, 1998 ; Lucey, 2002). Ce défaut est directement remarqué par le consommateur lors de l'ouverture d'un pot de yaourt.

La synérèse se présente sous deux formes, soit spontanée (endogène) ou encore provoquée. La synérèse est dite spontanée lorsque le lactosérum remonte en surface du yaourt à la suite de son expulsion du gel par la force de contraction de la matière protéique. Cet évènement peut avoir lieu soit au cours de la phase de gélification ou encore lors de l'entreposage (Van Vliet et *al.*, 1991; Lucey, 2001). Par opposition, la synérèse provoquée fait référence au lactosérum apparent suite à l'application d'une force externe sur le gel.

A l'échelle moléculaire, deux mécanismes peuvent être à l'origine des défauts de synérèse. Le premier est dû à la relaxation des liens intermoléculaire protéines-protéines, induit par le mouvement thermal. Le seconde est provoquée suite à un stress interne dans la matrice. À cause du mouvement Brownien et de la déformation des filaments ou des liaisons entre les protéines, le gel tend à se refermer sur lui-même ayant pour effet de créer une pression endogène sur le lactosérum à l'origine de la synérèse (Van Vliet et *al.*, 1991).

5.2. Défauts de texture

Les défauts de texture font allusion principalement à la fermeté (ou consistance) du gel ainsi qu'à sa viscosité. Une fermeté inadéquate se traduit par une texture trop molle ou à l'inverse trop ferme, un manque d'onctuosité ou encore une sensation granuleuse ou sableuse en pelais (Lamontagne, 2002). La viscosité du gel, qui se définit comme la capacité de résister à la déformation (Duboc et Mollet, 2001), donne une consistance de ponding au yaourt lorsqu'il est trop élevée ou à l'inverse se traduit par un gel beaucoup trop liquide

lorsqu'elle est faible. En général, si le niveau de solides du lait est élevé, il sera de même pour la viscosité et la fermenté du gel (Guirguis et *al.*, 1984 ; Becker et Puhan, 1989).

L'apparition de l'un ou l'autre de ces défauts de texture peut être causée par une formulation inadéquate du mélange laitier, une température de pasteurisation ou un traitement thermique déficient, un mauvais choix des ferments, une température d'incubation inadéquate, ou un brassage insuffisant dans le cas de yaourt brassé (Hui et *al.*, 2004).

Tableau 03. Principale altérations du yaourt (Luquet, 1990)

Plusieurs solutions ont été proposées afin d'éliminer les défauts décrits au préalable.

| Défauts | Types d'altérations | Causes |
|------------------|----------------------------|--|
| Texture | Décolletage | Agitation ou vibration pendant le transport faisant suite à un mauvais refroidissement en chambre froide (pour les yaourts fermes). |
| | Manque de fermenté | Ensemencement trop faible, mauvaise incubation, agitation avant complète coagulation et matière sèche trop faible. |
| | Trop filante | Mauvaise fermentation et / ou température trop faible. |
| | Granuleuse | Mauvais brassage, teneur en matière sèche trop élevée et / ou mauvais choix des ferments. |
| Apparence | Synérèse | Mauvaise conduite de la fermentation, température trop élevée pendant le stockage, conservation trop longue, refroidissement trop faible et / ou agitation trop poussée. |
| | Production du gaz | Contamination par les levures et moisissures. |
| | Couche de crème | Mauvaise ou absence d'homogénéisation. |
| Goût | Amertume | Trop longue conservation, activité protéolytique trop forte des ferments, contamination par des germes protéolytiques et ajout successif d'arôme artificiel. |
| | Rancidité | Contamination par des germes lypolytiques et / ou traitement thermique trop faible. |
| | Oxydé | Mauvaise protection contre la lumière et / ou présence de métaux (Fe, Cu). |
| | Aigre | Mauvaise conduite des levains (Contamination par une flore lactique sauvage et / ou coliformes). |

Comme la texture d'un yaourt dépend des matières premières utilisées, des procédés de

fabrication ainsi que des conditions d'incubation, différentes approches technologiques peuvent être appliquées en industrie sur l'un ou l'autre de ces facteurs afin d'en arriver à la texture souhaitée. Parmi celle-ci, il est souvent utilisé le procédé d'élévation d'un niveau d'extrait sec total du produits soit par addition du gras, de protéine et de sucres comme le glucose ou le fructose, ou encore par addition d'agents stabilisants. Ces derniers sont des polysaccharides d'origine végétale tels que la pectine, l'amidon et l'alginate (Shah, 2003).

5.3. Défauts de goût

D'après Jeantet et *al.* (2008), les défauts de goût suivants dans les yaourts:

- Amertume : elle est développée lorsque l'activité protéolytique des ferments est trop importante ou lorsqu'il y a contamination du yaourt par des germes protéolytiques.
- Acidité trop forte ou insuffisante : l'acidité dépend de la composition (effet tampon), du taux d'ensemencement, de l'activité des ferments, de la présence éventuel d'inhibiteurs ou de bactériophage, de la conduite de la fermentation (température et durée) et des vitesses de réfrigération du produit fini au cours de sa conservation (post-acidification).
- Goût de levure : la contamination par des levures peut générer des goûts fruités et d'alcool dans le produit.
- Goût de rance : il est dû à la contamination par des germes lipolytiques qui hydrolysent partiellement la matière grasse en libérant d'une manière plus ou moins importante des acides gras libres responsables de ce défaut dans les produits.
- Goût oxydé : il peut apparaître dans le cas d'une mauvaise protection contre la lumière (pot en verre) ou en présence de catalyseurs d'oxydation métalliques (fer, cuivre).
- Goût de moisi : il peut résulter de l'emploi de fruits de mauvaise qualité (moisissures) ;
- Goût de cuit : cette caractéristique est due à la réaction de Maillard qui se produit dans le cas de traitements thermiques intenses entre les sucres réducteurs et les acides aminés.

- Absence d'arômes : il provient en général d'un déséquilibre de la flore (trop de streptocoques) résultant soit de la qualité des levains, soit des conditions d'incubation.

Chapitre II. Généralités sur les additifs alimentaires naturels

1. Définition et classification

La directive 80/107/EEC définit les additifs alimentaires comme « n'importe qu'elle substance non consommée comme aliments en soi et non employée comme ingrédient caractéristique de l'aliment, qu'il ait une valeur nutritionnelle ou non, dont l'addition intentionnelle à l'aliment pour un but technologique dans la fabrication, le traitement, la préparation, l'emballage, le transport ou le stockage devient, ou peut s'attendre raisonnablement à devenir, lui ou un de ses dérivés, directement ou indirectement, un composant de cet aliment » (Moll et Moll, 1998).

Source d'inquiétude fréquente de la part du consommateur, l'utilisation des additifs alimentaires, connus depuis l'Antiquité, a pour but d'assurer le maintien de la qualité et des caractéristiques de l'aliment. Leur utilisation veut répondre aux exigences croissantes du consommateur en matière d'approvisionnement alimentaire, de variété, de choix et de facilité d'utilisation.

L'emploi des additifs alimentaires est rigoureusement réglementé et répond à une évaluation scientifique approfondie en termes de sécurité sous le contrôle de l'Autorité européenne de sécurité des aliments (AESA). La Communauté européenne précise les critères d'évaluation des additifs (directive 89/107/EEC) et indique la liste de ceux que l'on peut employer, les produits alimentaires dans lesquels ils peuvent être ajoutés et leurs concentrations maximales autorisées (directives techniques spécifiques 94/35/EU sur les édulcorants, 94/36/EC sur les colorants et 95/2/EC sur les autres additifs) (Gallen et Pla, 2013).

Un additif alimentaire autorisé au niveau européen bénéficie d'un code du type Exxx : « E » pour Europe. Le chiffre 1 par exemple pour les centaines indique que c'est un colorant (E1xx), les dizaines et unités indiquent la teinte. Les additifs sont habituellement classés selon leurs catégories, en fonction de la fonction assurée dans l'aliment (**Tableau 04**).

D'après Gallen et Pla (2013), il est décrit trois catégories d'additifs :

-Les additifs qui maintiennent la fraîcheur et préviennent la dégradation de l'aliment dont les conservateurs, les anti-oxygènes, les séquestrants et les gaz d'emballages.

-Les additifs qui affectent les caractéristiques physiques ou physico-chimiques de l'aliment renfermant les affermissants, les humectants, les épaississants, les gélifiants, les antiagglomérants, les agents de charge, les stabilisants, les agents moussants et anti-

moussants, les agents d'enrobage, les correcteurs d'acidité, la poudre à lever et les émulsifiants.

-Les additifs qui amplifient ou améliorent les qualités sensorielles à savoir les arômes, les colorants, les exhausteurs de goût et les agents de texture).

Dans chaque groupe, les additifs alimentaires sont classés en fonction de leur origine naturelle, de leur obtention par modification du produit naturel, et synthétiques (identiques aux produits naturels, artificiels). La pectine, la gélatine et les protéines de lactosérum sont des additifs alimentaires naturels. Ces additifs objets de notre étude sont moins nocifs sur la santé humaine que les additifs alimentaire chimique présentent des propriétés technofonctionnelles très intéressantes et recherchés dans les divers domaines d'application : cosmétique, pharmaceutique et surtout agro-alimentaire

Tableau 04 : Classification des additifs alimentaires selon leurs catégories (Gallen et Pla, 2013).

| Catégories | Additifs alimentaires |
|------------------------------|--|
| Colorants | Tartrazine – Rouge cochenille Bleu patenté Erythrosine |
| Conservateurs | Antiseptiques benzoates, nitrites, acide citrique Sorbates Anti-oxydants, Tocophérols Gallates, diphényles |
| Agents de Texture | Gélifiants Epaississants Emulsifiants |
| Arômes et Edulcorants | Glutamates Vanille Saccharine Aspartam |
| Gélifiants | Gomme adragante Alginate |

2. Pectine

2.1. Définition

Les pectines sont des polysides complexes entrant dans la composition des parois cellulaires de la plupart des végétaux supérieurs. Elles sont majoritairement présentes dans la lamelle moyenne et la paroi primaire (Jenson et *al.*, 2008). La quantité de substances pectiques dans le végétal varie fortement en fonction de son origine botanique et de son histoire (mode de culture, période de croissance...) (Caffall et Mohnen, 2009).

Les pectines sont abondantes dans les fruits et les légumes et évoluent avec la maturation des tissus. Bien qu'elles puissent être extraites d'un grand nombre de végétaux, les principales sources industrielles de la pectine sont les marcs de pomme et les écorces de citron et d'orange (Pinheiro et *al.*, 2008 ; Combo et *al.*, 2011).

La production de pectine est la voie la plus raisonnable d'utilisation de sous-produits de l'industrie de jus d'agrumes, d'un point de vue économique mais également écologiques. Le marc de pomme contient entre 10 à 15 % de pectine et elle représente environ 20 à 30 % des écorces d'orange (Srivastava et Malviya, 2011).

Les pectines sont constituées essentiellement par des résidus d'acide galacturonique (Gal A) liés entre eux par des liaisons α (1 \rightarrow 4) partiellement acétylés ou estérifiés par des groupements méthyle (Ridley et *al.*, 2001).

La pectine est employée dans l'industrie agroalimentaire en tant qu'additifs gélifiants, épaississant, stabilisant ou émulsifiant. De même, elle entre dans la composition de spécialités pharmaceutique pour ses propriétés anti-acides, hémostatiques ou anti-diarrhéique (Wicker et *al.*, 2014).

2.2. Procédés de fabrication de la pectine

L'extraction industrielle de la pectine se fait surtout à partir des sous-produits de l'industrie des jus de fruits. Le procédé d'extraction de la pectine est basé sur une hydrolyse de la matière première en milieu acide, cette étape est généralement réalisée à 90°C pendant un temps minimal d'une heure (Iglesias et Lozano, 2004), suivie d'une filtration et précipitation dans l'alcool (Kalapathy et Proctor, 2001). Ces conditions sont surtout préjudiciables pour la qualité de la pectine. Le coagulum, d'aspects fibreux, est lavé, pressé, séché sous vide, puis broyé pour obtenir une poudre fine.

Certains travaux de recherche ont porté sur le prétraitement de la matière première avant l'hydrolyse pour faciliter l'hydrolyse de la protopectine (fortement liée aux

parois cellulaires) et afin d'augmenter les rendements d'extraction de la pectine. Wang et al. (2007) ont montré que l'utilisation des microondes pour extraire les pectines diminuerait les temps et donc les coûts d'extraction. Fishman et al. (2000) ont indiqué qu'un prétraitement par microondes de différents fruits augmente considérablement le rendement en pectine.

2.3. Structure et caractéristiques de la pectine

Ce sont des substances exclusivement d'origines végétale (Ridley et al., 2001). Il s'agit de polysaccharides constitués d'une chaîne principale d'acide galacturonique et de chaîne secondaire branchée (Figure 2). La chaîne principale est constituée d'acide D-galacturonique (D-Gal A) reliées par des liens glycosidiques α (1 \rightarrow 4). Régulièrement entre ces monomères s'installent des molécules de rhamnose par des liaisons α (1 \rightarrow 2) (Wicker et al., 2014).

Les pectines présentent des propriétés physicochimiques spécifiques du fait de leurs caractères poly électrolytes. Ces caractères leur confèrent la capacité de s'associer entre elles et de former des gels en présence de cations divalents tels que le calcium et de les rendre ainsi susceptible aux interactions avec les protéines.

Les pectines sont caractérisées par leur degré de méthylation (DM). Le degré de méthylation est un paramètre très important qui influe sur le processus et le mécanisme d'association des pectines dans la formation des gels. Le degré de méthylation est le pourcentage de groupement carboxyles estérifiées par le méthanol (Lira-Ortiz et al., 2014).

Selon Willats et al. (2006), il est distingué deux types de pectine en fonction du degré de méthylation (DM) :

- Les pectines HM (hautement méthylées) : ce sont les pectines dont le degré d'estérification est supérieur à 50%.
- Les pectines LM (faiblement méthylées) : ce sont les pectines dont le degré d'estérification est inférieur à 50%.

La pectine est riche en acide D-galacturonique, elle est classée en quatre principaux groupes : Homogalacturonane (HG), Rhamnogalacturonane I (RGI), Rhamnogalacturonane II (RGII) et Xylogalacturonane (XGA).

- **Homogalacturonane (HG)** : se compose de chaîne linéaire des résidus α -1,4-Gal A qui sont souvent méthylestérifié sur la position C-6 et peuvent être acétylés sur la position O-2 et / ou O-3 (Jensen et al., 2008 ; Atmodjo et al., 2013).

- **Rhamnogalacturonane I (RGI)** : se compose d'un squelette ayant le disaccharide [α -1, 4-Gal A- α -1, 2- Rha] comme unité de répétition de base. Les résidus de rhamnose dans le RGI sont souvent substitués avec les chaînes latérales de la galactane, de l'arabinose, ou de l'arabinogalactane I (Jensen et *al.*, 2008 ; Wicker et *al.*, 2014).
- **Rhamnogalacturonane II (RGII)** : est un polysaccharide avec une structure complexe qui semble être remarquablement conservée à toute les plantes vasculaires. Le RGII se compose d'une courte chaîne d'Homogalacturonane substitué avec quatre chaînes latérales différentes et se compose de 12 monosaccharides différents dans plus de 20 liaisons différentes (Mohnen, 2008).
- **Xylogalacturonane (XGA)** : se compose d'un squelette d'Homogalacturonane (HG) substitué avec les résidus simples du β -1,3-Xly ou de tels résidus sont substitués avec quelques résidus de xylose additionnels (Jensen et *al.*, 2008).

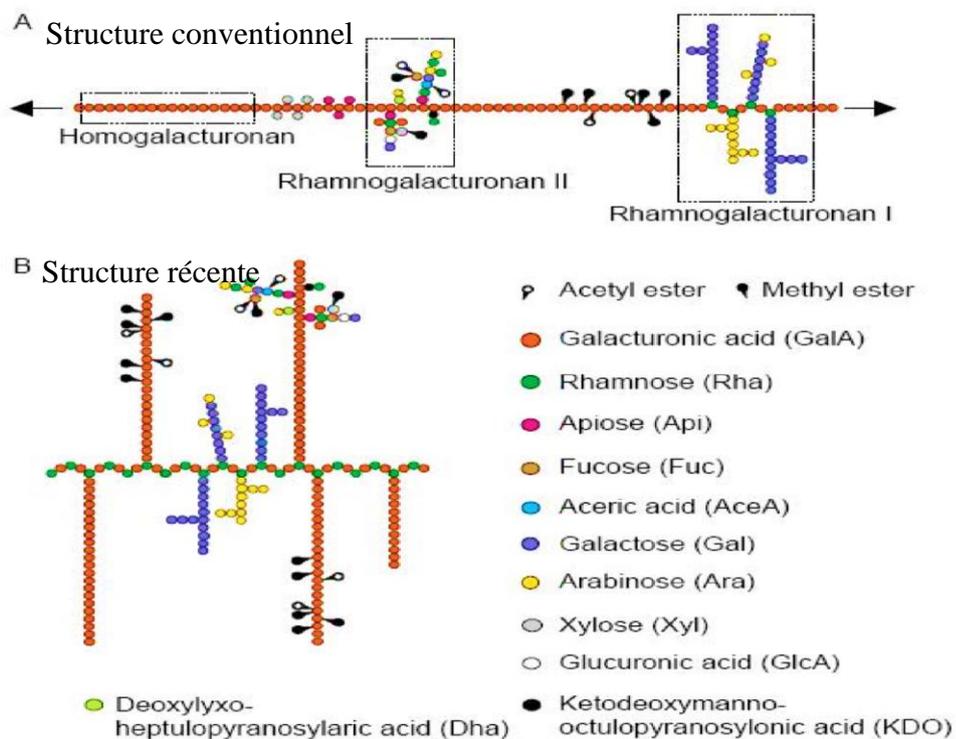


Figure 02. Structure de base de la pectine (Willats et *al.*, 2006).

2.4. Propriétés des pectines

La pectine est un polysaccharide non digestible entrant dans la catégorie des fibres alimentaires. Ce polysaccharide a de multiples usages en industrie alimentaire (agent épaississant, stabilisant ou gélifiant). De plus, la pectine a une très grande capacité de rétention d'eau. Ces propriétés fonctionnelles dépendent de la structure de la molécule de pectine et surtout son degré de méthylation.

Le degré de méthylation est un paramètre important qui influe sur le processus et le mécanisme d'association des pectines dans la formation des gels (Combo et *al.*, 2011). Les pectines hautement méthylées (HM) forment des gels en présence de sucre et en milieu acide. Une application comme depuis longtemps de ce type de pectine réside dans la formation des confitures. Les pectines faiblement méthylées (LM) forment des gels en présence d'ions bivalent, par exemple d'ions de calcium. Mis à part le degré de méthylation, la concentration en sucre ou acide, la présence de chaînes latérales et la température jouent également un rôle important dans la consistance du gel (Srivastava et Malviya, 2011).

Ces propriétés confèrent à la pectine une importance considérable très recherchée dans les différents domaines d'utilisation : les industries alimentaires, pharmaceutiques, biotechnologiques et industries de traitement des polluants (Wicker et *al.*, 2014).

2.5. Principales utilisations de la pectine

La tolérance générale de la pectine comme substance naturelle et le fait qu'elle est une fibre alimentaire soluble convenable pour l'usage dans une variété d'applications.

La pectine est très utilisée en industrie alimentaire tant qu'agent épaississant et émulsifiant dans les produits lactés et comme agent gélifiant ainsi que stabilisateurs des colloïdes dans les confitures et gelées.

D'un point de vue nutritionnel, les pectines sont considérées comme des fibres diététiques solubles ayant une forte capacité de rétention d'eau. Elles sont en effet utilisées comme des fibres alimentaires et exercent des effets physiologiques sur le tractus intestinal en réduisant le temps de transit et l'absorption du glucose (Olano-Martin et *al.*, 2002).

L'utilisation des pectines dans le développement d'oligosaccharides à effet prébiotique et pharmaceutique constitue un nouveau domaine émergent. Pour cela, un grand intérêt est porté aux oligosaccharides pectiques (POS) en raison de leurs potentialités d'utilisation comme nouvelle génération de prébiotique. Certaines des qualités attribuées à ces

oligosaccharides sont la protection contre le cancer du côlon, une activité antibactérienne. La répression de l'accumulation de lipide dans le foie, l'inhibition de l'adhésion des bactéries aux cellules épithéliales et la stimulation de la croissance de bifidobacterium et eubacterium rectale (Olano-Martin et *al.*, 2002; Combo et *al.*, 2011).

Plusieurs effets bénéfiques pour la santé ont été rapportés concernant la diminution de la rétention des métaux lourds au niveau de l'organisme (Combo et *al.*, 2011).

3. Gélatine

3.1. Définition

La gélatine est une protéine d'origine animale, obtenue par la dénaturation thermique du collagène contenu dans les os et les peaux des animaux. Plus de 95% de gélatine commerciale est obtenue à partir des porcs et des bovins. Les sous-produits des volailles et poissons sont également utilisés comme source de gélatine (Cho et *al.*, 2005).

La gélatine est une substance protéique soluble dans l'eau préparée par des processus qui impliquent l'hydrolyse de la structure tertiaire, secondaire et dans certaines mesures la structure primaire des collagènes natifs (Fernandez-Diaz et *al.*, 2001 ; Mariod et Adam, 2013).

La plupart des hydrocolloïdes sont des polysaccharides, tandis que la gélatine est une protéine digestible (Gómez-Guillén et *al.*, 2002) contenant toutes les acides aminées essentiels, à l'exception du tryptophane. Sa composition en proline et en hydroxyproline peut varier d'une espèce à l'autre (Schirber et Gareis, 2007).

Les peaux de porc est la matière première la plus utilisée pour la production de gélatine ; environ 46% de la production mondiale de gélatine est obtenue à partir de peaux de porc, suivie de peaux de bovin qui représente 29.4% et 23.1% de gélatine est extraite à partir d'os de bovin et de porc. Les autres sources de gélatine les volailles et les poissons ne représentent que 1.65% de la production mondiale (Karim et Bhat, 2009).

Plusieurs études ont été faites sur l'extraction de gélatine des poissons (Cho et *al.*, 2004 ; Muyonga et *al.*, 2004 ; Singh et *al.*, 2011 ; Nagarajan et *al.*, 2012 ; Jridi et *al.*, 2015) ; mais leurs applications restent étroites suite aux faibles propriétés fonctionnelles notamment le pouvoir gélifiant par rapport aux gélatines des mammifères (Boran et Regenstein, 2010).

Mariod et *al.* (2011) ont extrait et caractérisé par ailleurs une gélatine halal comestible de deux insectes comestibles Soudanais (*Aspongopus viduatus* et *Agonoscelis pubescens*).

3.2. Procédés de fabrication de la gélatine

La transformation du collagène en gélatine se réalise en deux étapes : la solubilisation du collagène (soit en milieu acide, soit en milieu basique) et sa conversion en gélatine. Cette dernière est le résultat de la dénaturation de la structure tertiaire de la triple hélice de tropocollagène (Karim et Bhat, 2008 ; Gómez-Guillén et *al.*, 2011). Le procédé de fabrication de la gélatine fait intervenir une hydrolyse, ceci pouvant être alcalin ou acide.

Le procédé acide est un traitement particulièrement approprié aux peaux de porc et les os de jeune bovins. Le temps de préparation de la matière première est court (2 jours) ce qui permet une réduction des coûts d'extraction. Ce procédé est utilisé principalement pour l'industrie alimentaire. Par contre le procédé alcalin est une méthode très longue (45 à 90 jours) et plus coûteuse, principalement recommandée pour des collagènes plus complexes comme ceux provenant des os et peaux de bovin (Karim et Bhat, 2009). Ce procédé alcalin ou basique est principalement utilisé pour fabriquer la gélatine à usage pharmaceutique (capsule), photographique (films) et alimentaire (confiserie, charcuterie, yaourterie...etc.).

La gélatine issue d'un traitement alcalin est couramment désignée sous l'appellation «gélatine type B» tandis que la gélatine issue d'un traitement acide est appelée «gélatine type A» (Surh et *al.*, 2006).

Après hydrolyse acide ou basique du collagène vient l'étape d'extraction de la gélatine par cuisson. La gélatine est extraite avec l'eau chaude sous forme de bouillon de gélatine. Le gel une fois concentré sous vide est extrudé sous forme de filament ou de «nouilles» pour augmenter sa surface d'échange et favoriser ainsi son séchage. Les nouilles séchées (10-15% d'humidité) sont ensuite broyées avant de subir des contrôles au laboratoire (Schirber et Gareis, 2007).

3.3. Structure et composition de la gélatine

La structure primaire de la gélatine ressemble à celle du collagène (Badii et Howell, 2006). L'analyse de la variation de la composition en acides aminés des gélatines en fonction du prétraitement montre d'une manière générale, que le prétraitement acide modifie peu la composition en acide aminé de la gélatine par rapport au collagène dont elle dérive et que le prétraitement alcalin transforme les résidus asparagine et glutamine en acide aspartique et glutamique (Schirber et Gareis, 2007).

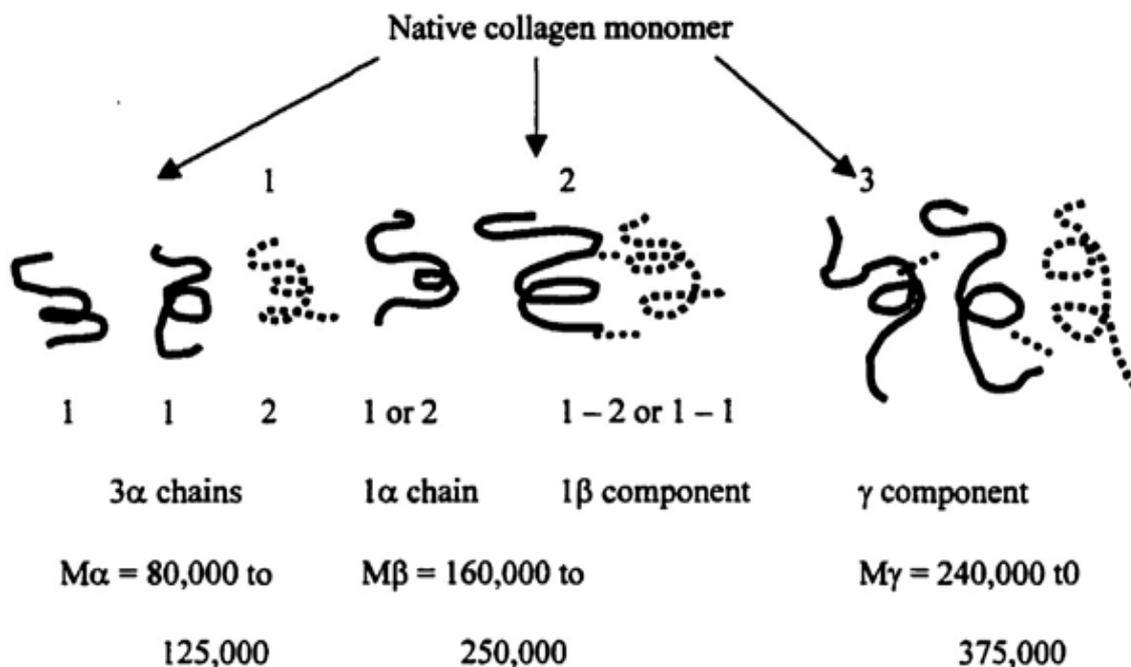


Figure 03. Voies possibles de la conversion du collagène en gélatine (Ofori, 1999)

La dénaturation du tropocollagène en gélatine peut fournir trois types de molécules (Figure 03) ; les chaînes α_1 et α_2 , les chaînes β qui sont issues de l'association entre une chaîne α_1 et une chaîne α_2 (β_{11} , β_{12}), et les chaînes γ , oligomères de trois chaînes α (γ_{112}). Les chaînes α , β et γ se différencient par leur masse moléculaire moyenne respective de 100 000, 200 000 et 300 000 g mol^{-1} (Rbii, 2010).

3.4. Propriétés de la gélatine

Les propriétés techno fonctionnelles de la gélatine sont principalement liées à la structure. La force de gélification et la viscosité dépendent de leur poids moléculaire ainsi que de sa composition en acides aminés ; avec un poids moléculaire élevés et un nombre élevés d'acide aminés la force de gélification de la gélatine est supérieure (Schreir et Gareis, 2007). La proline et l'hydroxyproline sont les acides aminés les plus importants dans la réarrangement des sous-unités de gélatine au cours de ce phénomène (Mariod et Adam, 2013).

Les propriétés fonctionnelles de la gélatine peuvent être divisées en deux catégories. Les propriétés de la première catégorie sont associées à la gélification, notamment la force

de gélification, temps de gélification, la viscosité, texturation, pouvoir épaississant et la capacité de rétention d'eau. Le deuxième groupe concerne le comportement de gélation selon les propriétés de surface par exemple : le pouvoir émulsifiant, stabilisant, moussant et la capacité de formation de films (Karim et Bhat, 2008 ; Gómez-Guillén et *al.*, 2011).

La gélatine peut constituer des solutions colloïdales avec l'eau. Le soluté peut être dispersé de manière homogène dans le milieu sous forme de très fines particules, pour former soit un sol, soit un gel. Ces derniers sont souvent utilisés dans l'industrie alimentaire (Karim et Bhat, 2008).

La propriété la plus intéressante des gels formés avec la gélatine est sa thermo-réversibilité ainsi que la température de fusion de gel (<35°C) qui est inférieure à la température du corps humain, ce qui donne aux produits alimentaires des propriétés organoleptiques particulières (la libération d'arôme) (Gómez-Guillén et *al.*, 2002).

La gélatine se gonfle en contact avec l'eau froide. Pour que la gélatine soit solubilisée, il est nécessaire de la chauffer à des températures supérieures à 40°C. Après refroidissement, un phénomène de gélification se met en place. Il s'agit là d'une des principales raisons de l'utilisation de la gélatine par les industries (Mariod et Adam, 2013).

La gélatine est utilisée comme agent moussant et émulsifiant dans les aliments, les produits pharmaceutiques et médicaux en raison de ses propriétés de surface (Olijve et *al.*, 2001). Des études ont montré que la gélatine est capable d'agir comme agent stabilisant dans les émulsions huile-eau (Lobo, 2002).

3.5. Domaine d'application de la gélatine

La gélatine possède des qualités particulières recherchées par l'industrie pour obtenir des textures spécifiques. Le marché de la gélatine se caractérise par l'existence de trois domaines essentiels : alimentaire, photographique et pharmaceutique.

Les applications de la gélatine sont essentielles dans différents secteurs alimentaires : les produits laitiers, les pâtes à tartiner allégées en matière grasse, la confiserie, l'industrie de viande et poissons, la confiserie...etc.

L'utilisation de la gélatine dans les desserts lactés et les laits fermentés donne un «fondant tendre» et unique dans la bouche et laisse l'arôme se dégager d'une façon intense. Cette propriété permet aux industriels d'être innovants en créant des textures et des formes

originales dans le secteur des produits laitiers. De plus, la gélatine immobilise l'eau, ce qui empêche la synérèse et augmente la durée de conservation des produits. L'industrie laitière, recherche la plus grande qualité sensorielle des produits au meilleur coût pour la consommation. Suivant cette stratégie, la gélatine est souvent choisie en priorité (Boran et Regenstein, 2010).

La gélatine est sans goût, liée de grande quantité d'eau, forme des gels et procure une agréable sensation en bouche. La gélatine alimentaire est indispensable dans de nombreux confiseries, tel que les bombons gélifiés (oursons, gomme), les caramels mous, les marshmallows et les meringues. Elles leur confèrent une grande élasticité, une consistance optimale pour la mastication et améliore leur durée de conservation. Dans les crèmes desserts et les mousses, la gélatine est indispensable pour son rôle stabilisateur.

Pour l'industrie pharmaceutique, la gélatine remplit la condition très avantageuse d'être digestible et totalement assimilable par l'organisme humain. Elle entre dans la production des capsules et gélules, permet de lier les principes actifs du médicament et de prolonger leur durée de conservation (protection contre l'O₂ et la lumière). La capsule de gélatine permet aussi de masquer les odeurs et les goûts désagréables de certains principes actifs (Karim et Bhat, 2008).

Dans l'industrie photographique, la gélatine est très utilisée, les produits photographiques à base de sel d'argent sont constitués de plusieurs couches contenant de la gélatine ; ces couches sont coulées sur film ou papier (Schrieber et Gareis, 2007).

4. Protéines de lactosérum

4.1. Généralité sur le lactosérum

La fabrication des fromages nécessite une étape de coagulation de la caséine par une acidification du lait obtenu par ajout de ferment lactique ou par de la présure. Le lactosérum est le liquide résiduel obtenu suite à la précipitation et l'enlèvement des caséines du lait pendant l'étape d'égouttage du fromage.

Le lactosérum est un liquide jaune verdâtre, contenant une quantité importante de protéines de lait environ 20% (6g/l) et riche en éléments nutritifs (Muller et *al.*, 2003).

Le lactosérum, constitué essentiellement d'eau, contient du lactose, des protéines, des minéraux et un peu de matière grasse. La quantité et la proportion relative de ces différents constituants dépend entre autres des procédés d'obtention du lactosérum (Schuck et *al.*, 2004). Selon le procédé, il est distingué les lactosérums doux, issus d'une coagulation à caractère présure (fromage cheddar, mozzarella) et les lactosérum acides, obtenus à la suite de l'acidification du lait (fromage cottage, caséine acide) (Vignola et *al.*, 2002).

Tableau 05. Composition moyenne des lactosérums doux et acide (Vignola et *al.*, 2002)

| | Lactosérum | |
|----------------------|------------|-------|
| | Doux | Acide |
| Solides (%) | 6.8 | 6.6 |
| Protéines (%) | 0.8 | 0.7 |
| Lactose (%) | 4.9 | 4.4 |
| Gras (%) | 0.15 | 0.06 |
| Cendres (%) | 0.5 | 0.8 |
| Lactate (%) | 0.2 | 0.5 |
| Calcium (%) | 0.05 | 0.10 |
| Phosphate (%) | 0.05 | 0.08 |
| Potassium (%) | 0.16 | 0.14 |
| Sodium (%) | 0.05 | 0.05 |

Le Tableau 05 indique la composition des lactosérums. Le lactosérum acide est fortement minéralisé en raison de la solubilisation du phosphate de calcium colloïdale qui précède la coagulation du lait. Il contient également une quantité appréciable d'acide organique ou inorganique. La coagulation présure entraîne la libération d'un fragment de la caséine κ , qui se trouve dans le lactosérum. La teneur en protéines du lactosérum doux est plus élevée (Vignola et *al.*, 2002).

4.2. Protéines de lactosérum

Les protéines de lactosérum se définissent comme la fraction protéique soluble obtenue lors de la précipitation des caséines. Elles représentent 20% de l'azote totale du lait. La fraction protéine soluble contient deux protéines majeures, la β -lactoglobuline et l' α -lactalbumine. Le lactosérum contient aussi de la sérum albumine bovin, des immunoglobulines et d'autres constituants dont les protéose peptones (Croguennec et *al.*, 2008). Les protéines de lactosérum suscitent un grand intérêt du fait de leur excellente valeur nutritionnelle, car riche en lysine, tryptophane et acides aminés soufrés.

Les structures primaires de la β -lactoglobuline et l' α -lactalbumine induisent une structure spatiale très organisée stabilisée surtout par des ponts disulfure avec possibilité d'association avec d'autres protéines ou de polymérisation (Cheftel et Lorient, 1982).

La β -lactoglobuline est une protéine majeure de lactosérum (environ 50% des protéines lactosériques). Elle joue un rôle important dans tous les produits laitiers et les aliments dans lesquels les protéines de lactosérum sont ajoutées comme ingrédients (Bulut Solak et Akin, 2012).

La β -lactoglobuline possède une structure globulaire maintenue par deux ponts disulfures (Lung et *al.*, 1991). Sa structure secondaire comprend 50% de feuillet β et 10% d'hélice α . La β -lactoglobuline existe sous forme d'un dimère (2 x 18.3kDa) stabilisée par des liaisons hydrogènes (Jovanović et *al.*, 2005).

L' α -lactalbumine est la deuxième protéine plus abondante dans le lactosérum. Elle représente environ 25% de l'ensemble des protéines du lactosérum (Bulut Solak et Akin, 2012). L' α -lactalbumine est une protéine globulaire avec un poids moléculaire de 14.2 kDa qui comporte 123 acides aminés et quatre groupements disulfures. Elle comprend 14% de feuillet β , 26% d'hélice α et 60% de structure non organisée. Cette protéine se trouve habituellement sous forme de monomère (Fox, 1989).

L' α -lactalbumine est une métalloprotéine, elle possède un site de fixation de calcium. La présence de calcium stabilise la protéine contre la dénaturation thermique (Yadav *et al.*, 2015). Sa température de dénaturation thermique est de 65°C à pH 6.7 ; alors qu'après dissociation du Ca^{2+} , la protéine (apo α -lactalbumine) présente une température de dénaturation inférieure à 55°C (Croguennec *et al.*, 2008).

L'intérêt commercial principal de la production de protéines de lactosérum enrichies en α -lactalbumine provient du fait que cette protéine est la protéine principale présente dans le lait maternel (Huffman et Harper, 1999). La valeur nutritionnelle de l' α -lactalbumine bovin est très haute, 63% d'acides aminés sont essentiels, l'ajouter à la formule pour enfants serait un avantage certain dans l'apport nutritionnel (Jost *et al.*, 1999 ; Muller *et al.*, 2003).

Le sérum albumine bovine représente moins de 5% des protéines solubles du lait. C'est une protéine globulaire constituée de 582 résidus d'acides aminés avec un poids moléculaire de 66.3 kDa. Le sérum albumine bovine contient 17 ponts disulfure et un groupement thiol libre (Fox, 1989 ; Croguennec *et al.*, 2008).

Les immunoglobulines forment un mélange complexe de glycoprotéines qui possèdent une activité immunologique (Fox, 1989).

4.3. Extraction et séparation des protéines de lactosérum

D'après Croguennec *et al.* (2008), les procédures développées pour l'extraction des protéines sériques exploitent :

- leur insolubilisation au pHi après dénaturation thermique,
- leur différence de taille par rapport aux autres solutés (lactose, minéraux) des lactosérums,
- et leur affinité pour les résines échangeuses d'anions, sachant qu'à pH 6.6 les protéines sériques majeures (α -lactalbumine et β -lactoglobuline) sont chargées négativement.

4.3.1. Extraction par thermo coagulation

C'est le procédé le plus ancien et le moins coûteux. Il consiste à faire précipiter du lactosérum par chauffage en milieu acide à pH 5 à 5.5. Les protéines du lactosérum sont dénaturées par des traitements thermiques à des températures supérieures à 65°C. Ces protéines dénaturées deviennent insolubles à leur pH isoélectrique (pH 4.5 à 5.0). Ce principe sert à isoler les protéines de lactosérum sous forme de concentrés appelés lactalbumine. Les

principales étapes de production de la lactalbumine sont la précipitation, la récupération du précipité et le séchage (Vignola et *al.*, 2002).

A leur pH isoélectrique, les protéines dénaturées par le traitement thermique forment des agrégats suite aux interactions entre les acides aminés et la formation des ponts disulfures (Yadav et *al.*, 2015).

La température de dénaturation de diverses protéines de lactosérum varie. Pearce (1983) a rapporté que l' α -lactalbumine précipite à un pH compris entre 4.2 et 4.6 et à une température comprise entre 50 et 65°C.

Le chauffage à des pH de 4.0 à 5.0 entraîne une précipitation rapide des protéines. Cependant un chauffage à un pH supérieur à 6.2, suivi d'une acidification, améliore les rendements. Il semble que ces conditions permettent un déploiement complet des protéines avant l'agrégation. De plus, un pH élevé favorise la formation des ponts disulfures et conduit à des agrégats plus cohésifs et plus stables (Vignola et *al.*, 2002).

4.3.2. Ultrafiltration

La concentration des protéines du lactosérum par ultrafiltration est une pratique courante dans l'industrie laitière. Plus de 80% du parc membranes d'ultrafiltration de l'industrie laitière mondiale est consacré au traitement du lactosérum (Jeantet et *al.*, 2008).

L'ultrafiltration préserve l'état natif et les propriétés technologiques originales des protéines sériques. Le contenu en protéines des concentrés varie généralement de 35 à 80%. Les conditions d'opération et l'application des prétraitements influencent la composition des concentrés (Vignola et *al.*, 2002 ; Croguennec et *al.*, 2008).

4.3.3. Chromatographie échange d'ion

La chromatographie échange d'ion permet d'obtenir des isolats de protéines sériques dont la teneur en protéines est supérieure à 90%. C'est un procédé industriel de purification des protéines sériques basé sur l'échange d'ions ; les protéines majeures du lactosérum (α -lactalbumine et β -lactoglobuline) étant chargées négativement à pH neutre se fixent sur des échangeurs anioniques ; le lactose et les protéines mineures chargées positivement étant de haut poids moléculaire sont exclues de la colonne dans laquelle se trouvent les résines. Lorsque la résine est saturée il est procédé à un rinçage suivi d'une élution des protéines en modifiant les conditions du solvant (augmentation de la force ionique qui dissocie les interactions ioniques ou diminution du pH pour réduire voire inverser la charge des protéines) ; ce

procédé permet de préparer des isolats protéiques purs et complètement dilactosés (Jeantet et *al.*, 2008).

La séparation de protéines majeures du lactosérum (α -lactalbumine et β -lactoglobuline) s'effectue au fait soit par chromatographie en échange d'ion, soit par précipitation sélective de l' α -lactalbumine. L'affinité pour les résines d'échange d'ionique est variable selon le type de protéine. De façon générale, la β -lactoglobuline s'adsorbe plus fortement que les autres protéines sériques. L' α -lactoglobuline reste soluble dans le lactosérum même si le pH est ajusté à leur point isoélectrique. Toutefois, en modifiant la force ionique ou la température, il est possible de précipiter l'une ou l'autre des protéines (Vignola et *al.*, 2002).

4.4. Propriétés fonctionnelles des protéines de lactosérum

Les protéines de lactosérum dans leur structure native présentent une bonne solubilité dans une large gamme de pH. Cette propriété leur confère une utilisation privilégiée dans le secteur des boissons acides (Jeantet et *al.*, 2008 ; Bulut Solak et Akin, 2012).

Les protéines de lactosérum et plus particulièrement la β -lactoglobuline gélifient très facilement à la chaleur en raison d'une dénaturation rapide (interactions hydrophobes, échanges de ponts disulfures) entraînant un changement facile de la structure spatiale. Les gels formés possèdent une excellente rétention d'eau. Les traitements thermiques sont à la base d'un grand nombre de procédés d'amélioration des propriétés fonctionnelles des protéines de lactosérum (Lorient et *al.*, 1991 ; Afizah et Rizvi, 2014).

La dénaturation thermique entraîne l'ouverture des structures globulaires et la formation d'agrégats. Une quantité importante d'eau se trouve alors piégée dans ces agrégats et augmente considérablement la rétention d'eau (Cheftel et Lorient, 1982 ; Gault et *al.*, 1990 ; Vardhanbhati et *al.*, 2001).

Les protéines de lactosérum ont une structure très compacte, stabilisée par des ponts disulfures, les rendant aptes à former des films interfaciaux épais et rigides (surtout au pH 5.2 pour la β -lactoglobuline) même si leur aptitude à s'adsorber est faible que celle des caséines : il en résulte d'excellentes propriétés stabilisantes des mousses et d'émulsion à tous les pH (Lorient et *al.*, 1991).

Les protéines sériques de par leur taille, leur solubilité et leur caractère amphiphile qui peut être amplifié par des dénaturations thermiques présentent de bonne capacité émulsifiante et moussante. Elles sont généralement employées pour stabiliser les émulsions dans la zone de pH où la fonctionnalité des caséines n'est pas optimale (pH acide).

Les protéines sériques présentent une bonne aptitude à stabiliser les mousses car elles sont susceptibles d'interagir à l'interface par des liaisons hydrophobes et covalentes et former des films viscoélastiques. L'addition de calcium, l'augmentation de force ionique et la baisse de pH favorisent les interactions protéiques en réduisant les répulsions électrostatiques et augmentent la cohésion du film protéique en diminuant l'hydratation et la solubilité des protéines (Vardhanbhati et *al.*, 2001 ; Croguennec et *al.*, 2008).

4.5. Principale utilisation des protéines de lactosérum

Les protéines du lactosérum ont une très haute valeur nutritionnelle et d'excellentes propriétés fonctionnelles. Elles constituent, à l'état concentré, des sources de protéines recherchées tant pour l'alimentation des jeunes animaux que pour l'alimentation humaine (Pierre et Fauquant, 1986).

Les protéines laitières jouent un rôle essentiel dans l'appétence et les propriétés organoleptiques des aliments qui en contiennent. Du fait de la très grande variété de leurs structures et de leurs propriétés physiques (qui sont bien connues), elles présentent de nombreuses possibilités d'utilisation fonctionnelle (Cheftel et Lorient, 1982).

Les concentrés sériques servent à accroître la fermeté, la viscosité et la résistance à la synérèse ainsi que l'amélioration de la texture et la consistance du yaourt (Gustaw, 2007). Le rendement de production fromagère est augmenté par l'amélioration de la quantité et de la qualité des protéines du lait destiné à la transformation (Jovanovic et *al.*, 2005).

Les lactosérums doux en poudre sont largement utilisés en substitut de la poudre dans la biscuiterie, pâtisserie, panification, chocolaterie et dans les produits de charcuterie. En effet, utilisé comme ingrédient, la poudre de lactosérum doux apporte une amélioration de goût, de l'arôme et de la texture du produit fini ainsi qu'une amélioration de la valeur nutritionnelle (Bulut Solak et Akin, 2012).

La poudre de lactosérum et les concentrés de protéines sériques peuvent remplacer une portion des solides du lait dans les mélanges des crèmes glacées. La présence de protéines dénaturées dans l'ingrédient contribue à améliorer la viscosité des mélanges. L'usage de protéines sériques améliore aussi l'aptitude au foisonnement des produits (Vignola et *al.*, 2002).

Les protéines de lactosérum sont un ingrédient bien adapté pour les aliments diététiques. Elles sont surtout utilisées dans la composition des laits maternisés pour nourrissons. L'incorporation de ces protéines au lait de vache donne un lait dont la

composition est proche de celle du lait maternel (Maubois et Brule, 1982 ; Vignola et *al.*, 2002).

Les protéines sériques présentent une forte proportion d'acides aminés essentiels. Les isolats entrent particulièrement dans la préparation des suppléments nutritionnels ou de diètes hyperprotéiques pour le traitement de l'obésité (Vignola et *al.*, 2002).

Conclusion

Les produits laitiers frais, comme le yaourt, sont des aliments de grandes consommations dans de nombreux pays. Le yaourt apparaît comme un produit laitier très digeste qui possède une grande valeur nutritionnelle et qui est apprécié pour son goût et sa texture. C'est un produit, consommé la plupart du temps comme dessert, très répandu par le monde, car il convient à toutes les tranches d'âge et même chez les sujets intolérants au lait.

Le yaourt est obtenu par coagulation du lait sans égouttage. Il est fabriqué selon les procédures qui diffèrent selon la nature du produit fini (brassé, ferme), mais qui comportent toujours une fermentation lactique conduisant à une gélification due à la déstabilisation du système protéique sous l'effet d'une baisse du pH. La texture est une composante essentielle de la qualité d'un yaourt. Elle est influencée par de nombreux facteurs : la composition du lait, l'importance des traitements appliqués avant fabrication (chauffage, homogénéisation) les conditions culturelles (ferment, température).

Ainsi, la fabrication des yaourts peut résulter en certains problèmes technologiques tels qu'une fermeté inadéquate du gel, des variations de viscosité et une exsudation de lactosérum. Pour prévenir ces défauts de qualité, il est d'usage d'enrichir les yaourts avec des agents texturant, stabilisants et gélifiants. Parmi ces additifs alimentaires : la gélatine, la pectine et les protéines de lactosérum. La pectine est un polysaccharide complexe qui entre dans la composition des parois cellulaires de la plupart des végétaux supérieurs. Les pectines sont abondantes dans les fruits et les légumes. Bien qu'elles puissent être extraites d'un grand nombre de végétaux, les principales sources industrielles de pectines sont les marcs de pomme et les écorces d'orange. Ces substances en fait l'objet de nombreuses applications dans plusieurs domaines, mais l'utilisation la plus importante se situe dans l'industrie alimentaire où les pectines sont essentiellement utilisées comme agents de textures, stabilisant, gélifiants et épaississant.

En outre, la gélatine (protéine d'origine animale) est devenue un produit de consommation usuelle retrouvé pratiquement dans tous les domaines de la vie moderne. L'intérêt pour cette macromolécule a été croissant, tant les avantages sont importants dans la consommation courante : pas de toxicité, quantité abondante de matière première disponible, compatibilité avec d'autres constituants dans de nombreuses formulations. Ses propriétés fonctionnelles uniques font de la gélatine un des ingrédients importants de l'industrie alimentaire, photographique, cosmétique et pharmaceutique. Ces propriétés

technologiques uniques, font d'elle un excipient extrêmement important et polyvalent pour des applications alimentaires, notamment dans la fabrication des produits laitiers.

Par ailleurs, le lactosérum contient des protéines de très haute valeur nutritionnelle, ayant d'excellentes propriétés fonctionnelles notamment en ce qui concerne la solubilité, l'aptitude à structurer de l'eau et le pouvoir moussant. Les protéines solubles ou protéines de lactosérum ont un intérêt dans l'industrie agroalimentaire et dans l'industrie pharmaceutique, par leur haute valeur nutritionnelle et leurs propriétés fonctionnelles telles que les propriétés gélifiantes, moussantes et émulsifiantes. Les protéines de lactosérum se définissent comme la fraction protéique soluble obtenue lors de la précipitation des caséines. Elles sont un coproduit de la fabrication fromagère. Leurs excellentes propriétés fonctionnelles et nutritionnelles en font des protéines de choix. Ces protéines ont fait l'objet d'innombrables études et sont très bien documentées. Les protéines de lactosérum sont principalement composées de la β -lactoglobuline, l' α -lactalbumine, les immunoglobulines, l'albumine de sérum bovin. Les protéines majeures, la β -lactoglobuline (β -lg) et l' α -lactalbumine, dictent les propriétés fonctionnelles des protéines de lactosérum.

Partie 2.Partie expérimentale

1. Objectifs :

En Algérie, les résidus agroalimentaires sont très mal valorisés et sont même une source de pollution pour l'environnement en raison qu'ils présentent une forte DBO. Parmi ces résidus on trouve souvent la mélasse de la sucrerie, le lactosérum des fromages, l'écorce et pulpes d'agrumes, les grignons d'olives, les os ainsi que les viscères d'animaux après abattage et bien d'autres sous-produits...etc. Ces résidus agro-industriels peuvent servir de matières premières à moindre coût pour produire certains additifs alimentaires naturels souvent importés. Ces additifs présentent des propriétés nutritionnelles ainsi que technofonctionnelles très intéressantes et recherchées dans les divers domaines d'utilisation (pâtisserie, confiserie, chocolaterie, pharmacie, produits agroalimentaires, aliments diététiques...etc.).

Les objectifs assignés à travers cette étude ont été orientés tout d'abord à extraire la pectine d'écorce d'orange de variété *Citrus sinensis*, des protéines de lactosérum ainsi que de la gélatine d'os de bovin. Suivi de l'étude de certaines propriétés fonctionnelles (pouvoir moussant, émulsifiant et solubilité). Enfin, un essai d'incorporation de ces additifs à différents taux dans un lait fermenté (type yaourt étuvé) a été effectué en vue de suivre la stabilité physicochimique, microbiologique et organoleptique des produits durant 4 heures de fermentation et 21 jours de la période de post-acidification. Les mesures et contrôles réalisés périodiquement sur les essais de laits fermentés expérimentaux ont porté sur : le pH, l'acidité dornic, la viscosité, le dénombrement de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*, la cohésivité, l'adhésivité, goût, l'arrière-goût, l'odeur et l'exsudation de lactosérum.

2. Intérêt de l'étude :

Les gélifiants, les stabilisants et les épaississants sont peu connus par le consommateur et pourtant ils sont omniprésents dans la plupart des aliments transformés et consommés au quotidien. Ces additifs alimentaires généralement de nature glucidique ou peptidique sont souvent obtenus à partir d'une large gamme de plantes, des microorganismes et des tissus conjonctifs d'animaux. La gélatine a depuis longtemps attiré l'attention des chercheurs comme source de protéine, stabilisant et améliorant des propriétés rhéologiques des produits alimentaires. Son utilisation est retrouvée aujourd'hui dans plusieurs domaines d'intérêt.

Aujourd'hui la gélatine est devenue un produit de consommation courante. Elle trouve sa place tout aussi bien dans les industries non alimentaires qu'alimentaires. Elle fait partie de nombreux aliments et est utilisée autant par les ménagères que par les artisans ou les grandes industries agroalimentaires. De même, la pectine fait l'objet de plusieurs études qui ont conduit au développement de nombreuses applications dans l'industrie cosmétique et pharmaceutique, mais aussi l'utilisation la plus importante se situe dans l'industrie alimentaire où la pectine est essentiellement utilisée comme agent de texture, gélifiant, stabilisant et épaississant. D'autre part, les protéines de lactosérum sont aujourd'hui très utilisées comme ingrédients non seulement pour leurs bonnes propriétés techno-fonctionnelles (industrie laitières) mais aussi nutritionnelles (élaboration d'aliments diététiques, pharmaceutiques ou infantiles).

Le yogourt a été étudié depuis plusieurs années dans le but de comprendre sa formation et sa structure mais les défauts tels que la synérèse et la variation de viscosité maintiennent l'intérêt des scientifiques. Les ingrédients laitiers, la gélatine et les polysaccharides sont utilisés afin d'améliorer la texture, réduire la synérèse et améliorer les aptitudes à la conservation des yogourts. La volonté des consommateurs de se nourrir de produits « tout naturel » amène les chercheurs à exploiter de nouveaux domaines.

C'est dans l'intention d'améliorer la consistance et la qualité organoleptique ainsi que les aptitudes à la conservation des laits fermentés (type yaourt étuvé) qu'on s'est proposé d'introduire dans la préparation comme ingrédient naturel la gélatine d'ossein, la pectine et les protéines de lactosérum. Les mesures et contrôles sont effectués durant 4 heures de la période de fermentation et 21 jours de la période de post acidification. L'étude des propriétés techno fonctionnelles porte sur le pouvoir moussant, émulsifiant ainsi que la solubilité.

3. Matériels :

Ce travail est le fruit de trois années de laboratoire ayant débuté le mois d'Avril 2014 et a été achevé le mois de Mai 2017. L'expérimentation a été réalisée au niveau du laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition (TAN) relevant de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Abdelhamid Ibn Badis –Mostaganem- et le Laboratoire de Microbiologie et de Biochimie Alimentaire de la faculté des Sciences de l'université Hassiba Ben Bouali Chlef.

3.1. Matières premières

Les os de bovins sont utilisés comme matière première pour l'extraction de la gélatine. Ces os sont collectés à partir de différentes boucheries de la wilaya de Mostaganem située au Nord-Ouest de l'Algérie.

Les os de bovin sont lavés puis coupés en petits morceaux. Ces derniers ont subi un traitement de dégraissage dans l'eau chaude puis conservés à -20°C jusqu'à leurs utilisations ultérieures.

La matière première ayant servi à l'extraction de la pectine est l'écorce d'orange de la variété *Citrus sinensis* L prélevée dans la région de Chlef au mois de Décembre 2014. Les peaux ont été séparées de l'endocarpe, elle représente 28 % en masse par rapport au fruit. Ces peaux sont séchées à 50°C dans une étuve puis placées dans des sacs hermétiques jusqu'à leur utilisation ultérieure.

Le lait écrémé (0% de matière grasse, spray skimmed milk powder, Belgomilk CVBA-Belgium) utilisé dans notre expérimentation nous a été fourni par une laiterie sise à Mostaganem -Algérie-.

3.2. Ferments lactiques

Les deux ferments lactiques spécifiques du yaourt utilisés dans l'étude expérimentale à savoir *Streptococcus thermophilus* (YC-X16) et *Lactobacillus bulgaricus* (CHN-11) proviennent de la firme (CHR, HANSEN Danemark) et sont conditionnés sous forme lyophilisée.

4. Méthodologie

4.1. Procédé d'extraction de la pectine

La pectine est extraite selon la méthode de Rezzoug et *al.* (2008). La pectine est extraite de l'écorce d'orange de *Citrus sinensis* dans une solution d'acide chaude, puis précipitée dans une solution d'alcool à 96° (Figure 04). Les peaux d'orange une fois séchées ont été broyées pendant 20 secondes, le broyat d'écorce (10g) est ajouté à une solution de 200ml d'acide chlorhydrique (HCl) 0.1 N, puis porté à ébullition dans un système à reflux à 90°C pendant 40 min puis plongés dans la glace afin d'arrêter le processus d'hydrolyse. Le surnageant est récupéré après filtration. La pectine est alors précipitée avec deux volumes d'alcool 96° pour un volume de surnageant. Le précipité obtenu est lavé par un volume d'alcool 96°. Le culot est recueilli, séché et enfin broyé en poudre. Le rendement en pectine est exprimé en g/100g de peau d'orange séchée.

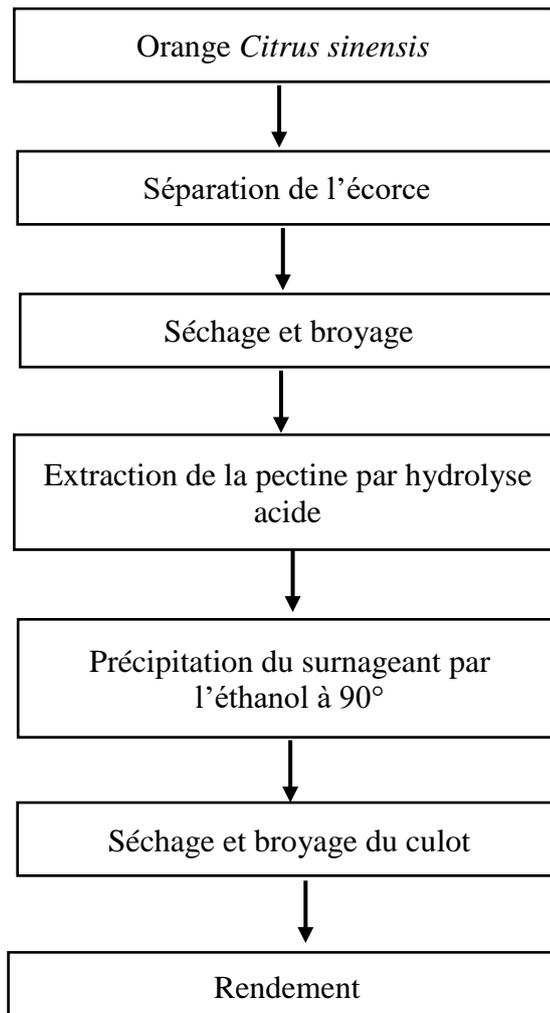


Figure 04. Diagramme de fabrication de la pectine (Rezzoug et *al.*, 2008).

Le rendement en pectine est calculé suivant l'équation suivante :

$$\mathcal{R}_{pectine} (\%) = 100 \times P / E$$

Où ($\mathcal{R}_{pectine}$) est le rendement de la pectine extraite en pourcentage, (P) : le poids de la pectine extraite, et (E) : le poids des écorces d'orange séchées utilisées durant l'extraction.

4.2. Procédé d'extraction de la gélatine

Les os dégraissés utilisés pour l'extraction de la gélatine sont déminéralisés par 2% HCl (pH 2-2.5), à température ambiante (20 – 25 °C) pendant 48 h. Ensuite, la matière première est recouverte d'une solution de NaOH (1N) pour purifier et mettre en condition le collagène afin de favoriser son hydrolyse pendant 2 jours. Après, les os sont soigneusement lavés par de l'eau distillée jusqu'à la neutralisation (Schirber et Gareis, 2007).

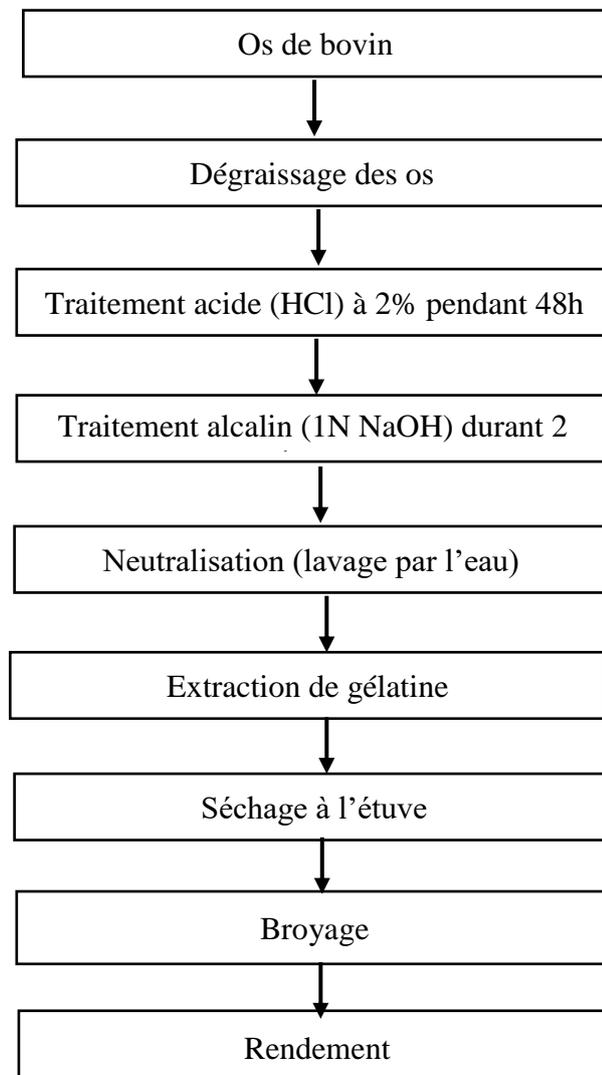


Figure 05. Procédés d'extraction de la gélatine des os de bovin (Schirber et Gareis, 2007)

L'ossein hydrolysée est extraite des os sous forme de bouillon de gélatine dans de l'eau bouillie à 100°C suivie d'un refroidissement. Le gel est séché dans une étuve à une température de 30°C et la gélatine obtenue est enfin broyée en poudre (Figure 05). Le rendement en gélatine est calculé conformément à l'équation suivante :

$$\mathcal{R}_{\text{gélatine}} (\%) = 100 \times P / P_{\text{os}}$$

Où ($\mathcal{R}_{\text{gélatine}}$) est le rendement de la gélatine extraite en pourcentage, (P) : le poids de la gélatine extraite, et (P_{os}) : le poids des os de bovin utilisés pour l'extraction.

4.3. Procédé d'extraction des protéines de lactosérum

Les protéines de lactosérum sont récupérées par une thermo-précipitation selon la méthode de Sanmartin et *al.* (2012).

Le lait écrémé, utilisé est pasteurisé à 85°C pendant 2 min, puis refroidi à 38°C. Le lait est ensuiteensemencé à 2% (v/v) d'unlevain lactique commerciale *Lactobacillus bulgaricus* (CHN-11, CHR HANSEN, Danemark) et emprésuré à 2% (v/v) avec une solution de présure (CHY-MAX, 1400 international milk clotting units per mi, CHR HANSEN, Danemark) préparée à 2%.

Après coagulation du lait écrémé à 38°C, le caillé est coupé en petits cubes puis brassé et le lactosérum est enfin récupéré par égouttage à travers une mousseline. Le lactosérum obtenu est incubé dans une étuve réglée à 38°C jusqu'à atteindre un pH de 5.5.

Les protéines de lactosérum sont récupérés par une thermo-précipitation et ceci par un chauffage de lactosérum acidifiée. Après décantation, le culot protéique est récupéré, essoré par centrifugation et enfin séché dans une étuve à une température de 35°C (Figure 06).

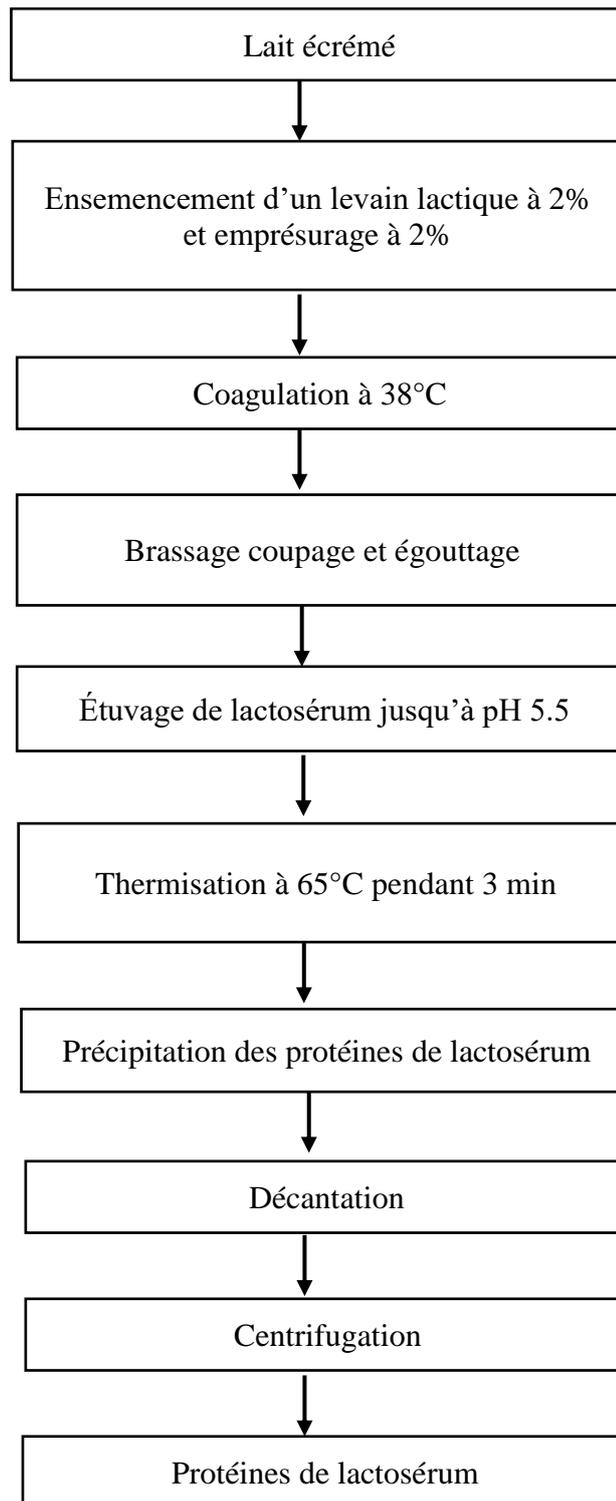


Figure 06. Diagramme d'extraction des protéines de lactosérum par thermo-précipitation (Sanmartín et al., 2012)

4.4. Préparation des levains :

Le lait destiné à la préparation du levain est reconstitué à partir d'une poudre de lait écrémé, préparé à raison de 130 g/l. Le mélange est homogénéisé jusqu'à dissolution complète puis thermisé à une température de 100°C durant 2 min en vue de détruire les germes

pathogènes et réduire le nombre de germes banneaux dans le lait. Le lait est ensuite refroidit à 45°C, puisensemencé par les souches lactiques lyophilisées pures spécifiques du yaourt à raison de 0.25g/l de *Lactobacillus bulgaricus* (CHN-11) et 0.5g/l de *Streptococcus thermophilus* (YC-X16) (soit environ un nombre de 10^7 germes/ml).

Après activation des souches par simple étuvage à 45°C, le levain lactique est récupéré et orienté à des fins d'utilisation dans les différents procès de fabrication des laits expérimentaux. Le levain préparé présente un rapport des souches de deux fois *Streptococcus thermophilus* pour un *Lactobacillus bulgaricus*(**Figure 07**).

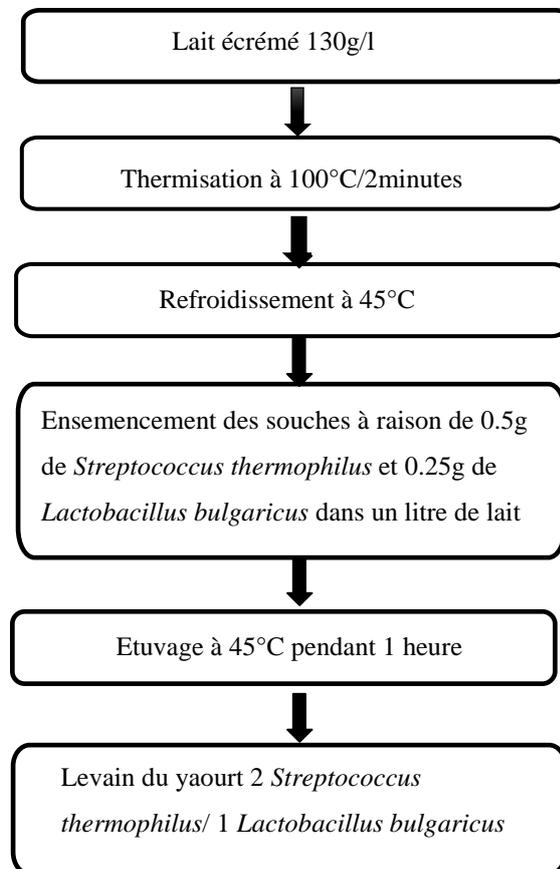


Figure 07. Etapes de la préparation de levain lactique.

4.5. Procédé de fabrication des yaourts expérimentaux

Le lait reconstitué utilisé a été préparé à raison de 140 g/l d'une poudre de lait à 26% de matière grasse. Le lait est ensuite traité thermiquement à une température de laboratoire de 100°C pendant 2 min en vue de le pasteuriser. Une fois refroidi à 45°C, les additifs alimentaires

ont été incorporés dans les échantillons de lait à différents taux : pectine (0, 0.1, 0.3 et 0.6%) ; gélatine (0, 0.5, 1 et 1.5%) ; et les protéines de lactosérum (0, 0.5, 1, 1.5 et 2%) (P/V).

L'ensemencement des souches lactiques (CHR, HANSEN Danemark) spécifiques du yaourt est effectué dans les essais à un taux de levain de 3% et des rapports de souches *Streptococcus thermophilus* sur *Lactobacillus bulgaricus* de 2S/1L.

Chaque paramètre expérimental est représenté, en triple essais, à raison de 3 pots de 100 ml. Après étuvage des échantillons à une température de 45°C durant 4 heures de la phase de fermentation, les laits fermentés expérimentaux sont refroidis et conservés à 4°C durant 21 jours de la période de post-acidification.

5. Mesures et contrôles :

5.1. Caractérisation de la pectine

5.1.1. Humidité et cendre

La teneur en cendres et d'humidité de la pectine est déterminée selon la méthode AOAC (1980). L'humidité est déterminée par un séchage de 1g de la pectine à 100°C pendant 4 heures.

La teneur en cendre est déterminée par incinération de 1g de la pectine dans un four à moufle réglé à 600°C pendant 4 heures. La teneur en cendres est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Cendre} = \frac{\text{Masse de cendre}}{\text{Masse de pectine}} \times 100$$

5.1.2. Détermination du poids équivalent

Le poids équivalent, la teneur en méthoxyle, et celle de l'acide galacturonique sont déterminés selon la méthode proposée par Owens et *al.* (1952). La valeur du poids équivalent est utilisée pour calculer la teneur en acide galacturonique.

Le poids équivalent est déterminé par la mesure de 0.5g de pectine dans une fiole avec 5 ml d'éthanol. Ensuite, 1g de chlorure de sodium (NaCl) est ajouté à la solution. Puis, 100ml d'eau distillée et 6 gouttes de rouge de phénol (comme indicateur coloré) sont additionnés. Le mélange est ensuite agité rapidement pour s'assurer que la pectine soit bien solubilisée.

La solution est titrée avec du NaOH (0.1N) jusqu'à ce que la couleur de l'indicateur coloré (rouge de phénol) devient rose persistente pendant au moins 30 secondes. La solution neutralisée est utilisée pour la détermination de la teneur en méthoxyle (MeO). L'équation suivante est utilisée pour calculer le poids équivalent :

$$\text{Poids équivalent} = \frac{\text{Masse de l'échantillon} \times 1000}{\text{Volume de NaOH} \times \text{Normalité de NaOH}}$$

5.1.3. Teneur en méthoxyle

La détermination de la teneur en méthoxyle (MeO) est réalisée par l'addition de 25 ml de NaOH 0.25N à la solution neutralisée avec agitation, puis la solution est laissée reposer pendant 30 min à température ambiante. Ensuite, 25ml de HCl (0.25N) est ajoutée et la

solution est titrée avec du NaOH (0.1N) jusqu'au virage de la couleur de l'indicateur coloré (rouge de phénol) au rose. L'équation suivante est utilisée pour calculer sa teneur en méthoxyle :

$$\text{MeO (\%)} = \frac{\text{még de NaOH} \times 31 \times 100}{\text{masse de l'échantillon (mg)}}$$

Où : még : mélli équivalent ;

31 : masse moléculaire de méthoxyle (MeO).

5.1.4. Teneur en acide galacturonique

La teneur en acide galacturonique est calculée par l'utilisation de la valeur de poids équivalent et la teneur en méthoxyle (MeO) selon l'équation suivante :

$$\text{AGU (\%)} = \frac{176 (\text{még de NaOH pour l'acide libre} + \text{még de NaOH pour saponification}) \times 100}{\text{masse de l'échantillon (mg)}}$$

Où : **176** : masse moléculaire de l'acide uronique.

5.1.5. Degré d'estérification

Le degré d'estérification de la pectine (DE) est calculé comme suit :

$$\text{DE (\%)} = \frac{176 \times \text{MeO (\%)} \times 100}{31 \times \text{AGU (\%)}}$$

Où : **MeO** : teneur en méthoxyle

AGU : teneur en acide galacturonique.

5.2. Propriétés techno-fonctionnelles de la gélatine

5.2.1. Solubilité

La solubilité de la gélatine est déterminée selon la méthode de Singh et *al.* (2011). La gélatine est solubilisée dans 0.5M d'acide acétique pour obtenir une concentration finale de 3mg/ml, la solution est agitée à une température de 4°C pendant 24 h. Ensuite, cette solution

est centrifugée à 5000 rpm pendant 15 min. le surnageant est utilisé pour l'étude de la solubilité.

- **Effet de pH sur la solubilité**

Le pH de la solution de gélatine (3mg/ml ; 8ml) est ajustée soit avec du NaOH (6N) ou HCl (6N) pour obtenir un pH final compris entre (1 à 10). Le volume de la solution est complété à 10 ml par de l'eau distillée préalablement ajustée au même pH de la solution de gélatine.

La solution de gélatine est centrifugée à 5000 rpm pendant 30 min. la teneur en protéines dans le surnageant est déterminée par la méthode de Biuret (Gornall et *al.*, 1948) (Annexe 03). La solubilité relative est calculée par comparaison avec celle obtenue au pH permettant de donner la plus haute valeur de solubilité.

- **Effet de NaCl sur la solubilité**

La solution de gélatine (3mg/ml ; 5ml) est mélangée avec 5 ml d'une solution de 0.5 M d'acide acétique à différentes concentrations de NaCl de 0, 2, 3, 4, 5 et 6%. Le mélange est agité à 4°C pendant 30 min, suivi d'une centrifugation à 5000 rpm pendant 30 min. La teneur du surnageant en protéines est déterminée par la méthode de Biuret (Gornall et *al.*, 1948) et la solubilité relative est calculée comme dans le cas de pH.

5.2.2. Pouvoir moussant

L'expansion de la mousse (EM) et la stabilité de la mousse (SM) de la gélatine sont déterminées par la méthode de Nagarajan et *al.* (2012) avec quelques modifications. 1g de gélatine est dissout dans 50ml d'eau distillée à 60°C. La solution est mélangée avec un mixeur Robert Bosch Hausgerate GMBH (type CNHR8, FD8905, Slovénie) à température ambiante.

La solution est ensuite transférée dans une éprouvette de 250 ml et laissée reposer pendant 0 à 30 min. l'expansion de la mousse (EM) et la stabilité de la mousse (SM) sont ensuite calculées par l'utilisation des équations suivantes :

$$EM (\%) = (V_T / V_0) \times 100$$

$$SM (\%) = (V_t / V_0) \times 100$$

Où : V_T : volume totale de la mousse ;

V_0 : volume initiale de la solution de gélatine ;

V_t : volume totale après 30 min à température ambiante.

5.2.3. Pouvoir émulsifiant

La capacité émulsifiante (CE) et la stabilité de l'émulsion (SE) sont mesurées selon la méthode de Lassoued et *al.* (2014). Des solutions de gélatine (0.5, 1, 1.5 et 2 g/100ml) sont préparées dans l'eau distillée à 60°C pendant 30 min. 30 ml de chaque dilution est homogénéisée avec 10 ml d'huile de maïs pendant 1 min à température ambiante par un mixeur Robert Bosch Hausgerate GMBH (type CNHR8, FD8905, Slovénie).

Un volume de 50 μ l est prélevé à partir du fond du récipient à 0 et 10 min après homogénéisation, et dilué dans 5 ml d'une solution de SDS à 0.1 %. La dilution est ensuite agitée par un agitateur vortex pendant 10 secondes.

La capacité émulsifiante (CE) et la stabilité de l'émulsion (SE) sont déterminées par la mesure de l'absorbance de la solution diluée à 500 nm par un spectrophotomètre UV-visible (Optizen 2120UV, 249244-141028-00, Korea). Les absorbances (A_0) mesurées immédiatement après formation du mousse et (A_{10}) après 10 min de repos sont utilisées pour calculer l'indice de la capacité émulsifiante (ICE) et l'indice de la stabilité de l'émulsion (ISE) selon les équations suivantes (Pearce et Kinsella, 1978). Chaque mesure est représentée en triple essai.

$$\text{ICE (m}^2/\text{g)} = \frac{2 \times 2.303 \times A_0 \times N}{\phi \times C \times 10000}$$

Dont : N : représente le facteur de dilution ;

C : masse de protéine par unité de volume (g/ml) ;

ϕ : la fraction volumique d'huile (0.25) ;

A_0 : absorbance à t_0 .

ISE représente la différence de l'ICE à 0 et 10 min à 500 nm, il est calculé par l'utilisation de la formule suivante :

$$\text{ISE (min)} = \frac{A_0 \times \Delta T}{\Delta A}$$

Dont : A_0 : absorbance à t_0 ;

ΔT : $t_{10} - t_0$;

ΔA : $A_{10} - A_0$.

5.2.4. Détermination du pH de la gélatine

Le pH de gélatine est mesuré selon la méthode BSI (British Standard Institution) (BSI, 1975). Une solution de gélatine est préparée par la solubilisation de 1 g de gélatine dans 99 ml d'eau distillée. La solution est chauffée à 45°C pendant 5 min, puis refroidit à température ambiante avant de mesurer le pH par un pH mètre.

5.2.5. Détermination de la teneur en cendre et humidité

La teneur en humidité est déterminée par dessiccation à l'étuve à 100°C pendant 4 h, Les teneurs en cendres sont déterminées par incinération de la matière sèche dans un four à 600°C, selon la méthode AOAC (1995).

5.3. Propriétés techno-fonctionnelles des protéines de lactosérum

5.3.1. Solubilité

La solubilité des protéines de lactosérum à pH 4 et 7 est déterminée par la méthode de Morr et *al.* (1985). Le test de solubilité est effectué en dissolvant 500 mg de la poudre des protéines de lactosérum dans 40 ml d'une solution de NaCl (0.1 M). Ensuite, le pH de la solution est ajusté à pH 4 et 7 par 0.1 N HCl ou NaOH. La solution est agitée pendant 1 heure (au cours de cette période d'agitation le pH est ajustés'ilest nécessaire). Après, la solution est transférée dans une fiole jaugée de 50 ml et dilué avec une solution de 0.1 M de NaCl.

Un volume de cette solution est centrifugé à 5000 rpm pendant 30min, le surnageant est filtré à travers un papier Whatman No 1. La teneur en protéines du filtrat et de la solution initiale est déterminée par la méthode de Biuret (Gornall et *al.*, 1948).

La solubilité est calculée selon l'expression suivante :

$$\text{Solubilité (\%)} = [CPS \times 50 / ME(CP/100)] \times 100$$

Dont :

CPS : concentration en protéines de surnageant (mg/ml) ;

ME : la masse de l'échantillon (mg) ;

CP : concentration en protéines de la solution initiale (%).

5.3.2. Pouvoir moussant

L'expansion de la mousse (EM) et la stabilité de la mousse (SM) des protéines de lactosérum et la sérum albumine bovine (utilisée comme référence) sont déterminées par l'utilisation d'une dispersion de 1% de protéines dans 250ml d'eau (P/V) à pH 7. La dispersion est mélangée pendant 5 min par l'utilisation d'un mixeur Robert Bosch Hausgerate GMBH (type CNHR8, FD8905, Slovénie) à une vitesse maximale. La mousse est rapidement transférée dans une éprouvette graduée de 2 litres et le volume total de la mousse est mesuré. La mousse est laissée reposer pendant 30 min à température ambiante ensuite le volume de liquide drainé est mesuré (Diaz et *al.*, 2004).

Selon Patel et *al.* (1988), l'expansion de la mousse (EM) et la stabilité de la mousse (SM) sont calculées selon les expressions suivantes :

$$EM (\%) = \left[\frac{VI - 250}{250} \right] \times 100$$

Dont :

VI : volume initial de la mousse.

$$SM = 100 - [(volume\ de\ liquide\ drainée\ après\ 30\ min / 250) \times 100]$$

5.3.3. Pouvoir émulsifiant

L'indice de l'activité émulsifiante (IAE) et l'indice de stabilité de la mousse (ISM) sont déterminées selon la méthode de Klompong et *al.* (2007).

300 mg de protéines de lactosérum est dissout dans 30 ml d'eau distillée (1% p/v). 10 ml d'huile végétale est ajouté à cette solution et le pH est ajusté à 2, 4, 6, 8 et 10. Le mélange est ensuite homogénéisé pendant 1 min par un mixeur Robert Bosch Hausgerate GMBH (type CNHR8, FD8905, Slovénie).

50 µl de l'émulsion sont transférés (à l'aide d'une micropipette) à partir du fond de récipient à 0 et à 10 min après homogénéisation et dilués dans 5 ml d'une solution de sodium dodécyl sulfate (SDS) à 0.1%. L'absorbance de cette dilution est mesurée par un spectrophotomètre UV-visible réglé à 500 nm (Optizen 2120UV, 249244-141028-00, Korea). Celle-ci est utilisée pour la mesure de l'indice d'activité émulsifiante (IAE) et l'indice de stabilité de l'émulsion (ISE) selon la méthode décrite par Pearce et Kinsella (1978).

$$\text{IAE (m}^2/\text{g)} = \frac{2 \times 2.303 \times A_0}{0.25 \times \text{masse de protéine}}$$

$$\text{ISE (min)} = \frac{A_0 \times \Delta T}{\Delta A}$$

Dont :

A₁₀ : l'absorbance à 10 min

ΔT : 10 min ;

ΔA : A₀- A₁₀.

5.3.4. Teneur en cendre et humidité

La teneur en cendre et humidité des protéines de lactosérum sont déterminées selon la méthode AOAC (2000).

5.4. Analyses physicochimiques et microbiologiques

Les analyses physico-chimiques et microbiologiques sont effectuées à 2 h et 4 h durant la période de fermentation et hebdomadairement au cours de la période de post-acidification pendant 21 jours de conservation des échantillons au froid à 4°C.

5.4.1. Analyses physicochimiques :

Les analyses physico-chimiques sont réalisées selon la méthode d'AOAC (2005).

5.4.1.1. pH et acidité :

La mesure de pH est réalisée par un pH mètre étalonné par deux solutions : l'une basique et l'autre acide à une température de 25 °C.

L'acidité dornic est déterminée par titration de 10 ml d'une prise de d'échantillon de lait fermenté expérimental à l'aide de 0.1 N de NaOH en présence de phénolphthaléine comme indicateur coloré. Les résultats sont exprimés en degré Dornic (AFNOR , 1980).

5.4.1.2. Viscosité :

La viscosité est déterminée par un viscosimètre à chute de bille. La viscosité est établie par l'utilisation d'un tube en verre de 18 mm de diamètre et de 18 cm de longueur équipé d'un chronomètre et d'une bille normalisée. La viscosité est exprimée en Pascal seconde (Pas) selon l'équation suivante :

$$\eta = \frac{(\rho' - \rho) \cdot g \cdot D^2}{18 \cdot v} \text{ ou encore } \eta = K \cdot (\rho' - \rho) \cdot t$$

η : la viscosité dynamique (Pas) ;

ρ' : masse volumique de la bille (gm^{-3}) ;

ρ : masse volumique du yaourt expérimental (gm^{-3});

g : la force de pesanteur (9.81 ms^{-2});

D : diamètre de la bille (m) ;

v : vitesse de la bille (ms^{-1}).

5.4.2. Analyses microbiologiques :

Le dénombrement de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* est réalisé selon la méthode décrite par International Dairy Federation (IDF Standard 306) (2003). Le milieu M17 est utilisé pour le dénombrement de *Streptococcus thermophilus* et le milieu MRS pour le dénombrement de *Lactobacillus bulgaricus*. Les résultats sont exprimés en unité formant colonies (UFC) par millilitre de prise d'échantillon de produit.

5.5. Test organoleptique :

Chaque 7 jours de la période de post-acidification de conservation à 4°C, la qualité organoleptique des laits fermentés expérimentaux est évaluée par un jury de dégustation selon une échelle de notation variable de 1 à 10. Le test organoleptique consiste à apprécier les produits expérimentaux selon plusieurs paramètres : goût, cohésivité, adhésivité, arrière-goût, odeur et exsudation de lactosérum (annexe 01).

Goût : Consiste à apprécier l'ampleur de l'acidité développée par les germes lactiques ensemencées dans les laits fermentés type yaourt au cours de l'entreposage.

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 de coagulum et la surface d'une cuillère lors d'une prise du produit.

Arrière-goût : Le panéliste est appelé à apprécier la possibilité de sensation d'un arrière-goût.

Exsudation du lactosérum : Consiste à apprécier la quantité de lactosérum exsudée.

Odeur : le paneliste est appelé a déceler l'existence ou pas de sensation de mauvaises odeurs émanant du produit dégusté.

6. Traitement statistique

Les résultats des analyses physico-chimiques et microbiologiques ont été traités statistiquement par une analyse de variance bi factorielle en randomisation totale, suivie d'une comparaison des moyennes deux à deux selon le test de NEWMAN et KEULS. Par contre, ceux relatifs au test organoleptique ils ont été traités selon le test non paramétrique de Friedman (**Stat Box 6.4**).

Partie 3. Résultats et discussion

Chapitre I. Essai d'incorporation de la pectine d'écorces de *Citrus sinensis* dans la fabrication d'un lait fermenté type yaourt ferme

1. Résultats

1.1. Caractéristique de la pectine

Le rendement d'extraction de la pectine est estimé dans notre étude à $24.33\% \pm 0.5$

La teneur en humidité de la pectine commerciale ($12.67\% \pm 1.60$) est supérieure à celle de la pectine d'écorce d'orange ($11.52\% \pm 0.22$). La teneur en cendre de la pectine d'écorce d'orange est évaluée à ($9.00\% \pm 1.00\%$) ; alors que celle de la pectine commerciale est de l'ordre de ($11.33\% \pm 0.57\%$).

Le poids équivalent de la pectine commerciale est supérieur ($p < 0.05$) au poids équivalent de la pectine obtenue après l'extraction d'écorce d'orange ; 8492.09 et 620.03 respectivement. La teneur en méthoxyle de la pectine d'écorce d'orange (1.73%) est inférieure significativement ($p < 0.05$) à la pectine commerciale (2.02%). Quant au degré d'estérification, les valeurs de la pectine de *Citrus sinensis* sont inférieures ($p < 0.01$) à la pectine commerciale 28.79% et 82.03% (Tableau 06).

Tableau 06. Caractéristique de la pectine d'écorce de *Citrus sinensis* et la pectine commerciale

| | Pectine d'écorce d'orange | Pectine commerciale |
|---------------------|-----------------------------|--------------------------------|
| Teneur en cendre(%) | 9.00 ^b ± 1.00 | 11.33 ^a ± 0.57 |
| Humidité (%) | 11.52 ^b ± 0.22 | 12.67 ^a ± 1.60 |
| Poids équivalent | 620.03 ^b ± 21.75 | 8492.06 ^a ± 1435.17 |
| MeO (%) | 1.73 ^b ± 0.22 | 2.02 ^a ± 0.13 |
| DE (%) | 28.79 ^b ± 1.89 | 82.03 ^a ± 3.74 |
| AGU(%) | 39.89 ^a ± 0.73 | 11.96 ^b ± 1.05 |
| Couleur | Blanc jaune | Blanc |

AGU : acide galacturonique ; DE : degré d'estérification ; MeO : méthoxyle.

L'acide galacturonique qui permet d'indiquer le degré de la pureté de la pectine montre que la pectine extraite d'écorce de *Citrus sinensis* objet de l'étude présente des teneurs de 39.86% plus élevées ($p < 0.01$) que la pectine commerciale 11.96%. Selon ces résultats, il s'avère que la pureté de la pectine extraite des écorces de *Citrus sinensis* est supérieure à celle de la pectine commerciale (Tableau 06).

1.2. Qualité physicochimique des laits fermentés additionnés de pectine

1.2.1. pH

Durant la période de fermentation, une nette diminution des valeurs du pH est enregistrée ; avec des valeurs moyennes de 4.94 à 2 heures, et de 4.57 après 4 heures d'étuvage. Par contre, la diminution du pH au cours de la période de post-acidification, a été lente et progressive donnant des valeurs moyennes qui varient de 4.13, à 4.12, et à 4.05 au 7^{ème}, 14^{ème}, et 21^{ème} jour, respectivement (Tableau 07).

Pendant toute la période de fermentation, et durant la première semaine de post-acidification, une relation inversement proportionnelle s'est établie entre les valeurs du pH des laits expérimentaux et les doses de pectine additionné ($p < 0.01$).

Tableau 07. Evolution des teneurs moyennes en pH des yaourts additionnés de pectine

| Périodes | Dose de la pectine incorporée (%) | | | | Effet de l'incorporation de la pectine |
|---------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--|
| | 0% | 0.1 % | 0.3 % | 0.6 % | |
| Fermentation 2 H | 5.34 ^a ± 0.01 | 5.18 ^b ± 0.07 | 4.92 ^c ± 0.02 | 4.92 ^c ± 0.03 | ** |
| | 4.63 ^a ± 0.01 | 4.65 ^a ± 0.03 | 4.5 ^b ± 0.01 | 4.49 ^b ± 0.02 | |
| Post-acidification 7 J | 4.19 ^a ± 0.03 | 4.13 ^b ± 0.01 | 4.09 ^b ± 0.01 | 4.09 ^b ± 0.01 | ** |
| | 4.13 ± 0.03 | 4.15 ± 0.01 | 4.1 ± 0.01 | 4.11 ± 0.03 | NS |
| | 4.11 ± 0.03 | 4.04 ± 0.06 | 4.02 ± 0.01 | 4.02 ± 0.01 | NS |

Les résultats sont exprimés en moyenne suivis de l'erreur type ; ** Effet hautement significatif ($p < 0.01$) d'ajout de pectine ; NS : effet non significatif ($P > 0.05$) d'ajout de pectine ; a, b, c : comparaison statistique des moyennes deux à deux.

Pour la deuxième et la troisième semaine de conservation, les valeurs du pH se développent indépendamment des taux de pectine, pour se stabiliser aux valeurs finales (4.11, 4.04, 4.02, et 4.02) pour les doses de pectine de (0, 0.1, 0.3 et 0.6%) incorporées dans les produits, respectivement (Tableau 07).

1.2.2. Acidité

Au cours de la période de fermentation, l'évolution de l'acidité Dornic des yaourts supplémentés de pectine est marquée par une nette augmentation de 70,29°D en moyenne à 2 heures, pour atteindre 90,50°D après 4 heures de fermentation.

Durant la période de post-acidification, une augmentation progressive de l'acidité des laits fermentés expérimentaux a été enregistrée. Elle varie de 95,12°D en début de conservation, à 96,23°D au 14^{ème} jour, pour atteindre 96,69°D après 21^{ème} jour de conservation à 4°C (Tableau 08).

Tableau 08. Evolution de l'acidité Dornic des yaourts additionnés de pectine

| Périodes | Dose de la pectine incorporée (%) | | | | Effet de l'incorporation de la pectine |
|---------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|------------------------------|--|
| | 0% | 0.1 % | 0.3 % | 0.6 % | |
| Fermentation 2 H | 54.33 ^c ± 11.24 | 68.33 ^b ± 3.21 | 70.5 ^b ± 6.26 | 88 ^a ± 1.73 | * * |
| | 80.66 ^c ± 1.52 | 90.66 ^b ± 1.52 | 91.66 ^b ± 5.68 | 99 ^a ± 3,60 | |
| Post-acidification 7 J | 87.33 ± 5.77 | 92.66 ± 11.01 | 100.83 ± 3.32 | 99.66 ± 3.51 | NS |
| | 89.33 ± 6.65 | 96.66 ± 3.51 | 99.26 ± 4.19 | 99.66 ± 8.62 | |
| | 89.66 ± 7.09 | 98 ± 8.71 | 99.1 ± 7.53 | 100 ± 4.58 | |

Les résultats sont exprimés en moyenne suivis de l'erreur type ; ** Effet hautement significatif ($p < 0.01$) d'ajout de pectine ; NS : effet non significatif ($P > 0.05$) d'ajout de pectine ; a, b, c : comparaison statistique des moyennes deux à deux.

Par ailleurs, durant la période de fermentation, il paraît que l'acidité Dornic est proportionnelle avec l'augmentation du taux d'addition de la pectine de (0, à 0.1, à 0.3 et à 0.6%) dans les yaourts expérimentaux ($p < 0.01$) ; soit des teneurs qui varient de

(68.33, à 54.33, à 70.5, et à 88°D) après 2 heures, et de (80.67, à 90.67, à 91.67, et à 99°D) après 4 heures d'étuvage, respectivement.

La deuxième phase de post-acidification a été marquée par une légère augmentation de l'acidité Dornic au cours des trois semaines de conservation, avec des valeurs qui varient de (87.33, à 92.67, à 100.83, et à 99.67°D) au 7^{ème} jour, de (89.33, à 96.67, à 99.27, et à 99.67°D) au 14^{ème}, et de (89.67, à 98, à 99.1, et à 100°D) au 21^{ème} jour expérimental, et ce pour respectivement les produits additionnés de pectine à (0, 0.1, 0.3 et 0.6%) (Tableau 10).

1.2.3. Viscosité

D'une façon globale, au cours de toute la période de fermentation, la viscosité des laits fermentés a tendance à accroître de (8.72 Pas) à 2 heures de fermentation des produits à l'étuve, jusqu'à (23.82 Pas) en moyenne après 4 heures, à la fin de fermentation.

Durant la période de post-acidification, la viscosité augmente de la même manière ; avec des valeurs moyennes qui varient de 35.47, à 39.23, et à 40.23 Pas durant le 7^{ème}, 14^{ème}, et 21^{ème} jour de stockage des échantillons des laits fermentés au froid à 4°C (Figure 08).

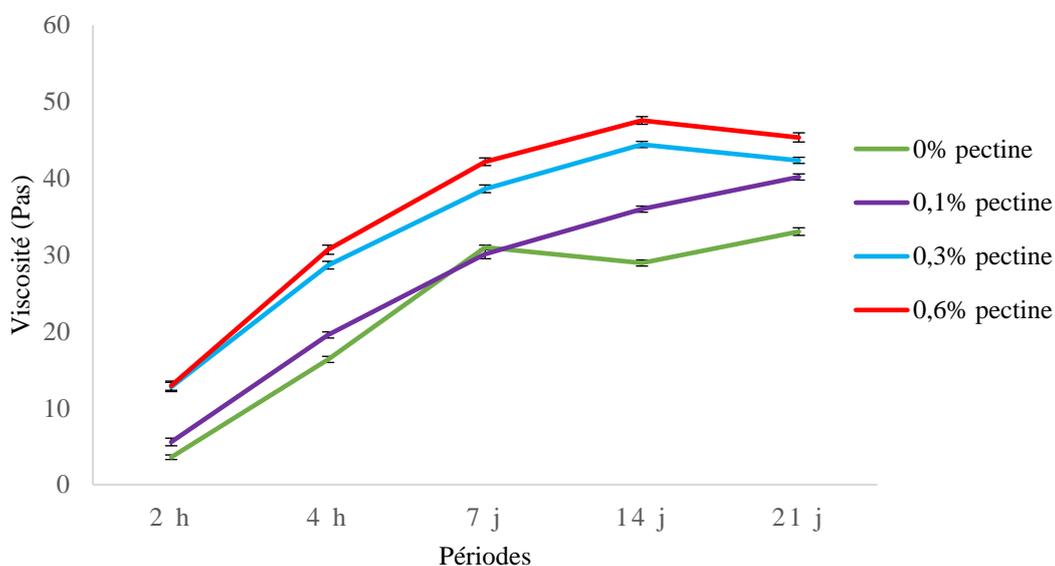


Figure 08. Evolution des teneurs moyennes en viscosité (Pas) des laits fermentés expérimentaux au cours des périodes de fermentation et de post-acidification.

Durant la phase de fermentation, les résultats montrent une augmentation de la viscosité, corrélée positivement avec l'augmentation de (0, 0.1, 0.3, et 0.6%) des taux de pectine incorporés dans les laits fermentés ($p < 0.01$) ; soit des valeurs respectives variables

de 3.59, à 5.58, à 12.76, et à 12.93 Pas à 2 heures, et de 16.36, à 19.55, à 28.66, et à 30.68 Pas après 4 heures d'étuvage.

En revanche, l'effet de l'addition de la pectine d'orange sur la viscosité des produits, s'est montré hautement significatif ($p < 0.01$) durant la période de post acidification de conservation au froid; avec des valeurs variables de 28.95, à 35.98, à 44.42, et à 47.56 Pas au 14^{ème} jour et de 33.05, à 40.18 puis à 42.35, et à 45.35 Pas au 21^{ème} jour et ceci pour les taux d'incorporation de pectine de (0, 0.1, 0.3 et 0.6%) successivement dans les yaourts (Tableau 09).

Tableau 09. Evolution de la viscosité des yaourts additionnés de pectine

| Périodes | Dose de la pectine incorporée (%) | | | | Effet de l'incorporation de la pectine | |
|--------------------|-----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|--|----|
| | 0% | 0.1 % | 0.3 % | 0.6 % | | |
| Fermentation | 2 h | 3.59 ^b ± 0.58 | 5.58 ^b ± 2.11 | 12.76 ^a ± 1.37 | 12.93 ^a ± 1.96 | ** |
| | 4 h | 16.36 ^b ± 1.39 | 19.55 ^{ab} ± 5.29 | 28.66 ^a ± 7.26 | 30.68 ^a ± 5.24 | * |
| Post-acidification | 7 J | 30.98 ^b ± 0.67 | 30.11 ^b ± 5.13 | 38.64 ^a ± 1.95 | 42.17 ^a ± 1.48 | ** |
| | 14 J | 28.95 ^c ± 4.52 | 35.98 ^b ± 3.79 | 44.42 ^a ± 2.34 | 47.56 ^a ± 1.84 | ** |
| | 21 J | 33.05 ^b ± 1.81 | 40.18 ^a ± 1.55 | 42.35 ^a ± 2.68 | 45.35 ^a ± 4.01 | ** |

Les résultats sont exprimés en moyenne suivis de l'erreur type ; ** Effet hautement significatif ($p < 0.01$) d'ajout de pectine ; NS : effet non significatif ($P > 0.05$) d'ajout de pectine ; a, b, c : comparaison statistique des moyennes deux à deux.

1.3. Qualité microbiologique des laits fermentés supplémentés de pectine

1.3.1. *Streptococcus thermophilus* :

Globalement, l'évolution du nombre des *Streptococcus thermophilus* dans les yaourts expérimentaux est caractérisée par un net accroissement pendant la fermentation avec des

valeurs moyennes qui augmentent de 454×10^5 à 616×10^5 UFC/mL après 2 heures et 4 heures de fermentation, successivement.

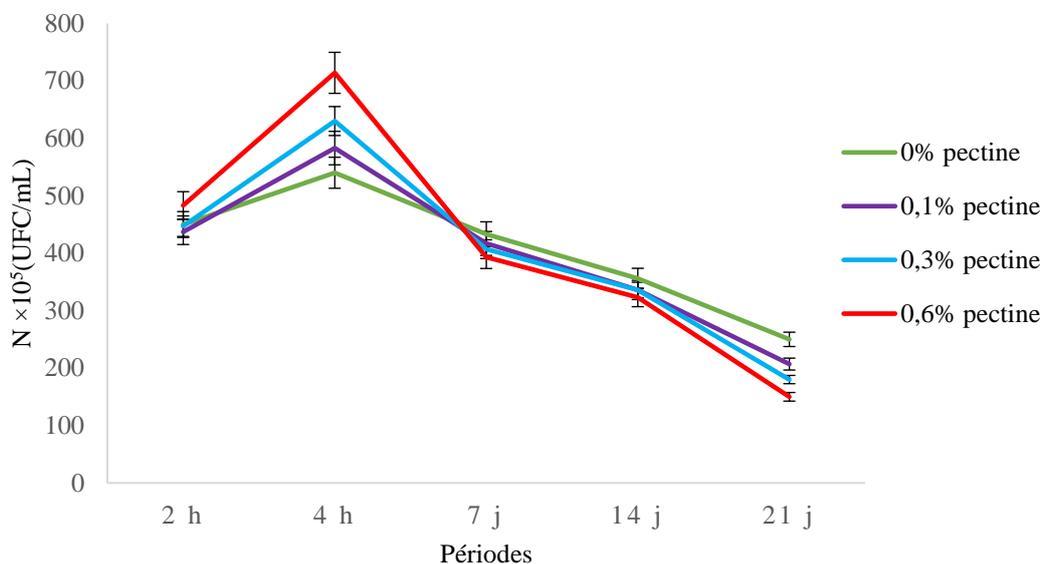


Figure 09. Variations du nombre de *Streptococcus thermophilus* (UFC/mL) des yaourts additionnés de la pectine.

Pendant la période de post-acidification, le nombre moyen de *Streptococcus thermophilus* dans les yaourts expérimentaux passe de 412×10^5 UFC/mL au 7^{ème} jour, à 169×10^5 UFC/mL à la fin de la période de stockage (Figure 09).

A la fin de la période de fermentation, le nombre de germes semble d'autant plus élevé que le taux d'incorporation de la pectine dans les produits d'essais est augmenté ($p > 0.05$) ; soit des valeurs qui varient de (540×10^5 , à 583×10^5 , à 630×10^5 , et à 714×10^5 UFC/mL) pour les taux de pectine de (0, 0.1, 0.3 et 0.6%) incorporés dans les yaourts, respectivement.

Par contre, il a été observé que pendant la période de stockage, le nombre de germes devient inversement proportionnel aux taux d'addition de la pectine ($p > 0.05$); avec des valeurs de (433×10^5 , 417×10^5 , 407×10^5 , et 393×10^5 UFC/mL) au 7^{ème} jour, de (356×10^5 , 336×10^5 , 336×10^5 , et 323×10^5 UFC/mL) au 14^{ème} jour, et de (250×10^5 , 207×10^5 , 180×10^5 , et 150×10^5 UFC/mL) après 21 jours d'entreposage au froid.

L'analyse de la variance montre un effet non significatif du taux d'incorporation de la pectine sur l'évolution moyenne du nombre de *Streptococcus thermophilus* des laits fermentés expérimentaux au cours des périodes de fermentation et de post-acidification.

1.3.2. *Lactobacillus bulgaricus* :

Le nombre de *Lactobacillus bulgaricus* dans les yaourts additionnés de la pectine augmente de 397×10^5 UFC/mL à 2 heures, jusqu'à 809×10^5 UFC/mL en moyenne après 4 heures d'étuvage.

Cette augmentation se poursuit jusqu'au 14^{ème} jour de stockage avec une valeur moyenne qui atteint (10×10^7 UFC/mL) au 7^{ème} jour, (10×10^7 UFC/mL) au 14^{ème} jour, suivi d'une diminution du nombre des lactobacilles à (7×10^7 UFC/mL) à la fin de la période de stockage à 4°C (Figure 10).

Pendant les 4 heures de fermentation, le nombre de *Lactobacillus bulgaricus* connaît un accroissement selon les taux variables de 0, 0.1, 0.3 et 0.6% de pectine incorporés ($p < 0.05$) ; avec des valeurs qui varient dans les produits remarquablement et respectivement de (710×10^5 , à 800×10^5 , à 824×10^5 , et à 904×10^5 UFC/mL) après 4 heures de fermentation.

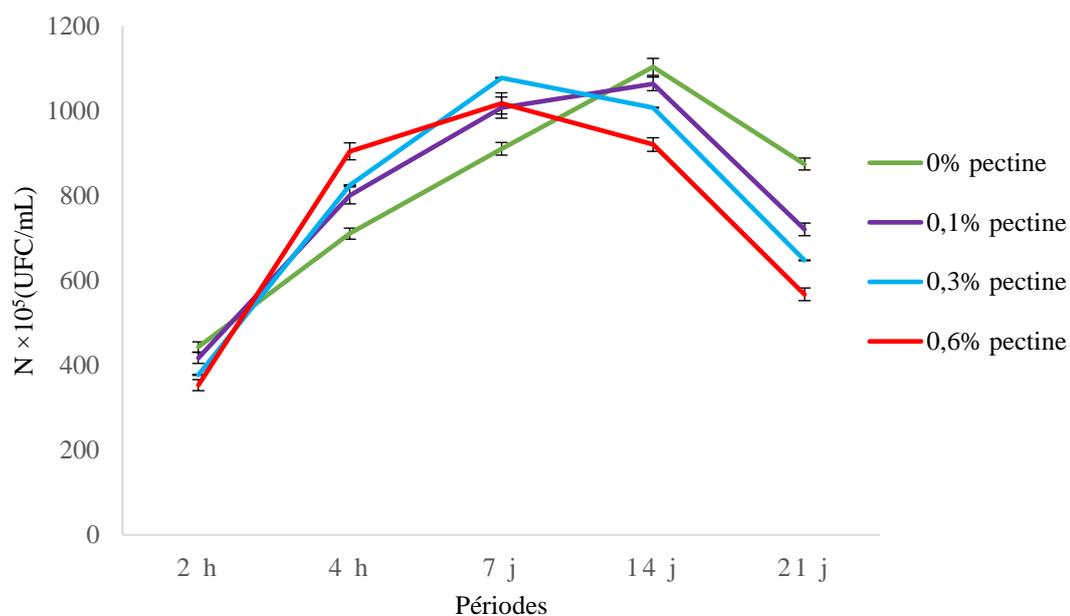


Figure 10. Variations du nombre de *Lactobacillus bulgaricus* (UFC/ml) des laits fermentés additionnés de la pectine.

Cette tendance se poursuit jusqu'au 7^{ème} jour de post-acidification, et même au-delà, puis une relation inversement proportionnelle s'établit entre le nombre de germes et le taux de pectine additionné, dès la deuxième semaine jusqu'à la fin de cette phase de conservation ; avec des valeurs qui fluctuent de (874×10^5 , à 720×10^5 , à 647×10^5 , et à 567×10^5 UFC/mL) pour les taux variables de pectine de (0, 0.1, 0.3 et 0.6%) dans les yaourts expérimentaux, respectivement.

L'analyse de la variance dévoile l'effet notable du taux d'incorporation de la pectine sur l'évolution moyenne en nombre de *Lactobacillus bulgaricus* des yaourts expérimentaux au cours des périodes de fermentation et de post-acidification.

1.4. Qualité organoleptique des laits fermentés supplémentés de pectine

1.4.1. Goût :

Au cours de la période de post-acidification, les yaourts additionnés de pectine à (0, 0.1, 0.3 et 0.6%) présentent des valeurs de sommes des rangs qui varient de 31, 30, 19.5 et 19.5 somme de rangs au 1^{er} jour à 33.5, 31.5, 21.5 et 13.5 après 21 jour de conservation à 4°C, respectivement. Les résultats du Tableau 10 montrent que les yaourts additionnés de 0.6% de pectine présentent les meilleures valeurs de goût en comparaison avec les yaourts additionnés de 0, 0.1 et 0.3% de pectine.

Tableau 10 : Evaluation sensorielle du goût (sommes des rangs) des laits fermentés additionnés de pectine au cours de la période de post-acidification.

| Période | Dose de la pectine incorporée (%) | | | | Effet de d'incorporation de la pectine |
|---------|-----------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--|
| | 0 % | 0.1 % | 0.3 % | 0.6 % | |
| 1 j | 31 ^a | 30 ^a | 19.5 ^a | 19.5 ^a | * |
| 7 j | 28 | 29.5 | 22 | 20.51 | NS |
| 14 j | 30.5 ^a | 29.5 ^a | 24 ^{ab} | 16 ^b | ** |
| 21 j | 33.5 ^a | 31.5 ^a | 21.5 ^b | 13.5 ^c | ** |

Les résultats sont exprimés en sommes des rangs ; ** : Effet hautement significatif ($p < 0.01$) d'ajout de pectine ; * : Effet significatif ($p < 0.05$) d'ajout de pectine ; NS : effet non significatif ($P > 0.05$) d'ajout de pectine ; a, b, c : comparaison statistique des sommes des rangs.

Au cours de la période de post-acidification, le jury a qualifié le goût des yaourts expérimentaux comme étant bon ; l'amélioration du goût s'avère proportionnelle avec les taux de pectine additionnés ($p < 0.01$). Ceci est clairement observé à la deuxième et la troisième semaine de conservation ($p < 0.01$) (Tableau 10).

1.4.2. Cohésivité :

Au cours de la phase de conservation, l'évolution des sommes des rangs de la cohésivité des yaourts expérimentaux a tendance à augmenter avec l'augmentation des taux de la pectine ($p < 0.01$); soit des moyennes des sommes des rangs de (32.63, 35, 18, et 14.63) pour les doses de pectine de (0, 0.1, 0.3 et 0.6%) incorporées dans les produits respectivement (Tableau 11).

Tableau11. Evaluation sensorielle de la cohésivité (sommes de rangs) des laits fermentés additionnés de pectine au cours de la période de post-acidification.

| Période | Dose de la pectine incorporée (%) | | | | Effet de l'incorporation de la pectine |
|---------|-----------------------------------|-------------------|-----------------|-------------------|--|
| | 0% | 0.1 % | 0.3 % | 0.6 % | |
| 1 j | 30.5 ^a | 32 ^a | 20 ^b | 17.5 ^b | ** |
| 7 j | 33.5 ^a | 35.5 ^a | 18 ^b | 13 ^c | ** |
| 14 j | 33 ^a | 36 ^a | 17 ^b | 14 ^b | ** |
| 21 j | 33.5 ^a | 35.5 ^a | 17 ^b | 14 ^b | ** |

Les résultats sont exprimés en sommes des rangs ; ** : Effet hautement significatif ($p < 0.01$) d'ajout de pectine ; a, b, c : comparaison statistique des sommes des rangs.

Après 21 jours de la période de conservation les yaourts additionnés de 0.6% de pectine ont enregistré les meilleures valeurs de cohésivité (14 sommes de rangs) ; par contre ceux additionnés de 0, 0.1 et 0.3% ont de médiocres valeurs de cohésivité de 33.5, 35.5 et 17 sommes des rangs, respectivement. L'analyse de la variance montre l'effet hautement significatif du taux d'incorporation de pectine sur l'évolution de la cohésivité des yaourts expérimentaux au cours de l'entreposage des produits au froids pendant 21 jours de la période de post-acidification.

1.4.3. Adhésivité :

Au cours des 21 jours de stockage au froid, tous les échantillons ayant subi une incorporation de quantités variables de pectine (0.1, 0.3, et 0.6%), ont présenté des valeurs de sommes des rangs en moyenne de (26.25, 24, et 17) respectivement en comparaison avec celle du témoin (0% de pectine) pour lequel une valeur moyenne de (27.63) a été enregistrée. L'adhésivité semble donc être s'améliorée avec l'augmentation du taux de pectines dans les produits.

Le traitement statistique des résultats révèle que le taux d'incorporation de pectine a un effet significatif ($p < 0.05$) sur l'évolution de l'adhésivité des yaourts expérimentaux au cours de la période de post-acidification (Tableau 12).

Tableau 12. Evaluation sensorielle de l'adhésivité (sommés de rangs) des laits fermentés additionnés de pectine au cours de la période de post-acidification.

| Périodes | Dose de la pectine incorporée (%) | | | | Effet de l'incorporation de la pectine |
|----------|-----------------------------------|--------------------|--------------------|-----------------|--|
| | 0% | 0,1 % | 0,3 % | 0,6 % | |
| 1 j | 17.5 | 20 | 23 | 19 | NS |
| 7 j | 31 ^a | 26.5 ^{ab} | 26.5 ^{ab} | 16 ^b | * |
| 14 j | 31 ^a | 28.5 ^a | 24.5 ^{ab} | 16 ^b | * |
| 21 j | 31 ^a | 30 ^a | 22 ^{ab} | 17 ^b | * |

Les résultats sont exprimés en sommés des rangs ; * : Effet significatif ($p < 0.05$) d'ajout de pectine ; NS : Effet non significatif ($p > 0.05$) ; a, b : comparaison statistique des sommés des rangs.

1.4.4. Arrière-goût :

Au cours de toute la période de post acidification, le jury de dégustation a conclu, que l'arrière-goût est d'autant plus prononcé que les taux d'incorporation de la pectine d'orange sont diminués dans les produits ($p < 0.01$); avec des moyennes de sommés des rangs qui varient de (39.75, à 29.62, à 18.75, et à 11.87) pour les taux de pectine variables de (0, 0.1, 0.3 et 0.6%) respectivement dans les produits (Tableau 13).

Tableau 13. Evaluation sensorielle de l'arrière-goût (Sommés de rangs) des laits fermentés additionnés de pectine au cours de la période de post-acidification.

| Période | Dose de la pectine incorporée (%) | | | | Effet de l'incorporation de la pectine |
|---------|-----------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--|
| | 0% | 0,1 % | 0,3 % | 0,6 % | |
| 1 j | 40 ^a | 29 ^b | 20 ^b | 11 ^d | ** |
| 7 j | 40 ^a | 29.5 ^b | 18.5 ^c | 12 ^d | ** |
| 14 j | 39.5 ^a | 30 ^b | 18 ^c | 12.5 ^d | ** |
| 21 j | 39.5 ^a | 30 ^b | 18.5 ^c | 12 ^d | ** |

Les résultats sont exprimés en sommés des rangs ; ** : Effet hautement significatif ($p < 0.01$) d'ajout de pectine ; NS : Effet non significatif ($p > 0.05$) ; a, b, c, d : comparaison statistique des sommés des rangs.

1.4.5. Exsudation du lactosérum :

Durant toute la période de conservation au froid à 4°C, tous les échantillons ayant subi une incorporation de pectine à (0.1, 0.3, et 0.6%) ont présenté des valeurs de sommes des rangs variables en moyenne de (29.38, à 24.88, et à 16.5) respectivement. Ces valeurs restent meilleures en comparaison à celle du témoin standard sans pectine (0%) pour lequel un niveau de somme des rangs de 29.38 a été enregistré. Ainsi, le phénomène de l'exsudation du lactosérum s'avère inversement proportionnel ($p < 0.01$) à l'augmentation des doses de pectines dans les produits expérimentaux (Tableau 14).

Tableau 14. Evaluation sensorielle de l'exsudation du lactosérum (sommés de rangs) des laits fermentés additionnés de pectine au cours de la période de post-acidification.

| Périodes | Dose de la pectine incorporée (%) | | | | Effet de l'incorporation de la pectine |
|----------|-----------------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|--|
| | 0% | 0,1 % | 0,3 % | 0,6 % | |
| 1 j | 25.5 | 30 | 26 | 17.5 | NS |
| 7 j | 23.5 ^a | 33.5 ^a | 28 ^a | 15 ^b | ** |
| 14 j | 31 ^a | 30 ^a | 23.5 ^{ab} | 17 ^b | * |
| 21 j | 37.5 ^a | 24 ^b | 22 ^b | 16.5 ^b | ** |

Les résultats sont exprimés en sommes de rangs ; ** : Effet hautement significatif ($p < 0.01$) d'ajout de pectine ; * : Effet significatif ($p < 0.05$) d'ajout de pectine ; NS : Effet non significatif ($p > 0.05$) ; a, b : comparaison statistique des sommes des rangs.

L'analyse de la variance présente l'effet hautement significatif ($p < 0.01$) du taux d'incorporation de la pectine sur l'évolution de l'exsudation du lactosérum des laits fermentés expérimentaux au cours de la période de post-acidification.

2. Discussion

2.1. Caractéristiques chimiques et techno fonctionnelles

Le rendement d'extraction de la pectine est estimé à 24.33%. Ce rendement est proche de celui rapporté par Maran et *al.* (2013) de l'ordre de 19.24%. Tandis que, Zanella et Taranto (2015) ont constaté des rendements d'extraction de pectine d'albedo d'orange de la variété *Citrus sinensis L. osbeck* très élevés avoisinant 38.21 %. D'autres travaux menés par Guo et *al.* (2012) ont montré toutefois des rendements très faibles d'environ 15.47 %. Les paramètres d'extraction (pH, temps et température) ainsi que les caractéristiques de la matière première sont à l'origine de ces variations (Fishman et *al.*, 2000). Kalapathy et Proctor (2001), ont montré qu'une température basse et un court temps d'extraction aboutit à un faible rendement d'extraction, en plus l'acide utilisé pour l'extraction et la nature d'alcool utilisé pour la précipitation peut influencer fortement le rendement d'extraction de la pectine. Le chauffage de la solution d'HCl permet l'hydrolyse des composants pectiques situé principalement dans la lame moyenne des parois cellulaires (proto-pectine) ce qui augmente le rendement en pectine. Chan et Choo (2013) ont constaté qu'une basse température est insuffisante pour l'hydrolyse de la protopectine (forme insoluble de pectine) par l'acide qui aboutit à un faible rendement en pectine.

Les polysaccharides pectiques sont situés principalement dans la lamelle moyenne entre les cellules dans les tissus des végétaux supérieurs. Ils ont un poids moléculaire élevé, et sont étroitement liés aux autres polymères composant les parois cellulaires qui empêchent leur libération de la matrice des cellules. Pour extraire les substances pectiques contenues dans l'écorce d'orange, un prétraitement par micro-ondes de la matière végétale a été préconisé pour faciliter l'extraction de la pectine (Kratchanova et *al.*, 2004 ; Rezzoug et *al.*, 2008). En effet, Kratchanova *et al.*, (2004) avaient signalé que pendant le prétraitement par micro-ondes, une pression considérable s'accumule à l'intérieur des cellules. Cette haute pression modifie alors les propriétés physiques des tissus de la peau d'orange et leur forme de base, en décomposant la structure des cellules et en améliorant la structure capillaire poreuse des tissus d'oranges. Ce dispositif permet une meilleure pénétration du solvant d'extraction dans les tissus, et par conséquent, une amélioration de l'extraction de la pectine, tout en réduisant considérablement le temps de l'extraction.

Les mêmes auteurs ont signalé aussi que le prétraitement des écorces du fruit par micro-ondes mène impérativement à une augmentation considérable du rendement et de la qualité de la pectine. Ceci est d'abord à la désintégration partielle du tissu végétal et

à l'hydrolyse de la protopectine et en second lieu, à l'inactivation rapide des enzymes pectolytiques (Kratchanova *et al.*, 2004).

Par ailleurs, Yapo (2009) rapporte que l'acide citrique permet d'extraire une pectine moins dégradée (sans dépolymérisation ni désestérification). Par conséquent, il mène aux isolats de pectine avec des meilleures propriétés de gélification, pouvant être employés dans le secteur agroalimentaire même s'ils contiennent des résidus d'acide, sans présenter des dangers aux consommateurs. En contrepartie, l'extraction par les acides forts, tels que l'acide chlorhydrique, permet d'extraire une pectine plus ou moins altérée (dépolymérisation et/ou désestérifications), néanmoins, elle reste la plus utilisée à l'échelle industrielle, de par la disponibilité des acides minéraux, et leur coût peu élevé. L'utilisation des solutions d'acides forts semble la mieux adaptée au vue surtout des meilleures rendements d'extraction de pectine obtenus par comparaison à l'usage de l'acide citrique (Kanmani *et al.*, 2014 ;Zanella et Taranto 2015).

Les teneurs en humidité semblent faibles dans nos échantillons comparativement à la pectine commerciale. L'humidité est un facteur très important pour la conservation de la pectine. Un faible pourcentage en humidité augmente les durées de stockage et inhibe la croissance des microorganismes qui affectent la qualité des pectines par production d'enzymes hydrolytiques à savoir (pectinases) (Mohamadzadeh *et al.*, 2010).

Les taux en cendre de la pectine expérimentale est inférieure à ceux de la pectine commerciale. Une faible teneur en cendre est favorable pour la formation d'un gel. La limite maximale de la teneur en cendre pour une meilleure qualité des gels de pectine est de 10% (Ismail *et al.*, 2012).

Le poids équivalent de la pectine d'écorce d'orange utilisée dans l'étude est de 620.03. Kanmani *et al.* (2014) ont trouvé que le poids équivalent de la pectine de *Citrus sinensis*, *Citrus limetta* et *Citrus limon* est de 594.86, 386.45 et 253.70, respectivement. Ces résultats montrent bien l'existence d'une différence variétale en poids équivalent et que la plus grande valeur est enregistrée chez l'espèce *Citrus sinensis*. La valeur du poids équivalent de la pectine peut varier aussi selon la matière première et son degré de maturation. Azad *et al.* (2014) ont constaté que le poids équivalent de la pectine extraite de citron varie de 1175, 1632 et 368 pendant trois stades de maturation : avant maturation, maturation et après maturation, respectivement. Selon les mêmes auteurs, le stade de maturation a un effet significatif ($p < 0.05$) sur la valeur du poids équivalent. Les échantillons extraits pendant la

phase de maturation ont le poids équivalent le plus élevé tandis que la plus faible valeur est enregistrée pour les échantillons de la phase après maturation. Cette diminution peut être due à une partielle dégradation de la pectine.

Le poids équivalent de la pectine est aussi en fonction de la teneur totale en acide galacturonique libre (non estérifier) dans la chaîne de la molécule de pectine (Rangama, 1977). Selon Rouse (1977), un degré d'estérification supérieur provoquent la diminution de la teneur en acide libre et induit par conséquent à une augmentation de la valeur du poids équivalent. La diminution du poids équivalent peut être due à une dégradation partielle de la pectine et dépend de la quantité d'acide libre (Ramli et Asmawati, 2011).

La pectine d'orange extraite peut être classée comme une pectine à faible degré de méthylation (pectine faiblement méthylée) puisque son degré d'estérification est inférieur à 50%. Ces pectines faiblement méthylées sont souvent utilisées en industrie agroalimentaire comme agent gélifiant dans les produits à faible concentration en sucre comme les gelées et confitures à faibles calories (Tang et al., 2011).

La pectine d'écorce d'orange expérimentale a une teneur faible en méthoxyle et présente un degré d'estérification inférieur en comparaison avec la pectine commerciale. Plusieurs travaux ont montré des teneurs variables des teneurs en méthoxyle chez *Citrus sinensis*, *Citrus limetta* et *Citrus limon* ; de 6.84%, 4.46% et 2.34%, respectivement (Kanmani et al., 2014). Les mêmes auteurs ont constaté chez les espèces *Citrus sinensis*, *Citrus limetta* et *Citrus limon* des degrés d'estérification de 3.20%, 2.98% et 1.50%, successivement.

La teneur en méthoxyle de la pectine peut aussi varier selon l'espèce végétale : écorce de mangue 7.33%, banane (7.03%), écorce de pamplemousse (8.57 %) et citron (9.92%) (Madhav et Pushpalatha, 2002). Selon Ismail et al. (2012), cette teneur varie de 2.98% à 4.34%. Azad et al. (2014) ont montré toutefois la teneur en méthoxyle de pectine de citron peut varier de 4.26% à 10.25% en fonction de l'état de maturation des fruits. La teneur en méthoxyle et le degré d'estérification diffèrent également selon les conditions d'extraction (Chan et Choo, 2013). La teneur en méthoxyle est un facteur très important pour contrôler le temps et la capacité de formation des gels de pectine (Constella et Lozano, 2003).

La pectine faiblement méthylée (DE < 50%) peut former un gel en présence d'ion bivalent, par exemple des ions de calcium et ceci en présence ou en absence de sucre (Combo et al., 2011). Le degré d'estérification (DE) et la distribution des groupes carboxyles

libres sont deux facteurs importants de la gélification des pectines faiblement méthylées. Plus le DE est faible, plus l'affinité des chaînes pectiques aux ions de calcium (Ca^{2+}) est grande d'après ainsi des gels plus rigides (Willats et *al.*, 2006). Les pectines hautement méthylées ($\text{DE} > 50\%$) forme un gel en présence de sucre à des concentrations supérieures à 55 % (p/p) et dans un milieu acide (pH 2 – 3.5). Tandis que, les pectines faiblement méthylées ($\text{DE} < 50\%$) nécessitent les ions de calcium (Ca^{2+}) pour former un gel à pH varie de 2.0 – 7.0, en présence ou absence de sucre (Liu et *al.*, 2010).

Le pourcentage de l'acide galacturonique (AG) est un facteur très important qui renseigne sur la pureté de la pectine. Il est recommandé qu'il doit être supérieur à 65% (Food Chemicals Codex, 1996). Cependant, la teneur en acide galacturonique (AG) de la pectine objet de l'étude extraite d'écorce d'orange est inférieure à 65%. Ces résultats indiquent que cette pectine n'est pas pure. Les mêmes résultats ont été trouvés par Ismail et *al.* (2012).

La nature de l'acide utilisé pour l'extraction est un facteur important qui peut aussi influencer la teneur de la pectine en acide galacturonique (AG). Bhat et Singh (2014) ont constaté que l'extraction de la pectine par l'acide chlorhydrique conduit à une teneur en AG plus faible que la pectine extraite par l'utilisation de l'acide citrique. De même, Mohamed et Mohamed (2015) ont montré que la teneur en AG est plus grande lorsque la pectine est extraite par une solution d'acide chlorhydrique (33.90%), suivie de l'extraction par l'eau (31.8%) et finalement, la pectine extraite par l'oxalate d'ammonium (27.7%). La teneur en AG varie également selon la matière première utilisée pour l'extraction de la pectine (source d'extraction). Girma et Worku (2016) ont constaté que la teneur d'acide galacturonique (AG) de pectine extraite de mangue (70.65%) est supérieure à la pectine de banane (53.60%).

2.2. Qualités des yaourts additionnés de la pectine :

Au cours des périodes de fermentation et de post-acidification, une augmentation de l'acidité proportionnelle aux taux de la pectine est enregistrée. D'après Luquet (1990) de tels résultats ne peuvent être justifiés que par une production d'acide lactique due à une fermentation du lactose constitutif du lait par les microorganismes spécifiquesensemencés. Les teneurs de lactate paraissent d'autant plus important que le taux d'incorporation de la pectine soit élevé dans le milieu. Ceci suppose que la pectine agit en stimulant l'activité fermentaire des germes spécifiques du yaourt à l'origine d'une production intense de lactate dans le milieu. De plus, les produits principaux du métabolisme des bactéries lactiques sont constitués de plusieurs acides organiques, qui sont produits soit par la voie homofermentaires

(Acide lactique seulement), ou par la voie hétérofermentaire (Acide lactique, acétique, et formique) et qui peuvent également acidifier et faire varier différemment le pH du milieu (Combo et *al.*, 2011).

L'augmentation de l'acidité des produits expérimentaux commence dès la première semaine de conservation au froid, et semble se stabiliser jusqu'au 21^{ème} jour. Ceci est due vraisemblablement au phénomène de gélification provoqué par l'adjonction de la pectine dans les yaourts, et qui a un pouvoir de complexer l'eau libre du milieu en abaissant l'*A_w* nécessaire au développement des bactériesensemencées et donc leur pouvoir de fermenter le lactose en acide lactique (Buléon et *al.*, 1998).

Par ailleurs, ces résultats reflètent la cohérence des valeurs de pH obtenues ; qui sont inversement proportionnelles d'une part à l'acidité Dornic, et d'autre part aux taux de pectine incorporés dans les laits fermentés.

La réduction de pH et l'augmentation de l'acidité lactique est due à la fermentation du lactose du lait par les deux souches spécifiques *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*. Sokolinska et *al.* (2004), ont constaté que le pH des laits fermentés diminue au cours de la période de fermentation et de post-acidification de 6.7 à 4.11.

Streptococcus thermophilus et *Lactobacillus bulgaricus* vivent en symbiose et il existe une synergie entre les deux bactéries qui porte sur une stimulation mutuelle. Cette stimulation porte principalement sur la croissance, l'acidification et la production de composés aromatiques. *Streptococcus thermophilus* est stimulé par l'apport d'acide aminé et de petits peptides provenant de l'activité protéolytique de *Lactobacillus bulgaricus*. La stimulation de *Lactobacillus bulgaricus* est attribuée à l'acide formique, à l'acide pyruvique et au dioxyde de carbone produit par *Streptococcus thermophilus*. Les deux espèces microbiennes sont des bactéries homo-fermentaire qui produit de l'acide lactique à partir du lactose du lait. La production de l'acide lactique conduit à un abaissement du pH. A l'approche de pH isoélectrique (pHi 4.6) les micelles de caséines perdent leur stabilité stérique, causant ainsi leur floculation, elles précipitent et forment un coagulum (Loveday et *al.*, 2013). Kumar et Mishra (2004), ont trouvé aussi que l'acidité lactique de yaourt augmente avec l'augmentation du taux d'addition de pectine de 0.2, à 0.4 et à 0.6%.

En ce qui concerne la texture, les yaourts expérimentaux sont caractérisés par une nette augmentation de la viscosité durant les deux phases de fermentation et de post-acidification. Cette viscosité peut être décrite comme étant la résistance montrée par une bille standardisée

lors de son déplacement dans un liquide (Schröder et *al.*, 2004). D'après Rawson et Marshall, 1997, ceci est en relation avec la faculté des souches ensemencés à produire des exopolysaccharides (EPS) dont particulièrement, les *Streptococcus thermophilus* durant la phase surtout de fermentation ou ils sont plus actifs. Ces exo polysaccharides augmentent la viscosité et améliorent la texture des laits fermentés (Cerning, 1995). Selon Girard et Lequart (2007), les germes spécifiques du yaourt dont particulièrement *Streptococcus thermophilus* produisent au cours de la fermentation lactique des exopolysaccharides capables de se lier au caséine du lait tout en conférant au produit fini une viscosité et une qualité rhéologique particulière. Guzel-Seydim et *al.* (2005), ont constaté que la viscosité des laits fermentés préparés par des bactéries productrices d'exopolysaccharides est souvent bien supérieure à ceux préparés par des bactéries incapables de les produire.

L'augmentation du taux d'incorporation de pectine dans les laits fermentés de 0, à 0.1, à 0.3 et à 0.6% est accompagnée par une hausse significatif ($p < 0.01$) de viscosité. Les mêmes résultats ont été obtenus par Jensen et *al.* (2010) qui ont constaté que l'augmentation de la concentration en pectine de 0.2 à 0.5% aboutit à l'augmentation de la viscosité des laits acidifiés. La production des EPS et la viscosité semble donc étroitement proportionnelle avec les doses de pectine incorporées. Ces résultats peuvent être expliqués par le fait que la pectine incorporée peut former un réseau tridimensionnel susceptible de complexer les constituants du lait tout en absorbant au maximum l'eau du milieu ayant pour conséquence une élévation de la viscosité des yaourts expérimentaux (Moll et Moll, 1998).

La pectine est constituée essentiellement par des résidus d'acide galacturonique liés entre eux par des liaisons α (1 \rightarrow 4) partiellement acétylés ou estérifiés par des groupements méthyles ce qui lui confère ses propriétés gélifiantes, épaississantes et stabilisantes en plus elle a une très grande capacité de rétention d'eau (Fishman et *al.*, 2000). La pectine peut former ainsi un réseau tridimensionnel susceptible de complexer les constituants du lait tout en absorbant au maximum l'eau du milieu ayant pour conséquence une élévation de la viscosité des yaourts expérimentaux (Marozienne et Kruif, 2000). La pectine une fois absorbée à la surface des micelles de caséines peut former des agrégats stables (Marozienne et Kruif, 2000 ; Tuinier et *al.*, 2002 ; Kiani et *al.*, 2010).

Dans le même contexte, les paramètres organoleptiques relatifs à la texture du yaourt, l'adhésivité et la cohésivité, peuvent être appréhendés d'une manière similaire à celle de la viscosité ; sachant que le gel formé est un mélange de pectine et de caséine, et donc sa force

ainsi que ces critères rhéologiques augmentent proportionnellement avec les taux de pectine incorporés (Laurent et Boulenguer, 2003).

Selon Bourgois et *al.* (1989), les espèces de *Streptococcus thermophilus* assurent le démarrage de la fermentation lactique, et se développent jusqu'à un certain pH du milieu (4,2) ; au-dessus de cette valeur, ces germes sont inhibés et ce sont les *Lactobacillus bulgaricus* qui prennent le relai, et achèvent la fermentation. De même, Guyot (1992) rapporte que les *Streptococcus thermophilus* assurent le départ de la fermentation lactique des yaourts, et leur croissance est stimulée par les acides aminés libérés en conséquence de l'activité protéolytique des *Lactobacillus bulgaricus* provenant des caséines du lait. Ceci se traduit durant la première phase d'incubation par un nombre plus élevé de *Streptococcus thermophilus*, ensuite, il y a un effet inhibiteur de l'acide lactique qui s'exerce sur les *Streptococcus thermophilus* et conduit à une chute de leur nombre (Jeantet et *al.*, 2008).

D'une façon générale, le nombre de ces deux souches est apparu proportionnel aux concentrations de la pectine. Un effet stimulateur de la pectine a été remarqué vis-à-vis notamment de la croissance de *Lactobacillus bulgaricus* durant la phase de post acidification. Grâce à l'utilisation des pectines comme source de carbone (Olano-Martin et *al.*, 2002 ; Manderson et *al.*, 2005 ; Combo et *al.*, 2011) les *Lactobacillus bulgaricus* ont connu une nette élévation proportionnellement avec l'augmentation des concentrations de la pectine dans les produits expérimentaux. Kumar et Mishra (2004) ont constaté éventuellement que le taux d'incorporation de la pectine dans le yaourt exerce un effet significatif sur la croissance des deux souches : *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*

Ces résultats sont confirmés d'ailleurs par Buléon et *al.*, (1998) qui rapportent que l'action du gel formé suite à l'adjonction de la pectine durant la conservation peut affecter l'activité de l'eau (aW) des produits, ce qui peut se traduire par voie de conséquence par une inhibition partielle de la croissance des germesensemencés.

La qualité organoleptique a été nettement améliorée avec l'augmentation du taux d'incorporation de la pectine dans les yaourts expérimentaux. En effet, aux doses sévères de pectine, les produits ont accusé un goût meilleur, un gel, et une texture plus fermes limitant même l'exsudation du lactosérum ; alors que l'arrière-goût des laits fermentés semble être plus prononcé. En ce qui concerne l'adhésivité et la cohésivité, les panelistes ont constaté une nette amélioration de ces critères en fonction des taux de pectine ajoutés. Des résultats

similaires ont été obtenus par Kumar et Mishra (2004) qui ont constaté une amélioration de l'adhésivité et la cohésivité des laits fermentés expérimentaux avec l'addition de pectine.

Le gel formé est un mélange de pectine et de caséine, dont la force s'avère proportionnelle au taux d'additif incorporé (Laurent et Boulenger, 2003). Ceci est confirmé par Jensen *et al.* (2010) qui rapportent que l'augmentation de la concentration en pectine de 0.2 à 0.5% exerce une augmentation remarquable dans les propriétés élastiques et visqueuses des gels de pectine. Dans le même contexte, les résultats de Broomes et Badrie (2010) montrent l'effet significatif de la pectine à produire un gel à texture plus ferme. En plus il est bien établi que les germes spécifiques du yaourt dont particulièrement les *Streptococcus thermophilus* produisent dans le milieu durant la première phase de fabrication du lait fermenté des exopolysaccharides (EPS) qui sont des substances glucidiques constituées particulièrement de β -glucane, susceptibles de se lier au caséines du lait au cours de la fermentation tout en améliorant la qualité rhéologique des yaourts (Lorient *et al.*, 1985 ; Cerning *et al.*, 1986 ; Rawson et Marshall, 1997).

Selon, Bottazzi *et al.* (1973) l'appréciation de la saveur et du goût des laits fermentés peut acquérir chez le consommateur une importance considérable au même titre que la consistance et l'onctuosité. Ces paramètres s'avèrent nettement améliorer d'une manière proportionnellement aux doses de pectine incorporées dans les produits. Apparemment, la pectine peut stimuler les bactéries spécifiques du yaourt à produire d'avantage d'acétaldéhyde (Soukoulis *et al.*, 2007) responsable du goût caractéristique du yaourt. L'acétaldéhyde formé lors de la fermentation lactique est le constituant principal de la flaveur spécifique du yaourt (Sahan *et al.*, 2008). L'interaction entre les protéines du lait et la pectine conduit au dépliage des protéines ce qui rend accessible les groupements hydrophobes. Ces groupements fournissent des sites supplémentaires de fixation des composés volatiles (Mao *et al.*, 2014). Ce qui provoque une diminution de la volatilité des composés d'arôme donc une meilleure flaveur des laits fermentés additionnés de pectine. En plus l'augmentation de la viscosité peut influencer la mobilité des composés d'arôme au sein de la matrice (Mao *et al.*, 2014) ce qui peut diminuer leurs libération vers la phase gazeuse et la perception olfactive résultante est améliorée.

L'amélioration de la texture, due à l'incorporation de la pectine, a eu pour effet une limitation apparente du phénomène de la synérèse des produits définie comme étant la séparation du lactosérum du caillé sans application d'une force externe (Peng *et al.*, 2009) pendant la période de stockage (Zare *et al.*, 2011). En effet, les pectines sont des

hydrocolloïdes anioniques capables d'interagir avec les charges positives sur la surface des protéines (Caséines, protéines sériques), renforçant le réseau tridimensionnel et contrôlant ainsi la synérèse (Soukoulis et *al.*, 2007). L'exsudation de lactosérum est inversement proportionnelle avec l'augmentation des doses de pectine incorporée dans les yaourts expérimentaux ($p < 0.01$). Des résultats comparables ont été rapportés par Everett et *al.* (2005), qui ont avancé que l'addition de pectine dans le yaourt améliore l'exsudation de lactosérum suite à l'absorption de la pectine sur la surface des micelles de caséine du lait ce qui augmente par conséquent la capacité de rétention d'eau des laits fermentés.

Conclusion

A la lumière des résultats obtenus, il apparaît que durant la période de fermentation et de post-acidification, les valeurs d'acidité Dornic enregistrées sont proportionnelles aux taux de la pectine additionnée (0, 0.1, 0.3, et 0.6%) dans les yaourts ; alors qu'une évolution inverse des valeurs de pH en fonction des niveaux de pectine incorporés dans les produits a été constatée.

Par ailleurs, durant la période de conservation de post-acidification, les teneurs moyennes en acidité des yaourts additionnés de pectine semble augmenter légèrement jusqu'au dernier jour de stockage au froid au 21^{ème} jour, mais sans dépasser les normes admises par la réglementation.

Il est à noter également, que la viscosité a enregistré une amélioration intéressante durant la fermentation, surtout dans le produit préparé à la concentration de 0.6% de pectine. En outre, pendant la période de post-acidification, cette tendance semble être maintenue ; la viscosité des laits fermentés a marqué une nette évolution proportionnelle aux taux de pectine incorporée.

Une meilleure prolifération des germes *Streptococcus thermophilus* que les *Lactobacillus bulgaricus* a été observée durant la fermentation contrairement à la période de post-acidification. La prolifération de ces germes durant les deux périodes s'avère d'autant plus importante que le taux de pectine est élevé dans le milieu. Le nombre de *Streptococcus thermophilus* et de *Lactobacillus bulgaricus* dans les laits fermentés est conforme à la norme admise pour un yaourt de 10⁸bactéries vivantes/mL de produit.

La qualité organoleptique a enregistré une amélioration du goût acide et de l'arrière-goût avec l'augmentation du taux de pectine dans les yaourts. La pectine incorporée à des taux de 0.1, 0.3 et 0.6% a nettement amélioré la qualité rhéologique dont notamment la viscosité, l'adhésivité et la cohésivité des laits fermentés. Les yaourts additionnés de 0.6% de pectine ont enregistré les meilleures valeurs de cohésivité, adhésivité et goût. La pectine a nettement améliorée l'aptitude à la conservation limitant même l'exsudation de lactosérum.

Chapitre II : Essai de valorisation des protéines de lactosérum dans la fabrication d'un lait fermenté type yaourt étuvé

1. Résultats

1.1. Composition chimique et propriétés techno-fonctionnels des protéines de lactosérum

1.1.1. Teneur en cendre et humidité

Le Tableau 15 montre les résultats de l'analyse des teneurs en cendre et humidité. Les taux en cendre des protéines de lactosérum sont relativement inférieurs ($p < 0.05$) à ceux du sérum albumine bovine ; 14.66 et 17.33% respectivement.

En revanche, les valeurs d'humidité mesurées sont comparables entre les deux types de protéines ($p > 0.05$) ; 8.16% pour les protéines de lactosérum et 7.30% pour la sérum albumine bovine (Tableau 15).

Tableau 15. Teneur en cendre et humidité des protéines de lactosérum et de la sérum albumine bovine

| | Teneur en cendre (%) | Humidité (%) |
|--------------------------------|---------------------------|--------------|
| Protéines de lactosérum | 14.66 ^b ± 1.15 | 8.16 ± 1.20 |
| Sérum albumine bovine | 17.33 ^a ± 0.57 | 7.30 ± 1.49 |

Les résultats sont exprimés en moyenne suivis de l'erreur type ; a, b : comparaison statistique des moyennes deux à deux.

1.1.2. Solubilité

Les résultats de l'analyse de la solubilité des protéines de lactosérum et la sérum albumine bovine sont représentés dans le (Tableau 16).

Le pH a présenté un effet non significatif sur la solubilité des protéines de lactosérum. Cette solubilité à pH 4 était de 75.93% et à pH 7 est estimé à 71.09%. Tandis que, celles du sérum albumine bovine ont enregistré des valeurs de 95.72% et 86.43% à pH 4 et 7, respectivement.

Tableau 16. Solubilité (%) des protéines de lactosérum et du sérum albumine bovine

| | pH 4 | pH 7 |
|--------------------------------|--------------|--------------|
| Protéines de lactosérum | 75.93 ± 6.86 | 71.09 ± 6.26 |
| Sérum albumine bovine | 95.72 ± 1.66 | 86.43 ± 7.12 |

1.1.3. Pouvoir moussant

L'expansion de la mousse (EM) des protéines de lactosérum (7.00%) est inférieure ($p < 0.01$) à celle de sérum albumine bovine (73.33%) ; alors que, la stabilité de la mousse (SM) (96.00%) des protéines de lactosérum est supérieure ($p < 0.01$) par rapport au sérum albumine bovine (74.00%) (Tableau 17).

Les résultats obtenus montrent l'effet hautement significatif ($p < 0.01$) de la nature de protéine (protéines de lactosérum et SAB) sur l'expansion de la mousse et la stabilité de la mousse (Tableau 17).

Tableau 17. Expansion de la mousse (%) et Stabilité de la mousse (%) des protéines de lactosérum et du sérum albumine bovine

| | EM (%) | SM (%) |
|--------------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Protéines de lactosérum | 7.00 ^b ± 1.00 | 96.00 ^a ± 1.00 |
| Sérum albumine bovin | 73.33 ^a ± 7.63 | 74.00 ^b ± 6.55 |

Les résultats sont exprimés en moyenne suivis de l'erreur type ; a, b : comparaison statistique des moyennes deux à deux ; EM : Expansion de la mousse ; SM : Stabilité de la mousse.

1.1.4. Pouvoir émulsifiant

L'étude de l'indice de capacité émulsifiante (ICE) et l'indice de stabilité de l'émulsion (ISE) des protéines de lactosérum et du sérum albumine bovine est effectuée à différents pH (2, 4, 6, 8 et 10). Selon les résultats obtenus, il est constaté un effet hautement significatif ($p < 0.01$) du pH sur l'indice de capacité émulsifiante des protéines de lactosérum (Tableau 18).

L'indice de capacité émulsifiante (ICE) varie en fonction de pH. L'ICE est maximale à pH 4 ; 11.34 m²/g pour les protéines de lactosérum et 29.10 m²/g pour la sérum albumine bovine.

La stabilité de l'émulsion des protéines de lactosérum varie selon le pH du milieu et elle est maximale à pH 2 (26.62 min). En revanche, la valeur la plus élevée de l'indice de stabilité de l'émulsion (ISE) du sérum albumine bovine est observée au pH de 8 ; 181.29 minutes.

Apparemment, les indices de la capacité émulsifiante, ainsi que de la stabilité des émulsions des protéines de lactosérum sont significativement ($p < 0.01$) plus faibles par comparaison à ceux de la protéine de référence de sérum albumine bovine (Tableau 18).

Tableau 18. Indice de la capacité émulsifiante (m^2/g) et de la stabilité de l'émulsion (min) des protéines de lactosérum et du sérum albumine bovine à différents pH du milieu

| | pH | ICE (m^2/g) | ISE (min) |
|--------------------------------|----|---------------------------|-----------------------------|
| Protéines de lactosérum | 2 | 10.79 ^a ± 0.29 | 26.62 ± 3.79 |
| | 4 | 11.34 ^a ± 1.65 | 23.52 ± 4.17 |
| | 6 | 4.65 ^b ± 0.41 | 16.32 ± 1.90 |
| | 8 | 7.07 ^b ± 1.77 | 19.15 ± 1.71 |
| | 10 | 4.7 ^b ± 1.39 | 22.10 ± 1.27 |
| Sérum albumine bovine | 2 | 27.32 ± 2.26 | 142.66 ^a ± 31.18 |
| | 4 | 29.10 ± 1.59 | 153.39 ^a ± 8.40 |
| | 6 | 23.88 ± 2.39 | 30.62 ^b ± 2.98 |
| | 8 | 26.51 ± 1.26 | 181.29 ^a ± 15.01 |
| | 10 | 28.27 ± 0.74 | 181.16 ^a ± 10.46 |

Les résultats sont exprimés en moyenne suivis de l'erreur type ; a, b : comparaison statistique des moyennes deux à deux ; ICE : indice de capacité émulsifiante ; ISE : indice de stabilité émulsifiante.

1.2. Qualité physicochimique

1.2.1. pH

Au cours de la période de fermentation l'évolution du pH des laits fermentés additionnés de protéines de lactosérum a connu une diminution hautement significative ($p < 0.01$) ; avec des valeurs moyennes de 5.14 à 2 heures et de 4.64 après 4 heures de fermentation.

De même, une diminution remarquable ($p < 0.01$) du pH des laits fermentés additionnés de protéines de lactosérum est enregistrée durant la période de post-acidification. Les valeurs moyennes du pH varient de 4.64 à 4.37 du 1^{er} au 21^{ème} jours de conservation des échantillons expérimentaux à 4°C (Figure 11).

Au cours de la période de fermentation et de post acidification, les mesures de pH des laits fermentés additionnés de protéines de lactosérum semblent suivre une évolution inverse

et significative ($p < 0.05$) aux taux d'incorporation de protéines de lactosérum (0, 1, 1.5, 2 et 2.5%) avec des valeurs moyennes de 4.66, 4.64, 4.61, 4.61 et 4.64 respectivement.

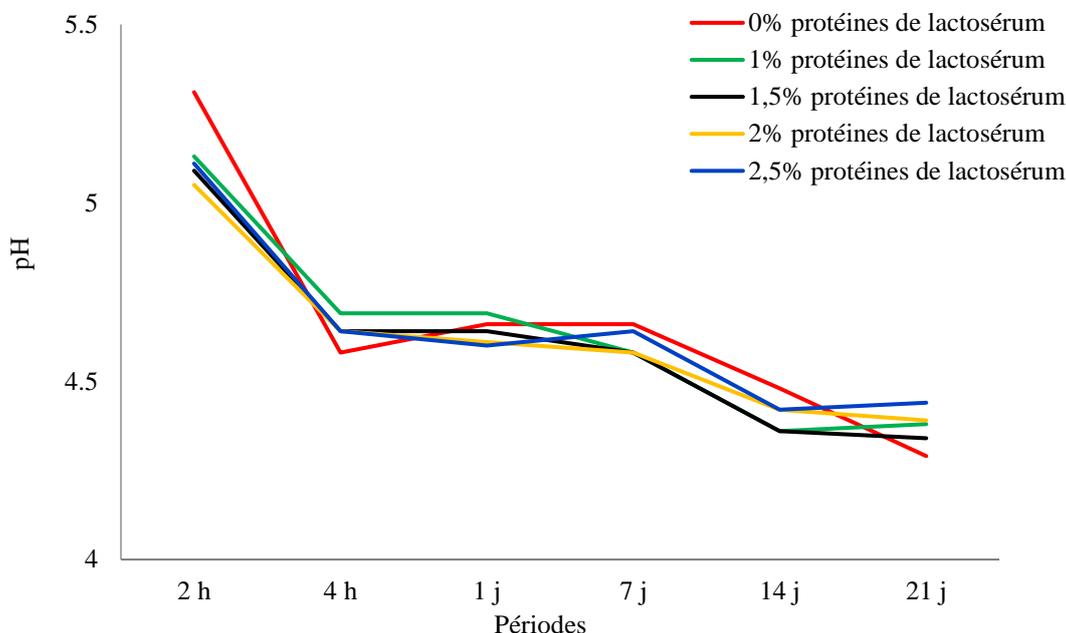


Figure 11. Evolution moyenne du pH des laits fermentés additionnés de protéines de lactosérum

Au cours des deux périodes à savoir de fermentation et de post-acidification, les laits fermentés sans protéines de lactosérum ont enregistré la valeur la plus élevée de pH comparativement aux autres laits fermentés additionnés de protéines de lactosérum (Tableau 19).

L'analyse statistique de la variance montre l'effet significatif du taux d'incorporation de protéines de lactosérum et l'effet hautement significatif des périodes expérimentales (de fermentation et de post-acidification) sur l'évolution du pH des laits fermentés expérimentaux (Tableau 19).

1.2.2. Evolution de l'acidité lactique

Durant la période de fermentation, l'acidité lactique des laits fermentés additionnés de protéines de lactosérum a enregistré une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) avec des valeurs moyennes de 63.33°D à 2 h et de 80.13°D après 4 h de fermentation. Après 21 jours de conservation des laits fermentés expérimentaux à 4°C , l'évolution de l'acidité lactique est marquée par une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) qui varie de

87.46, à 92.6, à 96.66 et à 102.4°D après 1, 7, 14 et 21 jours de conservation des échantillons à 4°C (Figure 12).

Les résultats de l'analyse de l'évolution de l'acidité lactique montrent l'effet hautement significatif du taux d'incorporation de protéine de lactosérum dans les laits fermentés au cours de la période de fermentation et de post-acidification ($p < 0.01$).

Tableau 19. Evolution du pH des laits fermentés additionnés de protéines de lactosérum.

| Périodes | Doses de protéines de lactosérum (%) | | | | | Période (F ₁) | Effet F ₁ | Effet F ₂ | Effet F ₁ ×F ₂ | |
|-------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|----------------------|----------------------|--------------------------------------|--------------------------------|
| | 0% | 1% | 1.5% | 2% | 2.5% | | | | | |
| Fermentation 2h | 5.31 ^a ± 0.05 | 5.13 ^b ± 0.02 | 5.09 ^b ± 0.01 | 5.05 ^b ± 0.01 | 5.11 ^b ± 0.02 | 5.14 ^a ± 0.02 | ** | * | ** | |
| | 4h | 4.58 ^{cd} ± 0.22 | 4.69 ^c ± 0.01 | 4.65 ^c ± 0.01 | 4.64 ^c ± 0.02 | 4.64 ^c ± 0.03 | | | | 4.64 ^b ± 0.08 |
| Post-acidification 1j | 4.66 ^c ± 0.03 | 4.69 ^c ± 0.01 | 4.64 ^c ± 0.01 | 4.61 ^{cd} ± 0.01 | 4.60 ^{cd} ± 0.01 | 4.64 ^b ± 0.01 | | | | |
| | 7j | 4.66 ^c ± 0.02 | 4.58 ^{cd} ± 0.01 | 4.58 ^{cd} ± 0.01 | 4.58 ^{cd} ± 0.01 | 4.64 ^c ± 0.01 | | | | 4.61 ^b ± 0.01 |
| | 14j | 4.48 ^{de} ± 0.03 | 4.36 ^{efg} ± 0.04 | 4.36 ^{efg} ± 0.05 | 4.42 ^{ef} ± 0.05 | 4.42 ^{ef} ± 0.04 | | | | 4.41 ^c ± 0.04 |
| | 21j | 4.29 ^g ± 0.01 | 4.38 ^{efg} ± 0.04 | 4.34 ^{fg} ± 0.05 | 4.39 ^{efg} ± 0.03 | 4.44 ^{ef} ± 0.01 | | | | 4.37 ^d ± 0.02 |
| Dose de protéines (F ₂) | 4.66 ^a ± 0.08 | 4.64 ^{ab} ± 0.02 | 4.61 ^b ± 0.02 | 4.61 ^b ± 0.02 | 4.64 ^{ab} ± 0.02 | | | | | |

Les résultats sont exprimés en moyenne suivis de l'erreur type ; ** : Effet hautement significatif ($p < 0.01$) d'ajout de protéines de lactosérum ; * : Effet significatif ($p < 0.05$) d'ajout de protéines de lactosérum ; a, b, c, d, e, f, g : comparaison statistique des moyennes deux à deux, F₁ : facteur étudié périodes expérimentales, F₂ : facteur étudié dose de protéines de lactosérum additionnés ; F₁×F₂ : interaction des deux facteurs étudiés.

Les valeurs moyennes de l'acidité lactique ont connu une augmentation proportionnelle au taux d'incorporation de protéines de lactosérum (0, 1, 1.5, 2 et 2.5%), l'acidité lactique moyenne des laits fermentés varie de 81.16, 85.27, 88.05, 90.66 et 90.33

respectivement. L'analyse de la variance révèle les effets hautement significatifs des deux facteurs étudiés sur les variations des valeurs de l'acidité lactique des laits fermentés (Tableau 20).

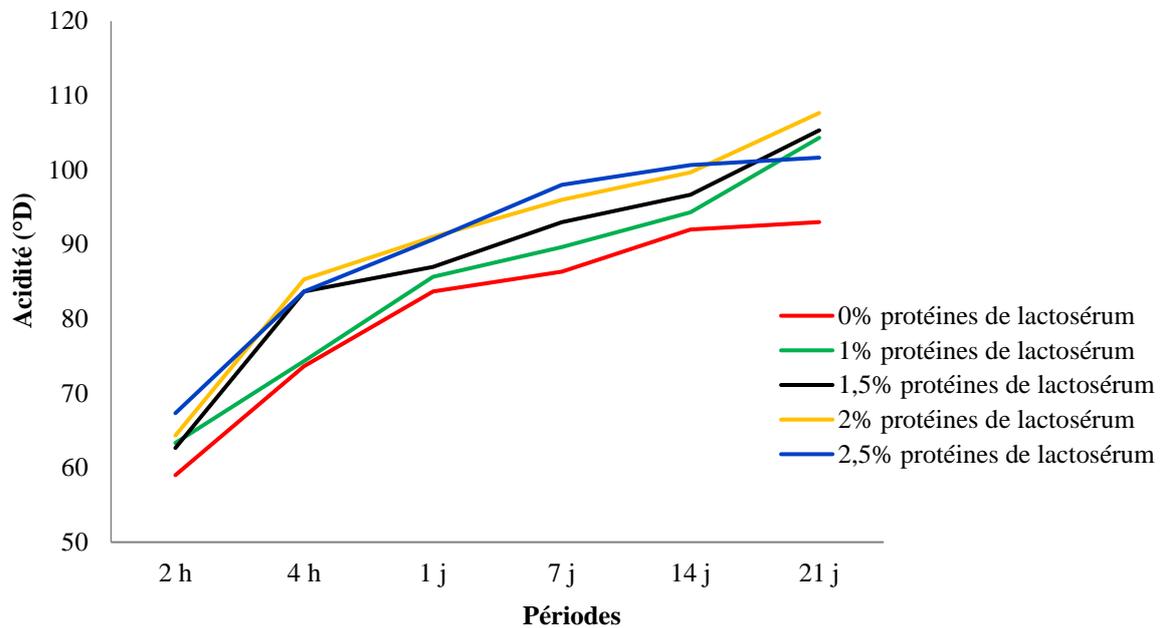


Figure 12. Evolution moyenne de l'acidité titrable (°D) des laits fermentés additionnés de protéines de lactosérum

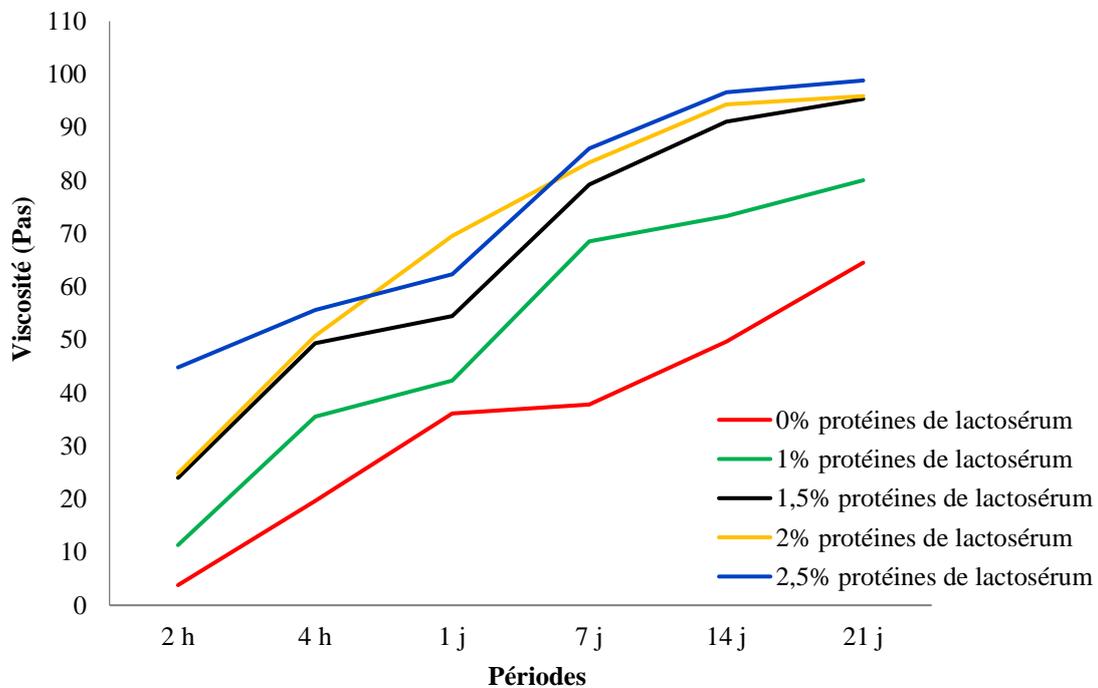


Figure 13. Evolution moyenne de la viscosité (Pas) des laits fermentés additionnés de protéines de lactosérum

Tableau 20. Evolution de l'acidité des laits fermentés additionnés de protéines de lactosérum.

| Périodes | Doses de protéines de lactosérum (%) | | | | | Période (F ₁) | Effet F ₁ | Effet F ₂ | Effet F ₁ ×F ₂ | |
|-------------------------------------|--------------------------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------------|----------------------|----------------------|--------------------------------------|----|
| | 0% | 1% | 1.5% | 2% | 2.5% | | | | | |
| Fermentation | 2h | 59.00 | 63.33 | 62.66 | 64.33 | 67.33 | 63.33 ^e | ** | ** | NS |
| | | ± | ± | ± | ± | ± | ± | | | |
| | 7.00 | 8.73 | 8.73 | 5.50 | 4.50 | 6.00 | | | | |
| | 4h | 73.66 | 74.33 | 83.66 | 85.33 | 83.66 | 80.13 ^d | | | |
| ± | | ± | ± | ± | ± | ± | | | | |
| Post-acidification | 1j | 83.00 | 85.66 | 87.00 | 91.00 | 90.66 | 87.46 ^c | | | |
| | | ± | ± | ± | ± | ± | ± | | | |
| | 7.00 | 2.08 | 6.55 | 3.60 | 12.22 | 6.07 | | | | |
| | 7j | 86.33 | 89.66 | 93.00 | 96.00 | 98.00 | 92.60 ^b | | | |
| | | ± | ± | ± | ± | ± | ± | | | |
| | 1.15 | 5.03 | 8.18 | 13.00 | 1.00 | 6.13 | | | | |
| | 14j | 92.00 | 94.33 | 96.66 | 99.66 | 100.66 | 96.66 ^b | | | |
| | | ± | ± | ± | ± | ± | ± | | | |
| | 9.16 | 3.51 | 9.86 | 10.01 | 3.78 | 6.63 | | | | |
| | 21j | 93.00 | 104.33 | 105.33 | 107.66 | 101.66 | 102.40 ^e | | | |
| ± | | ± | ± | ± | ± | ± | | | | |
| 2.64 | 4.04 | 9.07 | 4.16 | 2.08 | 4.26 | | | | | |
| Dose de protéines (F ₂) | 81.16 ^b | 85.27 ^{ab} | 88.05 ^a | 90.66 ^a | 90.33 ^a | | | | | |
| | ± | ± | ± | ± | ± | | | | | |
| | 5.03 | 4.15 | 6.61 | 6.36 | 5.91 | | | | | |

Les résultats sont exprimés en moyenne suivis de l'erreur type ; ** : Effet hautement significatif ($p < 0.01$) d'ajout de protéines de lactosérum ; NS : Effet non significatif ($p > 0.05$) d'ajout de protéines de lactosérum ; a, b, c, d, e : comparaison statistique des moyennes deux à deux, F₁ : facteur étudié périodes expérimentales, F₂ : facteur étudié dose de protéines de lactosérum additionnés ; F₁×F₂ : interaction des deux facteurs étudiés.

1.2.3. Evolution de la viscosité

La viscosité des laits fermentés additionnés de protéines de lactosérum est caractérisée par une nette augmentation significative ($p < 0.01$) durant la période de fermentation donnant des valeurs moyennes qui sont rehaussées de 21.76 à 42.17 Pas (Figure 13).

Par ailleurs, durant la période de post-acidification, il apparaît que la viscosité des laits fermentés additionnés de protéines de lactosérum est proportionnelle avec l'augmentation du taux d'addition de protéines de lactosérum de (0, 1, 1.5, 2 et 2.5 %) et en fonction de la période de conservation. En effet, les résultats de la viscosité des échantillons varient de (52.96, 70.98, 80.99, et 86.93) après 1, 7, 14 et 21 jours d'entreposage à 4°C. De même ces

valeurs augmentent de 35.26, à 51.84, à 65.58, à 69.78, à 74.03 Pas pour des doses d'addition de protéines de lactosérum de 0, 1, 1.5, 2 et 2.5%, respectivement (Tableau 21).

Un effet hautement significatif ($p < 0.01$) était observé au cours de l'évolution de la viscosité des laits fermentés additionnés aux différents taux de protéines de lactosérum. La viscosité la plus élevée était obtenue pour les laits fermentés additionnés de 2.5% de protéines de lactosérum (74.03 Pas). Comparativement aux laits fermentés additionnés à (0, 1, 1.5 et 2%) de protéines de lactosérum 35.26, 51.84, 65.58 et 69.78 Pas, respectivement. L'analyse de la variance dévoile l'effet hautement significatif du taux d'incorporation de protéines de lactosérum ainsi que des périodes expérimentaux sur les variations des valeurs de la viscosité des laits fermentés (Tableau 21).

Tableau 21. Evolution de la viscosité des laits fermentés additionnés de protéines de lactosérum.

| Périodes | Doses de protéines de lactosérum (%) | | | | | Période (F ₁) | Effet F ₁ | Effet F ₂ | Effet F ₁ ×F ₂ |
|-------------------------------------|--------------------------------------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|---------------------------|----------------------|----------------------|--------------------------------------|
| | 0% | 1% | 1.5% | 2% | 2.5% | | | | |
| Fermentation 2h | 3.79 | 11.34 | 24.00 | 24.86 | 44.80 | 21.76 ^e | ** | ** | NS |
| | ± 1.44 | ± 6.65 | ± 2.16 | ± 2.67 | ± 5.99 | ± 3.66 | | | |
| Fermentation 4h | 19.67 | 35.52 | 49.35 | 50.74 | 55.59 | 42.17 ^d | | | |
| | ± 1.74 | ± 3.12 | ± 9.08 | ± 10.84 | ± 8.94 | ± 6.46 | | | |
| Post-acidification 1j | 36.13 | 42.33 | 54.46 | 69.53 | 62.34 | 52.96 ^c | | | |
| | ± 1.13 | ± 7.46 | ± 5.30 | ± 23.7 | ± 13.45 | ± 10.87 | | | |
| Post-acidification 7j | 37.8 | 68.52 | 79.23 | 83.37 | 86.01 | 70.98 ^b | | | |
| | ± 3.21 | ± 1.44 | ± 10.45 | ± 6.81 | ± 6.52 | ± 5.48 | | | |
| Post-acidification 14j | 49.63 | 73.31 | 91.06 | 94.32 | 96.62 | 80.99 ^a | | | |
| | ± 10.70 | ± 4.41 | ± 10.69 | ± 13.43 | ± 14.03 | ± 9.45 | | | |
| Post-acidification 21j | 64.52 | 80.04 | 95.36 | 95.89 | 98.83 | 86.93 ^a | | | |
| | ± 6.20 | ± 8.64 | ± 7.51 | ± 19.58 | ± 11.97 | ± 9.97 | | | |
| Dose de protéines (F ₂) | 35.26 ^d | 51.84 ^c | 65.58 ^b | 69.78 ^{ab} | 74.03 ^a | | | | |
| | ± 4.46 | ± 4.92 | ± 6.82 | ± 12.35 | ± 8.94 | | | | |

Les résultats sont exprimés en moyenne suivis de l'erreur type ; ** : Effet hautement significatif ($p < 0.01$) d'ajout de protéines de lactosérum ; NS : Effet non significatif ($p > 0.05$) d'ajout de protéines de lactosérum ; a, b, c, d, e : comparaison statistique des moyennes deux à deux, F₁ : facteur étudié périodes expérimentales, F₂ : facteur étudié dose de protéines de lactosérum additionnés ; F₁×F₂ : interaction des deux facteurs étudiés.

1.3. Qualité microbiologique

Durant la période de fermentation, les germes *Streptococcus thermophilus* ont enregistré une nette augmentation de 480×10^5 à 2888×10^5 UFC/ml dans les produits additionnés de protéines de lactosérum (Figure 14).

Par contre, au-delà de cette période, du 7^{ème}, 14^{ème} et 21^{ème} jours de conservation, le nombre de *Streptococcus thermophilus* est caractérisé par une décroissance variable de 1199×10^5 , à 712×10^5 et à 88×10^5 UFC/ml en moyenne, respectivement (Tableau 22).

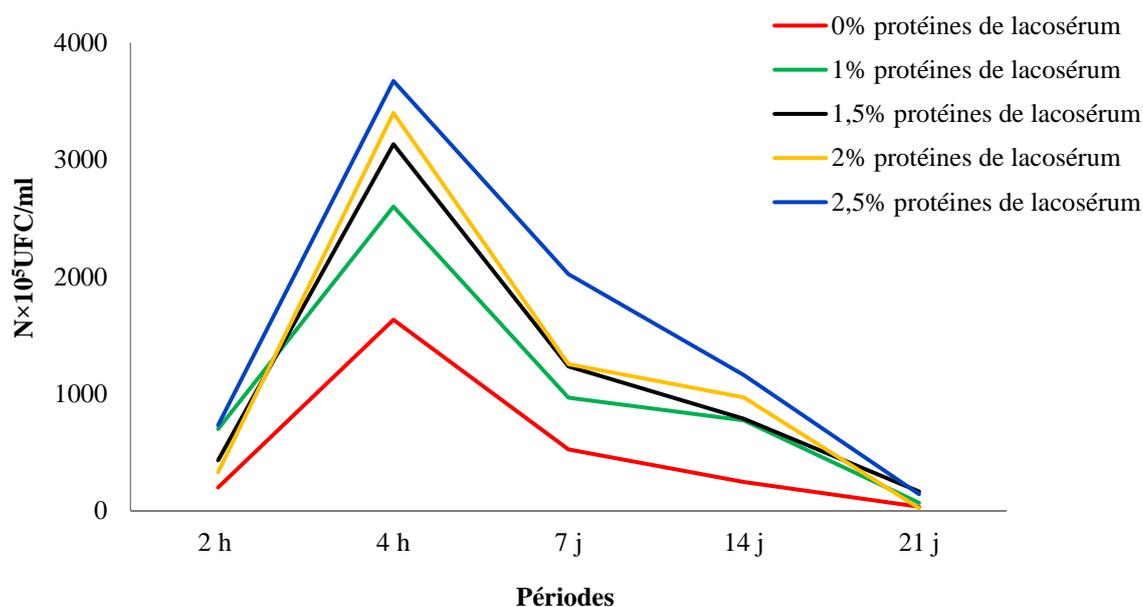


Figure 14. Evolution moyenne du nombre de *Streptococcus thermophilus* des laits fermentés additionnés de protéines de lactosérum

Les résultats obtenus montrent l'effet significatif ($p < 0.05$) du taux d'addition de protéines de lactosérum sur la viabilité des souches. Le nombre de ces germes semble d'autant plus élevé que le taux d'incorporation de protéines de lactosérum dans les échantillons est augmenté ; soit des valeurs qui varient de 529×10^5 , à 956×10^5 , à 1150×10^5 , à 1194×10^5 et à 1546×10^5 UFC/ml pour des pourcentage de protéines de lactosérum de (0, 1, 1.5, 2, et 2.5%) incorporés dans les laits fermentés, respectivement (Tableau 22).

Tableau 22. Evolution du nombre de *Streptococcus thermophilus* des laits fermentés additionnés de protéines de lactosérum.

| Périodes | Doses de protéines de lactosérum (%) | | | | | Période (F ₁) | Effet F ₁ | Effet F ₂ | Effet F ₁ ×F ₂ | | | |
|-------------------------------------|--------------------------------------|-------------------|--------------------|--------------------|-------------------|---------------------------|----------------------|----------------------|--------------------------------------|----|--|--|
| | 0% | 1% | 1.5% | 2% | 2.5% | | | | | | | |
| Fermentation | 2h (10 ⁵ UFC/ml) | 200 | 700 | 433 | 333 | 733 | 480 ^c | ** | * | NS | | |
| | 4h (10 ⁵ UFC/ml) | 1633 | 2600 | 3133 | 3400 | 3673 | 2888 ^a | | | | | |
| Post-acidification | 7j (10 ⁵ UFC/ml) | 526 | 966 | 1234 | 1254 | 2023 | 1199 ^b | | | | | |
| | 14j (10 ⁵ UFC/ml) | 248 | 443 | 786 | 971 | 116 | 512 ^{bc} | | | | | |
| | 21j (10 ⁵ UFC/ml) | 36 | 7 | 166 | 24 | 143 | 88 ^d | | | | | |
| Dose de protéines (F ₂) | 529 ^c | 956 ^{ab} | 1150 ^{ab} | 1194 ^{ab} | 1546 ^a | | | | | | | |

Les résultats sont exprimés en moyenne; ** : Effet hautement significatif (p<0.01) d'ajout de protéines de lactosérum ; * : Effet significatif (p<0.05) d'ajout de protéines de lactosérum ; NS : Effet non significatif (p>0.05) d'ajout de protéines de lactosérum ; a, b, c, d : comparaison statistique des moyennes deux à deux, F₁ : facteur étudié périodes expérimentales, F₂ : facteur étudié dose de protéines de lactosérum additionnés ; F₁×F₂ : interaction des deux facteurs étudiés.

1.4. Qualité organoleptiques

1.4.1. Cohésivité

Au cours de la période de post-acidification, les laits fermentés additionnés de protéines de lactosérum (0, 1, 1.5, 2, et 2.5%) présentent des valeurs de sommes de rangs de 31.50, 30.63, 26.75, 29.50 et 31.63 respectivement. Les résultats du Tableau 23 montrent

que les laits fermentés additionnés de 1.5% protéines de lactosérum présentent la meilleure valeur de cohésivité (26.75 sommes de rangs) en moyenne en comparaison avec les laits fermentés additionnés de 0, 1, 2 et 2.5%.

Tableau 23. Evolution sensorielle de la cohésivité (somme des rangs) des laits fermentés additionnés de protéines de lactosérum.

| Périodes | Doses de protéines de lactosérum (%) | | | | | Période (F ₁) | Effet F ₁ | Effet F ₂ | Effet F ₁ ×F ₂ |
|-------------------------------------|--------------------------------------|---------------------|---------------------|------------------|--------------------|---------------------------|----------------------|----------------------|--------------------------------------|
| | 0% | 1% | 1.5% | 2% | 2.5% | | | | |
| 1j | 23.50 ^{bc} | 38 ^{ab} | 27.50 ^b | 36 ^{ab} | 25 ^{bc} | 30 | NS | NS | ** |
| 7j | 28 ^b | 36.50 ^{ab} | 28 ^{ab} | 32 ^{ab} | 25.5 ^{bc} | 30 | | | |
| 14j | 40 ^a | 26 ^b | 24.50 ^{bc} | 25 ^{bc} | 34.5 ^{ab} | 30 | | | |
| 21j | 34.50 ^{ab} | 22 ^c | 27 ^b | 25 ^{bc} | 41.5 ^a | 30 | | | |
| Dose de protéines (F ₂) | 31.5 | 30.63 | 26.75 | 29.5 | 31.63 | | | | |

Les résultats sont exprimés en sommes des rangs ; ** : Effet hautement significatif ($p < 0.01$) d'ajout de protéines de lactosérum ; NS : Effet non significatif ($p > 0.05$) d'ajout de protéines de lactosérum ; a, b, c : comparaison statistique des sommes des rangs, F₁ : facteur étudié périodes expérimentales, F₂ : facteur étudié dose de protéines de lactosérum additionnés ; F₁×F₂ : interaction des deux facteurs étudiés.

Le traitement statistique des résultats montre que l'interaction entre le taux d'incorporation de protéines de lactosérum et la durée de conservation à 4°C a un effet hautement significatif ($p < 0.01$) sur l'évolution de la cohésivité des laits fermentés expérimentaux.

1.4.2. Adhésivité

L'adhésivité semble évoluer d'une manière hautement significatif ($p < 0.01$) avec l'accroissement du taux d'incorporation de protéines de lactosérum dans les laits fermentés expérimentaux. Les résultats de l'analyse sensorielle ont montré que les laits fermentés additionnés de 1.5 et 2% de protéines de lactosérum présentent les meilleures valeurs

d'adhésivité (23.88 et 27.63 sommes de rangs). Par contre, ceux préparés à un taux de (0, 1 et 2.5%) présentent des résultats de sommes de rangs de 31, 32 et 35.50, respectivement (Tableau 24).

Tableau 24. Evolution sensorielle de l'adhésivité (somme des rangs) des laits fermentés additionnés de protéines de lactosérum.

| Périodes | Doses de protéines de lactosérum (%) | | | | | Période(F1) | Effet F ₁ | Effet F ₂ | Effet F ₁ ×F ₂ |
|-------------------------------------|--------------------------------------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|-------------|----------------------|----------------------|--------------------------------------|
| | 0% | 1% | 1.5% | 2% | 2.5% | | | | |
| 1j | 31 ^{abc} | 37 ^{ab} | 27.5 ^{abc} | 25 ^{abc} | 29.5 ^{abc} | 30 | NS | ** | ** |
| 7j | 30.5 ^{abc} | 37.5 ^{ab} | 26 ^{abc} | 27 ^{abc} | 29 ^{abc} | 30 | | | |
| 14j | 36 ^{abc} | 22.5 ^{bc} | 25.5 ^{abc} | 27 ^{abc} | 39 ^{ab} | 30 | | | |
| 21j | 26.5 ^{abc} | 31 ^{abc} | 16.5 ^c | 31.5 ^{abc} | 44.5 ^a | 30 | | | |
| Dose de protéines (F ₂) | 31 ^{ab} | 32 ^{ab} | 23.88 ^c | 27.63 ^{bc} | 35.5 ^a | X | | | |

Les résultats sont exprimés en sommes des rangs ; ** : Effet hautement significatif ($p < 0.01$) d'ajout de protéines de lactosérum ; NS : Effet non significatif ($p > 0.05$) d'ajout de protéines de lactosérum ; a, b, c : comparaison statistique des sommes des rangs, F₁ : facteur étudié périodes expérimentales, F₂ : facteur étudié dose de protéines de lactosérum additionnés ; F₁×F₂ : interaction des deux facteurs étudiés.

1.4.3. Goût

Durant les 21 jours de la période de post-acidification, le jury de dégustation a qualifié les laits fermentés additionnés de 1.5 et 2% de protéines de lactosérum de meilleur goût ; soit des résultats de somme de rangs de 27.75 et 26.13. Par contre, les pourcentages d'incorporation de protéines de lactosérum dans les produits expérimentaux à 0, 1 et 2.5% présentent les valeurs les plus médiocres de 33.13, 30.63 et 32.28 sommes de rangs, respectivement. Toutefois, ces différences sont statistiquement non significatives ($p > 0.05$) (Tableau 25).

Le goût des laits fermentés s'avère s'améliorer avec l'accroissement du taux d'addition de protéines de lactosérum jusqu'à 2%, au-delà de ce pourcentage le goût des échantillons est relativement altéré.

Tableau 25. Evolution sensorielle du goût (somme des rangs) des laits fermentés additionnés de protéines de lactosérum.

| Périodes | Doses de protéines de lactosérum (%) | | | | | Période (F1) | Effet F ₁ | Effet F ₂ | Effet F ₁ ×F ₂ |
|-------------------------------------|--------------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|--------------|----------------------|----------------------|--------------------------------------|
| | 0% | 1% | 1.5% | 2% | 2.5% | | | | |
| 1j | 31.50 ^{ab} | 31.5 ^{ab} | 33.50 ^{ab} | 29 ^{ab} | 24.50 ^{ab} | 30 | NS | NS | * |
| 7j | 31 ^{ab} | 33 ^{ab} | 31 ^{ab} | 30 ^{ab} | 25 ^{ab} | 30 | | | |
| 14j | 37 ^{ab} | 27.50 ^{ab} | 26.50 ^{ab} | 21 ^b | 38 ^{ab} | 30 | | | |
| 21j | 33 ^{ab} | 30.50 ^{ab} | 20 ^b | 24.50 ^{ab} | 42 ^a | 30 | | | |
| Dose de protéines (F ₂) | 33.13 | 30.63 | 27.75 | 26.13 | 32.38 | | | | |

Les résultats sont exprimés en sommes des rangs ;* : Effet significatif ($p < 0.05$) d'ajout de protéines de lactosérum ; NS : Effet non significatif ($p > 0.05$) d'ajout de protéines de lactosérum ; a, b: comparaison statistique des sommes des rangs, F₁ : facteur étudié périodes expérimentales, F₂ : facteur étudié dose de protéines de lactosérum additionnés ; F₁×F₂ : interaction des deux facteurs étudiés.

L'analyse de la variance montre des effets significatifs ($p < 0.05$) du taux d'incorporation de protéines de lactosérum et du temps d'entreposage à 4°C sur les variations du goût des laits fermentés (Tableau 25).

1.4.4. Arrière-goût

L'arrière-goût des laits fermentés a tendance à s'améliorer d'une façon inversement proportionnelle avec le taux d'incorporation de protéines de lactosérum. L'ensemble des panelistes a évalué les produits additionnés de 1% de protéines de lactosérum d'arrière-goût très agréable (24 sommes des rangs). Ceux additionnés de 0, 1.5, 2 et 2.5% présentent des résultats de somme des rangs variant de 26.25, 31.38 et 40.13 respectivement, durant toute la période de post-acidification (Tableau 26).

L'analyse de la variance dévoile un effet hautement significatif ($p < 0.01$) seulement du taux d'incorporation de protéines de lactosérum sur les variations de l'arrière-goût des laits fermentés expérimentaux (Tableau 26).

Tableau 26. Evolution sensorielle de l'arrière-goût (somme des rangs) des laits fermentés additionnés de protéines de lactosérum.

| Périodes | Doses de protéines de lactosérum (%) | | | | | Période (F1) | Effet F1 | Effet F2 | Effet F1×F2 |
|------------------------|--------------------------------------|-----------------|--------------------|---------------------|--------------------|-----------------|-------------|-------------|----------------|
| | 0% | 1% | 1.5% | 2% | 2.5% | | | | |
| 1j | 23 | 25.50 | 35.50 | 31 | 38 | 30.6 | NS | ** | NS |
| 7j | 22.50 | 24.50 | 36 | 31 | 36 | 30 | | | |
| 14j | 25 | 26.50 | 29 | 32 | 40.50 | 30.6 | | | |
| 21j | 34.50 | 19.50 | 25 | 25 | 46 | 30 | | | |
| Dose de protéines (F2) | 25.25 ^{bc} | 24 ^c | 31.38 ^b | 29.75 ^{bc} | 40.13 ^a | | | | |

Les résultats sont exprimés en sommes des rangs ;** : Effet significatif ($p < 0.01$) d'ajout de protéines de lactosérum ; NS : Effet non significatif ($p > 0.05$) d'ajout de protéines de lactosérum ; a, b, c: comparaison statistique des sommes des rangs, F₁ : facteur étudié périodes expérimentales, F₂ : facteur étudié dose de protéines de lactosérum additionnés ; F₁×F₂ : interaction des deux facteurs étudiés.

1.4.5. Exsudation de lactosérum

Pendant les trois semaines de conservation à 4°C, les laits fermentés additionnés de protéines de lactosérum (0, 1, 1.5, 2 et 2.5%) présentent des résultats d'exsudation de lactosérum variant de 24.38, 20.88, 22.88, 32.63 et 49.25 sommes des rangs (Tableau 27).

L'addition de protéines de lactosérum provoque une diminution de l'exsudation de lactosérum jusqu'à un taux de 2% où le niveau d'exsudation de lactosérum dans les produits expérimentaux augmente avec l'accroissement de pourcentage de protéines de lactosérum incorporé.

L'analyse de la variance présente l'effet hautement significatif du taux d'addition de protéines de lactosérum sur l'exsudation de lactosérum des laits fermentés au cours de la période de post-acidification (Tableau 27).

1.4.6. Odeur

Du 1^{er} jusqu'au 21^{ème} jours de la période de post-acidification, l'ensemble des panelistes a conclu que l'odeur des laits fermentés a tendance à s'améliorer avec la diminution du taux d'incorporation de protéines de lactosérum ($p < 0.01$). En effet, le témoin (0% de protéines de lactosérum) présente une meilleure ($p < 0.01$) odeur (21.25 sommes des

rangs) en comparaison avec ceux préparés à (1, 1.5, 2 et 2.5%) ; soit des valeurs de 29.25, 31.13, 33.13 et 38.75 sommes des rangs, respectivement (Tableau 28).

Tableau 27. Evolution sensorielle de l'exsudation de lactosérum (somme des rangs) des laits fermentés additionnés de protéines de lactosérum.

| Périodes | Doses de protéines de lactosérum (%) | | | | | Période (F1) | Effet F1 | Effet F2 | Effet F1×F2 |
|------------------------|--------------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------|----------|----------|-------------|
| | 0% | 1% | 1.5% | 2% | 2.5% | | | | |
| 1j | 24.50 | 19.50 | 23 | 33.50 | 49.50 | 30 | NS | ** | NS |
| 7j | 25 | 19 | 24 | 32.50 | 49.50 | 30 | | | |
| 14j | 28 | 19.50 | 21.50 | 31 | 50 | 30 | | | |
| 21j | 20 | 25.50 | 23 | 33.50 | 48 | 30 | | | |
| Dose de protéines (F2) | 24.38 ^c | 20.88 ^c | 22.88 ^c | 32.63 ^b | 49.25 ^a | | | | |

Les résultats sont exprimés en sommes des rangs ;** : Effet significatif ($p < 0.01$) d'ajout de protéines de lactosérum ; NS : Effet non significatif ($p > 0.05$) d'ajout de protéines de lactosérum ; a, b, c : comparaison statistique des sommes des rangs, F₁ : facteur étudié périodes expérimentales, F₂ : facteur étudié dose de protéines de lactosérum additionnés ; F₁×F₂ : interaction des deux facteurs étudiés.

Tableau 28. Evolution sensorielle de l'odeur (somme des rangs) des laits fermentés additionnés de protéines de lactosérum.

| Périodes | Doses de protéines de lactosérum (%) | | | | | Période (F1) | Effet F1 | Effet F2 | Effet F1×F2 |
|------------------------|--------------------------------------|---------------------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------|----------|----------|-------------|
| | 0% | 1% | 1.5% | 2% | 2.5% | | | | |
| 1j | 15 ^b | 29 ^{ab} | 29 ^{ab} | 34.5 ^a | 42.50 ^a | 30 | NS | ** | ** |
| 7j | 15 ^b | 28.5 ^{ab} | 29 ^{ab} | 35 ^a | 42.50 ^a | 30 | | | |
| 14j | 28.5 ^{ab} | 27 ^{ab} | 42 ^a | 35 ^a | 31.50 ^{ab} | 30 | | | |
| 21j | 26.50 ^{ab} | 32.50 ^{ab} | 24.5 ^{ab} | 28 ^{ab} | 38.50 ^a | 30 | | | |
| Dose de protéines (F2) | 21.25 ^c | 29.25 ^b | 31.13 ^b | 33.13 ^b | 38.75 ^a | | | | |

Les résultats sont exprimés en sommes des rangs ;** : Effet significatif ($p < 0.01$) d'ajout de protéines de lactosérum ; NS : Effet non significatif ($p > 0.05$) d'ajout de protéines de lactosérum ; a, b, c : comparaison statistique des sommes des rangs, F₁ : facteur étudié périodes expérimentales, F₂ : facteur étudié dose de protéines de lactosérum additionnés ; F₁×F₂ : interaction des deux facteurs étudiés.

2. Discussion

2.1. Caractérisation des protéines de lactosérum

Les protéines de lactosérum ont été obtenues par thermoprécipitation d'un lactosérum acide. La température permet une légèredénaturation des protéines, l'agrégation et la précipitation des protéines solubles (Frédot, 2005).

Les teneurs en cendres des protéines de lactosérum avoisinant 11.66% en moyenne. Ces valeurs sont proches de ceux rapportées parJiménezet *al.* (2012) qui ont avancé que les teneurs en cendres des protéines de lactosérum obtenu par thermoprécipitation sont de 10.60%. SelonPatel et *al.* (1990), ces teneurs peuvent varier de 2.66 % à 2.94%. D'après les mêmes auteurs les teneurs en humidité de protéines de lactosérum peuvent aussi varier de 4.43% à 5.03%.Selon Guggisberg et *al.*(2007),les isolats de protéines de lactosérum peuvent être composés de 5% d'humidité et de 3.5% de cendre.

Les protéines de lactosérum dans leur structure native présentent une bonne solubilité dans une large gamme de pH. Cette propriété leurs confère une utilisation privilégiée dans le secteur agroalimentaire (Lorient et *al.*, 1991).

Selon les résultats obtenus, le pH a un effet non significatif sur la solubilité des protéines de lactosérum. Les mêmes résultats ont été obtenus par Diaz et *al.* (2004) ; Kim et *al.* (1989) et Patel et *al.* (1990). La solubilité est la plus importante propriété fonctionnelle des protéines de lactosérum. Les protéines de lactosérum non dénaturées sont solubles dans une large gamme de pH. La diminution de la solubilité résulte d'une dénaturation des protéines surtout lors des traitementsd'évaporation à l'échelle industrielle (Svanborg et *al.*, 2016). Sanmartin et *al.* (2013) ont constaté que la solubilité des concentrés protéiques de lactosérum caprin est de 93.98 et 95.69% à pH 7 et 4, respectivement. Tandis que celle des concentrés protéiques de lactosérum bovin elle est de 73.88 et 59.08% à pH 7 et 4, respectivement.

Les concentrés protéiques de lactosérum possèdent de bonnes propriétés moussantes. La matière grasse résiduelle déprécie néanmoins leur propriétés moussantes, il est donc nécessaire d'avoir une parfaite délipidation du lactosérum.

Selon Diaz et *al.* (2004), les lipides même à des faibles concentrations sont des composants anti-mousses. Mais ne sont pas les seuls, les lipoprotéines diminuent aussi la capacité de formation de la mousse des protéines de lactosérum. Ces lipoprotéines jouent un

rôle affaiblissant des forces de cohésion entre les couches protéiques et les bulles d'air ce qui inhibe l'adsorption des protéines (Zays, 1997).

L'expansion de la mousse des concentrés protéiques de lactosérum est très faible en comparaison avec celle de la sérum albumine bovine (SAB). Les mêmes résultats ont été trouvés par Sanmartin et *al.* (2013). Ces auteurs ont démontré que les protéines de lactosérum obtenu après un prétraitement de clarification ne produisent plus de mousse. Ces résultats sont similaires à ceux suggérés par Kim et *al.* (1989). Selon ces auteurs aucune propriété moussante ne peut être observée lorsque les concentrés protéiques sont obtenus par thermoprécipitation.

La capacité de formation de mousse peut être améliorée cependant par un prétraitement à l'ultrason (20 kHz et 40 kHz) de lactosérum. La stabilité de la mousse peut aussi être améliorée après un traitement à l'ultrason (20 kHz) (Jambrak et *al.*, 2008 ; Caessens et *al.*, 1999).

La méthode d'obtention des protéines de lactosérum influence fortement les propriétés moussantes de ces protéines. Dans notre expérience une thermoprécipitation suivie d'une centrifugation donne des protéines à faible pouvoir moussant. Les mêmes résultats ont été trouvés par Kim et *al.* (1989). Certains auteurs ont démontré qu'une thermoprécipitation suivie d'une microfiltration semble améliorer mieux les propriétés moussantes des protéines de lactosérum suite à une réduction du taux de lipides et de lipoprotéines (Rinn et *al.*, 1990).

Les propriétés émulsifiantes sont définies par la capacité émulsifiante (quantité d'huile pouvant être émulsifiée par unité de protéine) et la stabilité de l'émulsion (aptitude à garder l'émulsion inchangée pendant un certain temps). Elles sont directement liées à la solubilité des protéines dans l'eau (Cheftel et Lorient, 1982).

Les propriétés émulsifiantes des protéines de lactosérum ont été évaluées sur une gamme de pH allant de 2 à 10. L'analyse de la variance montre l'effet hautement significatif du pH sur la capacité de formation d'une émulsion.

L'indice de la capacité émulsifiante (ICE) est maximal à pH 4 (11.34 m²/g) et cet indice est diminué pour des valeurs de pH plus élevées. Par ailleurs, l'indice de stabilité émulsifiante (ISE) présente les valeurs les plus élevées à pH 2. Cet indice (ISE) semble être considéré comme la capacité des protéines de lactosérum à éviter la séparation et la coalescence des phases de l'émulsion pendant le stockage qui sont les principaux facteurs déstabilisants des émulsions (Pearce et Kinsella, 1978).

Sanmartin *et al.* (2013) ont trouvé que les ICE des concentrés protéiques de lactosérum de caprin à pH 7 et 4 sont de l'ordre de 48.89 m²/g et 49.90 m²/g, respectivement. De même, l'indice de stabilité de l'émulsion est de 102.52 min et 103.15 min à pH 7 et 4, respectivement.

L'hydrolyse enzymatique et la dénaturation partielle améliorent sensiblement l'activité émulsifiante des protéines sériques. L'exploitation des zones hydrophobes et l'adoption d'une structure plus flexible seraient responsables de ce changement. Cependant, une dénaturation trop poussée diminue la solubilité protéique, l'activité interfaciale et donc l'activité émulsifiante (Vignola *et al.*, 2002).

Un traitement de clarification améliore nettement la capacité de formation de l'émulsion des concentrés protéiques de lactosérum. Ces résultats semblent être liés à la teneur en lipides (Sanmartin *et al.*, 2013). De même, Patel *et al.* (1988) ont confirmé que l'augmentation de la teneur en lipides conduit à une diminution de l'activité émulsifiante des concentrés protéiques de lactosérum. Cette diminution peut être expliquée par la diminution de la quantité de protéine adsorbée à l'interface. L'activité émulsifiante est en relation avec la solubilité. L'ICE est maximale à pH 4. Ceci peut être expliqué par la solubilité élevée des protéines de lactosérum à cette valeur de pH.

2.2. Qualité des yaourts additionnés des protéines de lactosérum

Au cours de la période de fermentation, une augmentation proportionnelle de l'acidité des laits fermentés est enregistrée avec l'accroissement du taux d'addition de protéines de lactosérum. Cette augmentation est accompagnée d'une baisse des valeurs de pH avoisinant 4.6 dans l'ensemble des échantillons après 4 heures de fermentation. À ce pH (4.6) les protéines du lait et plus spécialement les caséines forment des agrégats et le lait se coagule (Frédot, 2005).

L'augmentation de lactate est due à la production par fermentation de l'acide lactique à partir du lactose du lait par notamment les deux souches spécifiquesensemencées dans le yaourt à savoir *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* (Jeantet *et al.*, 2008 ; Mahaut *et al.*, 2000).

Lactobacillus bulgaricus et *Streptococcus thermophilus* sont des bactéries produisant de l'acide lactique à partir de lactose constitutif du lait. La production de l'acide lactique conduit à un abaissement de pH. À l'approche de pH isoélectrique (pH 4.6), les micelles de

caséines perdent leur stabilité stérique causant ainsi leur floculation, elles précipitent et forment un coagulum lactique (Lee et Lucey, 2010).

La stimulation de *Streptococcus thermophilus* par *Lactobacillus bulgaricus* est réalisée grâce à l'activité protéolytique du lactobacille, qui libère des petits peptides et des acides aminés au profit du Streptocoques. En retour *Streptococcus thermophilus* fournit de l'acide formique et du CO₂ qui, tous deux, peuvent stimuler la croissance de *Lactobacillus bulgaricus* (Jeantet et al., 2008).

Au cours de la période de fermentation et celle de post-acidification, le pH et l'acidité des laits fermentés varient significativement avec l'augmentation du taux d'incorporation de protéines de lactosérum. Les mêmes résultats ont été trouvés par Guggisberg et al. (2007) qui ont constaté que l'acidité lactique des yaourts augmente avec l'accroissement de pourcentage d'addition de protéine de lactosérum (0 – 12 %).

Selon les mêmes auteurs, ces résultats peuvent être expliqués par le fait que les acides aminés de lactosérum sont caractérisés par des propriétés tampon qui entraîne l'augmentation de l'acidité lactique à une valeur de pH donnée. Dans ce contexte, Dimitreli et al. (2014), ont trouvé que l'acidité lactique des yaourts supplémentés de protéines de lactosérum est supérieure à celle des yaourts non additionnés de ces protéines. Les protéines de lactosérum ont des propriétés tampon qui diminue la vitesse de l'acidification favorisant la production de l'acide lactique et l'augmentation de l'acidité des yaourts supplémentés de ces protéines (Salaün et al., 2005).

La viscosité des laits fermentés augmente significativement avec l'augmentation du taux d'addition de protéines de lactosérum. De même, la période de fermentation et celles de post-acidification ont un effet hautement significatif sur la viscosité des produits.

D'une façon générale, les laits fermentés additionnés de protéines de lactosérum sont caractérisés par une nette augmentation de la viscosité au cours de la période de fermentation et de post-acidification. Des résultats similaires ont été constatés par Matumo-Pintro et al. (2011) et Pang et al. (2016). Par ailleurs, Marafon et al. (2011), ont montré que l'addition des protéines de lactosérum augmente la viscosité des yaourts.

En effet, les souches spécifiques du yaourt (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*) ont la capacité de fermenter le lactose de lait et produisent de l'acide lactique entraînant l'abaissement du pH des laits fermentés jusqu'au pH 4.6. A ce pH, les protéines des laits précipitent et forment un gel aboutissant à une augmentation de la

viscosité (Loveday et al., 2013 ; Lucey et Singh, 1998). Ceci s'est traduit par une augmentation de la viscosité des laits fermentés au cours de la période de fermentation.

En plus, les deux souches (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*) sont capables de produire au cours de leurs croissances d'avantage d'exopolysaccharides en fonction des niveaux de protéines ajoutés qui peuvent se lier ainsi au caséines de lait en conférant aux produits finis une viscosité et une qualité rhéologique particulière (Folkenberg et al., 2006 ; Girard et Lequart, 2007).

Le métabolisme de ces deux souches se poursuit même au cours de la conservation, ce qui explique l'augmentation de la viscosité des échantillons même à des températures de 4°C au cours des 21 jours d'entreposage.

En outre, la viscosité semble étroitement proportionnelle avec les doses de protéines de lactosérum additionnées. Ces résultats peuvent être expliqués par le fait que les protéines de lactosérum incorporées sont capables de former un gel dont les caractéristiques rhéologiques dépendent de la concentration en protéines. L'aptitude à la gélification est parmi les propriétés fonctionnelles des protéines de lactosérum. La gélification de ces protéines consiste en la mise en place d'un réseau protéique tridimensionnel ordonné et suffisamment ouvert pour emprisonner beaucoup d'eau et augmenter la viscosité des produits (Gault et al., 1990). Les protéines de lactosérum sont absorbées sur les micelles de caséines. L'interaction entre ces protéines et les caséines entraînant une augmentation de la viscosité des produits (Gault et al., 1990 ; Lorient et al., 1991 ; Keogh et O'Kennedy, 1998 ; Sandoval-Castilla et al., 2004).

Au cours de la phase de fermentation, l'évolution du nombre de *Streptococcus thermophilus* est marquée par une nette augmentation ; alors que pendant la phase de post-acidification la viabilité de ses souches semble diminuer jusqu'au 21^{ème} jours de conservation.

Au cours de la fabrication des yaourts, *Streptococcus thermophilus* se développe plus rapidement que les *Lactobacillus bulgaricus*, démarre la fermentation et produit l'acide formique et le CO₂. Le formate et le CO₂ produits stimulent ensuite la croissance de *Lactobacillus bulgaricus*. D'autre part, l'activité protéolytique de *Lactobacillus bulgaricus* produit les peptides stimulateurs et les acides aminés pour qu'ils soient utilisés par les *Streptococcus thermophilus*.

Lactobacillus bulgaricus au cours de leur croissance en particulier au cours de la phase de post-acidification produit de l'acide lactique. Ce dernier exerce un effet inhibiteur sur *Streptococcus thermophilus* et conduit à une chute de leurs nombre (Bourgeois et Larpent, 1989 ; Jeantet et *al.*, 2008).

Le nombre de *Streptococcus thermophilus* augmente significativement avec l'accroissement du taux de protéines de lactosérum. Ces protéines sont caractérisés par le pouvoir tampon ce qui limite l'acidification du milieu (Salaün, 2005 ; Guggisberg et *al.*, 2007) et favorise la croissance des *Streptococcus thermophilus*.

En plus, les protéines de lactosérum sont très riches en acides aminés qui peuvent être utilisés par les bactéries spécifiques comme facteur favorisant leur croissance entraînant une augmentation de leurs nombre dans le milieu.

D'une façon générale, la qualité organoleptique des laits fermentés est améliorée par l'addition des protéines de lactosérum. L'addition de protéines de lactosérum améliore la texture des laits fermentés, notamment la viscosité et la fermenté du gel, ce qui a conféré aux produits une meilleure cohésivité et adhésivité. L'analyse des résultats montre que les laits fermentés additionnés de 1.5% de protéines de lactosérum présentent la meilleure cohésivité et adhésivité. De plus le jury de dégustation a qualifié les laits fermentés à 1.5 et 2% de protéines de lactosérum de meilleur goût que ceux préparés à 0, 1 et 2%. Des résultats similaires ont été rapportés par Gustaw (2007).

Les protéines de lactosérum ont des propriétés techno-fonctionnelles multiples dont : le pouvoir gélifiante qui est très recherché. La gélification des protéines du lactosérum consiste en un passage de l'état de solution en un état de gel lors d'un chauffage suivi d'un refroidissement. Ce phénomène dépend de la quantité des protéines ajoutées, ainsi que les interactions entre les protéines du lait et les protéines de lactosérum ajoutés et le pH du milieu.

L'augmentation du taux d'incorporation de protéines de lactosérum jusqu'à 2% aboutit à une augmentation de la fermenté des échantillons expérimentaux. En plus, les souches (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*) sont capables d'utiliser les acides aminés des protéines du lactosérum comme facteurs de croissance et de produire au cours de leurs croissance des exopolysaccharides, qui peuvent agir comme stabilisant naturel produit in situ par les bactéries du yaourt, pour améliorer la texture des produits alimentaires (Folkenberg et *al.*, 2006).

Oliveira et *al.* (2001), ont constaté aussi que l'addition de protéines laitières dans les préparations de yaourt améliore la texture et la fermeté du gel. Cette amélioration dépend de la quantité de protéines ajoutée et le rapport protéines sériques/ caséines, dont l'interaction entre les protéines de lactosérum et les caséines du lait contribue à la formation du gel et l'amélioration des propriétés rhéologiques du produit.

L'acidité révélée lors de la dégustation est due à la production d'acide lactique par les deux souches spécifiques du yaourt dont : *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* suite à une fermentation du lactose constitutif du lait (Bourgeois et *al.*, 1989). Les protéines de lactosérum ont des propriétés tampon qui favorise la croissance de ces deux souches et leur métabolisme à produire d'avantage production de lactate dans le milieu.

L'amélioration de la texture, par l'ajout des protéines de lactosérum, a eu pour conséquence une limitation du phénomène de synérèse et d'exsudation de lactosérum. Il est bien établi que l'interaction des protéines de lactosérum et des caséines du lait peut augmenter la capacité de rétention d'eau et améliorer le phénomène de la synérèse des laits fermentés durant la conservation (Keogh et O'Kennedy, 1998).

Conclusion

Au terme de cette étude et à la lumière des résultats obtenus, il s'avère que les protéines de lactosérum ont des propriétés fonctionnelles très intéressantes notamment la solubilité et le pouvoir émulsifiant. Les protéines de lactosérum utilisées dans notre expérimentation présentent une bonne solubilité à pH 4 et à pH 7. Ces protéines ont une meilleure activité émulsifiante à pH 4. Le faible pouvoir moussant des protéines de lactosérum peut être amélioré par un traitement de clarification des lactosérums issus des industries laitières.

Les résultats obtenus ont montré que l'addition des protéines de lactosérum a nettement amélioré la qualité des laits fermentés expérimentaux au cours des deux périodes de fermentation et celle de post-acidification. En effet, le pH des produits expérimentaux diminue significativement avec l'augmentation du taux d'addition des protéines de lactosérum.

Par ailleurs, l'acidité et la viscosité des échantillons expérimentaux augmentent avec l'accroissement de la concentration des protéines de lactosérum pendant les deux périodes de l'expérimentation. Il est à noter, que les produits additionnés à 2.5% de protéines de lactosérum présentent les meilleures valeurs de viscosité.

D'autre part, un effet significatif des protéines de lactosérum est enregistré sur la croissance de la souche *Streptococcus thermophilus*. Les meilleurs nombres de cette souche sont notés pour des doses d'incorporation de 2.5%.

En outre, les propriétés techno-fonctionnelles des protéines de lactosérum ainsi que l'interaction entre ces protéines et les caséines du lait semblent être à l'origine de l'amélioration de la texture, notamment la viscosité, ce qui aboutit aux meilleurs cohésivités et adhésivités des produits expérimentaux surtout dans les échantillons préparés à des taux de 1.5% de protéines de lactosérum.

Chapitre III : Propriétés techno-fonctionnelles de la gélatine d'os de bovin et impact sur la qualité d'un yaourt étuvé

1. Résultats

1.1. Caractéristique et propriétés fonctionnelles de la gélatine

1.1.1. Rendement

Le rendement d'extraction de la gélatine est le poids de la gélatine en poudre sur le poids d'os utilisé pour l'extraction. Selon les résultats obtenus, ce rendement a avoisiné un taux de 6.32 ± 0.20 %.

1.1.2. Teneur en cendres et humidité

Les résultats des teneurs en cendres et humidité de la gélatine d'os de bovin en comparaison avec la gélatine commerciale sont résumés dans le Tableau 29.

Tableau 29. Teneur en cendres et humidité des gélatines

| | Gélatine d'os de bovin | Gélatine commerciale |
|----------------------|------------------------|----------------------|
| Teneur en cendre (%) | 13.33 ± 0.57 | 13.66 ± 0.57 |
| Humidité (%) | 7.87 ± 0.62 | 10.12 ± 2.79 |

La teneur en cendres de la gélatine d'os de bovin est semblable à celle de la gélatine commerciale ; avec des valeurs de 13.33% vs 13.66%. En ce qui concerne l'humidité, la plus faible teneur ($p > 0.05$) est enregistrée avec la gélatine d'os de bovin (7.87%) ; alors que la gélatine commerciale accuse des teneurs élevées (10.12%).

1.1.3. pH de gélatine

Les deux types de gélatine ont un pH alcalin ; variant de 7.87 ± 0.04 pour la gélatine commerciale à 9.63 ± 0.01 pour la gélatine d'os de bovin expérimentale (Figure 15).

1.1.4. Solubilité

Les résultats de la solubilité des deux types de gélatines (commerciale et bovine) sont représentés dans le Tableau 30. Selon les résultats obtenus, la solubilité des gélatines est maximale à pH 4. Le pH a un effet hautement significatif sur la solubilité de la gélatine d'os de bovin ($p < 0.01$).

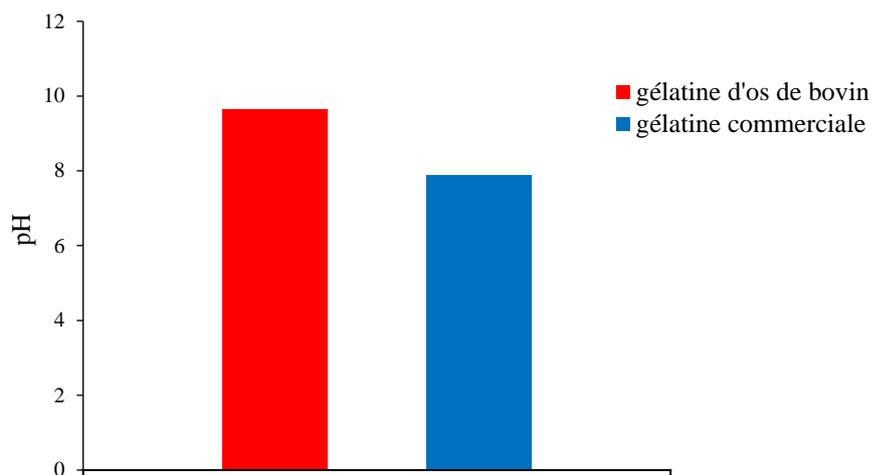


Figure 15 : pH de la gélatine bovine et la gélatine commerciale

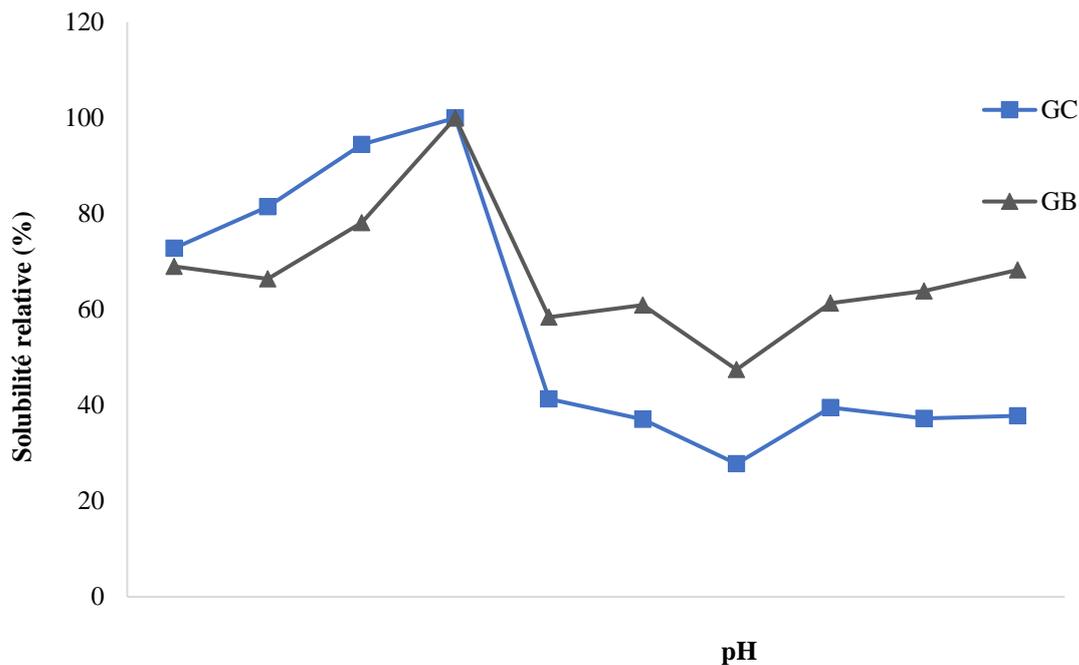
La plus grande valeur de la solubilité est obtenue avec la gélatine d'os de bovin suivi de la gélatine commerciale dont les valeurs sont estimées à 2.74 et 1.62 mg, respectivement. La plus faible valeur de solubilité est enregistrée à pH 7 ; avec des valeurs de 0.45 et 1.3 mg pour la gélatine commerciale et la gélatine d'os de bovin, successivement.

La solubilité relative est calculée par rapport à la valeur de pH qui a donné la plus grande valeur de solubilité. La Figure 16 représente la solubilité relative de gélatine extraite d'os de bovin en comparaison à celle de la gélatine de commerciale.

Tableau 30. Solubilité (mg) des gélatines à différents pH

| pH | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | Effet pH |
|----|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|----------|
| GB | 1.89 ^{ab} ± 0.14 | 1.82 ^{ab} ± 0.59 | 2.14 ^{ab} ± 0.55 | 2.74 ^a ± 0.75 | 1.60 ^b ± 0.53 | 1.67 ^{ab} ± 0.21 | 1.30 ^c ± 0.02 | 1.68 ^{ab} ± 0.06 | 1.75 ^{ab} ± 0.30 | 1.87 ^{ab} ± 0.37 | ** |
| GC | 1.18 ^a ± 1.36 | 1.32 ^a ± 1.00 | 1.53 ^a ± 0.05 | 1.62 ^a ± 0.82 | 0.67 ^a ± 0.35 | 0.60 ^a ± 0.11 | 0.45 ^b ± 0.07 | 0.64 ^a ± 0.21 | 1.09 ^a ± 0.57 | 1.26 ^a ± 0.03 | ** |

Les résultats sont exprimés en moyenne suivis de l'erreur type ; ** Effet hautement significatif ($p < 0.05$) du pH ; NS : Effet non significatif ($p > 0.05$) du pH ; a, b, c : comparaison statistique des moyennes deux à deux ; GB : Gélatine d'os de bovin ; GC : Gélatine commerciale.



GC: gélatine commerciale; GB: gélatine d'os de bovin

Figure 16. Solubilité relative (%) des gélatines à différentes valeurs de pH

La gélatine d'os de bovin est soluble à des pH variant de 1 à 6 ($p < 0.01$). La solubilité diminue à pH 7 et faible à des valeurs de pH variant de 8 à 10 par rapport au pH acide (1- 6). La solubilité relative de la gélatine de bovin est supérieure à celle de la gélatine commerciale dans la gamme de pH allant de 5 à 10.

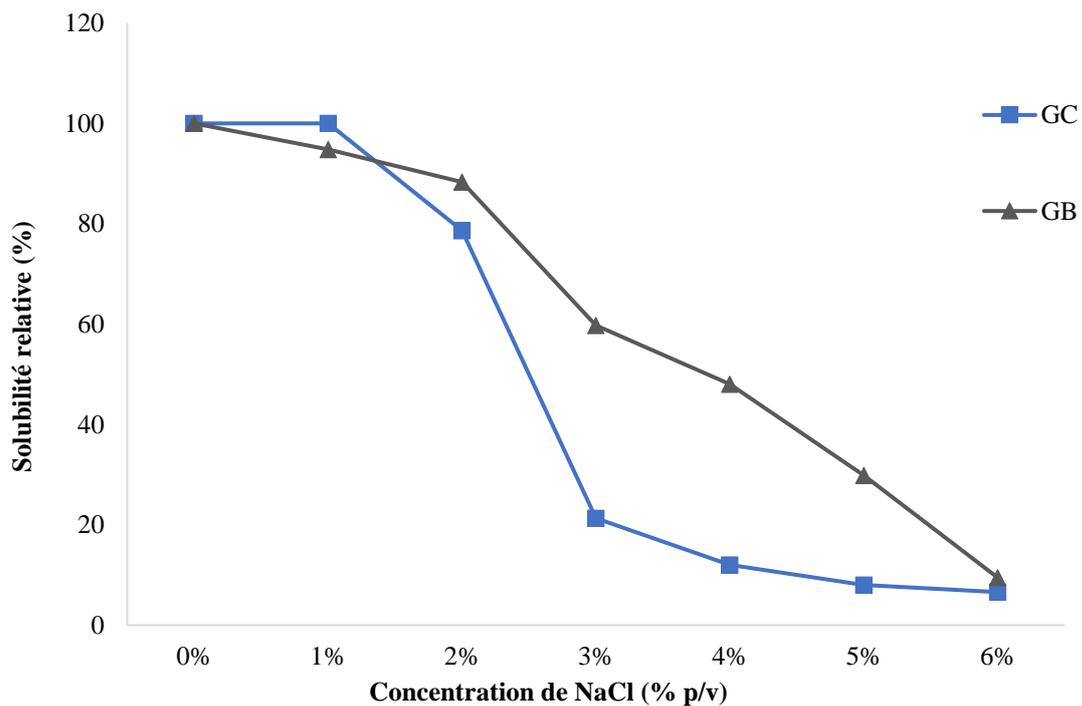
En analysant le Tableau 31 il s'avère que l'addition de NaCl diminue la solubilité de la gélatine. Cette solubilité est maximale en absence de NaCl. La solubilité de la gélatine d'os de bovin varie en fonction de la dose de NaCl. Elle est de 0.77, 0.73, 0.68, 0.46, 0.37, 0.23 et 0.07 mg à des doses de NaCl de 0, 1, 2, 3, 4, 5 et 6% respectivement. L'analyse de la variance montre l'effet hautement significatif ($p < 0.01$) de l'NaCl sur la solubilité de la gélatine.

Selon le Tableau 31 la solubilité de la gélatine extraite des os de bovin est supérieure à la gélatine commerciale à des différentes doses de NaCl. La solubilité relative de la gélatine en fonction de la dose de NaCl est représentée aussi dans la Figure 17. Ces résultats montrent que la solubilité relative de la gélatine est maximale en absence de NaCl et diminue en augmentant la dose de NaCl. Il apparaît nettement que la solubilité relative de la gélatine d'os de bovin est supérieure à celle de la gélatine commerciale sur la gamme de concentration de 0% à 6%.

Tableau 31. Solubilité (mg) des gélatines à différentes concentration de NaCl

| NaCl | 0% | 1% | 2% | 3% | 4% | 5% | 6% | Effet pH |
|-----------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|-------------------|-----------|
| GB | 0.77 ^a | 0.73 ^a | 0.68 ^a | 0.46 ^b | 0.37 ^b | 0.23 ^{bc} | 0.07 ^c | ** |
| | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | |
| | 0.06 | 0.10 | 0.55 | 0.75 | 0.02 | 0.16 | 0.04 | |
| GC | 0.75 ^a | 0.75 ^a | 0.59 ^a | 0.16 ^b | 0.09 ^b | 0.06 ^b | 0.05 ^b | ** |
| | ± | ± | ± | ± | ± | ± | ± | |
| | 0.11 | 0.11 | 0.04 | 0.11 | 0.03 | 0.01 | 0.02 | |

Les résultats sont exprimés en moyenne suivis de l'erreur type ; ** Effet hautement significatif ($p < 0.05$) du pH ; a, b, c, d : comparaison statistique des moyennes deux à deux ; GB : Gélatine d'os de bovin ; GC : Gélatine commerciale.



GC: gélatine commerciale; GB: gélatine d'os de bovin

Figure 17. Solubilité relative (%) des gélatines à différentes concentrations de NaCl.

1.1.5. Pouvoir moussant

L'expansion de la mousse (EM) de la gélatine d'os de bovin est de 150.66% et la stabilité de la mousse (SM) est de 114.66% ; alors que L'expansion et la stabilité de la mousse de la gélatine commerciale sont de l'ordre de 127.33% et 113.55%, respectivement (Tableau 32).

Apparemment les valeurs de l'expansion de la mousse (EM) et de la stabilité de la mousse (SM) de la gélatine d'os de bovin sont supérieures à la gélatine commerciale.

Tableau 32. Expansion de la mousse (%) et Stabilité de la mousse (%) des gélatines

| | EM (%) | SM (%) |
|-------------------------------|----------------|---------------|
| Gélatine d'os de bovin | 150.66 ± 22.03 | 114.66 ± 8.08 |
| Gélatine commerciale | 127.33 ± 5.03 | 113.55 ± 2.69 |

Les résultats sont exprimés en moyenne suivis de l'erreur type ; EM : Expansion de la mousse ; SM : Stabilité de la mousse.

1.1.6. Pouvoir émulsifiant

L'indice de la capacité émulsifiante (ICE) diminue avec l'augmentation de la concentration de la gélatine. L'ICE de la gélatine d'os de bovin est de 21.51, 10.19, 10.58 et 8.41 m²/g pour des concentrations respectives de gélatine de 0.5, 1, 1.5 et 2 g/100ml (Tableau 33).

Il apparaît aussi que l'ICE de la gélatine d'os de bovin est bien supérieur à celui de la gélatine commerciale. Pour la même concentration en gélatine (0.5 g/100ml), l'ICE est de 20.53 et 21.51 m²/g pour la gélatine commerciale et la gélatine bovine, successivement.

L'indice de la stabilité de l'émulsion (ISE) de la gélatine d'os de bovin est de 24.33, 47.51, 60.37 et 66.04 min pour des concentrations de gélatine (g/100ml) de 0.5, 1, 1.5 et 2 respectivement. L'ISE semble augmenter avec l'augmentation de la concentration de gélatine (p<0.01) (Tableau 33).

L'ISE de la gélatine d'os de bovin est maximal à une concentration de 2g/100ml. A cette concentration l'ISE de la gélatine d'os de bovin (66.04 min) est supérieur à l'ISE de la gélatine commerciale (56.81 min) respectivement.

A la lumière des résultats obtenus il est constaté des effets hautement significatifs ($p < 0.01$) de la concentration de la gélatine sur l'indice de la capacité émulsifiante (ICE) ainsi que l'indice de stabilité de l'émulsion.

Tableau 33. Indice de capacité émulsifiante (m^2/g) et l'indice de stabilité de l'émulsion (min) à différentes concentrations de la gélatine

| Gélatine | Concentration (g/100 ml) | ICE (m^2/g) | ISE (min) |
|-------------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Gélatine d'os de bovin | 0.5 | 21.51 ^a ± 1.59 | 24.33 ^c ± 1.73 |
| | 1 | 10.19 ^b ± 0.64 | 47.51 ^b ± 1.32 |
| | 1.5 | 10.58 ^b ± 1.59 | 60.37 ^a ± 2.49 |
| | 2 | 8.41 ^b ± 0.46 | 66.04 ^a ± 2.72 |
| Gélatine commerciale | 0.5 | 20.53 ^a ± 0.34 | 20.62 ^c ± 0.84 |
| | 1 | 7.14 ^b ± 0.92 | 13.38 ^c ± 1.54 |
| | 1.5 | 3.83 ^c ± 0.11 | 43.91 ^b ± 1.59 |
| | 2 | 2.57 ^d ± 0.26 | 56.81 ^a ± 1.04 |

Les résultats sont exprimés en moyenne suivis de l'erreur type ; a, b, c, d : comparaison statistique des moyennes deux à deux ; ICE : indice de capacité émulsifiante ; ISE : indice de stabilité émulsifiante.

1.2. Propriétés physicochimiques et microbiologiques des yaourts additionnés de gélatine

1.2.1. pH

Durant la période de fermentation, les yaourts additionnés de gélatine accusent une diminution remarquable du pH ; de 4.86 à 4.59, en moyenne. De plus, le pH diminue avec l'augmentation du taux d'incorporation de la gélatine ($p < 0.05$) ; ainsi après deux heures de fermentation les valeurs du pH varient en moyenne de 4.90, 4.88, 4.86 et à 4.75 pour les taux de gélatine de 0, 0.5, 1 et 1.5%, successivement. En fin de fermentation, il s'avère que les échantillons renfermant les taux les plus élevés en gélatine de 1 et 1.5% ont enregistré des résultats comparables de 4.57 et 4.56 en moyenne, respectivement (Tableau 34).

Au cours de la période de post-acidification, les valeurs moyennes du pH des yaourts expérimentaux ont tendance à diminuer de 4.50 à 4.35. Par ailleurs, ces valeurs sont proportionnelles aux taux d'incorporation de gélatine dans les yaourts expérimentaux ($p < 0.05$) ; soit des augmentations de 4.48 à 4.57 en moyenne pour des taux de gélatine allant de 0 à 1.5%.

A la fin de la période de conservation les yaourts expérimentaux contenant 1 et 1.5% de gélatine présentent les pH les plus élevés en comparaison avec le témoin ; soit des valeurs de 4.54 et 4.57 contre 4.48 en moyenne.

L'analyse de la variance montre l'effet significatif ($p < 0.05$) des facteurs étudiés à savoir taux d'incorporation de la gélatine et périodes d'essais sur l'évolution des valeurs de pH des yaourts expérimentaux (Tableau 34).

Tableau 34. Evolution du pH des yaourts additionnés de gélatine.

| Périodes | Doses de gélatine additionnée (%) | | | | Période F ₂ | Effet F ₁ | Effet F ₂ | Effet F ₁ ×F ₂ |
|------------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|-------------------------|---|
| | 0% | 0.5% | 1% | 1.5% | | | | |
| Fermentation | 2h | 4.90 ^a ± 0.01 | 4.88 ^a ± 1.16 | 4.86 ^{ab} ± 0.01 | 4.75 ^{ac} ± 0.01 | 4.86 ^a ± 0.49 | | |
| | 4h | 4.63 ^a ± 0.01 | 4.59 ^a ± 0.01 | 4.57 ^{ab} ± 0.09 | 4.56 ^{ac} ± 0.01 | 4.59 ^a ± 0.04 | | |
| Post-acidification | 7j | 4.42 ^a ± 0.01 | 4.47 ^{ac} ± 0.02 | 4.51 ^{acd} ± 0.01 | 4.58 ^{ac} ± 0.01 | 4.50 ^b ± 0.01 | | |
| | 14j | 4.38 ^a ± 0.04 | 4.39 ^{ac} ± 0.01 | 4.40 ^{acd} ± 0.01 | 4.49 ^{abcd} ± 0.01 | 4.42 ^c ± 0.01 | * | * |
| | 21j | 4.24 ^a ± 0.06 | 4.34 ^{ac} ± 0.04 | 4.35 ^{bcd} ± 0.04 | 4.45 ^{ace} ± 0.06 | 4.35 ^c ± 0.04 | | * |
| Dose de gélatine (F ₁) | 4.48 ^c ± 0.02 | 4.53 ^b ± 0.44 | 4.54 ^b ± 0.04 | 4.57 ^a ± 0.02 | | | | |

Les résultats sont exprimés en moyenne suivis de l'erreur type ; * Effet significatif ($p < 0.05$) d'ajout de gélatine ; a, b, c, d, e : comparaison statistique des moyennes deux à deux ; F₂ : facteur étudié périodes expérimentales, F₁ : facteur étudié dose de gélatine additionnés ; F₁×F₂ : interaction des deux facteurs étudiés.

1.2.2. Acidité

Au cours de la période de fermentation, l'évolution moyenne de l'acidité des yaourts supplémentés en gélatine a tendance à augmenter de 73.25 à 83.83°D en moyenne après 4 heures de fermentation. Durant cette période, il apparaît que l'acidité s'accroît avec l'augmentation du taux d'incorporation de gélatine dans les échantillons expérimentaux ($p < 0.05$).

Ainsi les valeurs enregistrées après 2 heures de fermentation sont de 70.00, 72.33, 74.00 et 76.67°D pour les taux d'incorporation de 0, 0.5, 1 et 1.5% respectivement. Apparemment, après 4 heures de fermentation, l'acidité s'avère d'autant plus élevée que le taux d'incorporation de gélatine est considérable dans les yaourts expérimentaux ($p < 0.05$) ; soit des valeurs d'acidité qui varient de 79.67, 81.00, 86.33 et 88.33°D pour des taux d'incorporation de 0, 0.5, 1 et 1.5%, respectivement.

Tableau 35. Evolution de l'acidité (°D) des laits fermentés additionnés de gélatine.

| Périodes | Doses de gélatine additionnée (%) | | | | Période F ₂ | Effet F ₁ | Effet F ₂ | Effet F ₁ ×F ₂ | |
|------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------|-------------------------|---|----------------------------------|
| | 0% | 0.5% | 1% | 1.5% | | | | | |
| Fermentation 2h | 70.00 ^a ± 2.01 | 72.33 ^{ad} ± 2.52 | 74.00 ^{bcd} ± 2.65 | 76.67 ^{ae} ± 1.53 | 73.25 ^d ± 0.49 | * | * | * | |
| | 4h | 79.67 ^a ± 6.51 | 81 ^b ± 3.61 | 86.33 ^{ad} ± 4.16 | 88.33 ^{ae} ± 5.29 | | | | 83.83 ^c ± 4.28 |
| Post-acidification 7j | 95.00 ^a ± 2.01 | 90.00 ^b ± 3.21 | 91.00 ^{ad} ± 2.65 | 78.00 ^{ae} ± 7.55 | 91.25 ^c ± 0.01 | | | | |
| | 14j | 105.00 ^a ± 3.21 | 102.67 ^b ± 2.00 | 95.00 ^{ad} ± 4.01 | 93.33 ^{ae} ± 1.53 | | | | 100.89 ^b ± 2.44 |
| | 21j | 115.00 ^a ± 3.00 | 111.00 ^b ± 2.52 | 98.67 ^{ad} ± 3.05 | 95.17 ^{bcd} ± 5.51 | | | | 104.96 ^a ± 3.16 |
| Dose de gélatine (F ₁) | 92.93 ^a ± 3.15 | 91.40 ^a ± 2.39 | 89.00 ^b ± 2.84 | 88.90 ^b ± 4.14 | | | | | |

Les résultats sont exprimés en moyenne suivis de l'erreur type ; * Effet significatif ($p < 0.05$) d'ajout de gélatine ; a, b, c, d, e : comparaison statistique des moyennes deux à deux ; F₂ : facteur étudié périodes expérimentales, F₁ : facteur étudié dose de gélatine additionné ; F₁×F₂ : interaction des deux facteurs étudiés.

Par ailleurs, en fin de la première période les essais contenant 1 et 1.5% de gélatine accusent les teneurs les plus élevées en acidité ; soit des valeurs de 86.33 vs 88.33°D.

De même, au cours de la période de post-acidification l'évolution de l'acidité des échantillons expérimentaux est caractérisée par un accroissement ($p < 0.05$) de 91.25 au 7^{ème} jour à 104.96°D au 21^{ème} jour, en moyenne. Aussi durant cette période, il apparaît que l'acidité est inversement proportionnelle au taux d'incorporation de la gélatine dans les essais expérimentaux ($p < 0.05$) ; soit des variations moyennes de 95 à 78°D au 7^{ème} jour, de 105 à 93.33°D au 14^{ème} jour et de 115 à 95.17 au 21^{ème} jour (Tableau 35).

Ainsi, au 21^{ème} jour de conservation, il s'avère que les yaourts renfermant 1 et 1.5% de gélatine présentent une faible acidité de 98.67 et 95.17°D contre 115°D enregistrée dans les produits sans gélatine (témoin).

L'analyse de la variance montre l'effet significatif des facteurs étudiés à savoir taux d'incorporation de la gélatine et périodes de fermentation et de post-acidification sur l'évolution de l'acidité des yaourts expérimentaux (Tableau 35).

1.2.3. Viscosité

La viscosité des yaourts expérimentaux enregistre une augmentation croissante durant la période de fermentation ; soit des valeurs moyennes variant de 40.69 à 53.43 Pas. Après deux heures de fermentation les moyennes de viscosité relevées s'avèrent d'autant plus élevée que le taux d'incorporation de la gélatine est considérable ($p < 0.05$) ; soit des valeurs de 25.58, 35.64, 45.35 et 56.21 Pas pour des taux d'incorporation de 0, 0.5, 1 et 1.5%, respectivement. De même, après 4 heures de fermentation, l'augmentation du taux d'addition de gélatine de 0, 0.5, 1 et 1.5% est accompagné par une hausse significatif ($p < 0.05$) de 32.39, 43.33, 62.45 et 75.56 Pas, respectivement (Figure 18).

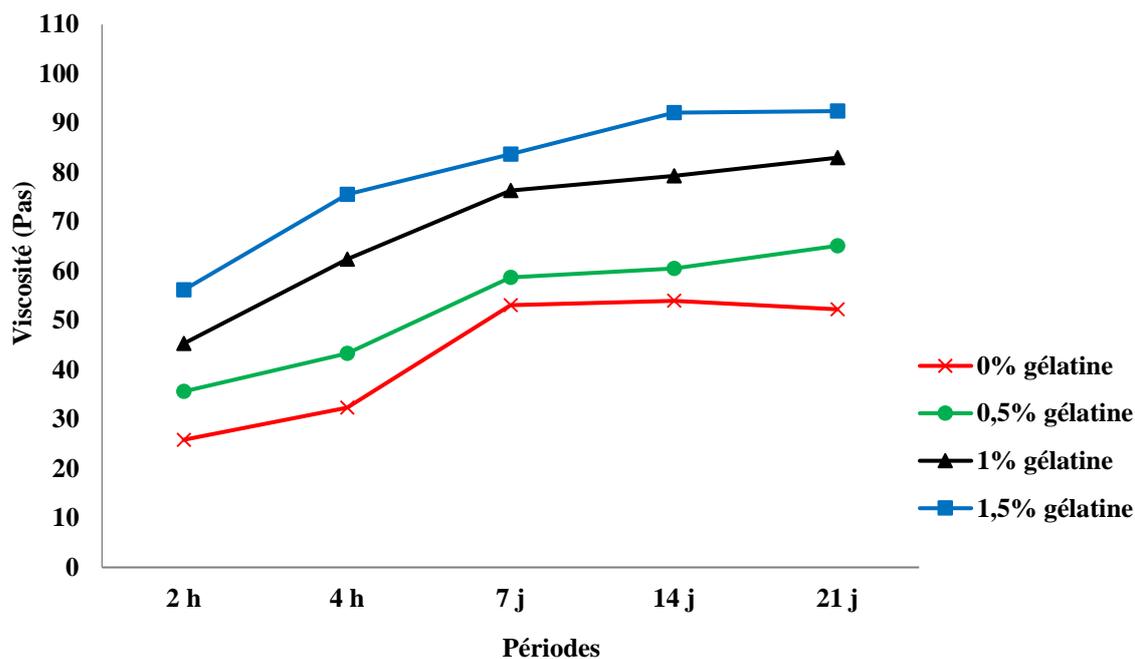


Figure 18. Evolution moyenne de la viscosité (Pas) des laits fermentés additionnés de gélatine.

Par ailleurs, durant toute la période de post-acidification, la viscosité des échantillons expérimentaux est marquée par une augmentation progressive ($p < 0.05$) de 67.99 à 73.22 Pas, en moyenne. Il ressort également, qu'au cours de cette période les valeurs de viscosité s'accroissent avec l'augmentation du taux d'incorporation de la gélatine dans les essais expérimentaux ($p < 0.05$) ; soit des variations moyennes de 53.13 à 83.70 Pas au 7^{ème} jour, de 54.01 à 92.14 Pas au 14^{ème} jour et de 52.26 à 92.45 Pas au 14^{ème} jour de conservation.

Ainsi, au cours des deux périodes expérimentales à savoir de fermentation et de post-acidification, il apparaît que les essais renfermant 1 et 1.5% de gélatine présentent les valeurs de viscosité les plus élevées de 67.99 et 80.01 Pas en moyenne en comparaison au témoin (43.47 Pas).

L'analyse statistique dévoile l'effet significatif ($p < 0.05$) du taux d'incorporation de la gélatine et des périodes de fermentation et de post-acidification sur l'évolution des valeurs de la viscosité des produits au cours des deux périodes d'étude de fermentation et de post acidification (Tableau 36).

Tableau 36. Evolution de la viscosité(Pas) des laits fermentés additionnés de gélatine.

| Périodes | Doses de gélatine additionnée (%) | | | | Période F ₂ | Effet F ₁ | Effet F ₂ | Effet F ₁ ×F ₂ |
|--|-----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|-------------------------|-------------------------|---|
| | 0% | 0.5% | 1% | 1.5% | | | | |
| Fermentation 2h | 25.58 ^a ± 7.35 | 35.64 ^{bc} ± 3.15 | 45.35 ^{bcd} ± 2.23 | 56.21 ^{bdc} ± 2.64 | 40.69 ^e ± 3.71 | * | * | * |
| | 32.39 ^a ± 3.87 | 43.33 ^{ab} ± 2.20 | 62.45 ^{ac} ± 4.45 | 75.56 ^{bcd} ± 3.54 | 53.43 ^d ± 3.08 | | | |
| Post-acidification 7j | 53.13 ^a ± 2.73 | 58.79 ^b ± 5.69 | 76.35 ^{bcd} ± 2.33 | 83.70 ^{bc} ± 3.19 | 67.99 ^c ± 3.18 | | | |
| | 54.01 ^b ± 2.47 | 60.60 ^{ac} ± 6.55 | 79.27 ^{ad} ± 3.69 | 92.14 ^{cde} ± 6.80 | 71.51 ^b ± 4.45 | | | |
| | 52.26 ^a ± 1.82 | 65.17 ^{ac} ± 3.23 | 83.02 ^{ad} ± 3.51 | 92.45 ^{bde} ± 5.49 | 73.22 ^a ± 3.20 | | | |
| Dose de gélatine (F ₁) | 43.47 ^d ± 3.50 | 52.71 ^c ± 3.79 | 67.99 ^b ± 2.83 | 80.01 ^a ± 3.89 | | | | |

Les résultats sont exprimés en moyenne suivis de l'erreur type ; * Effet significatif ($p < 0.05$) d'ajout de gélatine ; a, b, c, d, e : comparaison statistique des moyennes deux à deux ; F₂ : facteur étudié périodes expérimentales, F₁ : facteur étudié dose de gélatine additionnée ; F₁×F₂ : interaction des deux facteurs étudiés.

1.2.4. *Streptococcus thermophilus*

D'une manière générale, l'évolution des germes *Streptococcus thermophilus* dans les yaourts supplémentés en gélatine est caractérisée par une augmentation croissante de 35.10^7 à 46.10^7 UFC/ml au cours de la période de fermentation. Durant cette période, le nombre de *Streptococcus thermophilus* est d'autant plus important que le taux de gélatine est élevé dans les échantillons expérimentaux ($p < 0.01$) ; soit des valeurs moyennes de 27.10^7 , 34.10^7 , 35.10^7 et 43.10^7 UFC/ml à 2 h et 29.10^7 , 36.10^7 , 54.10^7 et 66.10^7 UFC/ml après 4 heures de fermentation pour les taux d'incorporation de gélatine respectifs de 0, 0.5, 1 et 1.5% (Figure 19).

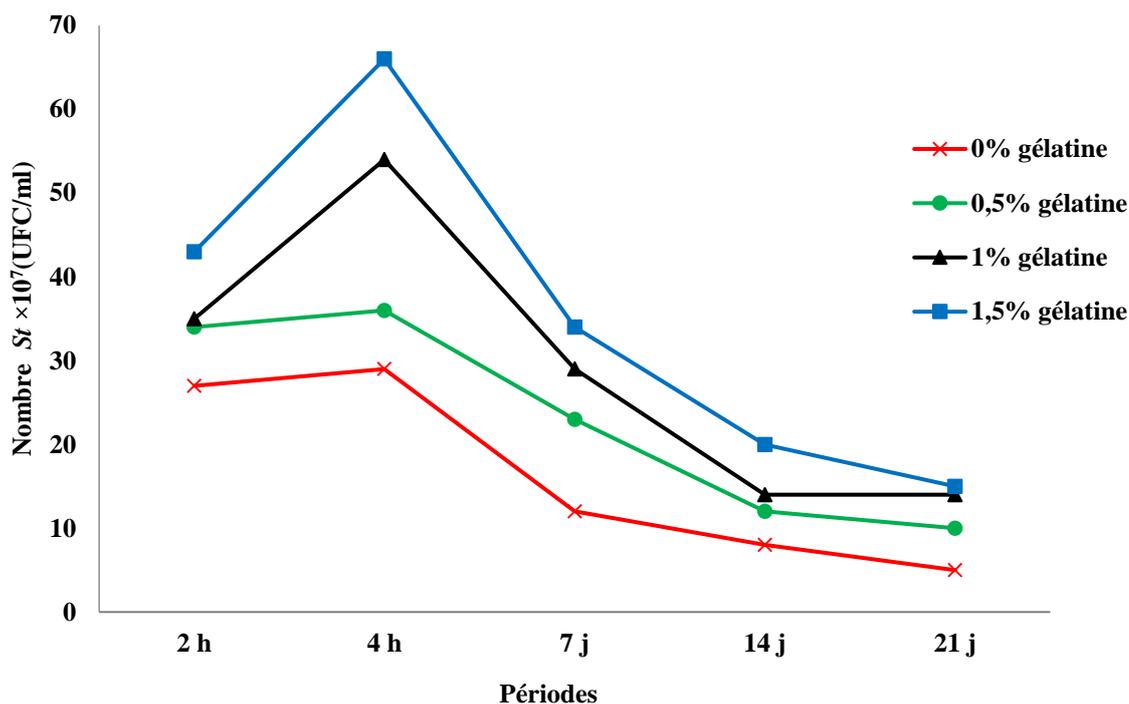


Figure 19. Evolution du nombre de *Streptococcus thermophilus* des laits fermentés additionnés de gélatine.

Concernant la période de post-acidification, l'ensemble des échantillons expérimentaux accusent une chute notable quant à l'évolution des moyennes en germes *Streptococcus thermophilus* qui passe de $24 \cdot 10^7$ UFC/ml au 7^{ème} jour à $11 \cdot 10^7$ UFC/ml au 21^{ème} jour de conservation.

Durant les deux périodes de fermentation et de post-acidification, il s'avère que l'augmentation du nombre de *Streptococcus thermophilus* est proportionnel au taux d'incorporation de la gélatine ; soit des valeurs de $16 \cdot 10^7$, $23 \cdot 10^7$, $29 \cdot 10^7$ et $36 \cdot 10^7$ UFC/ml en moyenne pour les taux respectifs de 0, 0.5, 1 et 1.5% de gélatine incorporée dans les produits.

L'analyse de la variance adoptée sur l'évolution des *Streptococcus thermophilus* des yaourts expérimentaux supplémentés en gélatine, au cours des deux périodes de fermentation et de post-acidification, montre l'effet dominant et hautement significatif ($p < 0.01$) des facteurs taux d'incorporation de la gélatine et période d'essai (Tableau 37).

Tableau 37. Evolution du nombre de *Streptococcus thermophilus*(UFC/ml) des laits fermentés additionnés de gélatine.

| Périodes | Doses de gélatine additionnée (%) | | | | Période F ₂ | Effet F ₁ | Effet F ₂ | Effet F ₁ ×F ₂ | | |
|------------------------------------|-----------------------------------|--------------------|--------------------|-------------------|------------------------|----------------------|----------------------|--------------------------------------|----|----|
| | 0% | 0.5% | 1% | 1.5% | | | | | | |
| Fermentation | 2h (10 ⁷ UFC/ml) | 27 ^{cdef} | 34 ^{cd} | 35 ^{cd} | 43 ^c | 35 ^b | ** | ** | | |
| | 4h (10 ⁷ UFC/ml) | 29 ^{cdef} | 36 ^{cd} | 54 ^b | 66 ^a | 46 ^a | | | | |
| Post-acidification | 7j (10 ⁷ UFC/ml) | 12 ^{efg} | 23 ^{defg} | 29 ^{cde} | 34 ^{cd} | 24 ^c | | | ** | ** |
| | 14j (10 ⁷ UFC/ml) | 8 ^g | 12 ^{efg} | 14 ^{efg} | 20 ^{defg} | 24 ^c | | | | |
| | 21j (10 ⁷ UFC/ml) | 5 ^g | 10 ^{fg} | 14 ^{efg} | 15 ^{efg} | 11 ^d | | | | |
| Dose de gélatine (F ₁) | 16 ^d | 23 ^c | 29 ^b | 36 ^a | | | | | | |

Les résultats sont exprimés en moyenne suivis de l'erreur type ; ** Effet hautement significatif (p<0.05) d'ajout de gélatine ; a, b, c, d, e, f, g : comparaison statistique des moyennes deux à deux ; F₂ : facteur étudié périodes expérimentales, F₁ : facteur étudié dose de gélatine additionné ; F₁×F₂ : interaction des deux facteurs étudiés.

1.3. Qualité organoleptique des yaourts additionnés de gélatine

1.3.1. Acidité

Au cours de la première semaine de post-acidification, le jury a qualifié le goût des yaourts expérimentaux au taux de 1.5% d'acceptable et même meilleur que le témoin sans gélatine, avec des valeurs des sommes des rangs de 24 contre 30.

Aussi, durant la période de conservation, il s'avère que le goût acide est d'autant plus prononcé que le taux de gélatine est faible dans les essais expérimentaux ; soit des valeurs de sommes des rangs de 27.3, 27.3, 23.8 et 21.5 pour les yaourts témoins et ceux supplémentés de 0.5, 1 et 1.5% de gélatine respectivement (Tableau 38).

Au 21^{ème} jour de conservation, une légère sensation au goût acide est décelée notamment dans les essais témoins et ceux contenant 0.5% de gélatine, soit des sommes des rangs identiques de 26 et 27. Cette acidité est inversement proportionnelle aux taux de gélatine dans les essais expérimentaux ($p < 0.05$). Cependant, il apparaît en fin de cette période que les meilleures valeurs d'acidité sont décelées dans les échantillons renfermant 1 et 1.5% de gélatine en comparaison avec témoin. L'analyse de la variance montre l'effet majeur et significatif du taux d'incorporation de la gélatine sur le critère acidité des yaourts au cours de la période de post-acidification (Tableau 38).

Tableau 38. Evolution de l'acidité (sommes des rangs) des yaourts additionnés de gélatine.

| Périodes | Doses de gélatine additionnée (%) | | | | Période (F ₂) | Effet F ₁ | Effet F ₂ | Effet F ₁ ×F ₂ |
|------------------------------------|-----------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|---------------------------|----------------------|----------------------|--------------------------------------|
| | 0% | 0.5% | 1% | 1.5% | | | | |
| 7j | 30 | 27 | 24 | 19 | 100 | * | NS | NS |
| 14j | 26 | 28 | 24 | 22 | 100 | | | |
| 21j | 26 | 27 | 23.5 | 23.5 | 100 | | | |
| Dose de gélatine (F ₁) | 27.3 ^a | 27.3 ^a | 23.8 ^b | 21.5 ^c | | | | |

Les résultats sont exprimés en sommes des rangs ; * : Effet significatif ($p < 0.05$) d'ajout de gélatine ; NS : Effet non significatif ($p > 0.05$) d'ajout de gélatine ; a, b, c : comparaison statistique des sommes des rangs, F₂ : facteur étudié périodes expérimentales, F₁ : facteur étudié dose de gélatine additionnés ; F₁×F₂ : interaction des deux facteurs étudiés.

1.3.2. Adhésivité

Durant toute la période de post-acidification, les panelistes ont estimé que l'adhésivité des yaourts contenant la gélatine est meilleure en comparaison avec le témoin. Cette adhésivité est améliorée avec l'augmentation du taux d'incorporation de la gélatine dans les essais expérimentaux ; soit des valeurs qui varient de 34.6, 28, 22.3 et 15.3 sommes des

rangs pour des taux en gélatine de 0, 0.5, 1 et 1.5% respectivement. Les meilleures valeurs d'adhésivité ont été enregistrées dans les essais préparés à un taux sévère de 1.5% de gélatine.

L'analyse de la variance montre l'effet significatif ($p < 0.05$) des taux d'incorporation de gélatine sur le critère adhésivité des yaourts au cours de la période de post-acidification (Tableau 39).

Tableau 39. Evolution de l'adhésivité (sommés des rangs) des yaourts additionnés de gélatine.

| Périodes | Doses de gélatine additionnée (%) | | | | Période (F ₂) | Effet F ₁ | Effet F ₂ | Effet F ₁ ×F ₂ |
|------------------------------------|-----------------------------------|-----------------|-------------------|-------------------|---------------------------|----------------------|----------------------|--------------------------------------|
| | 0% | 0.5% | 1% | 1.5% | | | | |
| 7j | 35.5 | 27 | 22 | 15.5 | 100 | * | NS | NS |
| 14j | 31.5 | 28.5 | 25.5 | 15.5 | 100 | | | |
| 21j | 37 | 28.5 | 19.5 | 15 | 100 | | | |
| Dose de gélatine (F ₁) | 34.6 ^a | 28 ^b | 22.3 ^c | 15.3 ^d | | | | |

Les résultats sont exprimés en sommés des rangs ; * : Effet significatif ($p < 0.05$) d'ajout de gélatine ; NS : Effet non significatif ($p > 0.05$) d'ajout de gélatine ; a, b, c : comparaison statistique des sommés des rangs, F₂ : facteur étudié périodes expérimentales, F₁ : facteur étudié dose de gélatine additionnés ; F₁×F₂ : interaction des deux facteurs étudiés.

1.3.3. Cohésivité

Au cours de toute l'expérimentation, la cohésivité des yaourts contenant de la gélatine a été appréciée par le jury de dégustation comme étant meilleure en comparaison au témoin.

En outre, l'évolution des valeurs des somme des rangs de la cohésivité des yaourts expérimentaux tend à être proportionnelle aux concentrations de gélatine ($p < 0.05$) ; soit des valeurs de sommés des rangs de l'ordre de 28.5, 29, 28 et 18.5 pour les taux respectifs de 0, 0.5, 1 et 1.5% de gélatine incorporés (Tableau 40).

Aussi, il ressort que durant la période de post-acidification, la cohésion des essais renfermant 1.5% de gélatine s'avère meilleure ; avec des sommés des rangs de 18.5 en comparaison au témoin (28.5 sommés des rangs).

Tableau 40. Evolution de la cohésivité (sommés des rangs) des yaourts additionnés de gélatine.

| Périodes | Doses de gélatine additionnée (%) | | | | Période (F ₂) | Effet F ₁ | Effet F ₂ | Effet F ₁ ×F ₂ |
|------------------------------------|-----------------------------------|-----------------|-----------------|-------------------|---------------------------|----------------------|----------------------|--------------------------------------|
| | 0% | 0.5% | 1% | 1.5% | | | | |
| 7j | 31 | 28 | 20.5 | 20.5 | 100 | * | NS | NS |
| 14j | 24 | 30 | 28 | 18 | 100 | | | |
| 21j | 30.5 | 29 | 35.5 | 17 | 100 | | | |
| Dose de gélatine (F ₁) | 28.5 ^a | 29 ^a | 28 ^b | 18.5 ^c | | | | |

Les résultats sont exprimés en sommes des rangs ; * : Effet significatif ($p < 0.05$) d'ajout de gélatine ; NS : Effet non significatif ($p > 0.05$) d'ajout de gélatine ; a, b, c : comparaison statistique des sommes des rangs, F₂ : facteur étudié périodes expérimentales, F₁ : facteur étudié dose de gélatine additionnés ; F₁×F₂ : interaction des deux facteurs étudiés.

Tableau 41. Evolution de l'odeur (sommes des rangs) des yaourts additionnés de gélatine.

| Périodes | Doses de gélatine additionnée (%) | | | | Période F ₂ | Effet F ₁ | Effet F ₂ | Effet F ₁ *F ₂ |
|------------------------------------|-----------------------------------|------|------|------|------------------------|----------------------|----------------------|--------------------------------------|
| | 0% | 0.5% | 1% | 1.5% | | | | |
| 7j | 22.5 | 24.5 | 24.5 | 28.5 | 100 | NS | NS | NS |
| 14j | 28.5 | 22.5 | 24.5 | 24.5 | 100 | | | |
| 21j | 26 | 26 | 24 | 24 | 100 | | | |
| Dose de gélatine (F ₁) | 25.6 | 24.3 | 24.3 | 25.6 | | | | |

Les résultats sont exprimés en sommes des rangs ; NS : Effet non significatif ($p > 0.05$) d'ajout de gélatine ; F₂ : facteur étudié périodes expérimentales, F₁ : facteur étudié dose de gélatine additionnés ; F₁×F₂ : interaction des deux facteurs étudiés.

L'analyse de la variance dévoile l'effet significatif du facteur taux de gélatine incorporé sur le critère cohésivité des yaourts expérimentaux durant la période de post-acidification (Tableau 40).

1.3.4. Odeur

Les résultats révélés suite à l'analyse sensorielle effectuée lors des séances de dégustations organisées tout au long de la période de post-acidification ne démontre aucun effet de l'ajout de la gélatine ($p>0.05$) sur la perception du critère odeur avec des sommes de rangs similaires ($p>0.05$) variables de 22.5 à 28.5 (Tableau 41).

1.3.5. Arrière-goût

Au cours de la période de conservation, le jury de dégustation n'a noté aucun arrière-goût dans les laits fermentés contenant de la gélatine en comparaison au témoin.

En outre, l'évolution des valeurs des sommes de rangs de l'arrière-goût des échantillons expérimentaux est similaire pour tous les essais durant toute la période de post-acidification ; soit des valeurs de sommes des rangs de l'ordre de 25 (Tableau 42).

Tableau 42. Evolution de l'arrière-goût (sommes des rangs) des yaourts additionnés de gélatine.

| Périodes | Doses de gélatine additionnée (%) | | | | Période F ₂ | Effet F ₁ | Effet F ₂ | Effet F ₁ *F ₂ |
|------------------------------------|-----------------------------------|------|----|------|---------------------------|-------------------------|-------------------------|---|
| | 0% | 0.5% | 1% | 1.5% | | | | |
| 7j | 25 | 25 | 25 | 25 | 100 | NS | NS | NS |
| 14j | 25 | 25 | 25 | 25 | 100 | | | |
| 21j | 25 | 25 | 25 | 25 | 100 | | | |
| Dose de gélatine (F ₁) | 25 | 25 | 25 | 25 | X | | | |

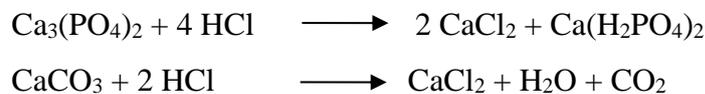
Les résultats sont exprimés en sommes des rangs ; NS : Effet non significatif ($p>0.05$) d'ajout de gélatine ; F₂ : facteur étudié périodes expérimentales, F₁ : facteur étudié dose de gélatine additionnés ; F₁×F₂ : interaction des deux facteurs étudiés.

2. Discussion

2.1. Propriétés fonctionnelles de la gélatine

La gélatine est un produit naturel obtenu par la dénaturation et l'hydrolyse du collagène des os de bovin, afin de le rendre soluble dans l'eau. Les os sont collectés puis traités (dégraissage) dans un bain d'eau chaude pour enlever les graisses résiduelles.

Afin de séparer la partie minérale de collagène, une déminéralisation a été effectuée dans un bain d'acide HCl (2%). Pendant cette étape, le phosphate tricalcique et les carbonates de calcium (support minéral de l'os et responsable de sa rigidité) sont transformés en sel mono calcique soluble, qui est rejeté en solution, pour être éliminé par précipitation selon les réactions suivantes (Schrieber et Gareis, 2007) :



Alors, il est obtenu d'un côté des phosphates de calcium et de l'autre côté de l'osséine, sous forme de petites éponges, qui est le produit de base pour l'extraction de la gélatine.

Le traitement acide de collagène est approprié aux os de bovin. Ce traitement permet une réduction des coûts, en raison des temps courts de préparation de la matière première en comparaison au traitement alcalin (chaulage pendant 6 à 12 semaines). Le procédé de prétraitement a pour objectif le gonflement et le ramollissement de l'osséine, en préparation à la dénaturation thermique et l'extraction de la gélatine. Pendant cette étape, les liaisons intermoléculaires sont rompus (Boran et Regenstein, 2010).

Le rendement d'extraction de la gélatine a avoisiné un taux de 6.32%. Ce rendement dépend de la matière première utilisée pour l'extraction ainsi que le procédé d'extraction adapté. Ktari et *al.* (2014) ont constaté que le rendement d'extraction de la gélatine de blennie (*Salaria basilisca*) est de 14.8%. L'addition de la pepsine (15 unités/g de peau) lors de prétraitement des peaux conduit à une augmentation du rendement pour atteindre une valeur de 18%.

De même Lassoued et *al.* (2014) ont trouvé que l'addition de pepsine (5 unités/g de peau) permet l'augmentation du rendement d'extraction de la gélatine de raie bouclée (*Raja clavata*). Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Jridi et *al.* (2013) qui ont enregistré un accroissement du rendement d'extraction de la gélatine des peaux de seiche (*Sepia officinalis*) suite à l'addition de la pepsine pendant l'étape de prétraitement.

La température d'extraction influence fortement le rendement en gélatine. L'augmentation de la température de la gélatine de 50, 60, 70 et 80°C améliore le rendement de 8.8, 21.8, 28.2 et 45.3 % respectivement (Nagarajan et *al.*, 2012).

La différence de rendement en gélatine est influencé aussi par la nature de la matière première utilisée ; les caractéristiques du collagène et aussi les pertes lors du traitement d'extraction. Le degré de la conversion du collagène en gélatine dépend de la température, temps d'extraction et même le prétraitement de la matière première (Karim et Bhat, 2009). L'augmentation de la température déstabilise la structure du collagène par rupture des liaisons inter chaînes aboutit à une hydrolyse partielle du collagène favorisant leur extraction et par conséquent l'augmentation de la quantité de gélatine extraite (Nagarajan et *al.*, 2012).

La teneur en humidité de la gélatine d'os de bovin est de 7.87%. Les résultats obtenus par Jeya Shakila et *al.* (2012) ont montré que la gélatine d'os de vivaneau rouge (*Lutjanus Campechanus*) présente une teneur en humidité comprise entre 4.10 et 6.24%. Par ailleurs, l'humidité de la gélatine extraite de la peau de calamar (*Loligo formosana*) varie de 8.6 à 11%. D'une manière générale, la teneur en humidité recommandée pour la gélatine alimentaire doit être inférieure à 15% (GME, 2005).

La teneur en cendre de la gélatine d'os de bovin (13.33%) est supérieure à la valeur recommandée par Jones, 1977 (2.6%) et celle recommandée pour la gélatine alimentaire (2%) (GME, 2005). Les mêmes résultats ont été trouvés par Ahmed et Benjakul (2011).

La teneur élevée en cendre de la gélatine permet d'indiquer de la présence de sels inorganiques, qui sont probablement générés lors du prétraitement acide ou alcalin (Ahmed et Benjakul, 2011). Les sels mono calciques rejetés en solution lors du prétraitement acide peuvent contribuer à l'augmentation du taux de cendre.

Le pH de la gélatine d'os de bovin est de 9.63, ce qui indique qu'elle appartient à la catégorie de gélatine acide (gélatine A). Le pH de la gélatine varie en fonction du traitement subi par les matières premières. La gélatine de type A (voie acide) possède une zone isoélectrique comprise entre 7 – 9. Celle de la gélatine B (voie alcalin) se trouve dans une région plus basse comprise entre 4 et 5 (Surh et *al.*, 2006 ; Gómez-Guillén et *al.*, 2011).

Le pH de la gélatine extraite après prétraitement alcalin NaOH (0.1M) est compris entre 4.17 et 4.34 (gélatine type B). Il est bien indiqué qu'un prétraitement alcalin résulte une gélatine de type B dont le pH varie de 4 à 5 (Shyni et *al.*, 2014).

De même, il est rapporté que le pH de la gélatine de morue varie de 2.7 à 3.9 (Gudmundsson et Hafsteinsson, 1997). Cette différence de pH est probablement influencée par le prétraitement appliqué lors de l'extraction impliquant les traitements acides et alcalins. Selon Cheow et *al.* (2007) et Jeya Shakila et *al.* (2012), le pH de la gélatine bovine peut varier de 5.48 et 6.18 respectivement.

Le point isoélectrique (pI) est une propriété très importante de la gélatine ; c'est le pH pour lequel la charge nette de la protéine est égale à zéro. Cette charge nette correspond à la somme des charges négatives et positives des chaînes latérales des acides aminés qui la compose.

Le pH de la gélatine influence fortement l'utilisation et l'application de la gélatine. Par exemple, la gélatine type A, caractérisé par un point isoélectrique (pI) élevé, son utilisation est favorable dans les applications qui nécessitent un faible pH à laquelle la gélatine serait propice à la formation de réseau de gel. De même, comme la gélatine B a un faible point isoélectrique (pI), il est utilisé dans les applications qui exigent un pH élevé auquel la gélatine forme un gel (Boran et Regenstein, 2010).

La solubilité des protéines est une propriété très intéressante du fait qu'elle est nécessaire pour de nombreuses applications en particulier pour les émulsions, les mousses et la formation du gel. Une protéine soluble fournissant une dispersion homogène des molécules et améliore les propriétés interraciales (Ahmed et Benjakul, 2011).

La gélatine se gonfle en contact avec l'eau froide en formant des particules gonflées. Quand elle est chauffée au-dessus du point de fusion, la gélatine hydratée est rendue soluble en formant un gel après refroidissement (Mariod et Adam, 2013).

La solubilité de la gélatine d'os de bovin est maximale à pH 4. Généralement, la gélatine est plus soluble pour les pH acides (Kittiphattanabawon et *al.*, 2005). De même, Lassoued et *al.* (2014) ont enregistré une faible solubilité de la gélatine de raie bouclée (*Raja clavata*) à pH 5 ; alors qu'elle est maximale à pH 4. Selon les mêmes auteurs, la solubilité de la gélatine bovin est maximale à pH 4 et minimale à pH 5.

Lee et *al.* (2009) ont constaté que la solubilité de la gélatine est maximale à pH 3 qu'à pH neutre. Les résultats obtenus par Ktari et *al.* (2014) montrent une solubilité minimale de la gélatine à pH 6. La différence de solubilité constatée entre la gélatine d'os de bovin et la gélatine commerciale est probablement due à la différence de la composition en acides aminés de la gélatine et plus spécialement la charge des acides aminés constitutifs.

La solubilité de la gélatine d'os de bovin est caractérisée par une diminution remarquable à pH neutre et alcalin. La plus faible solubilité est enregistrée à pH 7. Les mêmes résultats ont été obtenus par Singh *et al.* (2011).

La faible solubilité à pH 7, probablement près de pH isoélectrique (pI) de la gélatine, est due à l'absence de répulsion électrostatique entre les molécules favorisant l'agrégation et la précipitation. La gélatine est une protéine amphotère avec un point isoélectrique compris entre 5 et 9. Selon la méthode d'extraction, la solubilité est améliorée à des valeurs de pH au-dessous et au-dessus du point isoélectrique des protéines (Singh *et al.*, 2011).

La gélatine d'os de bovin obtenue après un traitement acide (gélatine A) est caractérisée par un point isoélectrique compris entre 6.6 et 9 (Ahmed et Benjakul, 2011) ; Ceci peut expliquer la diminution de la solubilité à cette gamme de pH.

La solubilité de la gélatine bovine est stable pour des doses de 0, 1 et 2% de NaCl. Une nette diminution est observée à des doses de 3%. Cette diminution se poursuit jusqu'au une concentration de 6% ($p < 0.01$). Les mêmes résultats ont été avancés par Singh *et al.* (2011) et Khiari *et al.* (2013).

L'augmentation de la concentration de NaCl peut provoquer aussi une diminution de la solubilité. Ceci est probablement dû à l'effet de relargage hydrophobe-hydrophobe entre les molécules et l'agrégation de la gélatine, provoquant ainsi sa précipitation (Vojdani, 1996 ; Kittiphattanabawon *et al.*, 2005).

L'augmentation de la concentration de NaCl provoque une augmentation de la force ionique. Cettedernière favorise l'interaction hydrophobe-hydrophobe entre les chaînes des protéines ce qui entraîne une précipitation de la gélatine et par conséquent induire une diminution de la solubilité (Vojdani, 1996). Des comportements similaires ont été également constatés par Kittiphattanabawon *et al.*, (2005) ; Lee *et al.* (2009) et Veerurj *et al.* (2013).

Le pouvoir moussant de la gélatine permet d'augmenter, dans de fortes proportions, le volume d'un mélange d'ingrédients, à condition qu'il comporte de l'eau. La phase gazeuse ou les bulles d'aires créées par battage d'un mélange sont capturées dans des microbulles de gélatine et maintenus dans un état de dispersion stable. Le pouvoir moussant est une caractéristique très importante de la gélatine. Sur le plan industriel, le choix de la gélatine est en fonction des applications par exemple les gelées sucrées ainsi que les gommes nécessitent pour leur fabrication des gélatines peu moussantes ; alors que les produits foisonnés requièrent un pouvoir moussant élevé.

L'expansion de la mousse (EM) et la stabilité de la mousse (SM) de la gélatine d'os de bovin sont de 150.66 et 114.66%, respectivement. Ces résultats corroborent ceux d'Ahmed et Benjakul (2011) qui ont constaté que l'expansion de la mousse (EM) de la gélatine varie de 116.35 à 152.63% ; alors que sa stabilité (SM) varie de 111 à 135.06%. Nagarajan et al. (2012) rapportent que l'expansion et la stabilité de la mousse de la gélatine de calamar (*Loligo formosana*) varient de 131.66 à 175.00% et de 116.77 à 146.66%, respectivement. Par ailleurs, Lassoued et al. (2014) ont démontré que l'expansion et la stabilité de la mousse sont estimées entre 110.00 à 137.52% et entre 80.22 à 114.07, respectivement. Hafidz et al. (2011) ont étudié les propriétés fonctionnelles de la gélatine porcine et bovine. Les résultats obtenus montrent que l'expansion et la stabilité de la mousse de la gélatine bovine sont supérieures à ceux de la gélatine porcine. Selon les mêmes auteurs, l'expansion de la mousse est estimée à 99 et 90% alors que la stabilité de la mousse est de 91.67 et 87.67% pour la gélatine bovine et porcine, respectivement.

La formation de la mousse est généralement contrôlée par le transfert, la pénétration et la réorganisation de la molécule de protéine à l'interface d'air-eau. La capacité moussante dépend des caractéristiques de la protéine. Elle doit être capable de migrer rapidement, se déplier et déplacer à l'interface air-eau (Halling, 1981).

En générale, les protéines qui s'adsorbent rapidement à l'interface air-liquide ont une meilleure capacité moussante que les protéines qui s'adsorbent lentement (Nagarajan et al., 2012).

La stabilité de la mousse dépend de la nature du film et de l'interaction de la protéine dans l'interface air-eau. Il a été suggéré que la réduction du pouvoir moussant et la stabilité de la mousse peuvent être dues à l'agrégation des protéines qui interfèrent avec l'interface entre la protéine et l'eau nécessaire pour la formation de la mousse (Cho et al., 2004 ; Shyni et al., 2014).

La gélatine a des propriétés moussantes très intéressantes du fait qu'elle peut réduire la tension de surface à l'interface liquide-air par l'augmentation de la viscosité de la phase aqueuse (Schrieber et Gareis, 2007). Les propriétés moussantes dépendent dans une large mesure des caractéristiques de la matière première. Pour l'adsorption de la gélatine à l'interface air-eau, les molécules doivent contenir des régions hydrophobes favorisant leurs dépliages et favorisant ainsi la formation et la stabilisation de la mousse (Gómez-Guillén et al., 2011).

Le pouvoir émulsifiant de la gélatine permet d'obtenir, par brassage, une dispersion homogène dans un mélange de constituant naturellement non miscible. Les émulsifiants s'adsorbent à l'interface et facilitent la production de petites gouttelettes par l'abaissement de la tension interfaciale lors de l'homogénéisation (Lobo, 2002 ; Walstra, 2003). La nature amphotère et la présence des régions hydrophobes sur la chaîne peptidique permettent à la gélatine de se comporter comme un émulsifiant. Elle est utilisée dans la fabrication des émulsions d'eau dans l'huile tels que la margarine à faible teneur en matière grasse, la vinaigrette et la crème fouettée (Baziawane et Liu, 2003).

L'indice de la capacité émulsifiante (ICE), une mesure de la zone d'interface stabilisée par unité de poids de protéine (m^2/g), se rapporte à la capacité d'une protéine à s'adsorber à l'interface (Pearce et Kinsella, 1978). Les résultats obtenus ont montré que l'augmentation de la concentration d'une gélatine (0.5, 1, 1.5 et 2%) diminue l'indice de la capacité émulsifiante (ICE). Des résultats similaires ont été avancés par Binsi et *al.* (2009) ; Ahmed et Benjakul, 2011 et Khiari et *al.* (2013). Ce phénomène peut être dû à l'accroissement des interactions protéines-protéines pour des concentrations élevées de gélatine, résultant d'une diminution de la concentration en protéines dans l'interface de l'émulsion huile-eau. Par conséquent, un film mince de l'émulsifiant est formé à l'interface huile-eau. À des faibles concentrations en gélatine, les protéines s'adsorbent à l'interface ; alors qu'à des fortes concentrations, les protéines s'accumulent dans la phase aqueuse (Kinsella, 1976).

Il est bien établi que la concentration en protéines est un paramètre important qui affecte l'indice de la capacité émulsifiante (ICE). Une faible concentration en protéines favorise en effet un ICE plus élevé en raison de la capacité de la protéine à se diffuser et s'adsorber à l'interface de l'émulsion huile-eau (Khiari et *al.*, 2013). Apparemment, l'indice de la capacité émulsifiante (ICE) et l'indice de la stabilité de l'émulsion (ISE) de la gélatine d'os de bovin sont supérieures à ceux de la gélatine de poisson. Ceci est probablement dû à une différence de propriétés intrinsèques, la composition et la structure de la gélatine de ces deux sources (Aewsiri et *al.*, 2009).

Il est aussi bien connu que la gélatine de type (A), comme pour les autres émulsifiants protéiques tels que les caséines et les protéines de lactosérum, avec un point isoélectrique relativement élevé ($\text{pI} \geq 7$) est plus favorable à créer des émulsions huile-eau pour une large gamme de pH. En outre, les études de Kim et *al.* (1996) ont rapporté que le pouvoir émulsifiant de la gélatine d'ose de morue est similaire à ceux d'un émulsifiant commercial : Tween 80. De plus, il s'avère que les propriétés gélifiantes et émulsifiantes de la gélatine de

poisson sont souvent inférieures à ceux de gélatine des mammifères (Gómez-Guillén et *al.*, 2011).

Un critère important pour le choix du type de gélatine appropriée est aussi le pouvoir gélifiant, parce que, à la même température et concentration, plus le gel est ferme plus il joue le rôle d'une gaine protectrice des gouttelettes d'huile (Schrieber et Gareis, 2007). En effet, l'indice de la capacité émulsifiante de la gélatine de thon est inférieur à celui de la gélatine de porc pour la même concentration de protéine (Aewsiri et *al.*, 2008).

L'indice de la stabilité de l'émulsion a enregistré une augmentation hautement significative avec l'augmentation de la concentration de la gélatine. Des résultats comparables ont été suggérés par Kaewruang et *al.* (2013) et Khiari et *al.* (2013).

Une corrélation positive entre la concentration en gélatine et l'indice de la stabilité de l'émulsion (ISE) est donc remarquée (l'augmentation de la concentration de gélatine a augmenté l'ISE). Les concentrations de gélatine élevées résultant d'un accroissement de la viscosité de la solution. Cela conduit à l'amélioration de la stabilité de l'émulsion probablement par réduction des taux de coalescence entre les gouttelettes de l'émulsion (Khiari et *al.*, 2013). La stabilité de l'émulsion contre la coalescence/floculation est largement dépendant de la force de répulsion entre les protéines adsorbées sur le film protéiques interraciales (Ahmed et Benjakul, 2011).

2.2. Qualité des yaourts additionnés de gélatine

L'évolution de l'acidité des yaourts après 4 heures de fermentation est marquée par une nette augmentation ($p < 0.05$), à l'inverse du pH qui accuse une diminution dans tous les essais expérimentaux ($p < 0.01$).

L'augmentation de l'acidité et la diminution du pH résulte de la production de l'acide lactique suite à la fermentation du lactose de lait par les deux souches spécifiques des yaourts à savoir *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*. Des résultats similaires ont été obtenus par Sokolinska et *al.* (2004), qui ont constaté que le pH de yaourt diminue au cours de fermentation de 6.7 à 4.11.

En effet, lors de la fermentation du lait les bactéries lactiques agissent en synergie, de sorte que *Lactobacillus bulgaricus* amorce son activité en libérant dans un premier temps des acides aminés suite à la protéolyse des caséines. Or, à ce stade, la croissance de cette souche est minimale. Les nutriments libérés par celle-ci permettant, néanmoins, aux

Streptococcus thermophilus de démarrer la fermentation du lactose en acide lactique. Ainsi *Streptococcus thermophilus* procure aux *Lactobacillus bulgaricus* les composants nécessaires à leur activité fermentaire comme l'acide formique et le gaz carbonique. Avec l'abaissement du pH du milieu, *Lactobacillus bulgaricus* quitte la phase de latence pour entrer dans la phase exponentielle. Elle se met donc à hydrolyser les caséines de façon partielle, ce qui libère de courts peptides et des acides aminés qui favorisent d'avantage la croissance de *Streptococcus thermophilus*. Toutefois, la diminution de pH due à la présence toujours croissante d'acides lactiques inhibe peu à peu la croissance de ces derniers (Lamontagne, 2002 ; Mahaut et al., 2000).

Par ailleurs, il a été observé durant toute la période de fermentation, que l'augmentation de l'acidité est d'autant plus élevée que le taux d'incorporation de la gélatine est considérable, le cas contraire est enregistré pour le pH où les valeurs diminuent avec l'augmentation de la concentration en gélatine.

Ces résultats peuvent être probablement expliqués par le fait que la gélatine est riche en certains facteurs de croissance notamment les acides aminés, susceptibles de favoriser la croissance des souches lactiques des yaourts qui se prolifèrent et produisent par fermentation lactique d'avantage de lactate dans le milieu.

Supavitpatana et al. (2008) ont trouvé que l'acidité de yaourt augmente avec l'augmentation du taux d'incorporation de gélatine ($p < 0.05$). Selon ces auteurs l'acidité lactique de yaourt s'accroît avec l'augmentation de la concentration de gélatine ajoutée de 0 à 0.4%. Cette acidité se stabilise à une même valeur pour des pourcentages de gélatine de 0.4 et 0.6%. Par ailleurs, Kumar et Mishra (2004), ont aussi enregistré des augmentations de l'acidité en présence de gélatine.

Mehmood et al. (2008) rapporte qu'après la période de fermentation et au cours de la période de post-acidification, le pH de yaourt diminue de 4.12, à 4.06, à 3.92 et à 3.62% en présence de 0.5% de gélatine pendant 0, 7, 14 et 21 jour de conservation à 6°C.

Dès le septième jour de la période de post-acidification, les variations d'acidité entre les yaourts expérimentaux est inversement proportionnelle aux taux d'incorporation de gélatine, cette tendance est maintenue jusqu'au 21^{ème} jours de conservation à 4°C.

Ces résultats peuvent avoir pour origine, l'éventuelle formation du gel après refroidissement, résultant du mécanisme de gélification de la gélatine impliquant la structure en triple hélice des régions riches en acides aminés. Ces hélices sont formées au cours du

refroidissement et sont stabilisées par des liaisons hydrogènes formées entre les acides aminés et les groupes C-H proches, par des attractions des résidus amines inter-chaînes ou par réorganisation de l'eau ce qui a pour conséquence directe une diminution de l'activité de l'eau (A_w), qui conduit ainsi à la réduction de l'activité des souches spécifiques ensemencés (Schrieber et Gareis, 2007).

De plus, les nouvelles conditions du milieu devenu défavorable à la croissance bactérienne peuvent éventuellement expliquer ces résultats, car d'une part, l'acide lactique produit pendant la fermentation lactique devient toxique pour les bactéries dont les *Streptococcus thermophilus* et les bactéries surtout pathogènes. Effectivement, il est admis que l'accumulation d'acides lactique produit ralenti, voir inhibe la croissance bactérienne sauf les lactobacilles qui continuent à croître même à des pH bas (Salaün et al., 2005).

D'autre part, l'abaissement de la température lors de la période de post-acidification, ralentit considérablement l'activité fermentaire des *Streptococcus thermophilus* et mêmes des *Lactobacillus bulgaricus*. En effet, il est bien établi que, *Streptococcus thermophilus* possèdent une croissance optimisée entre 35 – 40°C ; alors qu'une culture de *Lactobacillus bulgaricus* croît idéalement à une température légèrement supérieure, soit entre 43 – 45°C.

L'augmentation du taux d'incorporation de la gélatine est accompagnée d'un accroissement notable de la viscosité des yaourts. Cette constance évolution peut être expliquée éventuellement par plusieurs phénomènes. Le premier étant, l'acidification du lait suite à la production d'acide lactique par les bactéries lactique (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*) est le facteur clé permettant la formation du gel caséique. En effet, pendant la fermentation, le pH du lait diminue jusqu'à atteindre le pH isoélectrique des caséines (pH isoélectrique 4.6), qui vont s'agréger entre elle en emprisonnant de l'eau ; le réseau protéique du yaourt est alors formé (Yildiz, 2010).

De plus, les souches spécifiques du yaourt notamment *Streptococcus thermophilus* présentent la capacité de produire des agents texturants exo cellulaires appelés exopolysaccharides (EPS) susceptibles d'interagir avec la matière protéique et augmenter la viscosité du produit. Ces exopolysaccharides sont capables de se lier aux caséines du lait ce qui accroît et améliore par voie de conséquence la qualité rhéologique des yaourts (Girard et Lequart, 2007).

Selon Yang et al. (2004), la production des exopolysaccharides (EPS) par *Streptococcus thermophilus* peut affecter sensiblement les propriétés texturales du yaourt

préparé par le lait de bufflonne en augmentant la viscosité suite à leurs interactions avec les caséines.

De même, Zhang et *al.*(2012) ont constaté que la viscosité des laits fermenté préparés par des souches productrices des exopolysaccharides (*Streptococcus thermophilus* ST1) est supérieure ($p < 0.05$) à ceux préparés par des bactéries incapables de les produire.

L'addition de gélatine dans le yaourt a changé la microstructure des produits par la formation des surfaces d'interaction avec les caséines, renfermant des granules de caséines dans plusieurs zones. La gélatine peut donc se lier avec les chaînes de protéines de lait et accroît par voie de conséquence la viscosité de yaourt (Pank et *al.*, 2015 ; Fiszman et *al.*, 1999).

Il est bien établi que la gélification correspond aux phénomènes de gonflement et de solubilisation de la gélatine qui après un chauffage à des températures supérieures à 40°C devient soluble. En effet, la gélatine s'hydrate dans l'eau froide. Elle peut absorber 5 à 10 fois son volume en eau mais ne solubilise pas ; elle est soluble qu'après chauffage. Pour des températures supérieures à 40°C (ce qui ressemble à des températures de fermentation de 45°C), la gélatine présente une structure dite désordonnée, dans laquelle on retrouve en solution, un mélange de différentes fractions α , β et γ . Le système ainsi obtenu est une solution de gélatine : la gélatine est à l'état sol (Schrieber et Gareis, 2007).

Au cours de la période de post-acidification, les yaourts expérimentaux sont conservés à 4°C, un phénomène de gélification de gélatine se met alors en place. Il s'agit là d'une principale utilisation de la gélatine par les industriels. La gélification est un passage de l'état désordonné à l'état ordonné (formation d'une hélice) (Schrieber et Gareis, 2007). Ce phénomène se traduit par une renaturation des triples hélices de collagène, dépendant de la concentration initiale en gélatine, ce qui explique l'augmentation de la viscosité avec l'accroissement du taux de gélatine dans les yaourts, et la température de refroidissement.

Pour de très faibles concentrations de gélatine (inférieure à 0.1%), la transition état désordonné-hélice se fait par repliement de la chaîne sur elle-même due à une prédominance de liaisons intramoléculaires. A des concentrations supérieures à 0,1%, la transition implique une agrégation des chaînes par formation de triples hélices inter chaînes. Concernant la température, plus les solutions sont refroidies brutalement, plus le pourcentage de boucles et de repliement des chaînes serait important (Djabourov, 1988). Le changement de conformation de la gélatine lui confère des propriétés gélifiantes bien spécifiques. Ce qui

rend le milieu plus visqueux, conduisant ainsi à l'augmentation de la viscosité des yaourts expérimentaux.

Durant toute la période de post-acidification, la viscosité a connu une augmentation croissante proportionnelle aux concentrations de la gélatine dans les essais expérimentaux. Ces résultats peuvent aussi être expliqués par la production d'exopolysaccharides attribuées à l'activité des *Streptococcus thermophilus*, néanmoins les *Lactobacillus bulgaricus* possèdent également cette aptitude mais à de moindre rapport (Tamime et Robinson, 1999). En effet, au cours de cette période l'activité des *Streptococcus thermophilus* n'est pas totalement arrêtée mais elle est loin importante comparativement à celle de *Lactobacillus bulgaricus* qui produisent non seulement de l'acide lactique par fermentation du lactose mais éventuellement des exopolysaccharides (Luquet, 1990). Ce qui peut expliquer l'augmentation de la viscosité des yaourts additionnés de gélatine pendant 21 jours de stockage à 4°C.

D'autre part, l'éventuel phénomène de gélification de la gélatine provoqué par l'abaissement de la température du milieu qui passe de 45°C à 4°C, conduit à un changement d'état physique dans les essais expérimentaux. En effet, la gélatine forme un gel par association des chaînes de gélatine en triple hélice, stabilisées par des liaisons hydrogènes (Djabourov, 1988).

La texture de yaourt est modifiée par l'ajout de gélatine suite à l'interaction avec les caséines. Le réseau ainsi formé piégeant les molécules d'eau réduit par conséquent l'exsudation de lactosérum. La baisse du pH provoquée par la fermentation est accompagnée par la formation d'un réseau ou caillé de protéine du lait. La gélatine, dont la température de gélification est inférieure à celle de la fermentation, forme lors de refroidissement un gel utilisant le réseau protéinique comme réseau de base aboutissant à un gel plus compacte (Fizman et al., 1999).

Au cours de la période de fermentation, l'évolution moyenne du nombre de *Streptococcus thermophilus* est caractérisée par une importante augmentation avec l'accroissement du taux de la gélatine dans les yaourts. Les *Streptococcus thermophilus* accusent le départ de la fermentation lactique des yaourts ; leur croissance est stimulée par les acides aminés libérés suite à l'activité protéolytique des *Lactobacillus bulgaricus*. Ce qui s'est traduit durant la première phase d'incubation par un nombre relativement important de

Streptococcus thermophilus ; par la suite les *Lactobacillus bulgaricus* évoluent à leurs tours tout en résistant au pH acide du lait (Jeantet et al., 2008).

En outre, il est possible que les acides aminés constituant la gélatine puissent être un facteur stimulant pour la croissance des souches spécifiques du yaourt au cours de la période de fermentation. En effet, durant cette phase, la gélatine se trouve à l'état sol, peut rendre ainsi les acides aminés libres plus accessibles pour les bactéries lactiques.

Au 21^{ème} jour de la période de post-acidification le nombre de *Streptococcus thermophilus* décroît considérablement. Ceci peut être expliqué d'une part, par le fait que les espèces *Streptococcus thermophilus* assurent le départ de la fermentation lactique et se développent jusqu'à un certain pH milieu de 4.2, au-dessous de cette valeur, ces germes sont inhibés et ce sont les *Lactobacillus bulgaricus* plus acidotolérant qui prennent le relais et terminent la fermentation (Bourgeois et Larpent, 1989). D'autre part, le gel formé suite au phénomène de gélification après refroidissement des produits, réduit fortement l'activité de l'eau et inhibe ainsi le développement des *Streptococcus thermophilus* (Buléon et al., 1998).

La gélatine interagit au cours de la gélification avec les caséines du lait et forme un réseau de gel homogène d'autant plus consistant que le taux incorporé est élevé jusqu'au seuil de 1.5% dans le milieu et ce en abaissant l'activité de l'eau du produit, avec comme résultante une chute drastique de l'activité microbienne (Keogh et O'Kennedy, 1998).

Par ailleurs, il s'avère que le taux de ces germes reste conforme aux normes requises dans tous les yaourts expérimentaux avec des valeurs proches de 10^7 germes vivants/ml, même au dernier jour de post-acidification.

Durant la période de post-acidification, le jury de dégustation a qualifié le goût relatif à l'acidité des yaourts expérimentaux d'acceptable avec une préférence donnée davantage aux échantillons préparés à des taux de 1 et 1.5% de gélatine. Ces résultats peuvent être justifiés par la formation du gel résultant du phénomène de gélification de la gélatine, qui conduisent à la diminution de l'activité de l'eau (A_w) affectant ainsi l'activité des germes spécifiques du yaourts, à produire par fermentation du lactate dans le milieu (Buléon et al., 1998).

L'acidité révélée lors de la dégustation de certains produits expérimentaux est due certainement à une fermentation lactique du lactose de lait par les deux souches *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* (Bourgeois et Larpent, 1989). Cette acidité n'a pas masquée l'acétaldéhyde formé lors de la fermentation lactique des laits

fermentés et qui constitue le principal composé responsable de la saveur spécifique du yaourt (Leroy et Devuyst, 2004).

D'autre part, pendant toute la période expérimentale les propriétés rhéologiques dont la cohésivité et l'adhésivité des essais supplémentés de gélatine avec des taux de 1 et 1.5% sont jugés d'appréciables par les panelistes qui les ont d'ailleurs largement préférés aux produits préparés au taux de 0 et 0.5% de gélatine. Cette amélioration des caractères rhéologiques des yaourts expérimentaux dont l'adhésivité est vraisemblable liée à une production de substance glucidiques nommés exopolysaccharides par les souches lactiquesensemencées (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*). Ces substances glucidiques sont capables de se lier aux caséines du lait tout en améliorant ainsi la viscosité et la rhéologie du produit (Pang et al., 2015).

La cohésivité à tendance a augmenté avec l'augmentation de la dose de gélatine incorporée dans les laits fermentés. Des résultats similaires ont été obtenus par Supavitpatana et al. (2008) qui ont constaté une augmentation de l'adhésivité et de la cohésivité avec l'accroissement du taux de gélatine incorporé dans le lait fermenté type yaourt.

Aussi, la température de refroidissement de 4°C après chauffage des échantillons à l'étuve à 45°C est à l'origine probable d'une augmentation de la viscosité cela est rendu possible par la formation du gel résultant des interactions entre les chaînes de gélatines. Cette formation de gel dépend surtout de la concentration de la gélatine et de la température du milieu. Ceci peut expliquer l'augmentation de la cohésivité et l'adhésivité des yaourts avec l'accroissement du taux d'addition de gélatine (Schrieber et Gareis, 2007).

De plus, il est probable que la gélatine peut modifier la microstructure du gel laitier en resserrant le réseau protéique renforçant la structure du ce gel devenu ainsi homogène, ce qui va induire, une meilleure immobilisation de l'eau libre dans le gel limitant ainsi l'exsudation du lactosérum et améliorant les propriétés de texture et rhéologique des yaourts expérimentaux (Fizman et al., 1999).

Par ailleurs, le jury de dégustation n'a décelé aucun arrière-goût dans tous les échantillons expérimentaux et selon les résultats des tests organoleptiques effectués tout au long de la période de conservation sur le critère odeur, il est évident que la concentration en gélatine des différents essais expérimentaux n'a pas d'effet significatif sur l'odeur des produits. Ces résultats peuvent avoir pour origine probable le fait que, les bactéries lactique

produisent des composés carbonylés volatile (l'acétaldéhyde, le diacétyl, l'acétoine, l'acetate d'éthyle) et des exopolysaccharides qui participent, respectivement, à l'élaboration de l'arôme et de la texture des yaourts (Cerning et *al.*, 1995). Kumar et Mishra (2004) trouvent que la flaveur des yaourts additionné de 0.4% est amélioré que ceux additionné de 0.6% de gélatine. Les yaourts expérimentaux n'ont pas marqué de différence notables ($p > 0.05$) d'odorat chez l'ensemble de panelistes.

En fin, il est à noter également que durant la période de post-acidification, la quantité du lactosérum exsudé est négligeable dans les yaourts expérimentaux renfermant 1 et 1.5% de gélatine en comparaison avec les échantillons témoins et ceux supplémentés de 0.5% de gélatine. Ceci peut être expliqué par la probable possibilité, que l'eau libre est captée et maintenu à l'intérieur du gel suite au phénomène de gélification de la gélatine additionnée dans les essais expérimentaux (Folkenberg et *al.*, 2006).

Conclusion

Au terme de cette étude et à la lumière des résultats obtenus, il s'avère que les remarquables propriétés fonctionnelles de la gélatine permettent l'amélioration de la qualité des laits fermentés type yaourt étuvé. En effet, le changement de l'état physique de la gélatine induit par les variations du milieu dont notamment la température et le pH conduit à la modification structurale de la matrice du lait fermenté, rendu possible par la formation du gel au cours de la période de pot-acidification. Ainsi, l'ajout de gélatine a amélioré la qualité des yaourts au cours de la période de fermentation et de post acidification, ceci s'est traduit par une meilleure texturation, un effet épaississant remarquable, une fixation de l'eau améliorée et une meilleure conservation des produits.

Aussi, l'interaction entre la gélatine et les différents composants du yaourt semble être à l'origine de l'optimisation de la qualité du produit, résultant des zones de jonction formant un réseau entre la gélatine et la matrice du yaourt. En effet, la concentration en gélatine notamment à 1 et 1.5% entraîne une nette amélioration du goût, de la viscosité, d'adhésivité, la cohésivité ainsi qu'une meilleure conservation avec une acidité dornic appréciable comparativement au témoin ne contenant pas de gélatine et aux échantillons renfermant 0.5% de gélatine. Par ailleurs, pendant la phase de post-acidification, le temps peut sans doute influencer aussi ces propriétés. Plus le temps de conservation est long, plus le gel est rigide, cette équation trouve son origine dans l'augmentation du nombre des zones de jonction.

L'utilisation de la gélatine dans les laits fermentés type yaourt étuvé a donné une meilleure qualité rhéologique et texturale qui laisse l'arôme se dégager d'une façon intense dans la bouche. Cette propriété permet aux industriels d'être innovants en créant des textures et des formes originales dans le secteur des produits laitiers. De plus, la gélatine immobilise l'eau, ce qui empêche la synérèse et augmente la durée de conservation des produits.

L'industrie laitière, recherche la plus grande qualité sensorielle des produits au meilleur coût pour le consommateur. Suivant cette stratégie, la gélatine est souvent choisie en priorité en raison de la disponibilité de la matière première qui représente un sous-produit des industries de viandes et poissons.

Conclusion générale

Aujourd'hui, les sous-produits des industries agro-alimentaires sont une problématique de pollution majeure ainsi que des pertes économiques élevés. La valorisation de ces coproduits est devenue une exigence actuelle et ceci pour des raisons économiques et pour un souci de protection de l'environnement.

En effet, les coproduits de la fromagerie (lactosérum) et les écorces d'orange ainsi que les os de bovin issus des abattoirs constituent une matière première pour la fabrication de certains additifs alimentaires naturels. Ces additifs alimentaires (protéines de lactosérum, pectine et gélatine) sont caractérisées par des propriétés techno-fonctionnelles très intéressantes et recherchées ce qui les font des ingrédients importants dans les industries pharmaceutique, cosmétique, photographique et surtout les industries agro-alimentaires tant les avantages sont importants dans la consommation courante (produit naturel).

Nous avons montré, dans ce travail, l'importance de l'addition de trois types d'additifs alimentaires naturels obtenus à partir des sous-produits des industries agro-alimentaires à savoir : le lactosérum, les écorces d'oranges et les os de bovin. Après avoir étudié les propriétés techno-fonctionnelles de ces additifs alimentaires, nous avons pu déterminer que la gélatine bovine extraite est caractérisées par une très bonne solubilité. D'autre part, cette gélatine a des propriétés moussantes et émulsifiantes très intéressantes et même meilleures à ceux de la gélatine commerciale. De ce fait, la gélatine bovine incorporée aux laits fermentés expérimentaux leurs confères une qualité rhéologique, texturale ainsi qu'une bonne aptitude à la conservation suite à une limitation de la synérèse.

Les protéines de lactosérum sont obtenues par un traitement de thermo précipitation le lactosérum. Les propriétés fonctionnelles et nutritionnelles de ses protéines sont très recherchées et sont utilisés dans l'alimentation humaine et animale. Les laits fermentés additionnés aux protéines de lactosérum requièrent une meilleure texture. La viscosité des échantillons expérimentaux augmente significativement avec l'accroissement du taux d'addition des protéines de lactosérum. A noter que, les meilleures valeurs de viscosité sont enregistrées pour des doses de 2.5%. Ainsi les produits additionnés de 1.5% de protéines de lactosérum sont jugés d'excellente viscosité, adhésivité et goût.

La pectine est extraite d'écorces d'orange, le procédé d'extraction est basé sur une hydrolyse acide suivie d'une précipitation dans l'alcool. Dans notre expérience, la caractérisation de la pectine extraite, nous a permis de la classée parmi les pectines

Conclusion générale

faiblement méthylées dont le degré d'estérification est inférieur à 50%. L'incorporation de cette pectine dans les laits fermenté type yaourt étuvé a nettement améliorée la qualité microbiologique et organoleptique. Les produits expérimentaux supplémentés au 0.6% de pectine ont accusés un meilleur goût, un gel et une texture plus ferme limitant même l'exsudation de lactosérum.

En perspectif, il serait intéressant :

- de reconduire la même étude sur d'autres types de laits fermentés (yaourt brassé) et aussi d'autres types d'aliment ;

- de procéder à l'étude et la comparaison des propriétés techno fonctionnelles de la gélatine issue de différents matières (les peaux de bovin et les poissons), de même pour la pectine (*Citrus limon*, *Citrus aurantium* et *Citrus reticulata*) pour déterminer quel type de gélatine ou de pectine est le mieux adaptés aux différents technologies ;

- élargir le spectre d'étude afin de valoriser d'autres types de sous-produits des industries agroalimentaires (la mélasse de sucrerie, les grignons d'olives...etc.) ;

- enfin, si les résultats obtenus permettent d'envisager le passage à l'échelle industrielle, une analyse technico-économique du procédés reste indispensable afin d'optimiser les conditions d'extraction, à la fois en termes de rendement et de fonctionnalités.

Conclusion générale

Références bibliographiques

- **Aewsiri T., Benjakul S., Visessanguan W., 2009.** Functional properties of gelatin from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) skin as affected by bleaching using hydrogen peroxide. *Food Chemistry*, 115: 243-249.
- **Aewsiri T., Benjakul S., Visessanguan W., Tanaka M., 2008.** Chemical compositions and functional properties of gelatin from pre-cooked tuna fin. *International Journal of Food Science and Technology*, 43(4): 685-693.
- **Afizah M. N., Rizvi S. S.H., 2014.** Functional properties of whey protein concentrate texturized at acidic pH: Effect of extrusion temperature. *Food Science and Technology*, 57 : 290- 298.
- **AFNOR, 1980.** Lait et produits laitiers : méthodes d'analyse (1^{er} éd.). Paris: AFNOR.
- **AFNOR, 2001.** AFNOR NF V 04-600 (2001) Produits laitiers frais - Spécifications des laits fermentés et des yaourts/yoghourts. Paris : AFNOR
- **Ahmad M., Benjakul S., 2011.** Characteristics of gelatin from the skin of unicorn leatherjacket (*Aluterus monoceros*) as influenced by acid pretreatment and extraction time. *Food Hydrocolloids*, 25: 381 - 388.
- **AOAC, 1980.** Association of official analytical chemists -Official Methods of Analysis. 13th ed., Washington D.C.
- **AOAC, 1995.** Association of Official and Analytical Chemists -Official methods of analysis of AOAC international (16th ed.). Washington, DC.
- **AOAC, 2000.** Association of Official and Analytical Chemists -Official methods of analysis of AOAC international (17th ed.). Gaithersberg, Maryland.
- **AOAC, 2005.** Association of official analytical chemists- official methods analysis of the association analytical chemists (18th ed.). Washington, DC: AOAC.
- **Atmodjo M. A., Hao Z., Mohnen D., 2013.** Evolving Views of Pectin Biosynthesis. *Annual Review of Plant Biology*, 64:747-779.
- **Azad A. K. M., Ali M. A., Akter M. S., Rahman M. J., Ahmed M., 2014.** Isolation and characterization of pectin extracted from lemon pomace during ripening. *Journal of Food and Nutrition Sciences*, 2(2): 30-35.
- **Badii F., Howell N. H., 2006.** Fish gelatin: Structure, gelling properties and interaction with egg albumen proteins. *Food Hydrocolloids*, 20: 630-640.
- **Baziwane D., He Q., 2003.** Gelatin: the paramount food additive. *Food Reviews International*, 19 (4): 423-43.

Références bibliographiques

- **Becker T., Puhan Z., 1989.** Effect of different process to increase the milk solids non-fat content on the rheological properties of yoghurt. *Milchwissenschaft*, 44: 626-629.
- **Bhat S. A., Singh E. R., 2014.** Extraction and characterization of pectin from guava fruit peel. *International Journal of Research in Engineering and Advanced Technology*, 2 (3):1 - 7.
- **Bhatia M.S., Deshmukh R., Choudhari P., Bhatia N.M., 2008.** Chemical Modification of Pectins, Characterization and Evaluation for Drug Delivery. *Scientia Pharmaceutica*, 76: 775-784.
- **Binsi P.K., Shamasundar B.A., Dileep A.O., Badii F., Howell N.K., 2009.** Rheological and functional properties of gelatin from the skin of Bigeye snapper (*Priacanthus hamrur*) fish: Influence of gelatin on the gel-forming ability of fish mince. *Food Hydrocolloids*, 23: 132-145.
- **Boran G., Regenstein J. M., 2010.** Chapitre 5: Fish gelatin in advances in Food and Nutrition Reaserch, Buckle K., Camire M. E., Clemens R., Heymann H., Hutkins R., Jackson R., Lelieveld H., Lund D. B., Weaver C., rolstad R., volume 60, *Elsevier*, p : 120-140.
- **Bottazzi V., Battistotti B. et Montescani G., 1973.** Influencedes souches seules et associées de *L. bulgaricus* et *Str. thermophilus* ainsi que des traitements du lait sur la production d'aldéhyde acétique dans le yaourt. *Mémoires Originaux, Le Lait*, N° 525-526 (Mai-Juin) : 295 – 308.
- **Bourgeois C.M., Larpent J.P., 1989.** Microbiologie alimentaire. *Ed. Lavoisier, Technique & Documentation, Vol. 2.* pp : 18 – 30.
- **Braccini I., Perez S., 2001.** Molecular basis of Ca²⁺-induced gelation in alginates and pectins: The egg-box model revisited. *Biomacromolecules*, 2: 1089-1096.
- **Broomes J., Badrie N., 2010.** Effects of Low-Methoxyl Pectin on Physicochemical and Sensory Properties of Reduced- Calorie Sorrel/ Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) Jams. *The Open Food Science Journal*, 4: 48-55.
- **BSI, 1975.** British Standards Institution - Methods for sampling and testing gelatin (physical and chemical methods). *London: BSI.*
- **Buléon A., Coloma P., Bail P., Bobol H., 1998.** Structure et transition de phase des amidons : Application à la formation. *Ed. INRA.* pp : 2 - 15.
- **Bulut Solak B., Akin N., 2012.** Functionality of whey protein. *International Journal of Health and Nutrition*, 3 (1): 1-7.
- **Caessens, P.W., De Jongh, H.H., Norde, W., Gruppen, H., 1999.** The adsorption-induced secondary structure of beta-casein and of distinct parts of its sequence in relation to foam and emulsion properties. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1430 : 73–83.

Références bibliographiques

- **Caffall K. H., Mohnen D., 2009.** The structure, function and biosynthesis of plant cell wall pectic polysaccharides. *Carbohydrate Research*, 344:1879-1900.
- **Cerning J., 1995.** Production of exopolysaccharides by lactic acid bacteria and dairy propioni bacteria. *Lait*, 75: 463 - 472.
- **Cerning J., Bouillance C., Desmazeaud M.J., 1986.** Isolation and characterisation of exocellular polysaccharides produced by *Lactobacillus bulgaricus*. *Biotechnology Letter Scientific*, 8: 6 - 25.
- **Chan S.Y., Choo W.S., 2013.** Effect of extraction conditions on the yield and chemical properties of pectin from cocoa husks. *Food chemistry*, 141: 3752-3758.
- **Chandan, R.C., O'Rell, K.R., 2006.** Ingredients for yoghurt manufacture and Principles of yoghurt processing, In Manufacturing yoghurt and fermented milk, Blackwell Publishing, Iowa, USA, p.179-210.
- **Cheftel J. C., Lorient D., 1982.** Les propriétés fonctionnelles des protéines laitières et leur amélioration. *Le lait*, 62 : 435- 483.
- **Cheow C.S., Norizah M.S., Kyaw Z.Y., Howell N.K., 2007.** Preparation and characterisation of gelatins from the skins of sin croaker (*Johnius dussumieri*) and shortfin scad (*Decapterus macrosoma*). *Food Chemistry*, 101: 386-391.
- **Cho S. M., Gu Y. S., Kim S. B., 2005.** Extracting optimization and physical properties of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) skin gelatin compared to mammalian gelatins. *Food hydrocolloids*, 19: 221-229.
- **Cho S.M., Kwak K.S., Park D.C., Gu Y.S., Ji C.I., Jang D.H., Lee Y.B., Kim S.B., 2004.** Processing optimization and functional properties of gelatin from shark (*Isurus oxyrinchus*) cartilage. *Food Hydrocolloids*, 18 : 573- 579.
- **Clark, S., Plotka, V.C., 2004.** Yoghurt and sour cream: Operational procedures and processing equipment, In Handbook of food and beverage fermentation technology, Marcel Dekker Inc., New York, USA, p. 159-182.
- **Combo A. M. M., Aguedo M., Paquot M., 2011.** Les oligosaccharides pectiques: production et applications possibles. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* ,15(1) : 153-164.
- **Constenla D., Lozano J. E., 2003.** Kinetic model of pectin demethylation. *Latin American Applied Research*, 33:91-96.
- **Corredig, M., Dalgleish, D.G., 1999.** Effect of temperature and pH on the interactions of whey proteins with casein micelles in skim milk, *Food Research International*, 29: 49-55.
- **Croguennec T., Jeantet R., Brulé G., 2008.** Fondements physicochimique de la technologie laitiers. Edition Technique et Documentation, *Lavoisier*, Paris, p : 99-107.

Références bibliographiques

- **Diaz O, Pereira C. D., Cobos A., 2004.** Functional properties of ovine whey protein concentrates produced by membrane technology after clarification of cheese manufacture by-products. *Food Hydrocolloids*, 18: 601–610.
- **Dimitreli G., Petridis D., Akakiadou P., Chrysalidou S., 2014.** Effect of protein supplementation, fat globules size and storage time on the rheological and sensory properties of buffalo milk stirred yogurt. *Journal of food research*, 3 (5): 31-44.
- **Djabourov M., Leblond J., Papon P., 1988.** Gelation of aqueous gelatin solutions. I. Structural Investigation. *Journal Physics France*, 49: 319-332.
- **Duboc P., Mollet B., 2001.** Application of exopolysaccharides in the dairy industry. *International Dairy Journal*, 11: 759-768.
- **Dupin H., Cuq J.L., Malewiak M.I., Leynaud-Rouaud C., Berthier A.M., 1992.** Alimentation et nutrition humaine. *ESF éditeur, Paris*, p: 862-863.
- **European Parliament and Council Directive 80/107/EEC (1988)** on the approximation of laws of the member States concerning food additives authorized for use in foodstuffs intended for human consumption. Official Journal of the European Communities L 40, 11.2.89: 27-33.
- **Everett D.W., McLeod R.E., 2005.** Interactions of polysaccharides stabilizers with casein aggregates in stirred skim-milk yoghurt. *International Dairy Journal*, 15: 1175-1183.
- **Fernandez-Diaz M.D., Montero P., Gomez-Guillen M.C., 2001.** Gel properties of collagens from skins of cod (*Gadus morhua*) and hake (*Merluccius merluccius*) and their modification by the coenhancers magnesium sulphate, glycerol and transglutaminase. *Food Chemistry*, 74:161-167.
- **Fishman M.L., Chau H.K., Hoagland P., Ayyad K., 2000.** Characterization of pectin, flash-extracted from orange peel by microwave heating, under pressure. *Carbohydrate Research*, 323: 126- 138.
- **Fiszman S.M., Lluch M.A., Salvador A., 1999.** Effect of addition of gelatin on microstructure of acidic milk gels and yoghurt and their rheological properties. *International Dairy Journal*, 9: 895- 901.
- **Folkenberg D.M., Dejmek P., Skriver A., Guldager H.S., Ipsen R., 2006.** Sensory and rheological screening of exopolysaccharide producing strains of bacterial yoghurt cultures. *Inter. Dairy J.*, 16: 111-118.
- **Food Chemical Codex. 1996.** IV monographs. Washington DC: National Academy Press, pp : 283.
- **Fox, 1989.** The milk proteins systems. Dans: developments in dairy chemistry-4, p: 1-53. *New York: Applied science publishers.*
- **Frédot E, 2005.** Connaissance des aliments : bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique. Technique et Documentation, *Lavoisier*, Paris, p : 31-37.

Références bibliographiques

- **Gallen C., Pla J., 2013.** Allergie et intolérance aux additifs alimentaires, *Revue française d'allergologie*, 53 : S9-S18.
- **Gault P., Mahaut M., Korolczuk J., 1990.** Caractérisation rhéologiques et gélification thermique du concentré de protéines de lactosérum. *Lait*, 70: 217-232.
- **Girard M., Lequart C.S., 2007.** Gelation and resistance to shearing of fermented milk: Role of exopolysaccharides. *International Dairy Journal*, 17 : 666- 673.
- **Girma E., Worku T., 2016.** Extraction and characterization of Pectin from Selected Fruit Peel Waste. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 6 (2):447- 454.
- **GME, 2005.** Standard methods for the testing of edible gelatine, *Gelatine Monograph*. Gelatin Manufacturers of Europe.
- **Gómez-Guillén M. C., Turnay J., Fernandez-Diaz M. D., Ulmo N., Lizarbe M. A., Montero P., 2002.** Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: a comparative study. *Food Hydrocolloids*, 16: 25-34.
- **Gómez-Guillén M.C., Giménez B., López-Caballero M.E., Montero P., 2011.** Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. *Food Hydrocolloids*, 25: 1813-1827.
- **Gornall A.G., Bardawill C.J., David M.M., 1948.** Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *Journal of Biological Chemistry*, 177 (2):751-766.
- **Gudmundsson M., Hafsteinsson H., 1997.** Gelatin from cod skins as affected by chemical treatments. *Journal of Food Science*, 62: 37 - 47.
- **Guggisberg D., Ederhard P., Alrecht B., 2007.** Rheological characterization of set yoghurt produced with additives of native whey proteins. *International Dairy Journal*, 1353-1359.
- **Guirguis N., Broome M.C., Hickey M.W., 1984.** The effect of partial replacement of skim milk powder with whey protein concentrate on the viscosity and Syneresis of yoghurt. *Australian Journal of Dairy Technology*, 39: 33-35.
- **Guo X., Han D, Xi H., Rao L., Liao X., Hu X., Wu J., 2012.** Extraction of pectin from navel orange peel assisted by ultra-high pressure, microwave or traditional heating: A comparison. *Carbohydrate polymers*, 88 : 441-448.
- **Gustaw W., 2007.** Effect of addition of whey protein aggregates obtained by single and double heating method on the rheological properties of set yoghurts. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 57 (3): 33-36.
- **Guyot P., 1992.** Les yaourts D.L.G., *Food Technology*, p: 4 – 8 – 10 – 11.
- **Guzel-Seydim Z.B., Sezgin E., Seydim A.C., 2005.** Influences of exopolysaccharides producing cultures on the quality of plain set type yogurt. *Food control*, 16: 205- 209.

Références bibliographiques

- **Hafidz R.H. R. N., Yaakob C. M., Amin I., Noorfaizan A., 2011.** Chemical and functional properties of bovine and porcine skin gelatin. *International Food Research Journal*, 18: 813-817.
- **Halling P. J., 1981.** Protein stabilized foams and emulsions. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 12: 155-203.
- **Huffman L. M., Harper W. J., 1999.** Maximizing the value of milk through separation technologies. *Journal Dairy of Science*, 82 (10): 2238- 2244.
- **Hui Y.H., Meunier-Goddick L., Hasen A.S., Josephsen J., Nip W.K., Stanfield P.S., Toldra F., 2004.** Yogourt and sour cream: operational procedures and processing equipment. Handbook of food and beverage fermentation technology. Edition Marcel Dekker Inc., *New York, USA*, p: 159-182.
- **Hutkins A., Hine J., Mookerjee P.K., 1985.** The intrinsic Hydrophilic character of Organic Compounds. Correlations in terms of Structural Contributions. *Journal of Organic Chemistry*, 40: 292 – 298.
- **Iglesias M.T., Lozano J.E., 2004.** Extraction and characterization of sun flower pectin. *Journal of Food Engineering*, 62: 215-223.
- **International Dairy Federation, 2003.** Yoghurt: Enumeration of characteristic microorganisms –colony count technique at 37°C. IDF Standard No 117 E. Brussels.
- **Ismail N. S. M., Ramli N, Hani N. M., Meon Z., 2012.** Extraction and Characterization of Pectin from Dragon Fruit (*Hylocereus polyrhizus*) using Various Extraction Conditions. *Sains Malaysiana*, 41(1): 41-45.
- **Jambrak A. R., Mason T. J., Lelas V., Herceg Z., Herceg I. L., 2008.** Effect of ultrasound treatment on solubility and foaming properties of whey protein suspensions. *Journal of Food Engineering*, 86 : 281–287.
- **Jeantet R., Croguennec T., Mahaut M., Schuck P., Brule G., 2008.** Les produits laitiers. *Technique et Documentation, Lavoisier, Paris*, p : 1-36.
- **Jensen J.K., Sørensen S. O., Harholt J., Geshi N., Sakuragi Y., Møller I., Zandleven J., Adriana J. Bernal A. J., Jensen N. B., Sørensen C., Pauly M., Beldman G., Willats W.G.T., Henrik Vibe Schellera H. V., 2008.** Identification of a Xylogalacturonan Xylosyltransferase Involved in Pectin Biosynthesis in Arabidopsis. *The Plant Cell*, 20: 1289–1302.
- **Jensen S., Rolin C., Ipsen R., 2010.** Stabilization of acidified skimmed milk with HM-pectin. *Food Hydrocolloids*, 24: 291- 299.
- **Jeya Shakila R. , Jeevithan E., Varatharajakumar A., Jeyasekaran G., Sukumar D., 2012.** Functional characterization of gelatin extracted from bones of red snapper and grouper in comparison with mammalian gelatin. *LWT - Food Science and Technology*, 48: 30 - 36.

Références bibliographiques

- **Jiménez X. T., Cuenca A. A., Jurado A. T., Corona A. A., Urista C. R. M., 2012.** Traditional Methods for Whey Protein Isolation and Concentration: Effects on Nutritional Properties and Biological Activity. *J. Mex. Chem. Soc.* 2012, 56(4), 369-377
- **Jones N. R., 1977.** Uses of gelatin in edible products. In A. G. Ward, & A. Courts (Eds.), *The science and technology of gelatins* (pp. 365 - 394). New York: Academic Press.
- **Jost R., Maire J. C., Maynard F., Secretin M. C., 1999.** Aspect of whey protein usage in infant nutrition : a brief review. *International Journal of Food Science and Technology*, 34 (5-6): 533- 542.
- **Jovanović S., Barać M., Maćej O., 2005.** Whey proteins-Properties and Possibility of Application. *Mljekarstvo*, 55 (3) : 215-233.
- **Jridi M., Nasri R., Ben-salem R., Lassoued I., Barkia A., Nasri M., Souissi N., 2015.** Chemical and biophysical properties of gelatin extracted from the skin of octopus (*Octopus vulgaris*). *Food Science and Technology*, 60: 881-889.
- **Jridi M., Nasri R., Lassoued I., Souissi N., Mbarek A., Barkia A., 2013.** Chemical and biophysical properties of gelatins extracted from alkalipretreated skin of cuttlefish (*Sepia officinalis*) using pepsin. *Food Research International*, 54: 1680 - 1687.
- **Kaewruang P, Benjakul S., Prodpran T., Nalinanon S., 2013.** Physicochemical and functional properties of gelatin from the skin of unicorn leatherjacket (*Aluterus monoceros*) as affected by extraction conditions. *Food Bioscience*, 2: 1-9.
- **Kalpathy U., Proctor A., 2001.** Effect of acid extraction and alcohol precipitation conditions on the yield and purity of soy hull pectin. *Food chemistry*, 73: 393- 396.
- **Kanmani P., Dhivya E., Aravind J., Kumaresan K., 2014.** Extraction and Analysis of Pectin from Citrus Peels: Augmenting the Yield from *Citrus limon* Using Statistical Experimental Design. *Iranica Journal of Energy and Environment*, 5 (3): 303-312.
- **Kar F., Arslan N., 1999.** Effect of temperature and concentration on viscosity of orange peel pectin solutions and intrinsic viscosity-molecular weight relationship. *Carbohydrate Polymers*, 40: 277-284.
- **Karim A. A., Bhat R., 2008.** Gelatin alternatives for food industry: recent developments, challenges and prospects. *Trends in food science and technology*, 19:644-656.
- **Karim A.A., Bhat R., 2009.** Review fish gelatin: properties, challenges, and prospects as an alternative to mammalian gelatins. *Food hydrocolloids*. 23, 563-576.
- **Keogh, M.K., O’Kennedy, B.T., 1998.** Rheology of stirred yogurt as affected by added milk fat, protein, and hydrocolloids, *Journal of Food Science*, 63 (1): 108-112.

Références bibliographiques

- **Khiari Z., Rico D., Martin-Diana A.B., Barry-Ryan C., 2013.** Comparison between gelatines extracted from mackerel and blue whiting bones after different pre-treatments. *Food Chemistry*, 139: 347 - 354.
- **Kiani H., Mousavi M.E., Razavi H., Morris E.R., 2010.** Effect of gellan, alone and in combination with high-methoxy pectin, on the structure and stability of doogh, a yogurt-based Iranian drink. *Food hydrocolloids*, 24: 744- 754.
- **Kim S.H., Morr C. V., SeoA., Surak J. G. ,1989.** Effect of whey pretreatment on composition and functional properties of whey protein concentrate. *Journal of Food Science*, 54 : 25- 29.
- **Kim S.K., Jeon Y.J., Lee B.J., Lee C.K., 1996.**Purification and characterization of the gelatin from the bone of cod (*Gadus macrocephalus*). *Korean Journal of Life Science*, 6: 14-26.
- **Kinsella J. E., 1976.** Functional properties of proteins in foods: a survey. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 7: 219 - 280.
- **Kittiphattanabawon P., Benjakul S., Visessanguan W., Nagai T., Tanaka M., 2005.** Characterisation of acid-soluble collagen from skin and bone of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*). *Food Chemistry*, 89: 363 - 372.
- **Klompong V, Benjakul S, Kantachote D, Shahidi F, 2007.** Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevally (*Selaroides leptolepis*) as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. *Food Chemistry*, 102:1317–1327.
- **Koli J.M., Basua S., Nayaka B., Patangeb S.B., Pagarkarb A.U., Gudipati V., 2012.**Functional characteristics of gelatin extracted from skin and bone of Tiger-toothed croaker (*Otolithes ruber*) and Pink perch (*Nemipterus japonicus*). *Food and Bioproducts Processing* 90: 555-562.
- **Kratchanova M., Pavlova E., Panchev I., 2004.**The effect of microwave heating of freshorange peels on the fruit tissue and quality of extracted pectin. *Carbohydrate Polymers*,56, 181-185.
- **Kravatchenko T., Voragen A., Pilnik W., 1992.** Analytical Comparison Of Three Industrial Pectin Preparations. *Carbohydrate Polymers*, 18: 17-25.
- **Ktari N., Jridi M., Nasri R., Lassoued I., Ben Ayed H., Barkia A., Nasri M., 2014.** Characteristics and functional properties of gelatin from zebra blenny (*Salaria basilisca*) skin. *LWT - Food Science and Technology*, 58: 602 - 608.
- **Kumar P., Mishra H.N., 2004.** Mango soy fortified set yoghurt: effect of stabilizer addition on physicochemical, sensory and textural properties. *Food chemistry*, 87: 501- 507.
- **Lamontagne, M., 2002.** Produits laitiers fermentés, Dans : Science et technologie du lait, *Édition des Presses internationales Polytechnique*, Canada, p. 443-468.

Références bibliographiques

- **Lassoued I., Jridi M., Nasri R., Dammak A., Hajji M., Nasri M., Barkia A., 2014.** Characteristics and functional properties of gelatin from thornback ray skin obtained by pepsin-aided process in comparison with commercial halal bovine gelatin. *Food Hydrocolloids*, 41: 309 - 318.
- **Laurant M.A., Boulanguer P., 2003.** Stabilization mechanism of acid dairy drinks (ADD) induced by pectin. *Food Hydrocolloids*, 17: 445 - 454.
- **Lee K., Park H.Y., Kim Y.K., Park J.I., Yoon H.G., 2009.** Biochemical Characterization of Collagen from the Starfish *Asterias amurensis*. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 52(3): 221-226.
- **Lee W.J., Lucey J.A., 2010.** Formation and physical properties of yogurt. *Asian. Aust. J. Anim. Sci.*, 23 (9): 1127-1136.
- **Leroy F., Devuyst L., 2004.** Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Food Science and Technology*, 15 : 67- 78.
- **Lira-Ortiz A. L., Reséndiz-Vega F., Ríos-Leal E., Contreras-Esquivel J. C. , Chavarría-Hernández N., Vargas-Torres A. , Rodríguez-Hernández A. I., 2014.** Pectins from waste of prickly pear fruits (*Opuntia albicarpa* Scheinvar 'Reyna'): Chemical and rheological properties. *Foodhydrocolloids*, 37: 93-99.
- **Liu L., Cao J., Huang J., Cai Y., Yao J., 2010.** Extraction of pectins with different degrees of esterification from mulberry branch bark. *Bioresource Technology*, 101 : 3268–3273.
- **Lobo L., 2002.** Coalescence during emulsification. 3. Effect og gelatin on rupture and coalescence. *Journal of Colloid and Interface Science*, 245: 165-174.
- **Lorient D., Cheftel J.C., Luquet J.L., 1985.** Propriétés alimentaires, Biochimie, Propriétés Fonctionnelles, Valeurs Nutritionnelles, Modifications Chimiques. *Ed. Lavoisier, Technique & Documentation*, pp : 39 – 53.
- **Lorient D., Closs B., Caurthaudan L. V., 1991.** Connaissances nouvelles sur les propriétés fonctionnelles des protéines du lait et des dérivés. *Lait*, 71:141-171
- **Loveday S.M., Sarkar A., Sing H., 2013.** Innovative yoghurts: Novel processing technologies for improving acid milk gel texture. *Food Science and Technology*, 33: 5- 20.
- **Lucey, J.A., 2001.** The relationship between rheological parameters and whey separation in milk gels, *Food hydrocolloids*, 15: 603-608.
- **Lucey, J.A., 2002.** Formation and physical properties of milk protein gels, *Journal of Dairy Science*, 85: 281-294.
- **Lucey, J.A., Munro, P. A., Singh H., 1998.** Whey separation in acid skim milk gels made with glucono- δ -lactone: Effects of heat treatment and gelation temperature, *Journal of Texture Studies*, 29: 413-426.

Références bibliographiques

- **Lucey J. A., Singh H., 1998.** Formation and physical properties of acid milk gels: a review. *Food Research International*, 30 (7): 529- 542.
- **Lung C., Pâquet D., Linden G., 1991.**Traitements de dénaturation appliqués à la β -lactoglobuline avant hydrolyse trypsique. *Lait*, 71 : 385- 394.
- **Luquet F.M.,1990.** Lait et produits laitiers : Vache – Brebis – Chèvre. *Techniques et Documentation, Lavoisier, Paris.*
- **MacDonald I., 1979.** Polysaccharides and Health. *In: Polysaccharides in Food*, Blanchard J.M.V., Mitchell J.R. (Eds), *Butterworths*, London, UK, Chapitre 21, pp. 331-336.
- **Madhav A, Pushpalatha P. B., 2002.** Characterization of pectin extracted from different fruit wastes. *Journal of Tropical Agriculture*, 40: 53-55.
- **Mahaut M., Jeantet R., Brulé G., Schuck P., 2000.** Les produits industriels laitiers. *Tec. et Doc., Lavoisier, Paris*, p : 26-40.
- **Manderson K. et al., 2005.***In vitro* determination of the prebiotic properties of oligosaccharides derived from an orange juice manufacture by-product stream. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71(12): 8383-8389.
- **Mao L., Bioteux L., Roos Y.H., Miao S., 2014.** Evaluation of volatile characteristics in whey protein isolate-pectin mixed layer emulsion under different environmental conditions. *Food Hydrocolloids*, 41: 79-85.
- **Marafon A.P., Sumi A., Alcântara M.R., Tamime A.Y., 2011.** Optimization of the rheological properties of probiotic yoghurt supplemented with milk proteins. *LWT Food Science and Technology*, 44: 511-519.
- **Maran J.P., Sivakumar V., Thirugnanasambandham K, Sridhar R., 2013.** Optimization of microwave assisted extraction of pectin from orange peel. *Carbohydrate polymers*, 97 (2): 703-709.
- **Mariod A. A., Adam H. F., 2013.**Review: gelatin, source, extraction and industrial application. *Acta Scientiarum Polonorum, Technol. Aliment.*, 12(2) : 135-147.
- **Mariod A.A., Abdel-Wahab S.I., Ibrahim M.Y., Mohan S., Abd Elgadir M., Ain N.M., 2011 .** Preparation and characterisation of gelatin from two Sudanese edible insects. *Journal Food Science and Engineering*, 1 : 45-55.
- **Maroziene A., Kruif C.G., 2000.** Interaction of pectin and casein micelles. *Food hydrocolloids*, 14: 391- 394.
- **Matumoto-Pintro P.T., Rabiey L., Robitaille G., Britten M., 2011.** Use of modified whey protein in yoghurt formulations. *International Dairy Journal*, 21 (1): 21-26.
- **Maubois J. L., Brulle G., 1982.** Utilisation des techniques à membrane pour la séparation, la purification et la fragmentation des protéines lactières. *Le Lait* ,62 : 484-510

Références bibliographiques

- **Mehmood S. T., Masud T., Mahmood T., Maqsood S., 2008.** Effect of Different Additives from Local Source on the Quality of Yoghurt. *Pakistan Journal of Nutrition*, 7 (5): 695-699.
- **Mesbahi G., Jamalain J., Farahnaky A., 2005.** A Comparative Study on Functional Properties of Beet and Citrus Pectins in Food Systems. *Food Hydrocolloids*, Vol.,19 (4): 731-738.
- **Mohamadzaheh J., Sadeghi-mahoonak A.R., Yaghbani M., Aalami M., 2010.** Extraction of pectine from sunflower head residues of selected Iranian cultivars. *World Applied Sciences Journal*, 8 (1): 21-24.
- **Mohamed H. A., Mohamed B. E., 2015.** Fractionation and Physicochemical Properties of Pectic Substances Extracted from Grapefruit Peels. *Journal of Food Process Technology*,6: 1 - 6.
- **Mohnen D., 2008.** Pectin structure and biosynthesis. *Current Opinion in Plant Biology*, 11:266 - 277.
- **Moll M. et Moll N., 1998.** Additifs alimentaires et auxiliaires technologiques. *Dunod*, Paris.
- **Morr C.V., German B., Kinsella J.E., Regenstein J.M., Van Buren J.P., Kilara A., Lewis B. A., Mangino M.E., 1985.** A collaborative study to develop a standardized food protein solubility procedure. *Journal of Food Science*, 50: 1715-1718.
- **Muller A., Chaufer B., Merin U., Daufin G., 2003.** Pre-purification of α -lactalbumin with ultrafiltration ceramic membranes from acid casein whey : study of operating conditions. *Lait*, 83: 111-129.
- **Muyonga J.H., Cole C.G.B., Duodu K.G., 2004.** Characterisation of acid soluble collagen from skins of young and adult Nile perch (*Lates niloticus*). *Food Chemistry*, 85: 81–89.
- **Nagarajan M., Benjakul S., Prodpran T., Songtipya P., Kishimura H., 2012.** Characteristics and functional properties of gelatin from splendid squid (*Loligo formosana*) skin as affected by extraction temperatures. *Food Hydrocolloids*, 29: 389-397.
- **Oberg T. et Obata T. (1991).** A Model For The Assembly Of Bovine Casein Micelles From F2 And F3 Subunits. *Journal of Dairy Research*, 56: 453 – 461.
- **Ofri R. A., 1999.** Preparation of gelatin from fish skin by an enzyme aided process. Msc. Thesis, McGill university, Montreal, Canada, p: 5-14.
- **Olano-Martin E., Gibson G.R., Rastall R.A., 2002.** Comparison of the in vitro bifidogenic properties of pectins and pectic-oligosaccharides. *Journal of Applied Microbiology*, 93: 505–511.

Références bibliographiques

- **Olijve J., Mori F., Toda Y., 2001.** Influence of the Molecular-Weight Distribution of Gelatin on Emulsion Stability. *Journal of Colloid and Interface Science*, 243 : 476– 482.
- **Oliveira M.N., Sodini I., Remeuf F., Corrieu G., 2001.**Effect of milk supplementation and culture composition on acidification, textural properties and microbiological stability of fermented milks containing probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, 11: 935-942.
- **Owens H.S., McCready R.M., Shepard A.D., Schultz T.H., Phippen E.L., Swenson H.A., Miers J.C., Erlandsen R.F. , Maclay, W.D., 1952.**Methods used at Western Regional Research Laboratory for Extraction of Pectic Materials. pp. 9. USDA Bur. Agric. Ind. Chem.
- **Pang Z., Deeth H., Prakash S., Bansal N., 2016.** Development of rheological and sensory properties of combinations of milk proteins and gelling polysaccharides as potential gelation replacements in the manufacture of stirred acid milk gels and yogurt. *Journal of Food Engineering*, 169: 27-37.
- **Pang Z., Deeth H., Sharma R., Bansal N., 2015.** Effect of addition of gelatin on the rheological and microstructural properties of acid milk protein gels. *Food Hydrocolloids*, 43: 340- 351.
- **Patel P. D., Stripp A. M., Fry J. C. , 1988.** Whipping test for the determination of foaming capacity of protein: a collaborative study. *International Journal of Food Science and Technology*, 23, 57- 63.
- **Pearce K.N., Kinsella J.E., 1978.** Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26 (3):716-723.
- **Pearce R. J., 1983.** Thermal separation of beta-lactoglobulin and alpha-lactalbumin in bovine cheddar cheese whey. *Australian Journal of Dairy Technology*, 38: 144-148.
- **Peng Y., Serra M., Horn D.S., Lucey J.A., 2009.** Effect of fortification with various types of milk protein on the rheological properties and permeability of nonfat set yogurt. *Journal of Food Science*, 74 (9): C666 - C673.
- **Pierre A. , Fauquant J., 1986.** Principes pour un procédé industriel de fractionnement des protéines du lactosérum. *Le Lait*, 66 (4) : 405- 419.
- **Pinheiro E. R., Silva I.M.D.A., Gonzaga L. V., Amante E. R., Teófilo R. F., Ferreira M. M. C., Amboni R. D.M.C., 2008.**Optimization of extraction of high-ester pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis flavicarpa*) with citric acid by using response surface methodology. *Bioresource Technology*, 99 : 5561–5566.
- **Ramli N , Asmawati, 2011.** Effect of ammonium oxalate and acetic acid at several extraction time and pH on some physicochemical properties of pectin from cocoa husks (*Theobroma cacao*). *African Journal of Food Science*, 5(15): 790-798.

Références bibliographiques

- **Ranganna S., 1977.** Manual of analysis of fruit and vegetable products. McGraw Hill, New Delhi.
- **Rawson H.L., Marshall M., 1997.** Maitrise des qualités rhéologiques des yaourts. *Lettres Scientifiques et techniques de TEXEL* N° 1. P : 4.
- **Rbii K., 2010.** Formation d'agrégats de hauts poids moléculaires dans la gélatine et comportement en solution aqueuse : pathologie, toxicologie, génétique et nutrition. Thèse de doctorat de l'université de Toulouse. P : 32.
- **Rezzoug S.A., Maache-Rezzoug Z., Sannier F., Allaf K., 2008.** A thermo mechanical preprocessing for pectin extraction from peel. Optimization by response surface methodology. *International Journal of Food Engineering*, Vol 4 (1), Article 10.
- **Ridley B. L., O'Neill M. A., Mohnen D., 2001.** Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related Signaling. *Phytochemistry*, 57: 929–967.
- **Rinn J. C., Morr C. V., Seo A., Surak J. G., 1990.** Evaluation of nine semi-scale whey pre-treatment modifications for producing whey protein concentrate. *Journal of Food Science*, 55(2), 511–515.
- **Rouse A.H., 1977.** Pectin: distribution, significance. Dans Nagy SP, Shaw E, Veldhuis MK (eds). Citrus Science and Technol. (1). TheAVI Publishing Company Inc.
- **Sahan N., Yasar K., Hayaloglu A.A., 2008.** Physical, chemical and flavour quality of non-fat yogurt as affected by a β -glucan hydro colloidal composite during storage. *Food hydrocolloids*, 22 : 1291- 1297.
- **Salaün F., Mietton B., Caucheron F., 2005.** Buffering capacity of dairy products. *International Dairy Journal*, 15: 95-109.
- **Sandoval-Castilla O., Lobato-Calleros C., Aguirre-Mandujano E., Vernon-Carter E.J., 2004.** Microstructure and texture of yogurt as influenced by fat replacers, *International Dairy Journal*, 14: 151-159.
- **Sanmartin B., Diaz O., Rodríguez-Turienzo L., Cobos A., 2012.** Composition of caprine whey protein concentrates produced by membrane technology after clarification of cheese whey. *Small Ruminant Research*, 105 : 186 -192.
- **Sanmartin B., Diaz O., Rodríguez-Turienzo L., Cobos A., 2013.** Functional properties of caprine whey protein concentrates obtained from clarified cheese whey. *Small Ruminant Research*, 110 : 52 -56.
- **Sava, N., Van der Plancken, I., Claeys, W., Hendrickx, M., 2005.** The kinetics of heat-induced structural changes of β -lactoglobulin. *Journal of Dairy Science*, 88: 1646-1653.
- **Schrieber R., Gareis H., 2007.** Gelatin handbook: theory and industrial practice. Wiley Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, p 45-66.

Références bibliographiques

- **Schröder R., Clark C.J., Sharrock K., Hallett I.C., MacRae E.A., 2004.** Pectins from the albedo of immature lemon fruitlets have high water binding capacity. *Journal Plant Physiology*, 161: 371-379.
- **Schuck P., Bouhallab S., Durupt D., Vareille P., Humbert J. P., Marin M., 2004.** Séchage des lactosérums et dérivés : rôle du lactose et de la dynamique de l'eau. *Lait*, 84 : 243-268.
- **Shah, N., 2003.** Yoghurt: The product and its manufacture, In *Encyclopaedia of food science and nutrition*, Academic Press Elsevier Science Ltd., Volume 10, Second Edition, Kidlington, Oxford, UK, p. 6252-6258.
- **Shaha R.K., Punichelvana Y. N. A.P., Afandi A., 2013.** Optimized Extraction Condition and Characterization of Pectin from Kaffir Lime (*Citrus hystrix*). *Research Journal of Agriculture and Forestry Sciences*, Vol. 1(2): 1-11.
- **Shyni K., Hema G.S., Ninan G., Mathew S., Joshy C.G., Lakshmanan P.T., 2014.** Isolation and characterization of gelatin from the skins of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*), dog shark (*Scoliodon sorrakowah*), and rohu (*Labeo rohita*). *Food Hydrocolloids*, 39: 68 - 76.
- **Singh P., Benjakul S., Maqsood S., Kishimura H., 2011.** Isolation and characterisation of collagen extracted from the skin of striped *catfish* (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Food Chemistry*, 124: 97–105.
- **Sodini I., Remeuf F., Haddad S., Corrieu G., 2004.** The relative effect of milk base starter and process on yoghurt texture: a review. *Food Science and Nutrition*, 44: 113-137.
- **Sokolinska D.C., Mchalski M.M., Pikul J., 2004.** Role of the proportion of yoghurt bacterial strains in milk souring and the formation of curd qualitative characteristics. *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, 48 : 437- 441.
- **Soukoulis C., Panagiotidis P., Koureli R., Tzia C., 2007.** Industrial Yogurt Manufacture: Monitoring of Fermentation Process and Improvement of Final Product Quality. *Journal of Dairy Science*, Vol. 90 (6): 2641–2654.
- **Srivastava P., Malviya R., 2011.** Source of pectin, extraction and its application in pharmaceutical industry: a review. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 2 (1): 10-18.
- **Supavitpatana P., Wirjantoro T.I., Apichartsrangkoon A., Raviyan P., 2008.** Addition of gelatin enhanced o corn-milk yoghurt. *Food chemistry*, 106 : 211-216.
- **Surh J., Decker E. A., McClements J., 2006.** Properties and stability of oil-in-water emulsion stabilized by fish gelatin. *Food Hydrocolloids*, 20: 596-606.
- **Svanborg S., Johansen A. G., Abrahamsen R. K., Schüller R. B., Skeie S. B., 2016.** Caseinomacropptide influences the functional properties of a whey protein concentrate. *International Dairy Journal* , 60 :14 - 23

Références bibliographiques

- **Tamime A.Y., Robinson R.K., 1999.** Yogurt science and technology. 2nd Ed., England, Woodhead Publishing Limited.
- **Tang P. Y., Wong C. J., Woo K. K., 2011.** Optimization of pectin extraction from peel of dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*). *Asian Journal of Biological Sciences*, 4 (2) : 189 - 195.
- **Thomas A. et Pritchard G., 1987.** Microstructure Of Set-Style Yoghurt Manufactured From Cow's Milk Fortified By Various Methods. *Food Microstructure*, 3: 83 - 92.
- **Tuinier R., Rolin C., Kruif C.G., 2002.** Electrosorption of pectin onto casein micelles. *Bio macromolecules*, 3: 632- 638.
- **Van Vliet, T., van Dijk, H.J.M., Zoon, P., Walstra, P., 1991.** Relation between syneresis and rheological properties of particle gels. *Colloid & Polymer Science*, 269: 620-627.
- **Vardhanabhuti B., Foegeding E. A. , McGuffey M. K., Daubert C. R., Swaisgood H. E., 2001.** Gelation properties of dispersions containing polymerized and native whey protein isolate. *Food Hydrocolloids*, 15: 165- 175.
- **Vasbinder, A.J., de Kruif, C.G., 2003.** Casein-whey protein interactions in heated milk: the influence of pH. *International Dairy Journal*, 13:669-677.
- **Veeruraj A., Arumugam M., Balasubramanian T., 2013.** Isolation and characterization of thermostable collagen from the marine eel-fish (*Evenchelys macrura*). *Process Biochemistry*, 48: 1592-1602.
- **Vignola C.L., Foisy L., Ratel D., Lapris E., 2002.** Science et technologie du lait : transformation du lait. *Presses Inter. Polytechnique*, pp : 443-511.
- **Vilain A.C., 2010.** Qu'est-ce que le lait. *Revue française d'allergologie*, 50: 124-127.
- **Vojdani F., 1996.** Solubility. In G. M. Hall (Ed.), *Methods of testing protein functionality* (pp. 11–60). Great Britain: St. Edmundsbury Press.
- **Walstra P., 2003.** *Physical Chemistry of Foods*. Marcel Dekker, New York.
- **Wang S., Chen F., Wu J., Wang Z., Liao X., Hu X., 2007.** Optimization of pectin extraction assisted by microwave from apple pomace using response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, 78: 693-700.
- **Wicker L., Kim Y., Kim M. J., Thirkield B., Lin Z., Jung J., 2014.** Pectin as a bioactive polysaccharide extracting tailored function from less. *Food Hydrocolloids*, 1-9.
- **Willats W.G. T., Knox J. P., Mikkelsen J. D., 2006.** Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. *Trends in Food Science & Technology*, 17: 97–104.

Références bibliographiques

- **Willats W.G.T., Mc Cartney L., Mackie W., Knox J.P., 2001.** Pectin: Cell Biology and Prospects For Functional Analysis. *Plant Molecular Biology*, 47: 9-27.
- **Yadav J. S. S., Yan S., Pilli S., Kumer L., Tyagi R. D., Surampalli R. Y., 2015.** Cheese whey: A potential resource to transform into bioprotein, functional/nutritional proteins and bioactive peptides. *Biotechnology Advances*, 33: 756- 774.
- **Yang T., Wu K., Wang F., Liang X., Liu Q., Li G., Li Q., 2014.**Effect of exopolysaccharides from lactic acid bacteria on the texture and microstructure of buffalo yoghurt. *International Dairy Journal*, 34: 252-256.
- **Yapo B. M., 2009.** Pectin Quantity, Composition, and Physicochemical Behavior as Influenced by the Purification Process. *Food Research International*, 42: 1197 - 1202.
- **Yildiz F., 2010.** Development and manufacture of yogurt and other functional dairy products. Taylor and Francis. CRC Press, FL. USA, 435pages.
- **Zanelle K., Taranto O.P., 2015.**Influence of the drying operating conditions on the chemical characteristics of citric acid extracted pectins from pera sweet orange (*Citrus Sinensis* L. Osbeck) albedo and flavedo. *Journal of Food Engineering*, 166 : 111-118.
- **Zare F., Boye J.I., Orsat V., Champagne C., Simpson B.K., 2011.**Microbial, physical and sensory properties of yogurt supplemented with lentil flour. *Food Research International*, 44: 2482-2488.
- **Zayas J. F., 1997.** Functionality of proteins in food. Berlin: Springer-Verlag.
- **Zhang T., Zhang Z, Yan H., Li D., Yang Z , Guo M., 2012.**Effects of stabilizers and exopolysaccharides on physicochemical properties of fermented skim milk by *Streptococcus thermophilus* ST1. *African Journal of Biotechnology*, 11(22) : 6123-6130.
- **Zourari A., Accolas J.P., Desmazeaud M.J., 1992.** Metabolism and biochemical characteristics of yogurt bacteria: A review. *Lait*, 72: 1-34.

Références bibliographiques

Annexe 01 : la fiche de dégustation
Université Abdelhamid Ibn Badis
Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département d'agronomie

Fiche technique d'évaluation de la qualité organoleptique d'un yaourt étuvé

-Panéliste N°:.....-Sexe : Féminin Masculin
 -Age :.....-Fonction..... - Date

| N° de lots Critères | Lot 01 | Lot 02 | Lot 03 | Lot 04 |
|---------------------------------|--------|--------|--------|--------|
| Acidité | | | | |
| Cohésivité | | | | |
| Adhésivité | | | | |
| Arrière-goût | | | | |
| Exsudation de lactosérum | | | | |
| Odeur | | | | |

Echelle de notation :

Le jury doit évaluer chaque critère en affectant les notes suivantes :

1 à 3 : Mauvais

4 à 6 : Bon

7 à 8 : Très bon

9 à 10 : Excellent

Définition :

Acidité :le dégustateur est appelé à évaluer le goût de yaourt qui s'offre à lui en tenant compte de son acidité.

Cohésivité :traduit la capacité maximale de déformation de l'échantillon en pot avant de se rompre et ceci lorsqu'il est écrasé entre les doigts de la main.

Adhésivité : exprime la force nécessaire pour vaincre les forces de liaisons inter-faciales entre le coagulum et la cuillère lors d'une prise d'échantillon à déguster.

Arrière-goût : consiste à évaluer la sensation gustative (par les papilles de la langue) de l'arrière-gout du produit mis en bouche.

Exsudation de lactosérum : le paneliste évalue la quantité de liquide à la surface des échantillons.

Odeur : le paneliste est appelé a décelé l'existence ou pas de sensations de mauvaises odeurs émanant du produits dégustés.

Annexe 02 : Composition des milieux de culture

La composition des milieux de culture est donnée en grammes pour un litre de milieu de culture.

1. 1. M17 bouillon (= bouillon de Terzaghi)

| Composition | Quantité |
|------------------------------|----------|
| Peptone de soja | 5g |
| Peptone de viande | 2,5g |
| Peptone de caséine | 2,5g |
| Extrait de viande | 5g |
| Extrait de levure | 2,5g |
| Lactose | 5g |
| Acide ascorbique | 0,5g |
| Glycérol phosphate de sodium | 19g |
| Sulfate de magnésium | 0,25g |

pH= 7,2. Stériliser 15 minutes à 121°C.

1.5. MRS bouillon (=Man, Rogosa et Sharpe)

| Composition | Quantité |
|-------------------------|----------|
| Peptone | 10g |
| Extrait de viande | 10g |
| Extrait de levure | 5g |
| Glucose | 20g |
| Tween 80 | 1ml |
| Phosphate di potassique | 2g |
| Acétate de sodium | 5g |
| Citrate d'ammonium | 2g |
| Sulfate de magnésium | 200mg |
| Sulfate de manganèse | 50mg |

pH= 5.4. Répartir. Stériliser 15 minutes à 121 °C.

Annexe 03 : Détermination de la teneur en protéines par la méthode de Biuret

1. Réactif de Gornall

| | |
|---|------|
| Sulfate de cuivre hydraté à 5 H ₂ O..... | 1.5g |
| Tartrate double de sodium et potassium..... | 6g |
| Hydroxyde de sodium..... | 30g |
| Iodure de potassium..... | 1g |
| Eau distillée..... | 1l |

2. Méthode

a. Gamme d'étalon

A partir de la solution sérum albumine bovine (BSA), des dilutions sont préparées suivant le tableau ci-dessous :

| | | | | | | |
|--------------------------|----|---|---|---|---|---|
| N° | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Solution étalon (10g/ml) | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Eau physiologique | 10 | 9 | 8 | 7 | 6 | 5 |

| | | | | | | |
|--------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| N° | 0' | 1' | 2' | 3' | 4' | 5' |
| Dilution (ml) | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 |
| Réactifs de Gornall (ml) | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| Masse de protéines (g) | 0 | 0.2 | 0.4 | 0.6 | 0.8 | 1 |
| Attente à l'obscurité | 30min | 30min | 30min | 30min | 30min | 30min |
| A ₅₄₀ | | | | | | |