

Université Abdelhamid Ibn  
Badis-Mostaganem  
Faculté des Sciences de la  
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس  
مستغانم  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

N°...../SNV/2016

## MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par :

**FATMI MOHAMED**

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN BIOLOGIE**

**Spécialité: VALORISATION DES SUBSTANCES NATURELLES VÉGÉTALES**

### THÈME

**Effet d'incorporation de la farine de caroube sur les paramètres organoleptiques, physico-chimiques et microbiologiques d'un lait fermenté type yaourt**

Soutenu publiquement le :

**Devant les membres de jury composé de :**

<b>Président :</b>	M. GHLAMALLAH Amine	Maître de Conférences B, Université de Mostaganem.
<b>Examineur :</b>	M. AÏT SAADA Djamel	Maître de Conférences B, Université de Mostaganem
<b>Encadreur :</b>	M. BENAKRICHE B M	Professeur, Université de Mostaganem

*Thème réalisé au Laboratoire de microbiologie N°01 de la Faculté SNV, Université de Mostaganem*

*Année universitaire : 2015/2016*

## Résumé :

Dans ce travail, nous sommes intéressés à l'étude de l'utilisation de la farine de caroube dans la fabrication des laits fermentés (type yaourt) pour but de diversifier les produits laitiers et plus précisément crée d'autre type de yaourt, qui peut répondre aux exigence du marché. En vue d'étudier l'effet de la farine de caroube (avec différent taux 0,5%, 1% et 1,5%) sur les qualités physico-chimiques, microbiologiques et organoleptiques au cours de la période de post-acidification.

Généralement, au cours de toute la période de post-acidification la qualité des laits fermentés expérimentaux et varie selon le taux d'incorporation de la farine de caroube.

Cependant les meilleurs résultats obtenus par rapport au témoin (lot 0%) sont enregistrés dans le lait fermenté à 1% de farine de caroube qui soit les résultats moyennes suivantes : pH= 4,38, acidité Dornic 52D° et viscosité 7,83 m/s contre pH=4,34, acidité Dornic 55D° et 10,52 m/s en terme de viscosité pour le témoin. les résultats microbiologiques montrent un développement marqués des souches *Lactobacillus bulgaricus* par rapport au *Streptococcus thermophilus* durant cette période.

On ce qui concerne l'évaluation des caractéristiques organoleptiques le gout été généralement acceptable.

Mots clés : lait fermenté, farine de caroube, post-acidification, pH, acidité Dornic, viscosité, *L. bulgaricus*, *S. thermophilus*, organoleptique.

---

## Abstract:

In this work, we are interested in studying the use of carob flour in the production of fermented milk (yoghurt type) aims to diversify dairy and specifically creates another type of yogurt, which can meet the market requirement. In order to study the effect of carob flour (with different rate 0.5%, 1% and 1.5%) on physico-chemical properties, microbiological and organoleptic during the post-acidification period.

Generally, during all the post-acidification period the quality of experimental fermented milks and varies the rate of incorporation of the carob flour.

However the best results compared to the control (lot 0%) are recorded in fermented milk to 1% carob flour, which is the following average results: pH = 4.38, acidity and viscosity Dornic 52D ° 7.83 m / s against pH = 4.34, acidity Dornic 55D ° and 10.52 m / s in terms of viscosity for the witness. microbiological results show a marked development of strains *Lactobacillus bulgaricus* compared with *Streptococcus thermophilus* during this period.

It regards the evaluation of the organoleptic characteristics taste was generally acceptable.

Keywords: fermented milk, carob flour, post-acidification, PH, Dornic acidity, viscosity, *L. bulgaricus*, *S. thermophilus*, organoleptic.



# ***Remerciement***

*J'adresse en premier lieu mon reconnaissance à notre*

*DIEU le tout puissant, de m'avoir permis d'en*

*arriver là, car sans lui rien n'est possible.*

*J'adresse mon reconnaissance, mon gratitude à mon*

*professeur encadrant Mr **Bennakrich ben Mhel**, de m'avoir*

*fait bénéficier de son compétences, son qualités*

*humaines et son disponibilité.*

*Je n'oubli pas de dire un grand merci à toutes les*

*personnes, tous les professionnels, qui ont contribués de*

*près ou de loin à l'enrichissement de mon formation et*

*à mon épanouissement intellectuel*

# *Dédicace*

*Tout d'abord louange au mon dieu*

*Je dédié ce modeste travail :*

*A mon cher père, celui qui m'indiqué la bonne voie en me rappelant que la  
volonté est la clé de toute réussite.*

*A mon très mère, mes frères, mes sœurs pour son aide dans notre travail*

*A tous mes enseignants qui ont été le guide de mon formation*

*Et à tous mes collègues*

## *Liste des tableaux :*

<b>Tableau 01:</b> Composition moyenne de la pulpe de caroube.....	7
<b>Tableau 02 :</b> Superficie occupée par le caroubier .....	12
<b>Tableau 03 :</b> Production de caroubes dans le monde et pour le bassin méditerranéen de 2000 à 2008.....	12
<b>Tableau 04:</b> principaux défauts de goût (A), de texture (B) et d'apparence (C) rencontrés dans la fabrication du yaourt.....	32/33/34
<b>Tableau 06:</b> les diverses origines des additifs et les techniques de leurs obtentions.....	42
<b>Tableau 07 :</b> les additifs alimentaires.....	43
<b>Tableau 08:</b> Evolution moyenne du <b>pH</b> de lait fermenté additionné par farine de caroube au cours de la période de post acidification.....	50
<b>Tableau 09:</b> Evolution moyenne de l' <b>acidité Dornic</b> de lait fermenté additionné par farine de caroube au cours de la période de post acidification.....	52
<b>Tableau 10 :</b> Evolution moyenne de la <b>viscosité</b> de lait fermenté additionné par farine de caroube au cours de la période de post acidification.....	53
<b>Tableau 11:</b> Evolution du nombre moyenne des germes <i>S. thermophilus</i> dans le lait fermenté additionné par farine de caroube au cours de la période de post acidification (nombre :UFC).....	54
<b>Tableau 12:</b> Evolution du nombre moyenne des germes <i>L. bulgaricus</i> dans le lait fermenté additionné par farine de caroube au cours de la période de post acidification (nombre :UFC).....	55
<b>Tableau 13 :</b> Evolution du critère goût acide de lait fermenté expérimentale au cours de la période de post acidification (somme des rangs).....	56
<b>Tableau 14 :</b> Evolution du critère de la cohésivité de lait fermenté expérimentale au cours de la période de post acidification (somme des rangs).....	56
<b>Tableau 15:</b> Evolution du critère d'adhésivité de lait fermenté expérimentale au cours de la période de post acidification (somme des rangs). ....	57

## Listes des figures :

<b>Figure 1.</b> Illustration des feuilles de caroubier, de la caroube et de ses graines .....	04
<b>Figure 2.</b> Coupe transversale d'une graine de caroube.....	06
<b>Figure 3:</b> Gomme de caroube, de Taro ( <i>Colosasia esculenta</i> L.) et de Guar ( <i>Cyamopsis tetagonolobus</i> ).....	08
<b>Figure 4:</b> Centre d'origine et distribution du caroubier dans le monde.....	11
<b>Figure 05 :</b> Les bactéries lactiques du yaourt.....	18
<b>Figure 6 :</b> Mode d'action sur les pathogènes des acides organiques produits par les lactobacilles.....	22
<b>Figure 07:</b> Schéma illustrant les interactions de <i>Sreptococcus thermophilus</i> et <i>Lactobacillus bulgaricus</i> en culture mixte dans le lait .....	26
<b>Figure 08 :</b> Diagramme des principales étapes de fabrication du yaourt.....	29
<b>Figure 09:</b> Effet du traitement thermique sur la microstructure du yaourt.....	35

## Listes d'abréviation :

**D°** : degré dornic

**C°** : degré Celsius

**%** : Pourcentage

**P<sup>H</sup>** : Potentiel d'hydrogène

**cm** : centimètre

**mm** : millimètre

**mg** : milligramme

**L** : litre

**Ppm** : partie par million

*St* : *streptococcus thermophilus*

*Lb* : *lactobacillus bulgaricus*

**MRS** : Man Rogosa Sharpe

**M17**: Gélose de Terzaghi

**NaCl** : Chlorure de sodium

**h** : Heure

**g** : Gramme

**UFC** : Unité Formant Colonie

**2St/1Lb** : rapport de souchesensemencées.

**NaOH** : hydroxyde de sodium.

**K** : atome de potassium

**Ca** : atome de calcium

**Mg** : atome de magnésium

**Na** : atome de sodium

**Cu** : atome de cuivre

**Fe** : atome de fer

**Mn** atome de: manganèse

**Zn** : atome de zinc

**FPC** : La farine de la gousse de caroube

# Sommaire

## **PARTIE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIE**

Introduction.....1

### **Chapitre I : la caroube**

1. Le caroubier .....4

1.1 Description du caroubier .....4

1.2 Description de la caroube : .....4

1.3. Origine du caroubier .....6

2. Propriétés et utilisations .....6

2.1. Propriétés .....6

2.2. Utilisation du caroubier.....8

2.2.1. Arbre .....8

2.2.2. Fruit.....9

2.2.3. Les autres parties de l'arbre .....10

3. Distribution géographique du caroubier .....10

4. Situation économique de la caroube .....11

5. La farine de la gousse de caroube FPC .....13

6. Caractéristiques des poly phénols de la caroube .....13

### **Chapitre II: le yaourt**

1. Définition du yaourt .....15

2. Historique.....15

3. Matières utilisées pour la production du yaourt : .....16

a. Lait frais .....16

b. La poudre de lait .....16

4. Les bactéries du yaourt .....17

4.1. Caractéristiques générales des bactéries du yaourt .....17

4.1.1 *Streptococcus thermophilus*.....17

4.1.2 *Lactobacillus bulgaricus*: .....17

4.2. Intérêt et fonctions des bactéries du yaourt .....18

4.2.1 Production d'acide lactique .....18

4.2.2	Activité protéolytique .....	19
4.2.3	Activité aromatique .....	19
4.2.4	Activité texturant.....	20
4.2.5.	Autres activités des bactéries lactiques .....	20
4.2.5.1.	Activité lipolytique .....	20
4.2.5.2.	Activité antimicrobienne .....	20
	a) Les acides organiques .....	21
	b) Le diacétyl et d'autres produits.....	22
	c) Le dioxyde de carbone.....	22
	d) Le peroxyde d'hydrogène.....	22
	e) La production d'antibiotiques.....	23
	f) La production des bactériocines.....	23
4.2.5.3	Activité antifongique .....	24
5.	Comportement associatif des deux souches.....	25
6.	Les différents types du yaourt.....	26
7.	Technologie du yaourt.....	26
7.1	Standardisation du mélange.....	27
7.2	Traitement thermique.....	27
7.3	Ensemencement.....	28
7.4	Réchauffage.....	28
7.5	Étuvage / brassage.....	30
7.6	Phase d'incubation (étuvage) .....	30
7.7	Brassage .....	30
7.8	Conservation des yaourts .....	31
8.	Qualités du yaourt .....	31
8.1	Aspects physico-chimiques .....	31
8.2	Aspects hygiéniques.....	31
8.3	Défauts et altérations du produit .....	32
8.4	Qualité organoleptique.....	34
8.4.1	Gélification acide.....	34
8.4.2	Comportement rhéologique.....	35
9.	Les effets des yaourts et autres laits fermentés sur la santé .....	36
9.1	L'effet des yaourts sur la digestion du lactose .....	37

9.2 L'effet des laits fermentés sur les troubles fonctionnels intestinaux (TFI) .....	37
9.3 L'effet des laits fermentés sur les diarrhées .....	37
9.4 L'effet des laits fermentés sur les infections à <i>Helicobacter pylori</i> .....	38
9.5 L'effet des yaourts et laits fermentés sur l'immunité .....	38
9.6 L'effet des yaourts et laits fermentés sur les phénomènes allergiques .....	38

### **Chapitre III : les additifs alimentaires**

1. Définition de l'additif alimentaire .....	40
2. Qualité des additifs .....	40
3. Utilisation d'additifs nutritionnels a des fins de sante publique .....	41
4. Justification de l'emploi d'additifs a finalité nutritionnelle .....	41
5. Origines des additifs alimentaires .....	42
6. Les fonctions des aditifs alimentaires .....	42
7. Principales catégories des additifs alimentaires .....	43
8. La DJA .....	44
8.1. Exemple de calcul de la DJA .....	44
8.2. Données toxicologiques .....	44
9. Les risques engendrent des additifs alimentaires sur la santé humaine : .....	45
a) Allergies .....	45
b) Cancer .....	45
c) Effet mutagènes .....	45

### **PARTIE II : METHODOLOGIE**

1. Objectif .....	46
2. Provenance de l'échantillon .....	46
3. Protocole expérimental .....	46
3.1. Préparation de l'échantillon .....	46
3.2. Préparation des levains.....	46
3.3. Technologie de fabrication du yaourt .....	47
3.3.1 Pasteurisation .....	47
3.3.2. Ensemencement des levains .....	47
3.3.3. Etuvage .....	47
3.3.4. Refroidissement .....	47
3.3.5. Conditionnement .....	47

3.3.6. Conservation .....	47
4. Analyse physico chimique du yaourt .....	48
4.1. Mesure de pH .....	48
4.2. Mesure d'acidité dornic .....	48
4.3. Mesure de la viscosité dynamique .....	48
5. Analyses microbiologique du yaourt .....	48
5.1. Dilution en cascade .....	48
5.2. Dénombrement de la flore lactique .....	49
6. Tests de dégustation.....	49
7. Calculs statistiques .....	49

### **PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSION**

1. Evolution moyenne du PH et acidité .....	50
2. Evolution moyenne de la viscosité .....	52
3. Evolution du nombre moyenne des souches spécifiques des laits fermentés expérimentaux .....	53
4. Les tests organoleptiques : .....	56
4. 1. Goût:.....	56
4. Cohésivité .....	56
4. Adhésivité.....	57
Conclusion .....	58
Références bibliographiques	
Annexe	

# *Introduction :*

La croissance de la population mondiale et l'augmentation du niveau de vie exigent un approvisionnement accru en denrées alimentaires. Celui-ci peut être obtenu non seulement par une augmentation de la production, mais également par une amélioration de la protection et de la conservation des aliments et par l'emploi de meilleures techniques de traitement, de pair avec les progrès de la technologie alimentaire. Ces méthodes impliquent une utilisation accrue des additifs alimentaires.

C'est comme le cas de l'industrie laitière qui génère tout le temps de nouveaux produits alimentaires à l'instar des laits fermentés.

On désigne sous le nom de laits fermentés. Des laits coagulés grâce au développement de germes particuliers qui transforment le lactose en acide lactique, donnant au lait des qualités digestives et rafraîchissantes (**Lasnet et lanty, 1974**).

En plus d'être apprécié pour son goût, sa texture et sa fraîcheur, le yaourt présente une grande teneur en calcium, protéines, lipides, glucides, phosphate et vitamines. Les recherches réalisées au laboratoire ont poussées à utiliser des additifs alimentaires dont le but est la rentabilité du produit, ils peuvent allonger la conservation ou modifier leur qualité organoleptique.

Néanmoins leur usage dans les aliments doivent être effectué d'une manière autorisée par la législation de telle sorte à ne pas affecter la sante humaine.

L'objectif principal de notre étude expérimental est d'optimise les différents paramètres intervenant dans la qualité physico-chimique, microbiologique et organoleptique d'un lait fermenté type yaourt étuvé lors d'incorporation des taux différents de farine de caroube.

## 1. La CAROUBIER :

### 1.1 Description du caroubier :

Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) est un arbre dioïque à feuilles persistantes de la famille des *Caesalpinaceae* (BINER *et al.*, 2007 ; BOUZOUITA *et al.*, 2007). On le retrouve dans la région méditerranéenne principalement en Espagne, en Italie, en Grèce, au Portugal et au Maroc (BINER *et al.*, 2007 ; DAKIA *et al.*, 2008). Cependant, il est originaire des pays arabes (PETIT *et al.*, 1995).



**Figure 1.** Illustration des feuilles de caroubier, de la caroube et de ses graines (THOME., 1885).

Le caroubier présente une bonne résistance à la sécheresse mais est sensible au froid (BINER *et al.*, 2007). Il peut atteindre une taille allant de 8 à 15 m et vivre jusqu'à 500 ans. Il s'agit d'une essence thermophile retrouvée sur les pentes arides. Les caroubiers constituent un outil

de lutte contre la déforestation et la désertification, en limitant l'érosion des sols (CORREIA *et al.*, 2005 ; BINER *et al.*, 2007).

Le caroubier est cultivé pour son fruit, la caroube et pour les graines contenues dans celle-ci.

### 1.2 Description de la caroube :

Le fruit du caroubier, nommé caroube, est une gousse indéhiscente de 10 à 30 cm de longueur sur quelques centimètres de largeur. A maturité, la caroube change de couleur et devient brune (figure 1). Ses composants majeurs sont la pulpe et les graines.

La composition de la pulpe de caroube dépend de la variété, du climat et des techniques de cultures. Toutefois, on peut avancer que la pulpe de caroube représente 90% de la masse du

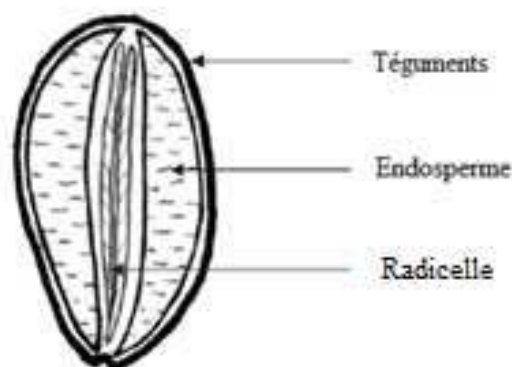
fruit. Elle est riche en tanins et en sucres, dont le saccharose représente 65 à 75% des sucres totaux. Quant aux taux de protéines et de lipides, ils sont faibles (**PETIT *et al.*, 1995**).

La caroube, dépourvue de ses graines, est un édulcorant naturel utilisé comme substitut du cacao et du chocolat. Elle présente l'avantage d'être exempte de théobromine et de caféine contrairement au cacao et au chocolat qui en contiennent des quantités importantes (**YOUSIF *et al.*, 2000**).

Les principales applications de la pulpe de caroube sont l'alimentation animale et humaine en tant que substitut du cacao (**BINER *et al.*, 2007**). Par exemple, dans de nombreux pays arabes, une boisson consommée lors du Ramadan est fabriquée à partir de caroube (**YOUSIF *et al.*, 2000**). La pulpe de caroube est souvent consommée sous forme de poudre (**DAKIA *et al.*, 2007**). Dans les pays occidentaux, celle-ci est produite par égrenage, concassage, broyage et torréfaction des gousses de caroube (**YOUSIF *et al.*, 2000**). La production de produits pharmaceutiques, d'éthanol et l'extraction de sucres sont d'autres applications industrielles de la caroube (**PETIT *et al.*, 1995**).

Quant aux graines, elles constituent environ 10% de sa masse (**PETIT *et al.*, 1995 ; BOUZOUITA *et al.*, 2007**). Leur nombre varie généralement entre 10 et 15. Les graines de caroube ont longtemps été employées comme unité de mesure des diamants et des pierres précieuses. Un carat correspond à la masse d'une graine de caroube soit environ 200 mg (**DAKIA *et al.*, 2003**). La graine de caroube est recouverte d'une enveloppe résistante de couleur brune : les téguments (**DAKIA *et al.*, 2007 ; DAKIA *et al.*, 2008**). En-dessous de ceux-ci se trouve l'endosperme (figure 2). Il est majoritairement constitué de galactomannanes (**DAAS *et al.*, 2000**). Après diverses étapes de purification de l'endosperme, la gomme de caroube est obtenue.

On remarque également la présence d'une radicule (figure 2). Celle-ci possède une valeur énergétique élevée due à son taux important de protéines principalement solubles dans l'eau et de lipides majoritairement insaturés. Elle est employée pour la nutrition du bétail et comme aliment diététique (**DAKIA *et al.*, 2007**).



**Figure 2.** Coupe transversale d'une graine de caroube (DAKIA *et al.*, 2008).

Les graines de caroube sont utilisées dans l'industrie agroalimentaire pour leur contenu en gomme (AVALLONE *et al.*, 1997).

### 1.3. Origine du caroubier

Le lieu d'origine du caroubier demeure aberrant. Toutefois, De (Candolle., 1983 ; Vavilov., 1951) ont rapporté qu'il serait native de la région Est méditerranéenne (Turquie et Syrie).

Par contre, (Schweinfurth., 1894) a insinué qu'il est originaire des pays montagneux du Sud d'Arabie (Yémen). Tardivement, il a été considéré, par (Zohary., 1973), comme originaire de la flore d'Indo-Malaisie, groupé avec *Olea*, *Laurus*, *Myrtus* et d'autres plantes. Par ailleurs, *Ceratonia oreothauma* est la seule espèce connue et originaire du Sud-est d'Arabie (Oumane) et des bordures de la corne africaine (Nord de Somalie) (Hillcast *et al.*, 1980).

## 2. PROPRIETES ET UTILISATIONS :

### 2.1. Propriétés :

La pulpe et les graines sont les deux principaux constituants de la gousse du caroubier et représentent respectivement 90% et 10% de son poids total. Selon plusieurs auteurs, la composition chimique de la pulpe dépend, en générale, du cultivar, de l'origine et parfois de la période de récolte (Orphanos et Papaconstantinou., 1969; Vardar *et al.*, 1972; Calixto et Cañellas, 1982; Albanell *et al.*, 1991).

La pulpe est très utilisée soit comme aliment diététique, soit comme remplaçant du chocolat ou encore en alimentation animale. Elle est très riche en sucre (48-56%), en particulier, sucrose, glucose, fructose et maltose (Tableau 01), mais pauvre en protéines (2-

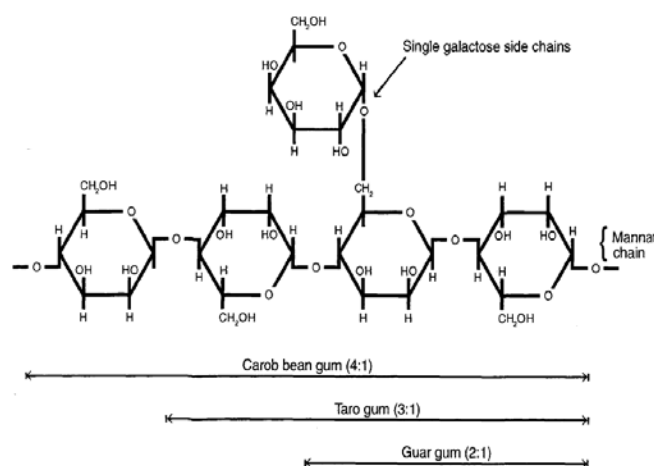
6%) et en lipides (0.4-0.6%) dont les acides saturés et insaturés sont en proportions égales (Leroy., 1929 ; Puhan et Wieling., 1996). A partir d'extrait de gousses, cinq acides aminés, alanine, glycine, leucine, proline et valine, ont été isolés par (Vardar et al., 1972) et deux autres composés, tyrosine et phénylamine, ont été rapporté par (Charalambous et paconstantinou., 1966). En plus, la pulpe présente également une teneur très élevée en fibres (27-50%) et une quantité non négligeable en tanins (18-20%) (Saura-Calixto., 1987; Puhan ; Wielinga., 1996). Par ailleurs, l'analyse minéralogique faite, par (Puhan et wielinga., 1996), sur la pulpe, a révélé une composition (en mg/100g de pulpe) de : K= 1100, Ca= 307, Mg= 42, Na= 13, Cu= 0.23, Fe= 104, Mn= 0.4, Zn= 0.59.

**Tableau 01:** Composition moyenne de la pulpe de caroube (Puhan et Wielinga., 1996; cité dans Batlle et Tous., 1997)

Constituant	Pourcentage (%)
Sucres totaux	48-56
sucrose	32-38
glucose	5-6
fructose	5-7
pintol	5-7
Tannins	18-20
Polysaccharides non amines	18
Cendre	2-3
Lipides	0,2-0,6

La graine est composée de 30 à 33% d'enveloppe tégumentaire, de 42 à 46% de l'albumen et de 23 à 25% d'embryon (Neukom 1988). L'enveloppe tégumentaire est considérée comme étant une source naturelle pour la production de polyphénol antioxydant (Batista et al., 1996; Makris et Keflas., 2004). L'albumen est essentiellement constitué de gomme ou galactomannane, qui est une molécule polysaccharidique composée de deux unités de sucre, mannose et galactose, à une proportion de 4/1, peu similaire à la gomme de guar (*Cyamopsis tetagonolobus*) (2/1) et celle de Tara (*Colosasia esculenta* L.) (3/1) (Fig. 3). Ce polysaccharide naturel est doté de diverses propriétés importantes, à savoir une haute viscosité dans l'eau, même à température et à pH variables (García-Ochao et Casas., 1992), une

capacité de former à partir d'une solution très diluée de stable solution visqueuse et une haute potentialité de réagir avec d'autres polysaccharides induisant ainsi un effet de synergie (Puhan et Wielinga., 1996). La valeur nutritionnelle de la gousse du caroubier est considérée similaire à celle de la plupart de céréales (Coit 1962; NAS 1979). Selon (Noblet et al., 1989), la valeur d'énergie métabolique (EM) de la farine de caroube est estimée à 13.1MJ EM/kg de produit frais.



**Figure 3:** Gomme de caroube, de Taro (*Colosasia esculenta* L.) et de Guar (*Cyamopsis tetagonolobus*) (de Puhan et Wiellinga., 1996) rapporté par (Batlle et Tous., 1997).

## 2.2. Utilisation du caroubier

Le caroubier se présente comme une essence à la fois forestière et arboricole. Il est d'une grande importance économique, écologique et sociale. Son utilisation est multiple.

### 2.2.1. Arbre :

Il est utilisé pour le reboisement et la reforestation des zones affectées par l'érosion et la désertification (Boudy., 1950; Rejeb et al, 1991 ; Biner et al, 2007). Il est également utilisé comme plante ornementale en bordure des routes et dans les jardins. (Batlle et al, 1997).

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

### **2.2.2. Fruit**

Le fruit du caroubier ou la caroube, se compose d'une pulpe enveloppant des graines régulières. En effet la pulpe sucrée de la caroube est employée depuis longtemps comme nourriture de bétail à côté d'autres aliments comme la farine d'orge (**Ait Chitt et al., 2007**). Selon les travaux de (**Lizardo et al., 2002**), il semblerait que la farine de caroube soit un produit parfaitement adapté à l'alimentation des porcelets. Son incorporation dans les régimes s'avère très utile dans le soutien de la consommation, de la croissance et de la santé en post-sevrage.

La farine, obtenue en séchant, torréfiant et moulant les gousses après les avoir débarrassées de leurs graines, est employée surtout en agro-alimentaire (**Sbay et Abourouh., 2006**) dans la préparation de jus sucrés, de chocolat, de biscuits et comme remplaçant de cacao (**Berrougui., 2007**).

En Egypte, on extrait des fruits un sirop qui est employé pour confire les fruits ; les Arabes fabriquent avec la pulpe une boisson alcoolisée et les Kabyles fabriquent à partir du fruit un plat appelé tomina (**Bonnier., 1990**).

De nombreuses études cliniques ont souligné l'efficacité de la poudre de caroube dans le traitement des diarrhées aiguës infantiles (**Serairi et al., 2000**), ce qui a été confirmé par l'étude clinique menée par (**Loeb et al., 1989**) chez des enfants âgés de 3 à 21 mois, que le transit intestinal, la température et le poids de l'enfant s'amélioreraient plus vite après administration de la poudre de caroube par voie orale. Selon (**Rejeb., 1995**) la pulpe est recommandée contre la tuberculose pulmonaire et les infections des bronches. Étant riche en antioxydants (composés phénoliques), en sucres, protéines, fibres, potassium et calcium, cette plante est connue en thérapeutique pour son effet hypocholestérolémiant, antiprolifératif, anti diarrhéique et troubles digestifs (**Berrougui., 2007**).

D'autres études expérimentales ont démontré les capacités bactéricides de la pulpe de caroube vis-à-vis de *staphylococcus aureus* ; la caroube adsorberait aussi les entéro-toxines produites par certaines souches d' *Escherichia coli* et de staphylocoques ainsi que par le vibriocholérique, ce mécanisme d'adsorption pourrait être expliqué par la présence de tanins dans la partie insoluble et active de la caroube (**Tolentino., 1950**).

En plus de son pouvoir nématocide démontré par les travaux de (**El Allagui et al., 2007**) qui est dû à sa teneur en composés phénoliques, la caroube possède aussi une activité antimicrobienne et antioxydant selon (**Ben Hsouna et al., 1986**).

Selon l'étude récente de (**Sanchez et al., 2010**) la caroube est une source bon marché

d'hydrates de carbone pour la production de bioéthanol.

Quant aux graines de caroube, vu leur uniformité, elles sont appelées 'carats' et ont servi pendant longtemps aux joailliers comme unité de poids pour peser les diamants, les perles et d'autres pierres précieuses (1 carat = 205,3 mg) (**Rejeb., 1995**).

### **2.2.3. Les autres parties de l'arbre :**

Les autres parties de l'arbre sont aussi exploitées ; en effet, la fleur est utilisée par les apiculteurs pour la production du miel de caroube, alors que les feuilles sont utiles pour l'alimentation des animaux. L'écorce et les racines sont utilisées en tannerie grâce à leur teneur en tanins. Le bois du caroubier, dur, de couleur rouge, est estimé dans la charbonnerie et la menuiserie (**Hariri et al., 2009**).

Dans les domaines forestiers, les pieds mâles sont souvent taillés pour le fourrage. Plusieurs études ont montré que l'utilisation des feuilles associées avec le polyéthylène glycol (PEG) améliore la digestibilité et la qualité nutritive des tanins contenus dans les feuilles (**Priolo et al., 2000**), ces derniers ont été utilisés en Turquie, dans la médecine traditionnelle pour traiter la diarrhée et dans l'alimentation diététique (**Baytop., 1984**); ils ont été également désignés comme étant porteurs d'activités cytotoxiques et antimicrobiennes (**Kivçak et Mart., 2002**).

### **3. Distribution géographique du caroubier :**

Selon **Hillcoat et al., (1980)**, le caroubier est étendu, à l'état sauvage, en Turquie, Chypre, Syrie, Liban, Israël, Sud de Jordanie, Egypte, Arabie, Tunisie et Libye avant d'atteindre l'Ouest de la méditerranéen. Il a été disséminé par les grecs en Grèce et en Italie et par les arabes le long de la côte Nord de l'Afrique, au Sud et à l'Est de l'Espagne. Dès lors, il a été diffusé au Sud du Portugal et au Sud-Est de France.



**Figure 4:** Centre d'origine et distribution du caroubier dans le monde (Batlle et Tous., 1997).

Le caroubier a été également, introduit avec succès dans plusieurs autres pays ayant un climat méditerranéen. C'est le cas en Australie, en Afrique du Sud, aux Etats Unis (Fig. 4) (Arizona, Californie du Sud), aux Philippines et en Iran (Evre inoff, 1947; dans Batlle et Tous., 1997). Généralement, la distribution des espèces arborescentes, telle que *C. siliqua* est limitée par des stress liés aux froids (Mitrakos., 1981). En effet, l'espèce *C. oreothauma* qui semble être plus sensible au froid a une répartition restreinte et limitée seulement à Omane et au Somalie (Hillcoat et al., 1980). Dans les zones basses méditerranéennes (0-500m, rarement 900m d'altitude), le caroubier constitue une dans l'ensemble du pays jusqu'à 1150m d'altitude à l'exception des zones très arides (Emberger et Maire., 1941; Metro et Sauvage., 1955; Quezel et Santa., 1962/63; Guinochet et Vilmorin., 1984). Il est rencontré dans le Rif occidental et oriental, le pré-Rif, le Rharb, le Saïs, l'Anti Atlas, le Haut Atlas septentrional et le Plateau Central (Aafi., 1996). Les peuplements de caroubier s'intègrent dans l'ordre d'englobe des groupements de matorrals arborés claires ou arbustifs et qui sont soit naturels soit introduits en tant qu'essences régénératrices de forêts.

#### 4. Situation économique de la caroube :

Selon les données du FAOSTAT(2010), l'aire totale de la production mondiale du caroubier est estimée à 102939 ha (Tableau 02). La plus grande superficie, 83574 ha, est celle de l'Europe, contre une superficie estimée à 1000 ha pour l'Algérie et 13460 ha pour les pays d'Afrique du Nord.

**Tableau 02 : Superficie occupée par le caroubier (FAOSTAT., 2010)**

Pays	Superficie (ha) en 2004	Superficie (ha) en 2008
Algérie	1066	1000
Afrique du nord	13526	13460
Europe	92218	83574
Monde	112711	102939

On estime à plus de 15000 tonnes la production mondiale annuelle de gomme de caroube (DAKIA *et al.*, 2008).

Les données reprises ci-après sont issues des statistiques de l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO). Les statistiques comprennent les fruits mais également les graines de caroubes.

En termes de surface cultivée, la culture du caroubier représente un peu plus de 100000 hectares (102939 hectares en 2008) à travers le monde. L'Espagne, le Maroc et le Portugal possèdent les surfaces cultivées les plus importantes, de l'ordre de 60000, 12000 et 10000 hectares respectivement.

Enfin, le tableau 03 présente la production de caroubes dans le monde et pour le bassin méditerranéen de ces dernières années.

**Tableau 03.** Production de caroubes dans le monde et pour le bassin méditerranéen de 2000 à 2008 (source : FAOSTAT). Les nombres noirs constituent des données officielles, les nombres rouges des estimations FAO et les nombres bleus peuvent inclure des données officielles, semi-officielles ou estimées.

Pays /années	Production (tonnes)									
	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	
Espagne	93863	73211	74736	67403	79200	64100	70000	72000	72000	
Italie	38079	16282	24015	18637	19060	31665	26110	32784	31224	
Grèce	20192	16464	15015	14789	14594	14815	14506	15000	15000	
Maroc	23000	24000	24000	25000	25000	25000	25000	25000	25000	
Portugal	20000	20000	20000	20000	20000	20000	22000	23000	23000	
Turquie	14000	13500	13500	14000	14000	12000	12388	12161	12100	
Chypre	7300	2850	7200	6550	6250	6942	5650	3839	3915	
<b>Monde</b>	226829	177787	188070	174365	186595	181830	184115	193250	191167	

## **5. La farine de la gousse de caroube FPC :**

La pulpe est très utilisée soit comme aliment diétiqué soit comme remplaçant du chocolat, soit encore en alimentation animale. Elle est très riche en sucres (40-60%) en particulier, saccharose (27-40%), fructose (3-8%) et glucose (3-5%) mais pauvre en lipides (0,4-0,6%) ou protéines (2-6%). (**Leroy., 1929; Avallone et al., 1997**). Par ailleurs, la pulpe présente également une teneur très élevée en fibres (27-50%) et une quantité non négligeable de tanins (**Saura-calixto., 1988**). Assez souvent, la pulpe est toastée et broyée donnant une poudre de couleur marron à arôme de chocolat (farine de caroube ; FPC). À part son utilisation en alimentation humaine, celle-ci semble particulièrement adaptée à l'alimentation du porc. Le remplacement du dextrose, de la poudre de lait ou des céréales par de la FPC permet d'obtenir des performances de croissance similaires chez le porcelet (**Piva et al., 1978; Santiet al., 1987**) aussi bien que chez le porc en croissance-finition (**Lanza et al., 1983**). Les sucres apportés par la FPC contribuent très probablement à la palatabilité des régimes et aucun effet antinutritionnel des tanins sur les paramètres mesurés n'est observé.

Les diarrhées de post-sevrage sont un problème très fréquent dans l'élevage du porc (**Madec et al., 1998**) et la décision de l'Union Européenne de prohiber l'utilisation des antibiotiques en tant qu'additifs alimentaires n'a fait qu'aggraver la situation. Les tanins de la caroube présentent d'importantes propriétés anti-diarrhéiques (**Würsch., 1987**) et sont largement utilisés dans le combat des diarrhées chez l'enfant (**Loeb et al., 1989**).

## **6. Caractéristiques des poly phénols de la caroube :**

Peu d'études ont été consacrées à l'analyse des poly phénols de la caroube. Les teneurs et la composition en poly phénols diffèrent d'un auteur à un autre. Les fluctuations obtenues doivent être dues à différents facteurs comme la variété de la caroube, le pays producteur, la partie analysée (pulpe, fibre, partie soluble ou partie résiduelle insoluble), les méthodes utilisées pour l'extraction des poly phénols ou leur détermination (**Marakis., 1996**). Les variétés sauvages sont plus riches en tannins que les variétés cultivées (**Marakis et al., 1993**).

Une gousse de caroube contient, en moyenne, 19 mg de poly phénols totaux par g de matière fraîche, 2,75 mg/g de tannins condensés et 0,95 mg/g de tannins hydrolysables. A noter que des concentrations beaucoup plus élevées (40,8 mg/g de poly phénols totaux, 16,2 mg/g de tannins condensés et 2,98 mg/g de tannins hydrolysables) sont détectées dans le germe alors que ces composés se trouvent à l'état de traces dans la graine (**Avallone et al., 1997**).

La teneur en tannins condensés des gousses de caroube se situe entre 16 et 20% de la masse sèche (**Würsch et al., 1984 ; Saura-Calixto., 1988**) rapporte aussi une teneur en poly phénols de 19,2% (17,9% de tannins condensés et 1,3% de tannins solubles dans l'eau). 94% de ces poly phénols font partie des résidus de fibre de la caroube.

Les poly phénols de la caroube ont une masse moléculaire très élevée rarement rencontrée chez d'autres plantes (**Würsch et al., 1984**). Près de 50% des tannins sont de masse moléculaire comprise entre 3200 et 3600 Dalton (**Tamir et al., 1971**), l'autre moitié se rencontre sous forme de granules de plus haute masse moléculaire avoisinant 32 000 Da (**Würsch et al., 1984**).

Les principaux poly phénols décrits dans les gousses de caroube sont insolubles, hautement polymérisés, appartenant aux tannins condensés contenant un noyau flavane (**Würsch et al., 1984**). Le degré de polymérisation des flavanols, estimé par (**Kumazawa et al., 2002**) est de 31,1% et les flavanols constituent 23% des poly phénols totaux.

Les poly phénols extraits par l'eau se composent de (-)- épigallocatechine, (+)-catéchine, (-) epicatechine gallate, (-)-epigallocatechine gallate, avec l'acide gallique comme composant le plus abondant (**Corsi et al., 2002**). L'extraction au méthanol / acide acétique 0,5% (90/10, v/v) donne en plus, des glycosides de quercétine et de l'acide éllagique (**Sakakibara et al., 2003**).

## **1. Définition du yaourt :**

D'après le *Codex Alimentarius*, le yaourt est un produit laitier coagulé obtenu par fermentation lactique grâce à l'action de *Lactobacillus delbrueckii* sous-espèce *bulgaricus* (*Lb. Bulgaricus*) et de *Streptococcus salivarius*, sous-espèce *thermophilus* (*St. Thermophilus*) à partir du lait frais ainsi 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 lactosériques concentrées ou non, la caséine alimentaire ...etc.). Les micro-organismes du produit final doivent être viables et abondants.

La législation de nombreux pays exige que les bactéries du yaourt soient vivantes dans le produit mis en vente. Certains pays néanmoins admettent qu'à la suite d'un traitement thermique destiné à améliorer la durée de conservation, le produit ne contienne plus de bactéries vivantes. Cette pratique n'est toutefois pas recommandable, car elle modifie les propriétés du yaourt (ANONYME, 1995).

## **2. Historique:**

Originaire d'Asie, le mot yaourt (yoghourt ou yogourt) vient de « yoghurmark », mot turc signifiant « épaissir » (TAMIME et DEETH, 1980).

Dans le sillage des découvertes de Louis Pasteur sur la fermentation lactique, de nombreux chercheurs s'intéressent aux micro-organismes présents dans le lait. En 1902, RIS et KHOURY, deux médecins français, isolent les bactéries présentes dans un lait fermenté égyptien. METCHNIKOFF (1845-1916) isole ensuite la bactérie spécifique du yaourt « le bacille bulgare », analyse l'action acidifiante du lait caillé et suggère une méthode de production sûre et régulière (ROUSSEAU, 2005).

De nombreux autres produits sont arrivés par la suite sur le marché : laits fermentés probiotiques, laits fermentés de longue conservation (pasteurisés, UHT, lyophilisés ou séchés) et produits «plaisirs» (à boire, pétillants ou glacés).

Traditionnellement, c'est le yaourt dit « nature » et ferme qui constituait l'essentiel des productions de laits fermentés. Dans les années 1960-1970, sont apparus les produits sucrés puis aromatisés et aux fruits. Actuellement, ils sont majoritaires sur le marché.

L'apparition du yaourt brassé a constitué une autre étape importante de la commercialisation des laits fermentés. En outre, le développement commercial des produits probiotiques est important et correspond à une demande du consommateur (BRULE, 2003).

### **3. Matières utilisées pour la production du yaourt :**

#### **a. Lait frais :**

Le lait est un produit de forte valeur nutritionnelle. C'est l'un des rares aliments à contenir une teneur équilibrée en nutriments de base (glucides, lipides et protéides). C'est aussi l'un des rares à convenir à toutes les tranches d'âge (nourrissons, enfants, adolescents, adultes, personnes âgées) qui le consomment tel quel à l'état liquide (lait frais) ou sous forme de produits dérivés (fromages, yaourts, crèmes glacées...etc.). Avec une valeur énergétique de l'ordre de 700Kcal/l, le lait de plusieurs espèces animales constitue une source importante et relativement bon marché d'apport quotidien en acides aminés et acides gras essentiels ainsi qu'en calcium alimentaire. Le lait est aussi riche en d'autres sels minéraux (notamment phosphore et magnésium) et en vitamines du groupe B (B1, B2, B5 et B12) et en vitamine A.

Pour répondre à ces besoins, le lait bovin est le plus utilisé dans le monde et dans notre pays. Les espèces voisines (ovin, caprin, camelin) représentent un pourcentage de production relativement faibles, n'excédant pas 10%.

#### **b. La poudre de lait :**

Constitué essentiellement de matière sèche du lait et d'une très faible quantité d'eau (de 2 à 5%), la poudre de lait a l'avantage de pouvoir se stocker et se transporter aisément pour être utilisée via la recombinaison comme matière première pour la production de fromages, de laits fermentés, de crèmes glacées ...etc.

Les poudres commercialisées sont en réalité de trois types, classées selon l'intensité du traitement de déshydratation (et le degré de dénaturation qu'il génère) opéré : poudre « low heat », medium heat et « high – heat ». Le degré de dénaturation est exprimé par l'indice d'azote protéique (IAP ou WPNI en anglais) en milligrammes de protéines sériques non dénaturées (psnd) par gramme de poudre considérée.

Les poudres ayant été préparées avec un traitement thermique bas (low heat, WPNI égal ou supérieur à 6) contiennent une faible quantité de protéines dénaturées et sont utilisées dans des produits où les propriétés de solubilité, de gélification et d'émulsion sont recherchées. Il s'agit des poudres de meilleure qualité convenant aussi bien à la préparation du lait de consommation que celui destiné à la fromagerie ainsi qu'à la fortification du yaourt **(NOZINCK, 1982 ; MODLER, 1985)**.

Les poudres type « médium heat » (WPNI compris entre 1,5 et 5,9) possèdent une bonne capacité d'hydratation et d'activité de surface. Elles sont utilisées notamment dans les

fabrications de crèmes glacées, desserts congelés...etc.

Enfin, les poudres « high – heat » (WPNI inférieur à 1,5) sont hautement dénaturées et peu solubles. Ce type de poudre trouve une utilisation dans les produits structurés (boulangerie, biscuiterie, et confiserie) (MODLER, 1985 ; CAMPBELL et PAVLASEK, 1987).

En plus de l'intensité du traitement thermique suivi, il y a lieu de signaler que la qualité de la poudre du lait peut varier aussi selon le type de séchage subi qui peut être fait sur cylindres (procédé Hatmaker) ou par atomisation. Le chauffage brutal qui se produit dans le premier cas entraîne des modifications de la structure physico-chimique du produit conduisant à une faible solubilité et générant un goût de cuit et des réactions de brunissement. Il est admis que la poudre préparée par atomisation (procédé Spray) présente de meilleures caractéristiques et aptitudes technologiques (ANONYME, 1995)

## **4. Les bactéries du yaourt**

### **4.1. Caractéristiques générales des bactéries du yaourt**

#### ***4.1.1 Streptococcus thermophilus:***

*S. thermophilus* est une cocci Gram positif, anaérobie facultative, non mobile. On le trouve dans les laits fermentés et les fromages (DELLAGLIO *et al*, 1993 ; ROUSSEL *et al*, 1994). C'est une bactérie dépourvue d'antigène du groupe D, thermorésistante, sensible au bleu de méthylène (0,1%) et aux antibiotiques. Elle est aussi résistante au chauffage à 60°C pendant 30 minutes (DELLAGLIO *et al*, 1994). Elle est isolée exclusivement du lait et des produits laitiers sous forme de coques disposées en chaînes de longueurs variables ou par paires. Sa température optimale de croissance varie entre 40 et 50°C. Son métabolisme est du type homofermentaire (LAMOUREUX, 2000).

Le rôle principal de *S. Thermophilus* est la fermentation du lactose du lait en acide lactique et en plus de son pouvoir acidifiant, elle est responsable de la texture dans les laits fermentés. Elle augmente la viscosité du lait par production de polysaccharides (composés de galactose, glucose, ainsi que de petites quantités de rhamnose, arabinose et de mannose) (BERGAMAIER, 2002).

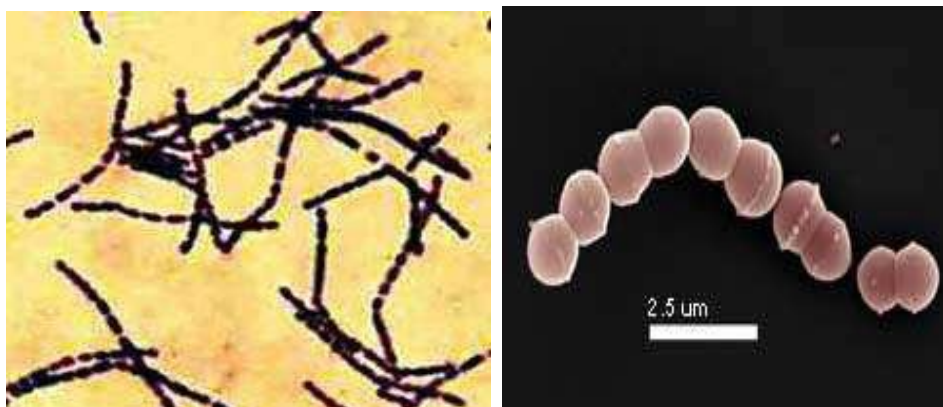
#### ***4.1.2 Lactobacillus bulgaricus:***

*Lb. Bulgaricus* est un bacille Gram positif, immobile, asporulé, micro-aérophile. Il est isolé sous forme de bâtonnets ou de chaînettes. Il possède un métabolisme strictement fermentaire avec production exclusive d'acide lactique comme principal produit final à partir

des hexoses de sucres par voie d'Embden Meyerhof. Il est incapable de fermenter les pentoses.

*Lb. bulgaricus* est une bactérie thermophile, très exigeante en calcium et en Magnésium et sa température optimale de croissance est d'environ de 42 °C. Cette bactérie a un rôle essentiel dans le développement des qualités organoleptiques et hygiéniques du yaourt (**MARTY-TEYSSET *et al*, 2000**).

Ces deux bactéries lactiques tolèrent de petites quantités d'oxygène. Ceci peut être probablement relié au peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) qui est produit dans les cellules en présence d'air. Le système le plus efficace pour éliminer le peroxyde d'hydrogène est l'utilisation d'une enzyme, la catalase, dont les bactéries lactiques sont déficientes. Ces dernières possèdent plutôt une peroxydase (pseudo catalase) qui est moins efficace que la catalase. Comme les bactéries lactiques n'éliminent pas facilement le peroxyde, elles sont dites microaérophiles (**DOLEYRES, 2003**).



**Figure 05** : Les bactéries lactiques du yaourt

## 4.2. Intérêt et fonctions des bactéries du yaourt :

### 4.2.1 Production d'acide lactique :

La production d'acide lactique est une des principales fonctions des bactéries lactiques en technologie laitière, car cet acide organique permet de concentrer et de conserver la matière sèche du lait, en intervenant comme coagulant et antimicrobien (**SCHMIDT *et al*, 1994**). Le métabolisme est du type homofermentaire (production exclusif de l'acide lactique).

L'acidité du yaourt est communément exprimée en degré Dornic (1D° = 0,1g/l d'acide lactique). Elle se situe entre 100 et 130 °D (**LOONES, 1994**).

L'importance de l'acide lactique durant la fabrication du yaourt peut se résumer comme suit :

- il aide à déstabiliser les micelles de caséines, ce qui conduit à la formation du gel ;
- il donne au yaourt son goût distinct et caractéristique, comme il contribue à la saveur et l'aromatisation du yaourt (**TAMIME et ROBINSON, 1999 ; SINGH et al, 2006**) ;
- intervient comme inhibiteur vis-à-vis des micro-organismes indésirables (**LEORY et al, 2002**).

#### **4.2.2 Activité protéolytique :**

Pour satisfaire leurs besoins en acides aminés, les bactéries du yaourt doivent dégrader la fraction protéique du lait constituée de caséine et de protéines sériques, leur système protéolytique est constitué de deux types d'enzymes distinctes : les protéases et les peptidases. *Lb. bulgaricus* possède des protéases localisées, pour l'essentiel, au niveau de la paroi cellulaire. Cette activité protéasique permet d'hydrolyser la caséine en polypeptide.

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

#### **4.2.3 Activité aromatique :**

Divers composés volatiles et aromatiques interviennent dans la saveur et l'appétence du yaourt. C'est principalement le lactose qui intervient dans la formation de ces composés dans une fermentation de type hétérofermentaire. Parmi ceux-ci, l'acide lactique confère au yaourt son goût acidulé. L'acétaldéhyde, qui provient en grande partie de la thréonine, joue un rôle essentiel dans ces caractéristiques organoleptiques recherchées. La concentration optimale de ce métabolite est estimée à environ 10 ppm. Sa production, due principalement au lactobacille, est augmentée lorsque ce dernier est en association avec le streptocoque qui en élabore de faibles quantités.

L'acétaldéhyde peut provenir:

- du pyruvate, soit par action de la pyruvate décarboxylase ou par action de la pyruvate déshydrogénase (appelée aussi pyruvate formate lyase) ;
- de la Thréonine par l'action de la Thréonine aldolase.

Le diacétyl contribue à donner un goût délicat qui est dû à la transformation de l'acide citrique et, secondairement, du lactose par certaines souches de streptocoques. D'autres composés (acétone, acétoïne, etc.) contribuent à l'équilibre et à la finesse de la saveur. Ceci

résulte d'un choix avisé des souches, de leur capacité à produire dans un juste rapport les composés aromatiques et du maintien de ce rapport au cours de la conservation des levains et de la fabrication (ANONYME, 1995).

Notons que la saveur caractéristique du yaourt, due à la production du diacétyle et de l'acétaldéhyde et qui est recherchée dans les produits type «nature», est en partie masquée dans les yaourts aromatisés.

#### **4.2.4 Activité texturant:**

La texture et l'onctuosité constituent, pour le consommateur, d'importants éléments d'appréciation de la qualité du yaourt. Certaines souches bactériennes produisent, à partir du glucose, des polysaccharides qui, en formant des filaments, limitent l'altération du gel par les traitements mécaniques et contribuent à la viscosité du yaourt.

L'augmentation de la viscosité du yaourt est en général attribuée à la production d'exopolysaccharide (EPS) qui, selon une étude portant sur plusieurs souches serait essentiellement composé de rhamnose, arabinose, et mannose (SCHMIDT *et al*, 1994).

Il est couramment admis que la production des EPS est le résultat de l'action exercée par *St. thermophilus*. Mais d'après TAMIME (1999), *Lb. bulgaricus* possède une aptitude à produire des EPS composés de galactose, glucose, rhamnose à des rapports de 4/1/1.

#### **4.2.5. Autres activités des bactéries lactiques :**

##### **4.2.5.1. Activité lipolytique :**

Le genre *Lactobacillus* est faiblement lipolytique (Papamanoli *et al.*, 2003). C'est à travers des publications scientifiques, que les connaissances des activités estérasiques et lipolytiques des bactéries lactiques restent encore fragmentaires. L'activité estéarique des lactocoques est plus importante que celle des lactobacilles. Cependant on trouve que dans le groupe des lactobacilles thermophiles, les activités lipolytiques de *Lb. delbrueckii* ssp. *lactis* et *Lb. acidophilus* sont supérieures à celles de *Lb. Delbrueckii* ssp. *bulgaricus* et *Lb. helveticus*. Et dans le groupe des lactobacilles hétérofermentaires facultatifs : *Lb. casei* et *Lb. plantarum*, possèdent un système estérasique plus actif que les hétérofermentaires strictes : *Lb. brevis* et *Lb. fermentum* (Talon *et al.*, 2006).

##### **4.2.5.2. Activité antimicrobienne :**

Ce sont essentiellement les bactéries lactiques (*Lactobacillus* , *Leuconostoc* ,*Pediococcus* et *Lactococcus*) et des Bifidobactéries qui sont connus pour posséder de telles activités grâce à leur capacité à produire lors de leur croissance des composés actifs ; à

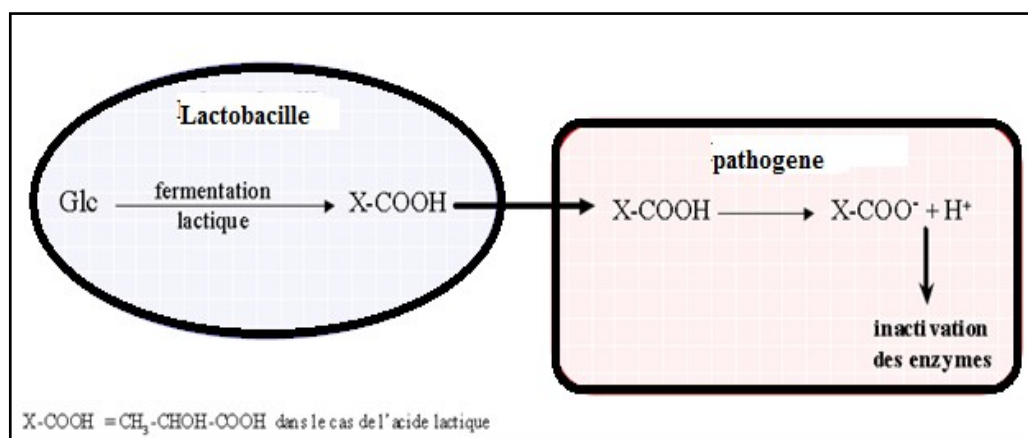
savoir, les acides organiques qui acidifient le milieu (lactate ,acétate ..), des dérivés du métabolisme de l'oxygène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), et des substances naturelles de nature protéique; douées d'une activité antagoniste à l'encontre d'un grand nombre de germes d'altération, leur permettant de se développer préférentiellement dans divers écosystèmes (**Vandervoorde et al., 1991; Annika et Marc, 2004 ; Herreros et al., 2005; Belal et al ., 2011**).

Plusieurs études ont été réalisées dans ce contexte. On cite une étude faite mesurant l'activité antagoniste des bactéries lactiques (*Lb. bulgaricus*, *Bifidobacterium bifidum* et *Streptococcus thermophilus*) vis à vis aux trois souches *Helicobacter pylori* responsables des maladies gastroduodénales, isolées à partir des biopsies gastriques des malades. Qui nous ont démontré le pouvoir inhibiteur de ces bactéries lactiques contre les bactéries pathogènes ; un but qui compte un pat de développement dans le domaine thérapeutique (**Tabak, 2007**).

#### a. Les acides organiques :

Parmi lesquels l'acide lactique et l'acide acétique et tous ceux causant la diminution du pH qui induit à une acidification du cytoplasme cellulaire (**Figure 06**) ; en conséquence les flores acido-sensibles (exemple: *Pseudomonas*) sont inhibées. Cependant, un grand nombre de *Lactobacillus* produisent ces acides organiques (**Annika.M.M et Marc.B, 2004**).

On a observé que le mécanisme inclus dans l'invasion de cellules Caco-2 par *Salmonella enterica serovar Typhimurium* sans modification de la viabilité des pathogènes, s'est arrêté après neutralisation des cultures de *Lb. casei rhamnosus GG* a pH7. La croissance de *E.coli*O157 :H7 était réduite sous l'effet de l'acide lactique et la diminution de pH causées par *Lb. lactis*, *Lb. casei Shirota* ou *Lb. acidophilus* YIT0070. Comme on a découvert l'inhibition de *H. pylori in-vitro*, effet apparemment du a la production de l'acide lactique et l'acide acétique et l'acide hydrochlorique par les souches *L. acidophilus*, *L. casei subsp. rhamnosus*, *L. bulgaricus* et *B. bifidus* (**Alain, 2004**) et l'inhibition de l'espèce *S. aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25921 et *Bacillus sp* , par des souches de : *Lb. plantarum* (**Mami. A et al, 2011**).



**Figure 6** : Mode d'action sur les pathogènes des acides organiques produits par les lactobacilles.

#### b. Le diacétyl et d'autres produits:

Le diacétyl (C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>) un des composants aromatiques essentiels du beurre synthétisé par différents genres de bactéries lactiques comme *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus* et *Pediococcus* ; est produit suite à la dégradation du citrate, un composé inhibiteur à pH 5 plus actif contre les bactéries à Gram négatif, les levures et les champignons (200 mg/ml) que contre les bactéries à Gram positif non lactiques (300 mg/ml) pour les non lactiques (Jay, 1982; Smaoui, 2010). Cependant, A pH 7 ce produit est très inefficace. *Pseudomonas* présente la plus grande sensibilité à ce produit. Outre, il est à noter que les quantités produites sont en général trop faibles pour être inhibitrices (Annika. M.M et Marc.B., 2004).

#### c. Le dioxyde de carbone:

Le dioxyde de carbone est produit par des bactéries lactiques hétéro-fermentaires. Le véritable mécanisme de son action antibactérienne reste indéterminé. Cependant, il peut jouer un rôle dans la création d'un environnement anaérobie qui inhibe la décarboxylation enzymatique, alors que son accumulation dans la bicouche lipidique de la membrane peut causer un dysfonctionnement de la perméabilité de celle-ci (Smaoui., 2010). Il peut effectivement inhiber la croissance de nombreux germes d'altération et essentiellement les germes psychrotrophes à Gram négatif.

#### d. Le peroxyde d'hydrogène:

Il est depuis longtemps, reconnu comme un agent majeur de l'activité antimicrobienne des bactéries lactiques en particulier celle des Lactobacilles qui peuvent le générer par

plusieurs mécanismes. Vu qu'elles soient catalase négatif et certaines souches peuvent accumuler du peroxyde d'hydrogène lorsqu'elles sont cultivées en aérobiose ou en micro-aérobiose ce qui induit l'oxydation des lipides membranaires et la destruction des structures des protéines des cellules des différents microorganismes parmi en on cite *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas. spp.* Sa production peut avoir lieu selon plusieurs modes mettant enjeu des NADH peroxydases ou des flavoprotéines oxydases (**Ammor., 2004, Annika.M.M et Marc.B., 2004; Smaoui., 2010 ; Boumehira.Z., 2010**).

#### e. La production d'antibiotiques:

Il existe aussi les antibactériens non peptidiques, parmi lesquels la reuterine produite par *Lactobacillus reuteri* : un antibiotique à large spectre, actif *vis-à-vis* des bactéries Gram-positives et Gram-négatives, des levures, des moisissures et des protozoaires. Il s'agit d'un dérivé du glycérol, le 3-hydroxypropionaldéhyde produit lors de la fermentation anaérobie de ce dernier (**Piard and Desmazeaud., 1991**).

#### f. La production des bactériocines:

Les bactériocines : un groupe hétérogène de molécules de nature protéique produites par synthèse ribosomique dotées d'un site actif et qui ont un pouvoir antimicrobien ;elles présentent une activité bactéricide ou bactériostatique contre les souches bactériennes phylogénétiquement proches à la souche productrice (**Piard et Desmazeaud., 1991; Muriane et Klaenhammer., 1991; Tomomi et al., 2009**): *Lactococcus, Streptococcus, Staphylococcus, Listeria* et *Mycobacterium* (**Alain.,2004**) ; avec un large spectre d'activité contre les germes pathogènes gram positif et gram négatif (**Paulraj et al., 2011**).

Il est établi que le point d'entrée de plusieurs bactériocines est les pores formés dans la membrane cytoplasmique des bactéries sensibles relatif à l'efflux des ions et des composés accumulés à cause de la dissipation du potentiel membranaire résultat de la déplétion en ATP (selon la figure ci-dessous) (**Alain., 2004**). D'autres bactériocines ne forment pas de pores mais interfèrent avec l'activité de certains enzymes des bactéries suspects.

Contrairement à la théorie qui dit que les bactériocines des *Lactobacillus* sont inactives sur les organismes gram négatif, on a rapporté l'efficacité contre *H.pylori* des lactocins A164 et BH5 (**Alain., 2004**)

Plusieurs genres de bactéries lactiques y compris *Lactobacillus* (**klaenhammer., 1998**)

*Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* et *Carnobacterium* produisent ces molécules. On a même caractérisé les bactériocines de plusieurs espèces comme : *Lb. fermentum*, *Lb. helveticus*, *Lb. acidophilus*, et *Lb. plantarum*.

Klaenhammer a défini trois classes majoritaires de bactériocines. Récemment on en a ajouté une quatrième classe (Alain ,2004 ; Paulraj *et al.*, 2011, Stoyanova *et al.*, 2012).

#### 4.2.5.3 Activité antifongique :

On a pu isoler de différents environnements: levains, Maïs (Doguiet et Denis, 2010), fromages, laits, fruits, ensilages et de plusieurs produits fermentés (Belal *et al*, 2011) ; des bactéries lactiques surtout du genre *Lactobacillus* qui avaient une activité antifongique efficace en produisant des substances comme l'acide phényllactique (en quantités inférieures à 7.5 mg/ml et l'acide 4-hydroxy-phényllactique isolés des souches de *Lb. plantarum* 21B. Ces substances ont montré une activité inhibitrice contre :*Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* , *Penicillium corylophilum* , *Penicillium requeforti* , *Penicillium expansum*, *Fusarium graminearum* (Doguiet et Denis,2010). On a même noté l'effet des mêmes substances produite cette fois par la souche *Lb. plantarum* 20B contre *Aspergillus*, *Penicillium* et *Monilia* (Kouakou et Philippe, 2011).

Par ailleurs, une gamme d'acides organiques tels que les acides: acétique, formique, caproïque, propionique, butyrique et valérique libérées par *Lb. sanfranciscensis* CB1 et *Lb. plantarum*, possèdent le même effet contre *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* et *Monilia*. Ces acides agissent d'une manière synergique (Kouakou et Philippe, 2011). D'autre part, des souches de *Lb. fermentum* 007, *Lb. paracasei* D5, *Lb. pentosus* G004, *Pediococcus pentosus* Te010 ont été caractérisées pour posséder la capacité de produire des substances antifongiques efficaces de nature protéique *vis-à-vis* *Aspergillus niger*, *Aspergillus orizea* (Belal *et al*, 2011)

Meanwhile et Schnurer (2001) ont attribué la production d'une bactériocine (la reuterine) à spectre d'activité antimicrobienne limité à *Lb. coryniformis* , l'étude a été renforcé par la publication de Adebayo et Aderiye, (2010) sur les bactériocines produite surtout par *Lb. plantarum* EK1, *Lb. plantarum* EK4 et *Lb. fermentum* SG10, inhibant les champignons d'altération *Penicillium citrinum* EK1, *Aspergillus niger* FF2 et *Aspergillus flavus* EB3 isolés de produits alimentaires Nigériens fermentées (Adebayo et Aderiye., 2010).

Comme on a prouvé l'effet antifongique de la bactériocine Nizine Z produite par *Lactococcus lactis ssp. lactis biovar. Diacetylactis* UL719 envers certaines souches de *Candida* (dont parmi *Candida albicans*) responsables des infections buccales qui occupent une place importante en pathologie ORL (Oto-RhinoLaryngologie) (Lay., 2009).

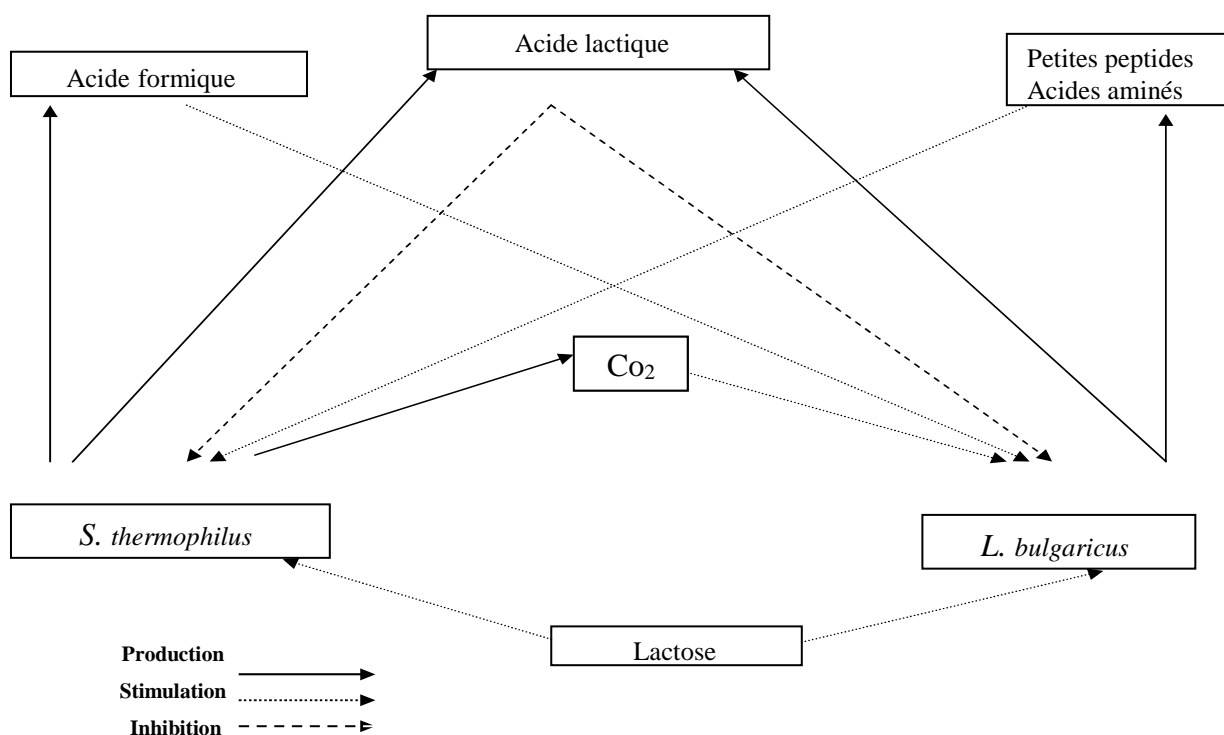
Vanne *et al.*, (2000) a démontré que la croissance de champignons toxiques était limitée *in vitro* par des bactéries lactiques par l'effet combiné entre l'acide lactique et des bactériocines (Adebayo et Aderiyé., 2010). Sur le même contexte, on a prouvé l'inhibition d'organismes gram négatif *Pantoea agglomerans* VTT-E-90396 et de *Fusarium avenaceum* VTT-D-8014 par des composés à potentiel antimicrobien sécrétés par *L. plantarum* VTT-E-78076, dont : l'acide benzoïque, 5-méthyle-2, 4-imidazolidinedione, tétrahydro-4-hydroxy-4-méthyl-2H-pyran-2-one et 3-(2-méthylpropyl)-2,5-piperazinedione ; avec une activité de ces derniers marquée optimale à la présence de l'acide lactique ce qui s'est avéré conscient avec l'observation disant que le lactate rend la membrane des organismes gram négatif perméable aux contenus extracellulaires permettant la pénétration et augmentant la fonction de ces composés antimicrobiens produits par l'hôte (Alain., 2004).

Récemment, Laref et Guessas, (2013), ont prouvé l'effet antifongique des espèces de *Lb. plantarum* et *Lb. fraciiminis* vis-à-vis *Aspergillus* spp., *Fusarium roseum*, *Trichoderma* spp., *Penicillium* spp et *Stemphylium* spp.

## 5. Comportement associatif des deux souches :

*St. thermophilus* et *Lb. Bulgaricus* se développent en association (appelée protocoopération) dans des cultures mixtes (Figure 07) ayant un intérêt à la fois d'ordre technologique et nutritionnel.

Ces bactéries, par leur activité acidifiante, ont un effet bénéfique du point de vue qualité hygiénique du produit. En parallèle, elles engendrent des produits secondaires qui contribuent à la qualité organoleptiques du yaourt. D'un point de vue nutritionnel, l'activité fermentaire de ces espèces lactiques favorise une solubilisation des différents constituants du lait, améliorant ainsi leur biodisponibilité (COURTIN *et al.*, 2002 ; NGOUNOU *et al.*, 2003).



**Figure 07:** Schéma illustrant les interactions de *Sreptococcus thermophilus* et

*Lactobacillus bulgaricus* en culture mixte dans le lait (MAHAUT *et al.*, 2000).

## 6. Les différents types du yaourt:

En technologie, trois types de yaourts, différents selon la consistance ou non du gel formé peuvent être fabriqués : yaourts liquides (ou à boire), brassés ou fermes.

Le yaourt « à boire » ou liquide est battu après avoir été brassé puis conditionné et stocké au froid. Le yaourt « brassé » est préparé en vrac. Le caillé subit un brassage puis un refroidissement avant d'être conditionné en pots qui seront stockés au froid. Le yaourt « ferme » est conditionné en pots après mélange des ingrédients, passage à l'étuvage à 45°C puis en chambre froide pour arrêter l'acidification.

## 7. Technologie du yaourt:

La fabrication du yaourt, même si elle est connue depuis des temps très lointains, demeure un procédé assez complexe et en perpétuelle évolution car, il intègre à chaque fois les connaissances et les progrès réalisés dans des domaines variés tels : la biologie moléculaire et cellulaire, la chimie, la biophysique...etc.

Les étapes de fabrication (résumées sur la Figure 08) peuvent différer selon qu'on a affaire à un yaourt « étuvé » dont la fermentation se fait après conditionnement en pots et le yaourt « brassé », dont la fermentation se fait en cuve. Le coagulum obtenu dans ce dernier

cas est dilacéré et brassé pour être rendu plus ou moins visqueux, puis conditionné en pots.

Globalement, nous distinguons dans le processus d'élaboration les étapes énumérées ci-dessous.

### **7.1 Standardisation du mélange:**

La matière première utilisée (lait frais, lait reconstitué, mélange des deux) doit être de bonne qualité microbiologique, exempte d'antibiotiques ou autres inhibiteurs et parfaitement homogénéisée.

La teneur en matière grasse du yaourt est variable. Généralement, elle est ajustée de sorte que le produit entre dans l'une des catégories ci-après :

- yaourt entier : au minimum 3 % (en poids) de matière grasse ;
- yaourt partiellement écrémé : moins de 3 % de matière grasse ;
- yaourt écrémé : au maximum 0,5% de matière grasse.

L'homogénéisation (à des pressions de 250 atmosphères) réduit le diamètre des globules gras et permet ainsi une meilleure dispersion de celle-ci dans le produit, limite sa remontée au cours de l'incubation et donnent une consistance plus uniforme au yaourt fabriqué (**LITIM., 1984**).

La consistance et la viscosité du yaourt sont pour une grande partie sous la dépendance de la matière sèche du lait. La matière grasse confère de l'onctuosité, masque l'acidité et améliore la saveur. Les protéines améliorent la texture et masquent aussi l'acidité. Selon le Code des recommandations FAO/OMS (1975), la teneur minimale en matière sèche laitière non grasse doit être de 8,2 % (en poids) quelle que soit la teneur en matière grasse.

### **7.2 Traitement thermique:**

La préparation du lait terminée, celui-ci est soumis alors à un traitement thermique de pasteurisation (94 à 96°C pendant 3 à 5 minutes). Ce traitement a pour but de:

- Détruire les micro-organismes pathogènes pouvant être présents et la plus grande partie de la flore banale. Il permet aussi la suppression éventuelle d'inhibiteurs naturels et la stimulation des bactéries par l'apparition de facteurs de croissance ;
- Provoquer un dépolissement par dénaturation partielle des protéines solubles et leur fixation sur les caséines. Cet effet a pour conséquence d'augmenter les capacités de rétention d'eau du yaourt entraînant la modification des propriétés rhéologiques du coagulum acidifié. Le caillé devient plus ferme et la tendance à l'expulsion de sérum au cours du stockage est réduite. Avec ce traitement, le yaourt brassé présente une structure plus homogène et

visqueuse (ANONYME., 1995).

Immédiatement après le traitement thermique, le lait reconstitué est refroidi à une température de 6C° puis stocké dans des tanks pour être, par la suiteensemencé.

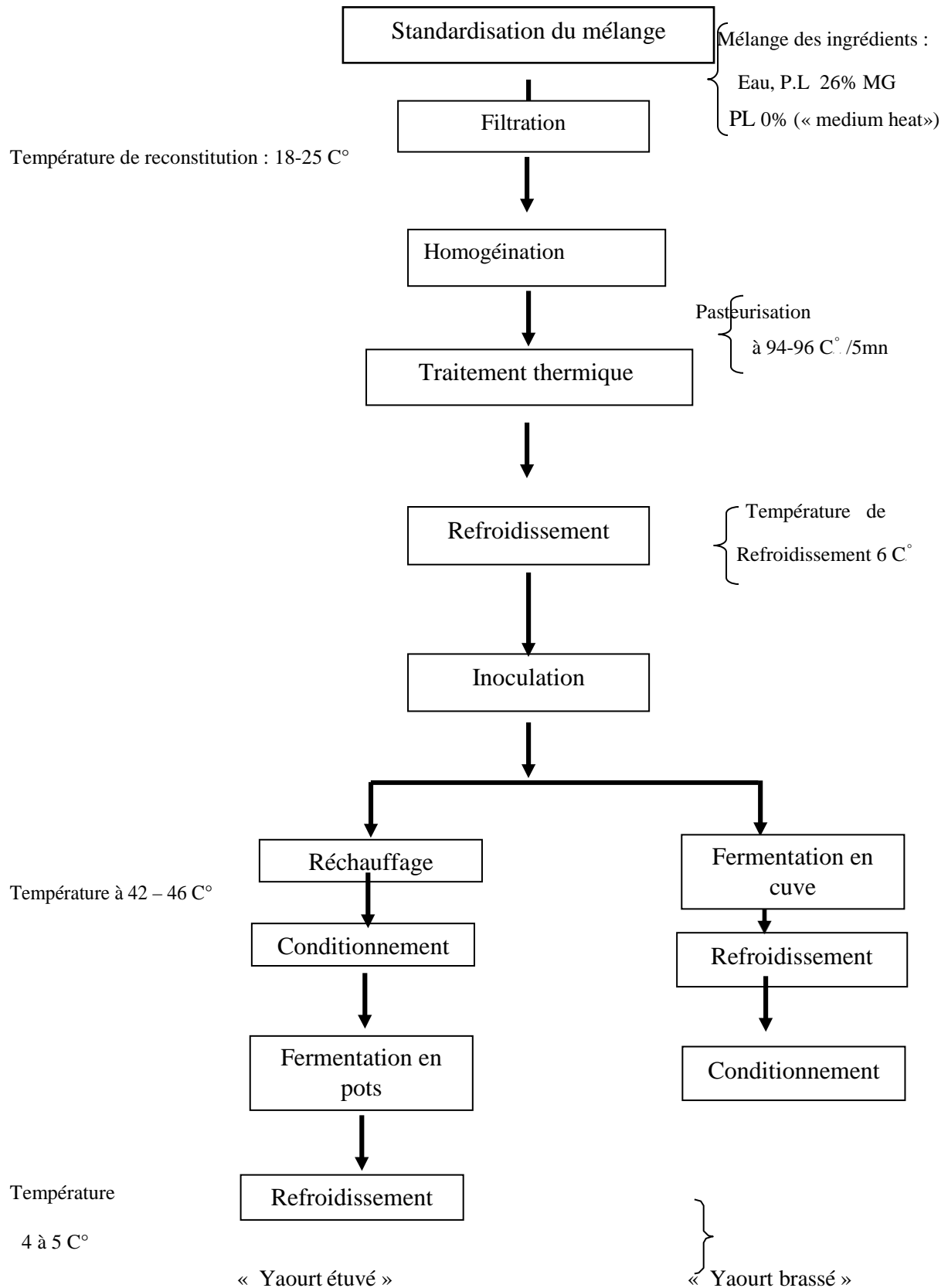
### **7.3 Ensemencement:**

Elle se fait à l'aide d'un levain comprenant exclusivement chacune des deux bactéries spécifiques du yaourt : *Streptococcus salivarius*, subsp. *Thermophilus*, et *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. La culture utilisée estensemencée à raison de 2%. Une bonne agitation est nécessaire pour rendre parfaitement homogène le mélange lait/ferment.

### **7.4 Réchauffage:**

Le lait reconstitué ainsiensemencé est amené à une température généralement voisine de 45 C° par passage à travers des réchauffeurs à plaques. La température optimale de développement du *Streptocoque* est de 42- 45°C ; celle du *Lactobacille* de 47-50C°.

Selon les régions, les consommateurs préfèrent des yaourts plus ou moins acides et plus ou moins aromatiques. Les caractères recherchés dépendent des souches utilisées et de la température d'incubation. En abaissant celle-ci de 1 à 3C° (42-44C°), on favorise le développement du streptocoque et donc la production d'arôme. En l'augmentant légèrement (45-46 C°), on favorise le lactobacille et donc la production d'acide.



**Figure 08 :** Diagramme des principales étapes de fabrication du yaourt.

PL : poudre de lait ; MG : matière grasse

### **7.5 Etuvage / brassage:**

Selon la nature du yaourt à fabriquer, on procède soit à une incubation au niveau des chambres chaudes (dans le cas du yaourt ferme) ou à une fermentation

### **7.6 Phase d'incubation (étuvage):**

Dans le cas des yaourts étuvés (dit aussi en pot, fermes ou traditionnels), le laitensemencé est rapidement réparti en pots en plastique (poly-vinyl). Dans le cas des yaourts sucrés, aromatisés, aux fruits, à la confiture.... etc, l'apport des additifs se fait avant le remplissage des pots.

Après le capsulage (fermeture étanche par une membrane en aluminium), les pots sont acheminés vers une chambre chaude pour incubation qui dure environ de 2 à 3 heures. L'acidification dépend de la température et de la durée d'incubation. Les pots sont maintenus dans l'étuve jusqu'à l'obtention d'une acidité de 0,75 (au minimum) à 1% environ d'acide lactique, soit 75 à 100° Dornic. Le caillé obtenu dans ces conditions doit être ferme, lisse et sans exsudation de sérum.

Une fois l'acidité attendue est atteinte, les pots de yaourts sont alors immédiatement sortis des locaux d'étuvage, refroidis le plus rapidement possible à la température de +4°C, ce qui a pour but d'arrêter l'acidification par inhibition des bactéries lactiques. Les pots sont ensuite stockés à cette température pendant 12 à 24 heures de façon à augmenter la consistance du produit sous l'effet du froid.

### **7.7 Brassage :**

En vue de fabriquer des yaourts brassés, le laitensemencé est maintenu en cuve à la même température que dans le cas des pots (entre 42 et 46 °C) jusqu'à obtention de l'acidité voulue. On procède par la suite au découpage et au brassage du caillé pour le rendre onctueux. Ce traitement, qui doit se faire avec précaution pour ne pas induire des transformations indésirables, a pour but de rendre le caillé onctueux. Il doit être réalisé avec précaution en optant par l'un des procédés suivants :

- agitation mécanique à l'aide d'un brasseur à turbine ou à hélice ;
- passage du gel à travers un tamis ;
- homogénéisation à basse pression.

Une fois ce traitement opéré, le caillé est immédiatement et rapidement refroidi à une température inférieure à 10 °C. La réfrigération dans le tank se fait trop lentement et

peut provoquer une suracidification. C'est pour cette raison qu'elle doit être réalisée par passage dans un échangeur-réfrigérant à plaques ou tubulaire. Le brassage du caillé au cours de la réfrigération améliore l'onctuosité du produit.

Le yaourt est ensuite conditionné en pots et conservé entre 2 à 4°C. L'addition éventuelle d'arômes, de pulpes de fruits, etc., se fait au moment du remplissage des pots.

Notons que le yaourt à boire se différencie du brassé par son état liquide qui l'assimile à une boisson. Sa fluidité est obtenue par une diminution de la teneur en matière sèche. Le brassage, effectué par passage à l'homogénéisateur sous pression inférieure à 50 atmosphères, donne une viscosité inférieure d'environ 50 % à celle obtenue par brassage mécanique.

## **7.8 Conservation des yaourts :**

Préparés selon une technologie rigoureuse et dans des conditions hygiéniques strictes, ces produits peuvent se conservés environ 3 semaines jusqu'à la vente au consommateur sous réserve d'être maintenus au froid (entre 4 et 8°C).

Si le maintien des yaourts au froid empêche la multiplication bactérienne, il n'arrête pas complètement leur activité métabolique. Bien que lente, la production d'acide lactique se poursuit. De plus, des enzymes hydrolysent les protéines avec, comme conséquences, une diminution de la fermeté et de la viscosité et l'apparition de peptides à goût amer. Pour ces raisons, on procède parfois, quand la réglementation le permet, à un traitement thermique après la fermentation.

## **8. Qualités du yaourt :**

### **8.1 Aspects physico-chimiques :**

Le yaourt doit répondre aux caractéristiques suivantes :

- couleur franche et uniforme ;
- goût franc et parfum caractéristique ;
- texture homogène (pour le yaourt brassé) et ferme (yaourt étuvé).

### **8.2 Aspects hygiéniques:**

Selon la norme nationale de 1998, N°35 parue au Journal Officiel, les yaourts ne doivent contenir aucun germe pathogène.

Le traitement thermique appliqué sur le lait avant fabrication du yaourt est suffisant

pour détruire les micro-organismes non sporulés pathogènes ou non. Leur présence dans le yaourt ne peut être que de manière accidentelle. Le pH acide du yaourt le rend hostile aux germes pathogènes, comme pour la plupart des autres germes indésirables.

Les levures et les moisissures peuvent se développer dans le yaourt. Ces dernières proviennent principalement de l'air ambiant dont la contamination se situe au stade du conditionnement (LARPENT et BOURGEOIS., 1989).

### 8.3 Défauts et altérations du produit :

Comme l'élaboration du yaourt fait intervenir plusieurs étapes clés où la fermentation et la formation du gel doivent être minutieusement dirigées et surveillées, il est fréquent que des altérations de goût, d'apparence et de texture (résumés dans le tableau 05) apparaissent et dont certaines sont préjudiciables à la qualité finale du produit (LUQUET., 1985).

**Tableau 05** : principaux défauts de goût (A), de texture (B) et d'apparence (C) rencontrés dans la fabrication des yaourts

(A)

Nature	Causes
<b>Amertume</b>	Trop longue conservation ; Activité protéolytique trop forte des ferments ; Contamination par des germes protéolytiques.
<b>Goût levuré, fruité, alcool</b>	Contamination par des moisissures ; Fruits de mauvaises qualités pour les yaourts aux fruits.
<b>Goût plat, absence d'arôme</b>	Mauvaise activité des levains (déséquilibre de la flore, incubation trop courte ou à trop basse température), teneur en matière sèche trop faible.
<b>Manque d'acidité</b>	Mauvaise activité des levains (taux d'ensemencement trop faible, incubation trop courte ou à basse température, inhibiteurs dans le lait, bactériophages).
<b>Trop d'acidité</b>	Mauvaise conduite de la fermentation (taux d'ensemencement trop fort, incubation trop longue ou à température trop élevée ; Refroidissement pas assez poussé, trop lent ; Conservation à trop haute température.
<b>Rancidité</b>	Contamination par les germes lipolytiques et traitement thermique trop faible.

<b>Goût farineux, de poudre</b>	Poudrage trop poussé.
<b>Goût oxydé</b>	Mauvaise protection contre la lumière (pots en verre surtout) ; Présence de métaux (fer, cuivre)
<b>Goût de cuit</b>	Traitement thermique trop sévère.
<b>Goût aigre</b>	Mauvaise conduite des levains (contamination par une flore lactique sauvage – coliformes).
<b>Goût gras</b>	Teneur en matière grasse trop élevée.

**(B)**

<b>Nature</b>	<b>Causes</b>
<b>Déculottage</b>	Agitation ou vibration pendant le transport faisant suite à un refroidissement mal conduit en chambre froide (pour le yaourt ferme).
<b>Manque de fermeté (pour yaourt étuvé)</b>	Ensemencement trop faible ; Mauvaise incubation (temps et ou température trop faible) ; Agitation avant complète coagulation ; Matière sèche trop faible.
<b>Trop liquide (pour le yaourt brassé)</b>	Brassage trop violent ; Mauvaise incubation (temps trop faible) ; Matière sèche trop faible ; Mauvais ferments (pas assez épaississants) ; Fruits ou arômes pas assez concentrés.
<b>Trop filant</b>	Mauvais ferment (trop filant) ; Température d'incubation trop faible.
<b>Texture sableuse</b>	Chauffage du lait trop important ; Homogénéisation à température trop élevée ; Poudrage trop fort ; Mauvais brassage ; Acidification irrégulière et trop faible.
<b>Texture granuleuse</b>	Mauvais brassage ; Teneur en matière grasse trop élevée ; Mauvais choix des ferments.

(C)

Nature	Causes
<b>Décantation, synérèse</b>	Suracidification ou post acidification (mauvaise conduite de la fermentation) ; Température trop élevée pendant le stockage ; Conservation trop longue ; Refroidissement trop faible ; Agitation trop poussée et admission exagérée d'air (pour le yaourt brassé) ; Mauvaise adjonction des fruits ou des pulpes de fruits ; Agitation des yaourts (yaourt ferme) ; Teneur en matière sèche trop faible.
<b>Production de gaz</b>	Contamination par des levures et des coliformes.
<b>Colonies en surface</b>	Contamination par des levures et moisissures.
<b>Couche de crème</b>	Mauvaise ou absence d'homogénéisation.
<b>Produit sur le couvercle</b>	Mauvaise manutention.
<b>Produit non homogénéisé</b>	Mauvaise agitation (dans le cas des yaourts aux fruits).

## 8.4 Qualité organoleptique:

### 8.4.1 Gélification acide:

Les structures principales impliquées lors de la gélification acide du lait sont les micelles de caséines. Lors de la baisse du pH, due à la fermentation lactique, les micelles de caséines subissent des changements substantiels. Le déplacement de l'équilibre acido-basique entraîne une diminution progressive de la charge ionique des micelles qui devient nulle. En parallèle, une solubilisation du phosphate de calcium micellaire est observée, entraînant la dissolution de la structure micellaire. Le pH auquel commence la gélification du lait dépend de la température et des prétraitements thermiques (**TAMIME et ROBINSON., 1985**).

L'abaissement du pH par acidification entraîne une déminéralisation progressive des micelles de caséines. Celles-ci vont s'associer entre-elles par formation de liaisons hydrophobes, hydrogènes et électrostatiques pour former un réseau protéique retenant la

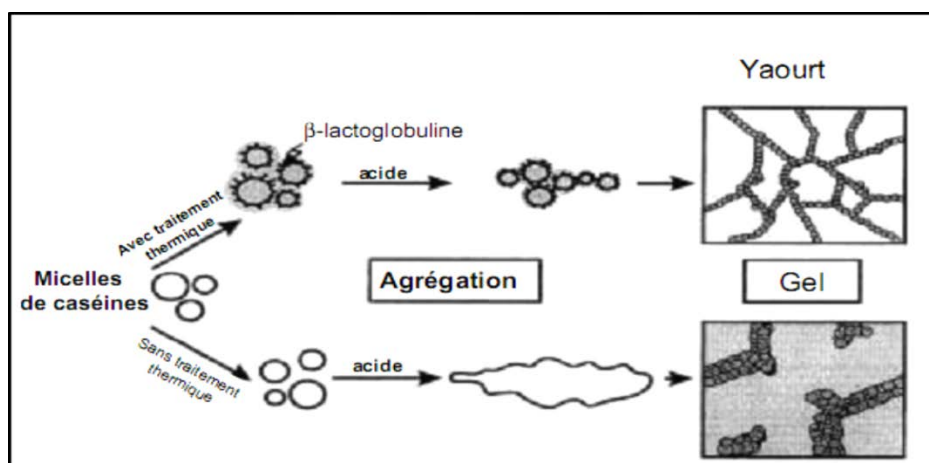
phase aqueuse. A un pH inférieur au point isoélectrique (pH=4,6), les micelles qui flocculent, précipitent, du fait de leur densité, et le réseau formé se stabilise et n'évolue pratiquement plus.

Les études réalisées sur la microstructure du gel ainsi formé montrent que celle-ci dépend de plusieurs facteurs dont la concentration en matière sèche (SCHKODA *et al.*, 1998 ; VAN MARLE., 1998), la méthode d'enrichissement du lait (TAMIME *et al.*, 1984), le traitement thermique subi (KESSLER., 1998) et enfin, la nature des souches bactériennes utilisées et de leur capacité à synthétiser des polysaccharides exocellulaires (EPS) capables d'augmenter la viscosité du gel (HASSAN *et al.*, 1995).

Ainsi, les travaux de KESSLER (1998) montrent que les micelles de caséines issues d'un yaourt fabriqué à partir de lait chauffé forment des chaînettes bien liées entre elles, tandis qu'elles forment des agrégats dans un yaourt fabriqué à partir du lait non chauffé (figure 4). Cette différence est essentiellement due au comportement de la  $\beta$  - Lactoglobuline (protéine sérique majoritaire) qui a la propriété de former un complexe protéique avec la caséine kappa (DALGLEISH., 1990).

#### 8.4.2 Comportement rhéologique:

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



**Figure 09:** Effet du traitement thermique sur la microstructure du yaourt (KESSLER *et al.*, 1998)

La connaissance précise de ce comportement rhéologique est nécessaire pour la conception et le dimensionnement des installations de transformation. Elle permet

également d'appréhender la texture des produits finis.

Le yaourt est défini comme un fluide viscoélastique. Il possède donc à la fois les propriétés visqueuse d'un liquide et les propriétés élastiques d'un solide. Le comportement rhéologique du yaourt est de type non newtonien, dans ce sens où la viscosité du produit dépend de la vitesse de cisaillement ou de la contrainte exercée.

La loi de Newton s'écrit :  $\mu = \tau / \dot{\gamma} = \text{constant}$  où  $\mu$  = viscosité (Pa.s),

$\tau$  = contrainte de cisaillement (Pa),  $\dot{\gamma}$  = vitesse de cisaillement ( $s^{-1}$ ).

Dans le cas des yaourts, la viscosité diminue quand la vitesse de cisaillement augmente. On parle dans ce cas de viscosité apparente à une vitesse de cisaillement donnée.

Différents appareils de laboratoire sont utilisés pour caractériser les propriétés rhéologiques, à savoir le viscosimètre Brookfield, le rhéomètre rotatif, les pénétromètres, ou encore l'entonnoir de Posthumus.

Généralement, les viscosimètres permettent de mesurer uniquement les propriétés visqueuses (viscosité apparente), tandis que les rhéomètres mesurent les propriétés visco-élastiques. En fonction de la géométrie du module de mesure, des contraintes ou des vitesses de cisaillement appliquées, les analyses réalisées déstructurent plus au moins le gel lactique.

## **9. Les effets des yaourts et autres laits fermentés sur la santé :**

Un lait fermenté contient deux éléments essentiels : les bactéries vivantes, en quantité suffisante, et les métabolites qu'elles ont produits au cours de la fermentation. Bien que les métabolites soient difficiles à caractériser et à étudier et que les recherches aient surtout porté sur les bactéries, c'est bien l'ensemble du produit qui doit être considéré.

Les effets que peuvent engendrer les laits fermentés sont liés au devenir des ferments dans le tractus digestif : les bactéries vivantes sont confrontées au cours de leur transit à des conditions drastiques (acidité gastrique, acide biliaires, enzymes digestives. . .) qui affectent fortement leur survie (**NS. P et sante. Diet C N., 2007**). La résistance à ces facteurs a été souvent utilisée par les industriels pour sélectionner les souches les plus résistantes et les mieux capables de survivre aux stress digestifs. Cette survie est par ailleurs améliorée grâce au pouvoir tampon et à l'organisation supramoléculaire de la matrice laitière qui joue un rôle protecteur sur les micro-organismes. Le tractus digestif est le site d'action initial des laits fermentés. Bien que la motricité importante de l'intestin grêle fasse transiter les laits fermentés rapidement jusqu'au colon où elles séjourneront de quelques heures à quelques jours, les bactéries des laits fermentés peuvent exercer une action dans l'intestin grêle ou le

macrobiote de l'hôte est beaucoup moins abondant que dans le colon.

### **9.1 L'effet des yaourts sur la digestion du lactose :**

L'effet favorable des ferments vivants du yaourt sur la digestion du lactose a été reconnu par les experts de l'Agence européenne de sécurité alimentaire au cours de l'année écoulée (EFSA., 2010), sur la base de treize études cliniques (Syndifrais., 2011). Le mécanisme d'action implique la  $\beta$ -galactosidase bactérienne qui catalyse la rupture de la liaison osidique entre le glucose et le galactose. On ne peut exclure, a priori, la possibilité que la  $\beta$ -galactosidase puisse être libérée à partir de bactéries détruites lors du transit. Il est cependant probable qu'elle serait alors rapidement inactivée dans le tractus digestif. Une autre hypothèse met en jeu l'activité enzymatique intra-bactérienne et a été confirmée chez l'animal (Drouault S et al., 2002), chez des souris axéniques, l'inactivation de la  $\beta$ -galactosidase aboutit à la mal digestion du lactose ingère, qui est alors retrouvée en totalité dans les selles. Plus intéressant, l'inactivation de la perméase de l'opéron lactose, nécessaire au transport du lactose à l'intérieur de la bactérie, aboutit au même résultat. L'hydrolyse du lactose se ferait donc à l'intérieur de la bactérie. Cette observation implique, d'une part, que la membrane des bactéries ingérées est intacte puisque le lactose n'est pas digéré si la perméase est inactivée et, d'autre part, que les bactéries ingérées restent vivantes puisque le fonctionnement de la perméase dépend de l'entretien d'un gradient de protons transmembranaire.

### **9.2 L'effet des laits fermentés sur les troubles fonctionnels intestinaux (TFI) :**

On a pu démontrer que certains laits fermentés, notamment ceux renfermant une souche de *Bifidobacterium* (Marteau P et al., 2002), permettaient d'accélérer les transits lents. Une amélioration du confort intestinal dans des cas de TFI a pu être démontrée pour plusieurs types de laits fermentés au moyen de questionnaires spécifiques ou de techniques mesurant la distension abdominale. L'utilisation de ces produits ou des bactéries qu'ils contiennent figure depuis peu dans les recommandations pour le traitement des TFI en Angleterre (NICE., 2008) et en Allemagne (Layer P et al., 2011).

### **9.3 L'effet des laits fermentés sur les diarrhées :**

De nombreux essais cliniques ont testé l'effet de bactéries lactiques sur les diarrhées infectieuses de l'enfant : l'effet de certaines souches bactériennes sur la réduction du risque d'apparition d'une diarrhée infectieuse et sur la diminution de sa sévérité (évaluée en termes de durée de l'épisode) a été mis en évidence dans différentes méta-analyses (Sazawal S al.,

2006) (Allen SJ et al., 2004). Il faut toutefois noter que ces méta-analyses incluent à la fois des études testant des laits fermentés et des études testant des bactéries lyophilisées (i.e. non incluses en matrice laitière fermentée).

Certains laits fermentés ont montré un effet favorable dans la prévention de diarrhée post-antibiothérapie : l'administration d'un lait fermenté par *L. casei* à des personnes âgées traitées par des antibiotiques diminue ainsi les cas de diarrhée à *Clostridium difficile* (Hickson M et al., 2007).

#### **9.4 L'effet des laits fermentés sur les infections à *Helicobacter pylori* :**

*H. pylori* est un micro-organisme pathogène responsable d'ulcères gastro-duodénaux et de gastrites chroniques. Plusieurs essais cliniques basés sur l'hypothèse que certaines souches de *Lactobacillus* peuvent résister en partie à l'acidité gastrique ont porté soit sur la seule utilisation d'un lait fermenté, soit sur l'utilisation concomitante de lait fermenté et d'une multi-thérapie classique associant antibiotiques et inhibiteurs de la pompe à proton. Une récente méta-analyse a conclu à une amélioration de 5 à 15 % de l'éradication de *H. pylori* (Sachdeva A, Nagpal J., 2009).

#### **9.5 L'effet des yaourts et laits fermentés sur l'immunité :**

La consommation de laits fermentés contenant certaines souches de bactéries lactiques, en même temps qu'une vaccination, permettrait de stimuler la production d'anticorps grâce à un pouvoir adjuvant. L'ensemble des essais cliniques menés chez l'homme (vaccination anti-rotavirus) (Isolauri E et al., 1995), anti-salmonelle (Link-Amster H et al., 1994), vaccination antigrippale (Boge T et al., 2009) suggère une potentialisation de la réponse vaccinale.

#### **9.6 L'effet des yaourts et laits fermentés sur les phénomènes allergiques :**

Les laits fermentés contenant des bactéries probiotiques augmentent la stimulation bactérienne de l'immunité muqueuse dans les premiers mois de la vie et pourraient améliorer l'équilibre entre les lymphocytes de type Th1 et de type Th2, dont la rupture est à l'origine du développement de maladies allergiques. Plusieurs essais cliniques ont été bâtis sur cette hypothèse et ont administré un lait fermenté à des mères avant l'accouchement et aux nouveau-nés pendant les premiers mois de la vie. Certains travaux ont montré une diminution allant jusqu'à 50 % du risque d'apparition d'une allergie chez ces enfants à risque (Kalliomaki M et al., 2001). Mais d'autres études n'ont pas montré d'effets et il n'y a pas aujourd'hui de consensus permettant de recommander la consommation de laits fermentés chez des sujets à risque d'allergie (Pan SJ et al., 2010).

## **1. Définition de l'additif alimentaire :**

"On entend par additif (directive 89/107/CEE du conseil du 21 décembre 1988): toute substance habituellement non consommée comme aliment en soi, habituellement non utilisée comme ingrédient caractéristique dans l'alimentation, possédant ou non une valeur nutritive. Son adjonction intentionnelle aux denrées alimentaires est faite dans un but technologique, au stade de leur fabrication, transformation, préparation, traitement, conditionnement, transport ou entreposage: elle a pour effet de devenir elle-même, ou ses dérivés, un composant des denrées alimentaires".

Quatre traits essentiels sont à retirer de cette définition:

- On ne parle pas de produit chimique pour désigner un additif, mais uniquement de "substance". Cette expression est plus générale, mais doit bien être distincte de la définition d'aliment ;
- L'additif est une substance ajoutée volontairement, donc connue en quantité et en qualité ;
- Il est employé dans un but déterminé, pour jouer un rôle reconnu utile ;
- Il demeure dans l'aliment, lui ou ses dérivés s'il se transforme (**VIERTING. E., 2008**).

## **2. Qualité des additifs :**

L'accent a été mis sur la qualité des additifs. Ceux-ci sont autorisés à partir d'une préparation déterminée mise au point par un fabricant. D'autres producteurs peuvent cependant commercialiser la même substance obtenue un peu différemment. On a pu relever des préparations comportant des impuretés nuisibles dues :

- Aux matières premières : présence de métaux lourds apportés par les substances minérales naturelles employées;
- A un procédé de fabrication différent de celui du produit expertisé : les impuretés ne sont alors plus les mêmes;
- A des fabrications ne respectant pas les phases de purification nécessaires. Ceci a conduit à publier, dans le Journal Officiel, des spécifications minimales, des règles d'étiquetage engageant le producteur d'additifs, mais c'est au fabricant de denrées alimentaires qu'il appartient de s'assurer que les garanties nécessaires sont bien respectées (**HUBERT.S., 1997**).

### **3. Utilisation d'additifs nutritionnels a des fins de sante publique :**

Cas de carences nutritionnelles déclarées: les carences en vitamine D fréquentes durant les périodes de croissance rapide, notamment jusqu'à l'âge de vingt mois, et nécessitent alors une prévention contre le rachitisme. Aux USA, la supplémentation du lait est systématique en vitamine D, attitude diamétralement opposée à celle de la France où la vitamine D est classée parmi les substances médicamenteuses réglementées et est interdite en tant qu'additif nutritionnel.

Le goitre a définitivement disparu (sauf cas pathologiques) depuis que l'addition d'iode est devenue systématique au sel de cuisine (**HUBERT.S., 1997**).

### **4. Justification de l'emploi d'additifs a finalité nutritionnelle :**

On peut trouver la justification de l'emploi de ces additifs par leur fonction :

Restauration : addition de nutriments en vue de compenser les pertes survenues en cours de traitement de préparation ou de transformation. Le but n'est pas de combattre une carence, mais de restaurer au niveau initial les concentrations en nutriments; exemple la restauration de la vitamine C dans les pommes de terre en flocons.

- Enrichissement : addition de nutriments à des aliments choisis, dans un but de santé publique.

- Inter supplémentation consistant à associer entre elles des protéines qui se complètent mutuellement, du fait de leur composition différente et complémentaire en acides aminés essentiels.

- Lutte contre les maladies de carence

- rétablissement d'équilibres alimentaires normaux (**HUBERT.S., 1997**).

## 5. Origines des additifs alimentaires :

Les diverses origines des additifs et les techniques qui permettent de les obtenir peuvent être présentées sous quatre rubriques :

**Tableau 06:** les diverses origines des additifs et les techniques de leurs obtentions (**Brigand. G., 1998**)

Produit d'origine végétal	Agents épaississants : extrait de graines, de fruits et algues Colorant ; isolés à partir de graines de fruits et de légumes. Agents acidifiants ; comme l'acide tartrique des fruits
Produit identique aux produits d'origine naturelle obtenus par synthèse ou biosynthèse	Agents anti oxydant : comme l'acide ascorbique des fruits ou le tocophérol des huiles végétales Colorants : comme les caroténoïdes, matières colorantes de nombreux fruits et légumes Agents acidifiants : comme l'acide citrique présent dans les agrumes
Produits obtenus par la modification des substances naturelles	Agents émulsifiant : dérivés d'huiles comestibles et acides organiques Agents épaississant : tels que les amidons modifiés et les celluloses modifiées Edulcorants de charge : comme le sorbitol ou le maltitol
Produits artificiels	Agents anti oxydants : comme le butylhydroxyanisole (BHA) Colorants : comme l'indigotine ou le jaune de quinoléine Edulcorant intenses : comme la saccharine

## 6. Les fonctions des additifs alimentaires :

Les additifs alimentaires jouent aujourd'hui un rôle très important dans l'approvisionnement alimentaire. Ces additifs ajoutés en quantité permettent notamment :

D'aider à la conservation en empêchant la présence et le développement des microorganismes indésirables (ex : moisissures ou bactéries responsables d'intoxication alimentaires) on les appelle conservateurs.

- ✓ D'éviter ou de réduire les phénomènes d'oxydation qui provoquent entre autres le rancissement des matières grasses ou le brunissement des fruits et légumes coupés : on les appelle agent de texture (émulsifiants, épaississants, gélifiants).

- ✓ De rendre ou de confère une coloration aux aliments : on les appelle colorants.
- ✓ De renforcer leur goût « exhausteur de goût » (**lederder., 1978**).

En alimentation, les additifs alimentaires sont pour but :

- ✓ De préserver la qualité nutritionnelle des aliments en évitent par exemple la dégradation des vitamines, des acides aminés essentielles et des graisse insaturées, bénéfique pour la santé
- ✓ De maintenir la qualité hygiénique des aliments en prévenant par exemple la contamination microbienne et retardant les phénomènes d'oxydation.
- ✓ D'offrir au consommateur des aliments ayant des caractéristiques répandant à ses attentes.
- ✓ D'améliorer la consistance, la texture, le goût, la couleur ou la saveur des aliments.
- ✓ De faciliter les processus de fabrication d'emballage et de stockage des aliments (**lederder., 1978**).

## **7. Principales catégories des additifs alimentaires :**

Il existe plusieurs types d'additifs alimentaires les plus communément en industrie agro alimentaires sont représentés dans le (tableau 06).

**Tableau 07** : les additifs alimentaires (**Manfred et Nicole., 1998**).

Colorant	Amidon modifié
conservateur	Edulcorant
Anti-oxygène	Poudre à lever
Emulsifiant	Anti- moussant
Sel de foute	Agent d'enrobage
Epaississant	Agent de traitement de la farine
Gélifiant	Affermissant
Stabilisant	Humectant
Exhausteur de goût	Séquestrant
Acidifiant	Enzyme
Correcteur d'acidité	Agent de charge
Antiagglomérant	Gaz propulseur et gaz d'emballage

## **7. La DJA :**

Fort heureusement, la majorité des additifs utilisés semblent inoffensifs, les additifs pour lesquels des effets toxiques ont pu être démontrés lors de l'évaluation toxicologique sur l'animal à haute dose se voient attribuer une dose journalière admissible(DJA) "**la dose quotidienne d'une substance qui peut être ingérée sans risque la vie durant**". Exprimée en milligrammes par kilo de poids corporel et par jour (mg/kg/jour).

Un comité d'experts scientifiques (les membres constitutifs portés en annexe 6) dont le rôle est de déterminer une "**dose sans effets**" c'est -à-dire une dose maximale n'ayant aucun effet toxique démontrable partir de toutes les données toxicologiques disponibles.

A partir de cette dose sans effets, on calcule la DJA en prenant une marge de sécurité celle-ci garantirait donc l'absence d'effets indésirables; même avec une consommation journalière au long cours (MARIE-LAURE ANDRE., 2013).

### **7.1. Exemple de calcul de la DJA :**

Si une DJA de 40mg/kg/jour est attribuée à un additif alimentaire et si un individu pèse 65 kilos, il ne doit pas dépasser  $40 \cdot 65 = 2600$ mg de cet additif par jour, soit 2,6 g.

L'inquiétude porte depuis quelques années sur les effets additionnels et synergiques de ces substances dans l'organisme, par ailleurs, cette fameuse DJA tient-elle compte de l'omniprésence des additifs dans les plats préparés, soupes et sauces industrielles, et dans tous les autres produits alimentaires que nous consommons quotidiennement? Cette DJA étant calculée à partir d'un modèle moyen de consommation, comment pouvons-nous être sûrs que personne ne dépasse ces dose limites? (MARIE-LAURE ANDRE., 2013).

### **7.2. Données toxicologiques :**

L'ensemble des études effectuées va permettre de déterminer le NOEL (No Observed Effect Level) - similaire à l'ancienne DSE (Dose Sans Effet). Cette valeur définit, en principe, la dose absorbable sans effet adverse. Elle permet d'établir la DJA (Dose Journalière Admissible), exprimée en mg/kg de poids corporel, pour un individu de référence dont le poids est de 60 kg. D'une façon très générale, et pour tenir compte que l'Homme pourrait être plus sensible que l'animal de laboratoire à la substance testée, la DJA est, le plus souvent, égale à 1/100 du NOEL, pour tenir compte également d'autres effets connus : état nutritionnel, âge, état sanitaire, etc. Les experts du Codex ont développé des approches particulières :

**- DJA sans limite ou non spécifiée:** Compte tenu des données cliniques, Biochimiques et toxicologiques, la DJA ne constitue pas un danger pour la santé. Il n'y a donc pas de DJA

exprimée en mg/kg. Une DJA non spécifiée est le statut le plus favorable pour un additif alimentaire ;

- **DJA temporaire:** Une DJA temporaire peut être fixée en attendant que des données complémentaires soient fournies dans un délai déterminé, les données toxicologiques disponibles sont toutefois déjà suffisantes pour garantir la sécurité d'emploi de l'additif ;

- **DJA non fixée:** Cette conclusion correspond aux cas suivants :

Insuffisance d'informations pour démontrer l'innocuité de la substance ;

Aucun renseignement disponible quant à l'utilisation en tant qu'additif alimentaire ;

DJA supprimée par suite de données toxicologiques insuffisantes ou parce que des renseignements complémentaires n'ont pas été fournis (**Hubert, S., 1997**).

## **8. Les risques engendrent des additifs alimentaires sur la santé humaine :**

De nombreux risques pour la santé humaine peuvent être engendrés par de ces substances dont :

**a) Allergies :** sont les réactions les plus fréquentes après consommation des additifs, il est estimé qu'environ 3% de la population serait allergique à ce type de réaction. Les additifs provoqueraient chez certaines personnes sensibilisées des chocs anaphylactiques.

**b) Cancer :** des additifs autorisés en France peuvent provoquer des troubles graves voire des maladies telles que les cancers. A ce jour, l'additif le plus redouté est un conservateur, le « BHA » (bylhydroxyanisol) classé comme cancérogène possible par le centre international de recherche sur le cancer (**Codex alimentaire., 1981**).

**c) Effet mutagènes :** Aux allergies et aux cancers s'ajoutent de nombreux autres dangers potentiels révélés sur les animaux soumis à des additifs particulières. L'emploi irraisonné de certains additifs pourrait entraîner un effet mutagène (**Danone., 1993**).

## 1. Objectif :

Le but de ce travail expérimental consiste à étudier l'effet d'incorporation de la farine de caroube à différents taux dans un lait fermenté type yaourt sur les caractères physico-chimiques, microbiologiques et organoleptiques durant la période de post-acidification.

## 2. Provenance de l'échantillon :

On a utilisé la caroube récoltée à partir des régions de Knaneda de la commune de Sidi-lazreg wilaya de Relizane.

## 3. Protocole expérimental :

L'étude consiste tout d'abord à fabriquer un lait fermenté (type yaourt) avec un taux de poudre entier de 130 g/l à 26% de matière grasse aux quels sont incorporés les taux variables de farine de caroube à raison de (0%, 0,5%, 1% et 1,5%) respectivement. L'ensemencement des souches spécifiques du yaourt dont *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* est effectué à un taux fixe de 3% de levain préparé à partir des souches lyophilisées (*S. thermophilus* et *L. bulgaricus*) concentrées pour l'ensemencement direct (CHR HANSEN ; Batch N°=3249491 ; DOM/BBD : 09.2015/09.2017 ;

storage : < -18C°/ < 0 F°).

Durant ce travail, chaque paramètre étudié est représenté par trois pots d'une capacité de 100 ml, soit un nombre de 12 échantillons expérimentaux.

### 3.1. Préparation de l'échantillon :

Les gousses de caroube doit être laver par l'eau et concasser pour facilité leur dessiccation puis exposer au soleil pour séché.

Après l'élimination des grains on fait un broyage à l'aide un broyeur, le produit passe par un tamis à des pores très fine. Enfin on obtient la farine de caroube.

### 3.2. Préparation des levains:

Le lait est reconstitué à partir d'une poudre de lait entier à raison de 130 g/l.

Le mélange est homogénéisé jusqu'à la dissolution complète puis chauffé à 100°C pendant 10 minutes.

On prend une prise de 0,5g de la souche lyophilisé et cultivée dans un litre de lait pasteurisé préparé au préalable à 130 g/l (13%) est maintenu à 45°C durant environ une heure pour leur activation.

### **3.3. Technologie de fabrication du yaourt :**

**3.3.1 Pasteurisation :** le lait préalablement préparé subit une pasteurisation à 90°C pendant 5 minutes pour détruire les germes pathogène tout en réduisant sa charge microbienne, ensuite refroidi à 45°C, c'est la température favorable pour la croissance des bactéries lactiques.

### **3.3.2. Ensemencement des levains :**

Les levains sont ensemencés dans des conditions aseptiques directement dans des pots à raison de 3% contenant le lait expérimental préparé au préalable.

En même temps, on effectuée une incorporation de farine de caroube à des taux de (0%, 0,5%, 1% et 1,5%).

### **3.3.3. Etuvage :**

Pour favoriser la croissance des bactéries lactiques il faut mettre le lait déjà ensemencé par les levains à l'étuve réglée à 45°C pendant 3 heures.

### **3.3.4. Refroidissement :**

Pour arrêter la croissance des bactéries lactiques, le lait étuvé doit être mis en réfrigérateur à une température de 4 à 6°C.

### **3.3.5. Conditionnement :**

Le lait ensemencé est réparti dans des pots stériles de capacité de 100 ml

### **3.3.6. Conservation :**

Les yaourts obtenus sont stockés en frigo à température de 4 à 6°C durant toute la période de post-acidification.

## **4. Analyse physico chimique du yaourt :**

Tout les analyses ont été répétées trois en fois et la moyenne des valeurs obtenus a été considérée.

### **4.1. Mesure de pH :**

Le pH est déterminé à l'aide d'un pH-mètre étalonné. La valeur est lue directement sur l'écran de l'appareil (AFNOR, 1986).

### **4.2. Mesure d'acidité Dornic :**

Cette analyse a pour but de dose l'acide lactique du yaourt avec la soude NaOH en présence d'un indicateur coloré du PH.

L'acidité normale du yaourt est comprise entre 75 et 100°D.

### **Mode opératoire :**

Bien homogénéisé le contenu du pot du yaourt, on prélève avec une pipette, 10 ml du yaourt déjà préparé, on y ajoute d'abord quelques gouttes de phénolphtaléine, puis petit à petit, une solution de NaOH à 0,9 g/L et on effectue ainsi le dosage en surveillant le virage de la couleur. Au virage, on note le volume de NaOH versé qui lui fait correspondre de degré Dornic (Annexe 1).

### **4.3. Mesure de la viscosité dynamique :**

La viscosité est établie par l'utilisation d'un tube en verre de diamètre égale à 18 mm et de longueur de 15 cm (viscosimètre) équipé d'un chronomètre et d'une bille normalisé (Annexe 1).

## **5. Analyses microbiologique du yaourt :**

### **5.1. Dilution en cascade :**

Pour être capable d'analyser la microflore présente dans un yaourt il faut d'abord effectuer des dilutions en cascade. Pour cela, il faut agiter vigoureusement le yaourt avant d'ouvrir, pour rendre plus liquide, on prélève 1 ml de yaourt que l'on place dans un des tubes stériles contenant les 9 ml de MRS liquide pour chacun.

## 5.2. Dénombrement de la flore lactique :

*Streptococcus thermophilus* : le dénombrement des germes est réalisé après culture d'une prise de dilution sur milieu sélectif M17 incubé à 37C° pendant 48 heures.

*Lactobacillus bulgaricus* : le dénombrement est réalisé après culture d'une prise de dilution sur milieu sélectif MRS incubé à 37C° pendant 48 heures.

## 6. Tests de dégustation :

Le test d'acceptabilité à été déterminé sur le lait fermenté au (1<sup>er</sup>, 7, 14 et 21<sup>ème</sup> jour). Les membres de jury ont été choisis de tel sorte qu'ils soient les plus représentatif que possible (niveau de vie, culturel, âge et sexe). Il est demandé à 10 panélistes d'apprécier les critères de produit suivants :

**Gout** : traduit le niveau de sensation gustative de gout acide développé par les produits au cours de leur mastication.

**Adhésivité** : traduit la puissance nécessaire pour vaincre les forces de liaison entre la surface des matériaux.

**Cohésivité** : consiste à déterminé la capacité maximale de déformation de l'échantillon avant de se rampe.

**Couleur** : consiste à évaluer le niveau de préférence de la couleur entre les produits présent.

**Odeur** : le panéliste est appelé à décelé l'existence ou pas de mauvaises odeurs dans les produits.

L'évolution effectuée selon une échelle de notation variable de 1 à 10.

## 7. Calculs statistiques :

Les résultats physico-chimique et microbiologiques ont subit une analyse de variance mono factoriel en randomisation total, suivi d'une comparaison des deux moyenne deux à deux selon le test de (News man et Keuls) par ailleurs, les analyses organoleptiques ont été traitées par le test non paramétrique de FRIDMAN

**Résultats des analyses physico-chimiques et microbiologiques des laits fermentés incorporé à des taux variables de farine de caroube durant la période de post acidification :**

**1. Evolution moyenne du pH et acidité :**

**pH:**

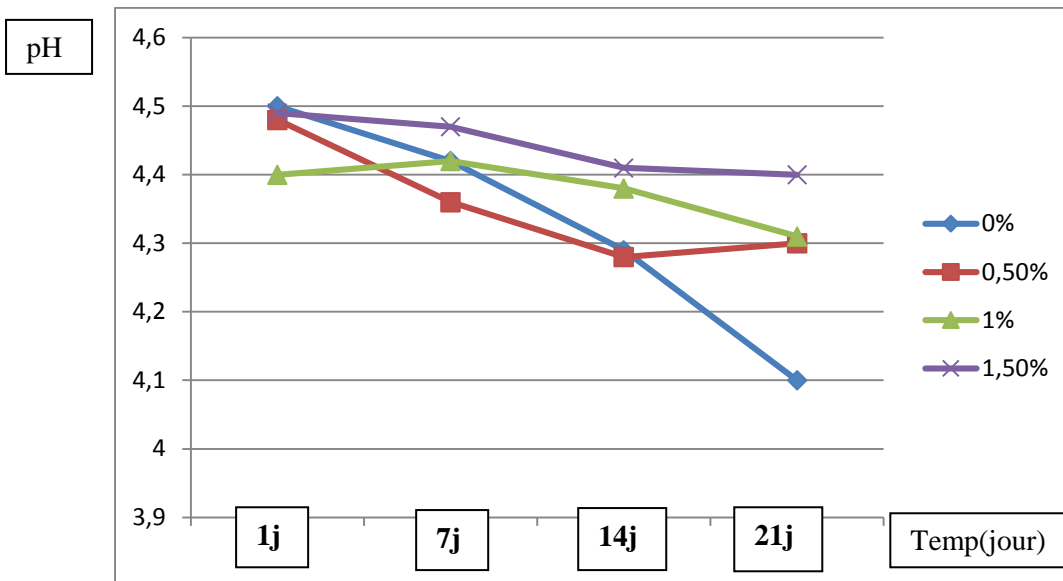
D'une façon global, durant toute la période de post acidification les valeurs moyennes du pH des yaourts suivie par une évolution décroissante de 4,47 du début de la période de post acidification jusqu'à 4,27 en fin de stockage en moyenne (**Figure 10**).

Le lait préparé à 1% de farine de caroube présente un croissance légère des valeurs du pH durant la premier semaine de la période de post acidification et suivie par une diminution marquante du pH durant les deux dernies semaines fin de stockage contre les lots préparée à 0,5% et 1,5% qui présentent une diminution des valeurs des pH de 4,48 à 4,61 en moyenne dans les deux premiers semaine suit par une stabilité légère des valeurs du pH par rapport le témoin qui continue la diminution jusqu'à pH = 4,14.

L'analyse de variance montre un effet hautement significatif sur l'évolution moyenne des valeurs pH des laits fermentés au cours de la période de post acidification (**Tableau 08**).

**Tableau 08:** Evolution moyenne du **pH** de lait fermenté additionné par farine de caroube au cours de la période de post acidification.

	<b>0%</b>	<b>0,5%</b>	<b>1%</b>	<b>1,5%</b>	<b>Effet dose</b>
<b>1J</b>	4,5 <sub>a</sub> ±0,006	4,48 <sub>b</sub> ±0,006	4,4 <sub>c</sub> ±0,01	4,49 <sub>d</sub> ±0,01	HS
<b>7J</b>	4,42 <sub>a</sub> ±0,006	4,36 <sub>b</sub> ±0,15	4,42 <sub>b</sub> ±0,006	4,47 <sub>c</sub> ±0,006	HS
<b>14J</b>	4,29 <sub>a</sub> ±0,01	4,28 <sub>b</sub> ±0,03	4,38 <sub>c</sub> ±0	4,41 <sub>c</sub> ±0,01	HS
<b>21J</b>	4,14 <sub>a</sub> ± 0,04	4, 3 <sub>b</sub> ± 0,03	4,31 <sub>b</sub> ± 0,02	4,4 <sub>c</sub> ± 0,01	HS



**Figure 10 :** Evolution moyenne du **PH** du lait fermenté additionné avec farine de caroube au cours de la période de post acidification

### Acidité Dornic :

Au cours de ce période, les moyennes d'acidité des laits expérimentaux incorporé à différents doses de farine de caroube évoluent de 47,66 D° en moyenne au premier jour jusqu'au 64,66 D° en moyenne à la fin de période de stockage (**Figure 11**).

Aussi au cours de toute ce période, le lot à 0,5% enregistre une augmentation très faible d'acidité Dornic de 59 D° à 67,33 D° par rapport les autres lots avec le témoin.

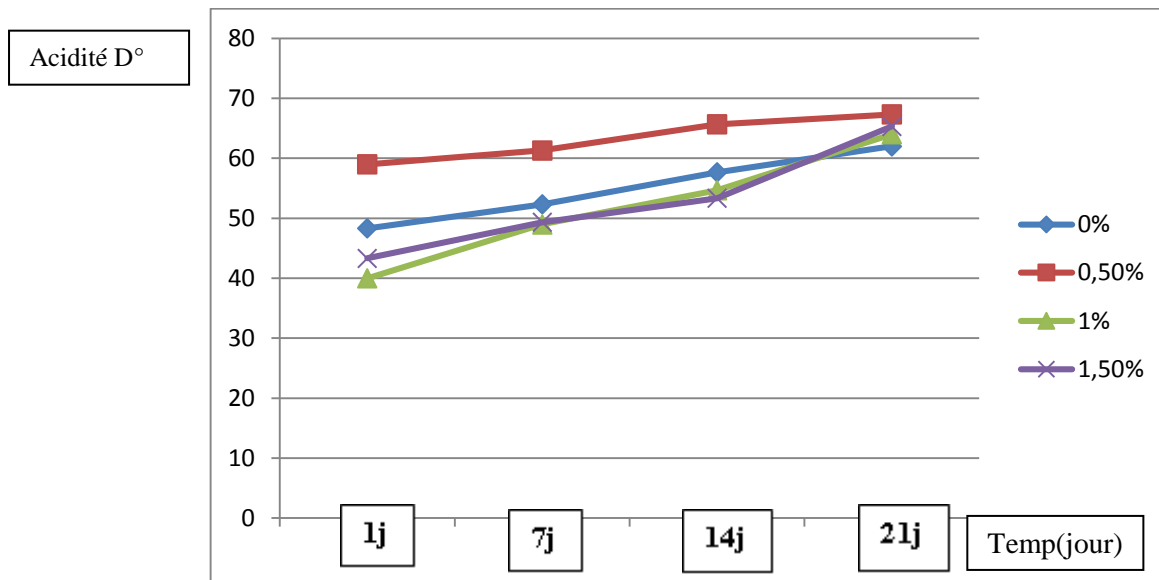
L'analyse de variance montre un effet hautement significatif sur l'évolution moyenne des valeurs d'acidité Dornic des laits fermentés au cours de la période de post acidification (**Tableau 09**).

Généralement, durant la période de post acidification du premier jusqu'aux 21<sup>ème</sup> jours de stockage à 4C°, l'évolution des moyenne d'acidité des laits fermentés expérimentaux est inversement proportionnelle à celle du pH, les valeurs d'acidité moyennes augmentent de 47,66 D° jusqu'au 64,66 D° alors que celles du pH diminuent de 4,47 jusqu'à 4,27 respectivement.

En effet, les souches lactiques présentent la faculté de fermenter les carbohydrates du lait notamment le lactose pour produire des acides, particulièrement de l'acide lactique, ce qui acidifie le milieu et abaisse le pH des produits (**Alais, 1984**).

**Tableau 09:** Evolution moyenne de l'acidité Dornic de lait fermenté additionné par farine de caroube au cours de la période de post acidification.

	0%	0,5%	1%	1,5%	Effet dose
<b>1j</b>	48,33 <sup>a</sup> ± 1,53	59 <sup>b</sup> ± 1	40 <sup>c</sup> ± 1	43,33 <sup>d</sup> ± 1,53	HS
<b>7j</b>	52,33 <sup>a</sup> ±2,51	61,33 <sup>b</sup> ±1,53	49 <sup>b</sup> ±1	49,33 <sup>b</sup> ±0,58	HS
<b>14j</b>	57,67 <sup>a</sup> ±0,58	65,67 <sup>b</sup> ±1,15	54,67 <sup>c</sup> ±0,58	53,33 <sup>c</sup> ±1,53	HS
<b>21j</b>	62 ±2,85	67,33 ±2,52	64 ±1	65,33 ±1,53	HS



**Figure 11:** Evolution moyenne de l'acidité Dornic de lait fermenté additionné par farine de caroube au cours de la période de post acidification.

## 2. Evolution moyenne de la viscosité :

Les valeurs moyennes de la viscosité au premier jour jusqu'à la dernière semaine de la période de conservation également évoluent inversement proportionnelle au doses de farine de caroube incorporés, soit des valeurs de 10,52m/s, 8,73 m/s, 7,82 m/s et 7,8 m/s en moyenne pour les dose de farine de caroube variant de 0%, 0,5%, 1% et 1,5% respectivement.

Durant cette période le témoin marqué une grande augmentation de la viscosité de 1,81 m/s à 19,27 m/s. contre les lots 1% et 1,5% qui prend des valeurs très proche durant toute la période de poste acidification (**Figure 12**).

L'analyse de variance montre un effet hautement significatif sur l'évolution moyenne des valeurs de la viscosité dynamique des laits fermentés au cours de la période de post acidification (**Tableau 10**).

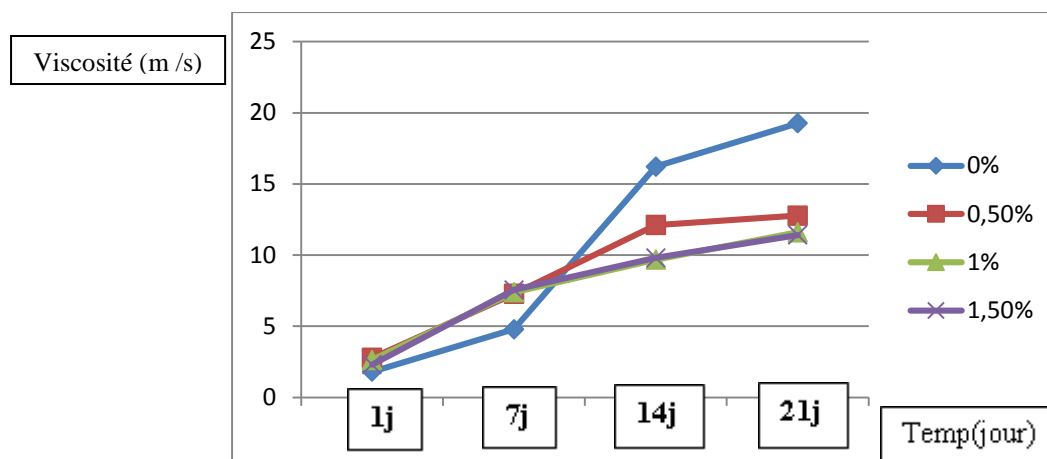
Ceci est lie vraisemblablement à l'activité des souches spécifiqueensemencées qui ont la capacité de produire des exo-polysaccharide contribuent à améliorer la texture du milieu (**Leveaux et bouins, 1990**).

Généralement, la farine de caroube incorporée a un effet plus au moins faible dans la contribution de donner un texture compact.

**Tableau 10 :** Evolution moyenne de la viscosité de lait fermenté additionné par farine de caroube au cours de la période de post acidification.

	0%	0,5%	1%	1,5%	Effet dose
<b>1j</b>	1,81 <sub>a</sub> ± 0,01	2,77 <sub>b</sub> ± 0,08	2,63 <sub>c</sub> ± 0,03	2,4 <sub>d</sub> ± 0,01	HS
<b>7j</b>	4,79 <sub>a</sub> ±0,02	7,28 <sub>b</sub> ±0,02	7,39 <sub>c</sub> ±0,01	7,56 <sub>d</sub> ±0,006	HS
<b>14j</b>	16,22 <sub>a</sub> ±0,03	12,11 <sub>b</sub> ±0,02	9,69 <sub>c</sub> ±0,01	9,81 <sub>d</sub> ±0,01	HS
<b>21j</b>	19,27 <sub>a</sub> ±0,03	12,78 <sub>b</sub> ±0,03	11,6 <sub>c</sub> ±0,02	11,42 <sub>d</sub> ±0,02	HS

HS : effet hautement significatif ; S : effet significatif ; NS : effet non significatif



**Figure 12:** Evolution moyenne de la viscosité de lait fermenté additionné par farine de caroube au cours de la période de post acidification.

### 3. Evolution du nombre moyenne des souches spécifiques des laits fermentés expérimentaux :

*Streptococcus thermophilus* :

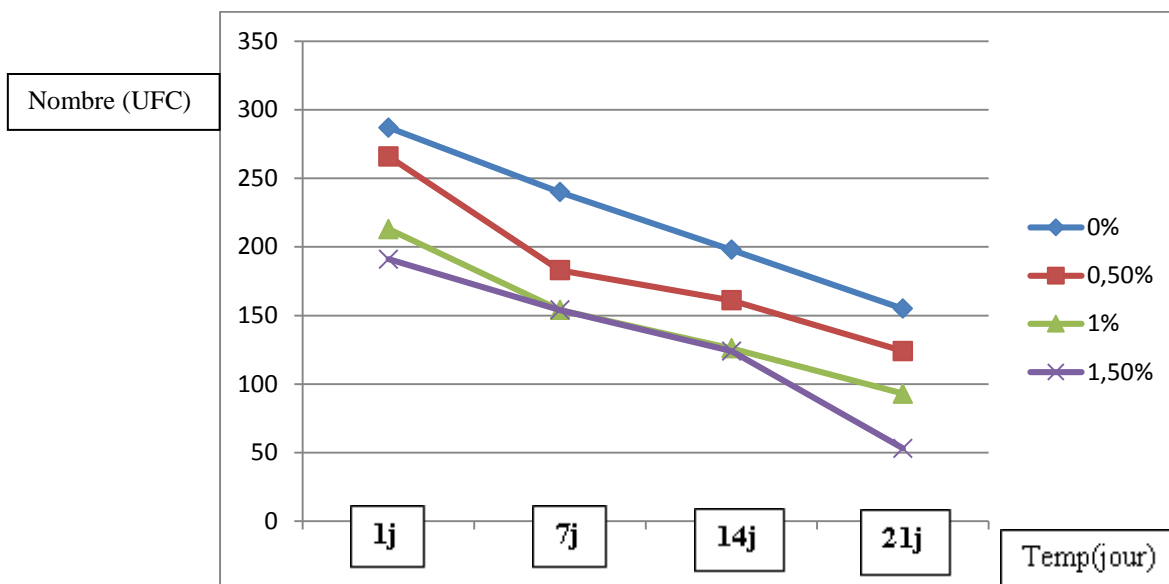
On peut dire que durant toute la période de conservation, l'évolution des germes *S. thermophilus* dans les échantillons expérimentaux passe de  $239 \times 10^4$  germe/ml au premier jour jusqu'à  $106 \times 10^4$  germe/ml au 21<sup>ème</sup> jour.

La diminution du nombre des germes de *S. thermophilus* est en relation avec l'augmentation du taux d'incorporation de la farine de caroube dans les échantillons expérimentaux soit des valeurs qui varient de  $220 \times 10^4$  germe/ml,  $183 \times 10^4$  germe/ml,  $146 \times 10^4$  germe/ml et  $130 \times 10^4$  germe/ml en moyenne pour les taux d'incorporation de farine de caroube variant de 0%, 0,5%, 1% et 1,5% respectivement(**Figure 13**).

L'analyse de variance montre un effet hautement significatif sur l'évolution moyenne des nombre des germes de *S. thermophilus* dans les laits fermentés au cours de la période de post acidification (**Tableau 11**).

**Tableau 11:** Evolution du nombre moyenne des germes *S. thermophilus* dans le lait fermenté additionné par farine de caroube au cours de la période de post acidification (nombre : UFC).

	0%	0,5%	1%	1,5%	Effet dose
1j	287	266	213	191	HS
7j	240	183	154	154	HS
14j	198	161	126	124	HS
21j	155	124	93	53	HS



**Figure 13:** Evolution du nombre moyenne des germes *S. thermophilus* dans le lait fermenté additionné par farine de caroube au cours de la période de post acidification.

***Lactobacillus bulgaricus* :**

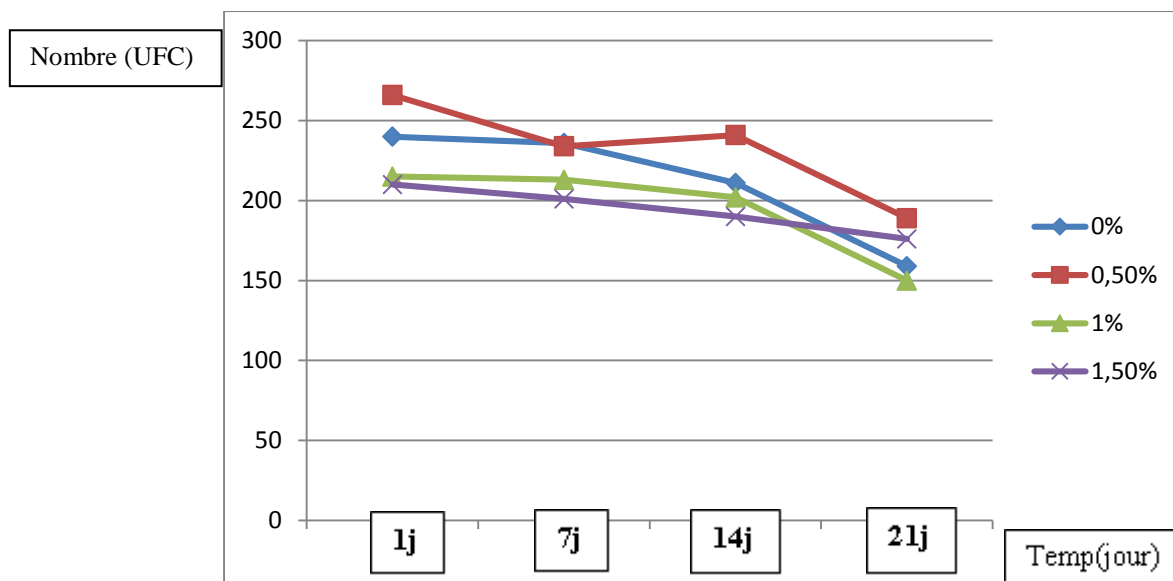
Au cours de cette période, les lots 1% et 1,5% enregistre une légère diminution des nombres des germes *L. bulgaricus* de  $212 \times 10^4$  germe/ml à  $196 \times 10^4$  germe/ml en moyenne durant les deux premières semaines suivie par une diminution marqué des nombres des

germes *L. bulgaricus* pour le lot 1% jusqu'à  $150 \times 10^4$  germe/ml à la fin de stockage contre les lots témoin et 0,5% qui marquent une diminution marquée des nombres des germes *L. bulgaricus* durant toute la période de conservation de  $253 \times 10^4$  germe/ml à  $174 \times 10^4$  germe/ml, sauf le lot 0,5% enregistre un légère stabilité durant toute la deuxième semaine (Figure 14).

L'analyse de variance montre un effet hautement significatif sur l'évolution moyenne des nombre des germes de *L. bulgaricus* dans les laits fermentés au cours de la période de post acidification (Tableau 12).

**Tableau 12:** Evolution du nombre moyenne des germes *L. bulgaricus* dans le lait fermenté additionné par farine de caroube au cours de la période de post acidification (nombre : UFC).

Jours /Taux	Taux d'incorporation de la farine de caroube				-----
	0 %	0,5%	1%	1,5%	Effet dose
1J	240	266	215	210	HS
7j	236	234	213	201	HS
14j	211	241	202	190	HS
21j	159	189	150	176	HS



**Figure 14:** Evolution du nombre moyenne des germes *L. bulgaricus* dans le lait fermenté additionné par farine de caroube au cours de la période de post acidification.

Les *S. thermophilus* initient la fermentation lactique jusqu'à pH 4,6, les *L. bulgaricus* reprend la croissance fermentaire (Bourgeois *et al.*, 1996). Selon Thivierge N. (1999) le pH 4,6 c'est le pH isoélectrique, ce qui a été trouver dans nos résultats, le nombre moyen des germes *L. bulgaricus* reste plus élevé que celui de *S. thermophilus* durant la période de post acidification.

Ca est lié aux caractéristiques physiologiques, biochimiques des deux espèces lactiques utilisées: *S. thermophilus*, ayant une vitesse élevée d'acidification (Meribai *et al.*,

2010), cette espèce est victime d'abaissement du pH, contrairement à *L. bulgaricus*, ayant un pH optimum de croissance au tour de 4,9. (espèce acidotolérante) (Angelov *et al.*, 2009).

#### 4. Les tests organoleptiques :

##### 4. 1. Goût:

Durant la période de conservation, le jury a qualifié le gout de lait fermenté expérimentale acceptable que le témoin, avec des moyennes de somme des rangs de 34,25 pour le témoin contre 17,75 pour le lot 1 %

L'échantillon préparé à 1 % et 1,50% réalisent des valeurs meilleurs est donc moins acide de 17,75 et 23 sommes des rangs en moyenne respectivement par rapport les autres lots 0% et 0,5%.

L'analyse de variance, montre que le facteur taux d'incorporation de farine de caroube présente un effet sur l'évolution de gout acide qu'au dans les deux premières semaines de conservation

**Tableau 13 :** Evolution du critère goût acide de lait fermenté expérimentale au cours de la période de post acidification (somme des rangs).

Jours /Taux	Taux d'incorporation de la farine de caroube				Analyse de variance
	0 %	0,5%	1%	1,5%	
1J	38	24	16	21	HS
7j	36	27	15	21	HS
14j	31	21	19	29	S
21j	32	26	21	21	NS

##### 4. 2. Cohésivité :

À la cour de période de post acidification, l'évolution des sommes des rangs de la cohésivité dans le lait fermenté expérimentale est augmentée avec l'accroissement du taux de farine de caroube incorporé soit : des moyenne des rangs qui passent de 20, 20,5, 31,75 pour les lots 0,5%, 1%,1,5% respectivement.

L'analyse de variance, montre que le facteur taux d'incorporation de farine de caroube présente un effet sur l'évolution de la cohésivité qu'au dans les trois dernières semaines de conservation

**Tableau 14 :** Evolution du critère de la cohésivité de lait fermenté expérimentale au cours de la période de post acidification (somme des rangs).

Jours /Taux	Taux d'incorporation de la farine de caroube				Analyse de variance
	0 %	0,5%	1%	1,5%	
<b>1J</b>	23	20	26	30	<b>S</b>
<b>7j</b>	28	20	18	33	<b>HS</b>
<b>14j</b>	30	19	18	32	<b>HS</b>
<b>21j</b>	26	21	20	32	<b>HS</b>

### 4. 3. Adhésivité :

Le jury de dégustation a trouvé l'adhésivité de lait fermenté expérimentale renfermant la farine de caroube est meilleurs pour les lots 0,5% et 1% soit des valeurs de 20,25 et 21,25 sommes des rangs en moyenne respectivement par rapport le témoin.

Par ailleurs, le lait fermenté préparé à 1,5% présente une adhésivité égale au témoin.

L'analyse de variance, montre que le facteur taux d'incorporation de farine de caroube présente un effet sur l'évolution d'adhésivité qu'au dans les trois premières semaines de conservation

**Tableau 15:** Evolution du critère d'adhésivité de lait fermenté expérimentale au cours de la période de post acidification (somme des rangs).

Jours /Taux	Taux d'incorporation de la farine de caroube				Analyse de variance
	0 %	0,5%	1%	1,5%	
<b>1J</b>	30	17	21	31	<b>HS</b>
<b>7j</b>	26	22	23	28	<b>HS</b>
<b>14j</b>	27	21	21	30	<b>S</b>
<b>21j</b>	27	22	20	30	<b>NS</b>

Globalement durant toute la période de post acidification, les jurys de dégustation a trouvé que le yaourt témoin et le lait fermenté à 0,5% de Farine de caroube ont un aspect très lourd dans la bouche avec une légère différence de gout, odeur et couleur avec une piqueur d'acidité très lourd.

Cependant les laits fermentés à 1% et 0,5% de farine de caroube ayant un aspect léger avec une acidité remarqué sans oublier le goût et l'odeur spécifique de caroube.

Selon le jury, les meilleurs résultats organoleptiques sont trouvés à des taux d'incorporation de farine de caroube à 0,5% et 1%.

## Conclusion :

L'industrie de fabrication du yaourt est fortement dépendante des marchés de matières premières, ceci engendre des difficultés pour garantir une bonne qualité de produit, parmi les quelles on trouve la qualité d'additif alimentaire incorporé et les doses utilisées, qui permet de maîtriser et amélioré la qualité du produit fini.

Au terme de notre travail, nous avons obtenus les résultats expérimentaux effectués au cours de la période de post acidification sur les laits fermentés.

Au cours de cette période, les valeurs de pH et acidité Dornic enregistrées sont généralement proportionnelles au taux de farine de caroube incorporé.

Par ailleurs, les valeurs de viscosité diminuent avec l'élévation du taux de farine de caroube incorporé.

Aussi, pour les germes spécifiques, le nombre enregistré en *Lactobacillus bulgaricus* est plus important que celles des *Streptococcus thermophilus* dans les laits fermentés expérimentaux.

Généralement les laits fermentés à 1% et 0,5% de farine de caroube enregistrent des valeurs proches et restent toujours inférieures que celles du témoin.

Le jury de dégustation a qualifié les laits fermentés à 1% et 0,5% de farine de caroube de meilleure qualité par comparaison à ceux du témoin.

Ce travail, mérite d'être reconduit et poursuivi en prenant d'autres paramètres d'étude en considération telle que d'addition de sucre et des arômes pour voir la qualité de produit fini.

**annexe**

**Annexe I : Composition des solutions de titrage**

- **Solution de NaOH 0,1N :**

Eau distillé .....	1000ml
NaOH .....	40g

- **Solution de HCL 1n**

Eau distilé .....	100ml
HCL.....	4ml

**Annexe II : Composition des diluants (g/l)**

- **Eau physiologie 9 /ml:**

NaCl .....	9g
Eau distillée .....	1000 ml

**Annexe III : Composition des milieux de cultures (g/l)**

- **Milieux solides**

- **Gélose nutritive standard Plate Count Agar (P.C.A)**

Hydrolysate tryptique de caséine .....	2,5g
Extrait de viande .....	5g
Glucose .....	1g
Extrait de la levure .....	2,5g
Agar .....	15g
Eau distillé q.s.p .....	1000 ml

pH=7±0.2 à 37°C

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

Extrait de levure .....	5g
Extrait de viande .....	5g
Peptone .....	10g
Acétate de sodium.....	5g
Citrate de sodium .....	2g
Glucose .....	20g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	2g
MgSO <sub>4</sub> .....	0.1 g
MnSO <sub>4</sub> .....	0.05 g
Agar .....	12g
Tween80 .....	1ml
Eau distillée q.s.p .....	1000 ml

pH=6.5±0.2 à 37°C  
Autoclavage : 121°C /15min.

- **Milieu M-17**

Extrait de levure .....	2,5g
-------------------------	------

Extrait de viande .....	5g
Peptone de caséine .....	2,5g
Peptone de viande .....	2,5g
Peptone de soja .....	5g
Peptone de soja .....	5g
Acide ascorbique .....	0,5g
B-glycérophosphate de sodium .....	19g
Agar .....	12,75g
Sulfate de magnésium .....	0.25g
Eau distillée q.s.p .....	1000ml
pH=7.1±0.2 à 37°C	
Autoclavage : 121°C pendant 15min.	

## Annexe VI:

### Analyses physicochimique:

#### Mesure du P<sup>H</sup>:

**Mode opératoire:** Avant de procéder aux mesures du PH des échantillons, on doit d'abord étalonner le PH mètre à l'aide des solutions tampons.

**Expression et résultats:** L'expression des résultats est direct, il suffit de lire sur le PH mètre le numéro détecté et affiché sur l'écran.

#### Mesure de l'acidité Dornic:

##### Réactif et appareillage:

- Soude (NaOH, N/9)
- Phénolphtaline 1%
- Burette
- Bécher
- Pipette (10 ml)

**Mode opératoire:** l'acidité Dornic est déterminée par titration d'un échantillon de 10 ml à l'aide de soude N/9 en présence d'indicateur coloré (Phénolphtaline 1%) jusqu'au virage au rose pâle.

##### Expression des résultats :

$$\text{Acidité Dornic} = V_{\text{NaOH}} \cdot x \cdot 10$$

$V_{\text{NaOH}}$ : le volume de NaOH (N/9) nécessaire pour titrer l'échantillon (jusqu'à l'apparition de la couleur rose pâle).

#### Mesure de la viscosité :

##### Appareillage :

- Bille : -16,46g de poids et 16mm de diamètre  
-Masse volumique = 7,68 g/cm<sup>3</sup>
- Tube cylindrique (L=15cm et d=18mm)
- Chronomètre pour mesurer le temps de chute de la bille.

**Mode opératoire :** Le cylindre est rempli avec le produit à analyser (yaourt). Ensuite, on fait parcourir en chute libre la bille métallique sur une distance constante de 15cm, tout en mesurant le temps par le biais d'un chronomètre.

**Expression des résultats :**

$$\mu = k \times (\xi_1 - \xi_2) \times t$$

- $\mu$  : la viscosité dynamique (m/s)
- $k$  : constant en fonction de la densité de la bille (m/s.cm<sup>3</sup>/g.s)

$$K = 2.r^2 .g / 9.X$$

$r$  : rayon de la bille (m)

$x$  : distance parcouru par la bille (m)

$g$  : la fore de pasteur tel que  $g=9,81\text{m/s}^2$

- $\xi_1$  : la masse volumique de la bille (kg.m<sup>-3</sup>)
- $\xi_2$  : la masse volumique du yaourt (kg.m<sup>-3</sup>)
- $t$  : temps parcouru par la bille entre la point de départ et point de l'arrive (s)

**Analyses microbiologiques :**

**Dénombrement des *streptococcus thermophilus* :**

**Inoculation :** Introduire dans chaque boite pétrie 1ml de l'échantillon de dilution préparé (10<sup>-4</sup>), suite couler la gélose M17 (Gélose de Terzaghi) préalablement fondu.

On mit les boites de pétrie dans l'étuve à 37 c° pendant 24 à 48 heures

**Lecture et résultats :** Les *streptococcus thermophilus* se développent en donnant des colonies rondes à contour réguliers d'une coloration blanche crème.

**Dénombrement des *latobacillus bulgaricus* :**

**Inoculation :** le même démarche précédente citée par les *S. thermophilus* est effectuée dans le dénombrement des Lb, mais le sélectif adopté est le MRS (Man Rogasa et Sharpe)

On mit les boites de pétrie dans l'étuve à 37 c° pendant 24 à 72 heures

**Lecture et résultats :** Les colonies de *L. bulgaricus* ont un diamètre de 0,5 à 1mm. Elles sont opaques, lisse ou parfois granuleuses circulaires et de couleur blanchâtre.

## Reference bibliographique

1. **Allen SJ, Okoko B, Martinez E, Gregorio G, Dans LF, 2004.** Probiotics for treating infectious diarrhoea. *Cochrane Database Syst Rev*; 2:CD003048.
2. **Annika.M.M et Marc.B.2004.** Industrial Use and Production of Lactic Acid Bacteria. Ed Marcel Dekker,
3. **Anonyme, 1995.** Laits et les produits laitiers dans la nutrition humaine ; collection FAO alimentation et nutrition, 28.
4. **AVALLONE R., PLESSI M., BARALDI M. & MONZANI A., 1997.** Determination of chemical composition of carob (*Ceratonia siliqua*): protein, fat, carbohydrates, and tannins. *Journal of food composition and analysis*, **10**, 166-172.
5. **Ammor MS. 2004 :** Ecosystème microbien d'un atelier fermier de salaison : Identification et propriétés des bactéries lactiques, école doctorale vie-agro-santé, 177Balice V.
6. **Angelov M, Kostov G, Simova E, Beshkova D & Petia Koprinkova-Hristova P. (2009)** Protocoopération factors in yogurt starter cultures. *Revue de Génie Industriel* 3, 5- 12.
7. **Adebayo .C.O and Aderiye. B.I. 2010:** Antifungal activity of bacteriocins of lactic acid bacteria from some Nigerian fermented foods. *Research journal of microbiology* .5(11).1070- 1082.
8. **Alain LS. 2004:**Antagonistic activities of *lactobacilli* and *bifidobacteria* against microbial pathogens. *FEMS Microbiology Reviews* .28.405–440;
9. **Boumehira.A.Z. 2010 :** Identification et caractérisation technologique et fonctionnelle des souches *Lactobacillus plantarum* isolées du lait cru de chèvre et de chamelle. Thèse de doctorat. Faculté des Sciences ES-Senia.
10. **BINER B. et al., 2007.** Sugar profiles of the pods of cultivated and wild types of carob bean (*Ceratonia siliqua L.*) in Turkey. *Food Chemistry*, **100**, 1453-1455.
11. **Boge T, Remigy M, Vaudaine S, Tanguy J, Bourdet-Sicard R, van der Werf S, 2009.** A probiotic fermented dairy drink improves antibody response to influenza vaccination in the elderly in two randomised controlled trials. *Vaccine*; 27(41): 5677—84.
12. **Bourgeois. C.M et larpent. J.P, 1996 ;** Microbiologie alimentaires, aliment fermentés et fermentation alimentaires. APRIA. Tome 2. Tec et Doc P(24,33).
13. **BOUZOUITA N. et al., 2007.** The analysis of crude and purified locust bean gum: a comparaison of samples from different carob tree populations in Tunisia. *Food Chemistry*, **101**, 1508-1515.
14. **Belal.J.M, Zaiton.H,and Sajaa .K.S. 2011.**Antifungal activity of *Lactobacillus fermentum* TE007,*Pediococcus pentosaceus* Te010, *Lactobacillus pentosus* G004 and *L.paracasei* D5 on selected foods .*Journal of food science* .V76.N7.M493-M499.

15. **BERGAMAIER D. (2002).** Production d'exopolysaccharides par fermentation avec des cellules immobilisées de *Lactobacillus rhamnosus* RW-959M dans un milieu à base de permeat de lactosérum. Thèse de Doctorat, Université de Laval, Canada.
16. **CAMPBELL L.B. and PAVLASEK S.J. (1987).** Dairy products as ingredients in chocolate and confections. *Food Technology*, 41 (10), 78-85.
17. **Codex alimentaire ;1981 :** « Général principals for the établissement and application of microbial criteria for food ». P (43).
18. **CORREIA P. J. & MARTINS-LOUCAO M. A., 2005.** The use of macronutrients and water in marginal Mediterranean areas: the case of carob tree. *Field Crops Research*, **91**, 1-6.
19. **COURTIN P., MONNET M. and RUL F. (2002).** Cell- wall proteinases PrtS and Prt B have a different role in *Streptococcus thermophilus* / *Lactobacillus bulgaricus* mixed cultures in milk. *Microbiology*, 148, 3413 -3421.
20. **DAAS P. J. H., SCHOLS H.A. & DE JONGH H. H. J., 2000.** On the galactosyl distribution of commercial galactomannans. *Carbohydrate research*, **329**, 609-619.
21. **DAKIA P. A., 2003.** *Extraction et caractérisation de la gomme de caroube (Ceratonia siliqua L.)*. Mémoire : Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux (Belgique).
22. **DAKIA P. A. et al., 2008.** Composition and physiochemical properties of locust bean gum extracted from whole seeds by acid and water dehulling pre-treatment. *Food Hydrocolloids*, **22**, 807-818
23. **DAKIA P. A., WATHELET B. & PAQUOT M., 2007.** Isolation and chemical evaluation of carob (*Ceratonia siliqua L.*) seed germ. *Food Chemistry*, **102**, 1368-1374.
24. **DALGLEISH D. G. (1990).** Denaturation and aggregation of serum proteins and caseins in the heated milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38, 1995-1999.
25. **Danone, 1993 ;** « World news letter » N°02 bien fait, santé et nutritionnelle des yaourts. P(9,10,15,43).
26. **DELLAGLIO F., DE ROSSART H., TORRIANIS S., CURK M. et JANSSENS D. (1994).** Caractérisation générale des bactéries lactiques. Tec&Doc (Eds), Lorica, 1, 25-116.
27. **DoguetKDenis D. 2010 :** Biocontrôle des moisissures du genre *Fusarium* productrices de fumonisines par sélection de bactéries lactiques autochtones de maïs. Thèse de doctorat université Bordereaux école doctorale science de la vie et de la sante.
28. **DOLEYRES Y. (2003).** Production en conteneur du ferment lactique probiotique par la technologie des cellules immobilisées. Thèse Doctorat. Université de Laval. Quebec. 167 pages.
29. **Drouault S, Anba J, Corthier G, 2002.** *Streptococcus thermophilus* is able to produce a beta-galactosidase active during its transit in the digestive tract of germ-free mice. *Appl Environ Microbiol*;68(2):938—41.

30. **EFSA, 2010.** Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to live yoghurt cultures and improved lactose digestion. *EFSA Journal*;8(10):1763.
31. **FAOSTAT**, <http://faostat.fao.org/>, (13/03/10).
32. **Gerard Brigand ; 1998 :** « Les additifs alimentaires » Paris, Institut Français pour la nutrition P (40)
33. **HASSAN A.N., FRANK J.F., FARMER M.L., SCHMIDT K.A. and SHALABI S.A. (1995).** Observation of encapsulated lactic acid bacteria using confocal scanning laser microscopy. *Journal of Dairy Science*, 78, 2624-2628.
34. **Hickson M, D'Souza AL, Muthu N, Rogers TR, Want S, Rajkumar C, et al, 2007.** Use of probiotic *Lactobacillus* preparation to prevent diarrhoea associated with antibiotics: randomised double blind placebo controlled trial. *BMJ*; 335(7610):80.
35. **Jay JM.1982:** Anyimicrobial properties of diacetyl  
*Appl. Environ. Microbiol.* 44:525-532.
36. **Kalliomaki M, Salminen S, Arvilommi H, Kero P, Koskinen P, Isolauri E, 2001.** Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*; 357(9262):1076—9.
37. **KESSLER H.G. (1998).** The structure of fermented milk products as influenced by technology and composition. Texture of fermented milk products and dairy dessert. Proceedings of the IDF. Symposium. Vicenza, Italy, 5-6 May 1997, 93-105
38. **Kouakou P, Philippe T. 2011 :** Action des cultures protectrices : cas des germes lactiques sur la flore alimentaire indésirable .*Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 15(2), 339-348.
39. **Herreros. M. A., Sandoval.H, Gonzalez.L, Castro.J.M, Fresno.M.E. 2005.** TornadizoAntimicrobial activity and antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from Armada cheese (a Spanish goats' milk cheese). *Food Microbiology*; 22: 455—459.
40. **Isolauri E, Joensuu J, Suomalainen H, Luomala M, Vesikari T, 1995.** Improved immunogenicity of oral D x RRV reassortant rotavirus vaccine by *Lactobacillus casei* GG. *Vaccine*; 13(3):310—2.
41. **LAMOUREUX L. (2000).** Exploitation de l'activité  $\beta$ - galactosidase de culture de bifidobacteries en vue d'enrichir des produits laitiers en galacto-oligosaccharides. Mémoire de maîtrise, Université de Laval, Canada.
42. **LARPENT J.P. (1989).** Microbiologie alimentaire. Ed, techniques et documentation Lavoisier. Paris, 46, 1-117.
43. **Layer P, Andresen V, Allescher H, Bischoff SC, Clasen M, Enck P, et al, 2011.** Irritable Bowel Syndrome: German Consensus Guidelines on Definition, Pathophysiology and Management. *Z Gastroenterol*; 49:237—93.
44. **Lederder, 1978 :** « Encyclopédie moderne de l'hygiène alimentaire ». ED, Nauwelaert, muntstraat. 10. B.3000.Louvain. (41)
45. **LEORY F., DEGEEST B. and DE VUYST L. (2002).** A novel area of predictive modeling: describing the functionality of beneficial micro-organisms in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 73, 251-259.

46. **Leveau, j,p et boins 1993** : « microbiologie industrielle des bactéries lactiques » p(14,18)
47. **Link-Amster H, Rochat F, Saudan KY, Mignot O, Aeschlimann JM, 1994.** Modulation of a specific humoral immune response and changes in intestinal flora mediated through fermented milk intake. *FEMS Immunol Med Microbiol*; 10(1):55—63.
48. **LOONES A. (1994).** Lait fermenté par des bactéries lactiques. In « bactéries lactiques ». Vol II. DE ROISSART H. et LUQUET F.M. Ed. Loriga, Paris. 37-151.
49. **LUQUET. (1985).** Laits et produits laitiers : Transformations et technologies. Ed, techniques et documentation, Lavoisier. 633.
50. **Manfred et Moll. 1998** : « Additifs alimentaires et auxiliaires technologiques » deuxième Edition Saint- Vincent 12B 4020 liège P(42,27).
51. **Marteau P, Cuillerier E, Meance S, Gerhardt MF, Myara A, Bouvier M, et al, 2002.** *Bifidobacterium animalis* strain DN-173 010 shortens the colonic transit time in healthy women: a double-blind, randomized, controlled study. *Aliment Pharma Pharmacol Ther*;16(3):587—93.
52. **Meribai A, Ait-Abdeslam A, Krantar K, Mahi Med, Benzeguir FM, Slimane N, Maghnia D, Mouadene R & Bensoltane A. (2010)** Biotechnological study of a thermophilic acid starter isolated from Algerian cow'sraw milk. *Egypt. Jo. of Appl. Sci*, 25(4B), 243– 254
53. **MODLER H.W. (1985).** Functional properties of nonfat dairy ingredients. A review. Modification of products containing casein. *Journal of Dairy Science*, 68, 2195-2205.
54. **MARTY-TEYSSET C. DE LA TORRE F. and GAREL J-R. (2000).** Increased production of hydrogen peroxide by *Lactobacillus delbruekii ssp bulgaricus* upon aeration: involvement. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(1), 262-267.
55. **MAHAUT M., JEANTET R., SCHAK P. et BRUL G. (2000).** Les produits industriels laitiers. Ed, techniques et documentation, Lavoisier, Paris. 26-40.
56. **Muriana.P.M and Klaenhammer.T.R. 1991:** Purification and Partial Characterization of Lactacin F, a Bacteriocin Produced by *Lactobacillus acidophilus* 11088. *Appli and Enviro Microbio* 57: 114-121.
57. **Nadia Thivierge, 1999** : *Caractérisation de souches de Lactococcus lacfis ssp cremoris pour le développement de ferments mésophiles à aptitudes fromagères élevées (Cheddar)*, Laval, Canada, Département des aliments et de nutrition, Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation, Université Laval, coll. « Mémoire de maitre ès sciences (M. Sc.) », mars 1999, 85 p, p3.
58. **Numero special. Probiotiques et sante. Cah Nutr Diet 2007;** 42(hors serie 2).
59. **NGOUNOU C., NDJOUENKEU R., MBOFUNG F. et NOUBI I. (2003).** Mise en évidence de la biodisponibilité de calcium et du magnésium au cours de la fermentation du lait par des bactéries lactiques isolées du lait caillé du Zébu. *Journal of Food Engineering*, 57, 301-307.
60. **NICE, 2008.** Diagnosis and management of irritable bowel syndrome in primary care. Clinical guideline 61. <http://www.nice.org.uk/nicemedia/pdf/IBSFullGuideline.pdf>;

61. **NOZNICK P.P. (1982).** Dairy Ingredients in food. Bulletin de la Fédération Internationale de Laiterie, 142, 60-66.
62. **PACI KORA E. (2004).** Interactions physico-chimiques et sensorielles dans le yaourt brassé aromatisé : quels impacts respectifs sur la perception et de la texture et de la flaveur ? Thèse de Doctorat présentée à l'Institut National Agronomique. Paris Grignon.
63. **Pan SJ, Kuo CH, Lam KP, Chu YT, Wang WL, Hung CH, 2010.** Probiotics and allergy in children — an update review. *Pediatr Allergy Immunol*; 21(4 Pt 2):e659—66.
64. **Papamanoli E, Kotzekidou P, Tzanetakis N and Litopoulou-Tzanetaki E.2002.**Characterisation of Micrococcaceae isolated from dry fermented sausage .*Food Microbiol.*19:441-449.
65. **Paulraj.K, Ramraj.S, Neelakandan.Y, KupusamyAlagesan .P, Vellaiyan .P, and Venkatesan.A. 2011:** The role of environmental factors and medium composition on bacteriocin production by an aquaculture probiotic *Enterococcus faecium* MC13 isolated from fish intestine.*Korean J. Chem. Eng.*, 28(3), 860-866.
66. **PETIT M. D. & PINILLA J. M., 1995.** Production and purification of a sugar syrup from carob pods. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, **28**, 145-152.
67. **Piard. J.Cand Desmazeaud. M. 1991:** Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria. 2. Bacteriocins and other antibacterial substances . *Le Lait* . 71, 525.
68. **ROUSSEL Y., PEBAY M., GUEDON G., SIMONET J.P. and DECARISN B. (1994).** Physical and genetic map of streptococcus thermophilus A054. *Journal of Bacteriology*, 176(24), 7413- 7422.
69. **ROUSSEAU M. (2005).** La fabrication du yaourt, les connaissances. INRA. 9 pages.
70. **Sachdeva A, Nagpal J, 2009.** Effect of fermented milk-based probiotic preparations on *Helicobacter pylori* eradication: a systematic review and meta-analysis of randomized-controlled trials. *Eur J Gastroenterol Hepatol*; 21(1):45—53.
71. **Sazawal S, Hiremath G, Dhingra U, Malik P, Deb S, Black RE, 2004.** Efficacy of probiotics in prevention of acute diarrhoea: a meta-analysis of masked, randomised, placebo-controlled trials. *Lancet Infect Dis*;6(6):374—82.
72. **SCHMIDT J.L., TOURNEUR C. et LENOIR J. (1994).** Fonction et choix des bactéries lactiques laitières in « bactéries lactiques ». Vol II. DE ROISSART H. et LUQUET F.M. Ed. Loriga, paris. 37- 46.
73. **SINGH SUDHEER K., AHMED SYED U. and ASHOK P. (2006).** Yogurt science and technology. 2<sup>nd</sup> Ed. Cambridge : woodhead Publishing.
74. **Smaoui. .2010.** Purification et Caractérisation de Biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés. Doctorat de l'université de Toulouse.
75. **Stoyanova.L.G, Ustyugova.e.A, Netrusov.A.I. 2012:** antibacterialmetabolites of

LAB /their diversity and properties. Applied Biochemistry and Microbiology. 48:229-243.

76. **SCHKODA A, STUMPH A. and KESSLER H.G. (1998).** Stability of texture of fermented milk products in relation to composition. Texture of fermented milk products and dairy dessert. Proceedings of the IDF Symposium. Vicenza, Italy, 5-6 May 1997, 115-121.
77. **Syndifrais, 2011.** Maldigestion du lactose. Reference Probiotique-la lettre de la Mission Scientifique de Syndifrais; hors serie. (ISSN 1957-326X).
78. **TAMIME A.Y. and DEETH H.C. (1980).** Yogurt: technology and biochemistry. Journal of Food Protection, 43, 12, 939-977.
79. **TAMIME A.Y. and ROBINSON R.K. (1999).** Yogurt science and technology. 2<sup>nd</sup> Ed. Cambridge woodhead Publishing.
80. **Talon.R, Leroy. S, Lebert. I.2007.** Microbial ecosystems of traditional fermented meat products: The importance of indigenous starters. Meat Science.77.p 55–62.
81. **Tabak.S et Bensoltane.A. 2012 ;** L'activité antagoniste des bactéries lactiques (*Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium bifidum* et *Lactobacillus bulgaricus*) vis-à-vis de la souche *Helicobacter pylori* responsable des maladies gastroduodénales. Nature & Technologie.6:79.
82. **TAMIME A. Y. and ROBINSON R.K. (1985).** Background to manufacturing practice. Yoghurt. Science and technology. Tamime, A. Y., & R.K. Robinson. (Eds), Pergamon Press, Paris. 7-90.
83. **TAMIME A. Y., KALAB M. and DAVIES G. (1984).** Microstructure of set-style yoghurt manufactured from cow's milk fortified by various methods. Food Microstructure. 3, 83-92.
84. **THOMÉ O.W., 1885.** *Flora von Deutschland, Österreich und der Schweiz.* 1 éd. Köhler : Gera (Allemagne).
85. **Tomomi .H,Melaku .A, Miho .K, Chise .S, Sunee. N, Sadahiro .O. 2009:** Characterisation of bacteriocin produced by *Enterococcus faecalis*N1-33 nd its application as a food preservative.Journal of food protection .Vol 72. No 3:524-530.
86. **Vandervoorde.L, Chritians.H et Verstraete.W .1991** .In vitro appraisal of the probiotic value of intestinal *lactobacilli*. World journal of microbiology and Biotechnology, 7, 587\_592.
87. **VAN MARLE M. (1998).** Structure and rheological properties of yoghurt gels and stirred yoghurts. Thèse University of Twente, Enscheded, Pays Bas.
88. **YOUSIF A. K. & ALGHZAWI H. M., 2000.** Processing and characterization of carob powder. *Food chemistry*, 69, 283-287.