



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOU D MAMMERI DE TIZI-OUZOU
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT BIOCHIMIE-MICROBIOLOGIE.

***MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU
DIPLOME DE MASTER***

Filière : Biotechnologie

Option : Biotechnologie Microbienne

Thème :

***Essai d'élaboration d'un yaourt naturel fonctionnel à
base de gombo et de la graine de lin comme prébiotiques***

Présenté par :

SI LARBI Khedidja.

SELLOUM Nadia.

Membre de jury composé de :

Mr BARIZ K.	Président	Maître de Conférences classe (B) à l'UMMTO
Mme REMANE Y.	Examinatrice	Maitre Assistante (A) à l'UMMTO
Mme BENAHMED DJILALI A.	Promotrice	Professeur à l'UMMTO

Année universitaire : 2020-2021

Remerciements

Avant tout nous remercions ‘‘Allah’’ tout puissant pour nous avoir donné le souffle, l’énergie et la volonté pour réaliser ce travail.

Au terme de ce travail, il est agréable de présenter nos remerciements les plus sincères à Mlle BENAHMED DJILALI A, pour nous avoir proposé cette thématique intéressante et nous avoir acceptés de nous encadrer et d’orienter tout au long de notre travail avec ces judicieux conseils et sa constante disponibilité. C’est grâce à sa compétence et indulgence que ce travail a pu être réalisé.

Nous remercions également les membres du jury d’avoir accepté d’évaluer ce travail.

Mes vifs remerciements s’adressent à tous le personnel du laboratoire commun d’analyse physicochimique et laboratoire pédagogique de microbiologie à l’UMMTO de Tizi-Ouzou de nous avoir bien accueillis, pour leur aide et leur conseils.

Khedidja et Nadia



Dédicaces

Je tiens à dédier ce modeste travail à :

- ❖ *Mes très chers parents qui m'ont entouré de leur amour et en lesquels j'ai toujours trouvé une source d'encouragement et de réconfort ;*
- ❖ *Mes très chers frères pour leur encouragement ;*
- ❖ *Mon très cher mari qui m'a motivé tout au long de ce travail ;*
- ❖ *Tous ceux qui m'ont aidés de près ou de loin.*

Khedidja



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail a :

- ❖ *Aux deux êtres les plus chers à mon cœur: mes parents pour leur amour, encouragement et confiance. je souhaitent qu'ils trouvent à travers ce mémoire le faible témoignage de leurs efforts et sacrifices.*
- ❖ *A mes deux frères Karim et Saïd*
- ❖ *A mes chères sœurs :*
- ❖ *Fariza*
- ❖ *Nora et ses deux anges : Lina, Anis*
- ❖ *Et plus spécialement ma sœur Samia qui n'a pas cessé de m'encourager et motiver tout au long de ce travail.*

Nadia



Liste des abréviations

ALA : Acide alphalinoléique

APG: Angiosperm Phylogeny Group

DPPH: Diphényl Pycril Hydrazil

FAO: Organisation des nations unies pour l'Alimentation et l'Agriculture

FGF : Facteur de croissance des fibroblastes

SD : Digestion salivaire

SGID : Digestion salivaire gastro-intestinale

V : Volume en ml

T° : Température

Liste des tableaux

Tableau I: Classification phylogénétique de l'espèce <i>Abelmoschus esculentus</i>	5
Tableau II: Valeur nutritive pour 100g de gombo consommés.	6
Tableau III: Classification de lin	11
Tableau IV: Composition biochimique (%) des graines de lin	12
Tableau V: Bienfaits du lin pour la santé	14
Tableau VI: Niveaux des variables utilisées pour la construction plan composite centré	24
Tableau VII : Conditions de la conception expérimentale basée sur le plan d'expériences composite centré à cinq niveaux	25
Tableau VIII : Conditions et résultats de la conception expérimentale basée sur le plan d'expériences composite centré à cinq niveaux (n=3)	30

Liste des figures

Figure 01: Répartition écologique de gombo en Afrique.	4
Figure 02: Aspect des parties de gombo.	4
Figure 03: Production de gombo dans le monde	7
Figure 04: Arrachage de lin, par dignitaire et sa femme	10
Figure 05: Aspect de lin	11
Figure 06: Diagramme d'utilisation de lin	13
Figure 07: Aspect des Bactéries lactiques.....	17
Figure 08: Aspect de produits prébiotiques utilisés pour l'élaboration du yaourt	22
Figure 09: Gel extrait à partir des fruits de gombo	23
Figure 10: Poudre de lin.	23
Figure 11: Incubation des échantillons au bain mari.	26
Figure12: Etapes de dosage des flavonoïdes dans le lactosérum de yaourt.	28
Figure 13: Diagramme de Pareto de temps de coagulation avec statistiquement Significatif.....	31
Figure 14: Diagramme de Pareto de volume de synérèse avec statistiquement Significatif.....	31
Figure 15: Diagramme de Pareto de flavonoïdes avec statistiquement non significatif	32
Figure 16: Diagramme de Pareto d'activité anti-oxydante avec statistiquement Non significatif	32
Figure 17: Diagramme de Pareto d'acidité avec statistiquement non significatif	32
Figure 18: Effets de volume du gel de gombo, de la température et de la quantité de la poudre des graines de lin sur le temps de coagulation.	33

Figure 19: Effets de volume du gel de gombo, de la température de Coagulation et de la quantité de la poudre des graines de lin sur le volume de synérèse.	34
Figure 20: Analyse de surface de réponse de temps de coagulation (TC)	36
Figure 21 : Contours de surface de réponse (Tc)	36
Figure 22: Analyse de surface de réponse de volume de synérèse (Vs)	37
Figure 23: Contours des surfaces de réponses (Vs)	38
Figure 24: 3D contour plot de la fonction désirabilité	39
Figure 25: Structures microscopiques des yaourts	40

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Listes des figures

Résumé

Abstract

Introduction générale 1

Synthèse bibliographiques

Chapitre 1 : Généralités sur le gombo (*Abelmoschus esculentus* L.)

I.1 Introduction 3

I.2 Origine 3

I.3 Description botanique 4

I.4 Classification phylogénétique 5

I.5 Composition nutritionnelle 5

I.6 Production mondiale 6

I.7 Bienfaits 7

Chapitre II : Généralités sur la graine de lin (*Linum usitatissimum* L.)

II.1 Historique 10

II.2 Description botanique 10

II.3 Classification 11

II.4 Composition biochimique 11

II.5 Utilisation	12
II.6 Bienfaits.....	13

Chapitre III : Généralités sur le yaourt et les bactéries lactiques

III.1 Historique	15
III.2 Définition	15
III.3 Classification de yaourts	16
III.3.1 Selon la technologie de fabrication	16
III.3.2 Selon la teneur en matière grasse	16
III.3.3 Selon la teneur en sucres	16
III.4 Généralités sur les bactéries lactiques	16
III.4.1. <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	17
III.4.2 <i>Streptococcus thermophilus</i>	17
III.5 Notion probiotiques.....	18
III.6 Notion de prébiotiques	18
III.7 Effets bénéfiques	19
III.7.1 Intolérance au lactose	19
III.7.2 Effet sur le système immunitaire.....	19
III.7.3 Guérison des diarrhées	20
III.7.4 Valeurs nutritionnelles.....	20

Partie expérimentale

Chapitre IV : Matériel et méthodes

IV.1 Cadre de l'étude	21
IV.2 Matériel.....	21
IV.2.1 Matériel biologique	21
IV.2.2 Matériel végétal	21
IV.3 Méthodes.....	22
IV.3.1 Préparation du gel de gombo.....	22
IV.3.1.2 Préparation de la poudre des graines de lin	23
IV.4 Essai d'élaboration d'un yaourt fonctionnel.....	24
IV.4.1Réalisation des essais de coagulation.....	24
IV.4.2 Etape de coagulation	25
IV.4.3 Mesure de volume de synérèse (Lactosérum)	26
IV.5 Méthodes d'analyses physico-chimiques des yaourts élaborés	27
IV.5.1 Détermination de l'acidité	27
IV.6 Dosage des flavonoïdes.....	28
IV.7 Activité anti-oxydante	29
IV.8 Analyse statistique des résultats.....	29

Chapitre V : Résultats et discussion

V.1 Interprétation des résultats selon le diagramme de Pareto	31
V.2 Interprétation des résultats selon les diagrammes des effets principaux.....	33
V.3 Equations des modèles mathématiques.....	35
V.3.1 Analyse de surface de réponse de temps de coagulation (Tc)	35

V.3.2 Analyse de surface de réponse de volume de synérèse (Vs)	36
V.4 Optimisation des conditions de la formulation de yaourts par RSM.....	38
V.5 Résultats de la structure microscopique de yaourt élaboré.....	39
Conclusion	41
Références bibliographiques	
Annexes	



Résumé

Résumé

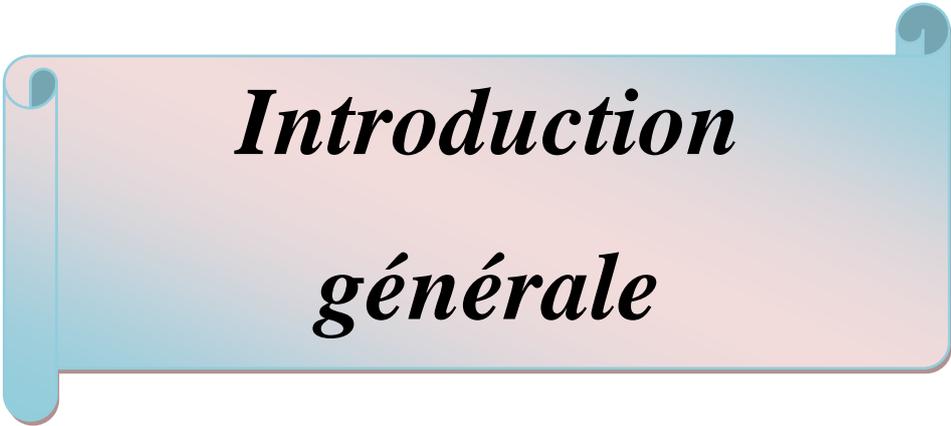
Les paramètres influençant la qualité d'un yaourt étant nombreux, la méthodologie de surface de réponse a été utilisée pour optimiser les conditions de formulation d'un yaourt naturel fonctionnel à base des ferments lactiques et du gel de gombo (mucilage) et de la poudre des graine de lin comme prébiotiques. Les variables optimisés sont le volume de gel de gombo, la température de coagulation, la quantité de la poudre des graines de lin tandis que l'acidité, le temps de coagulation, le volume de synérèse, le taux des flavonoïdes totaux et l'activité anti oxydante sont les réponses attendues dans ces essais. Les données sont traitées avec un degré de confiance $p < 0,05$ associé à une analyse statistique par le logiciel Statgraphic Centurion XVIII version 18. L'analyse des tests réalisés montrent que les variables ont des effets globalement significatifs ($p < 0,05$) sur le temps de coagulation et le volume de synérèse. La formulation optimale a engendré un volume de gel de gombo égal à 0,5ml, une température de coagulation de 45,7 °C et une quantité de la poudre des graines de lin égale 0,91g. Avec une désirabilité de 72%, ce modèle est aptes à expliquer les résultats et les valeurs expérimentales correspondent à celles prédites et sont dans les normes. L'analyse immédiate de la formulation optimale du yaourt élaboré montre que le temps de coagulation, le volume de synérèse, les flavonoïdes totaux, l'activité anti oxydante et l'acidité sont respectivement de 22,16 ; 0,0005 ; 0,75 ; 0,35 et 0,098.

Mots clés : gombo, graine de lin, prébiotiques, yaourt, optimisation, plan d'expériences

Abstract

Since the parameters influencing the quality of a yogurt are numerous, the response surface methodology was used to optimize the formulation conditions of a functional natural yogurt based on lactic ferments and okra gel (mucilage) and powder. Flax seed as prebiotics. The optimized variables are okra gel volume, coagulation temperature, amount of flaxseed powder while acidity, coagulation time, syneresis volume, total flavonoid level and Antioxidant activity are the expected responses in these tests. The data are processed with a degree of confidence $p < 0.05$ associated with a statistical analysis by Statgraphic Centurion XVIII version 18. The analysis of the tests carried out show that the variables have globally significant effects ($p < 0.05$) on coagulation time and syneresis volume. The optimal formulation generated a volume of okra gel equal to 0.5ml, a coagulation temperature of 45.7 °C and an amount of flaxseed powder equal to 0.91g. With a desirability of 72%, this model is able to explain the results and the experimental values correspond to those predicted and are within the standards. The immediate analysis of the optimal formulation of the processed yogurt shows that the clotting time, the volume of syneresis, the total flavonoids, the antioxidant activity and the acidity are respectively 22.16; 0.0005; 0.75; 0.35 and 0.098.

Keywords: okra, flaxseed, prebiotics, yogurt, optimization, design of experiments



Introduction
générale

Introduction

La croissance de la population mondiale et l'augmentation du niveau de vie exigent un approvisionnement accru des denrées alimentaires. Celui-ci peut être obtenu non seulement par une augmentation de la production, mais également par une amélioration de la qualité des aliments.

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

Le yaourt fait partie de la famille des laits fermentés et l'un des produits les plus consommés au monde. Il est obtenu par une fermentation lactique, due à l'activité de deux bactéries lactiques *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* (Yildiz. 2010).

L'industrie laitière utilise de plus en plus d'agents conservateurs chimiques dans la fabrication de yaourts exemples sorbate de sodium (SIN202) et phosphate de di-amidan (SIN 1412). Ces agents jouent un rôle dans la stabilité de yaourts mais leur consommation à des prises répétées peuvent nuire sur la santé humaine, ainsi y'en a-t-il de nouveaux ingrédients qui peuvent remplacer ces agents conservateurs, tout en garantissant les critères qualités, quantité de yaourt ?

A cet effet, le remplacement de ces agents par des extraits des plantes médicinales riches en substances bioactives connues pour ses propriétés biologiques, antioxydantes, et thérapeutiques s'avère nécessaire.

Les plantes médicinales représentent une source inépuisable des substances et composés naturels bioactifs. Elles sont considérées comme une source de revenu non négligeable pour de nombreuses populations.

Aujourd'hui le gombo est largement connu et apprécié pour ses vertus médicinales aussi bien que pour ses vertus nutritionnelles, tel la vitamine C qui stimule le système immunitaire. Notamment, ce légume présente un effet antioxydant efficace contre l'excès de radicaux libres responsables du vieillissement tissulaire.

En outre, la graine de lin peut être considérée comme une meilleure source des graisses végétales (riche en oméga trois). Elle a été utilisée comme une céréale alimentaire nutritionnelle précieuse dans les régimes alimentaires et en médecine pendant des milliers d'années et plus récemment.

Introduction générale

Le présent travail rentre dans le cadre de la valorisation de gel du fruit de gombo (*Abelmoschus esculentus* L.) et de la poudre de la graine de lin.

Le choix des deux matières végétales se justifie d'une part de leurs effets prébiotiques, et d'autres parts de leurs richesses en fibres (mucilage, cellulose, et pectines), en minéraux tel que le Ca, Fe, Mg, et en vitamines (C, E).

L'objectif de cette étude est de montrer l'effet de gel de fruit de gombo et la poudre de la graine de lin comme prébiotiques pour préparer un yaourt naturel fonctionnel.

Le manuscrit est composé de trois parties :

- La première partie propose une synthèse bibliographique qui se divise en trois chapitres, le premier présente des généralités sur le gombo, le second des généralités sur le lin et le dernier se focalise sur le yaourt et les bactéries lactiques.

-La deuxième partie porte sur les manipulations et les expérimentations faites en vue l'optimisation des conditions de préparation d'un yaourt fonctionnel à base de gel de gombo et la poudre de la graine de lin. 18 essais de coagulation ont été réalisés en appliquant le plan d'expériences composite centré à cinq niveaux avec trois répétitions.

-La dernière partie révèle tous les résultats obtenus ainsi que leur discussion statistiquement, et à la fin, on termine par une conclusion.

Synthèse bibliographique

Chapitre I: Généralités sur le gombo

I.1 Introduction

Le gombo (*Abelmoschus esculentus*) est l'une des espèces les plus connues et utilisées de la famille des Malvacées (Naveed et *al.* 2009). Parmi les dix espèces reconnues actuellement, deux sont cultivées pour leur fruit, qui est un légume très populaire dans la plupart des pays tropicaux et méditerranéens: *A. esculentus* et *A. caillei*.

Deux autres espèces, de moindre importance, *A. manihot* est cultivée pour ses feuilles, et *A. moschatus* est cultivée pour ses graines.

La culture de gombo (okra) est très maraîchère économiquement importante cultivée dans les régions tropicales et subtropicales de monde (Oyelade et *al.*, 2003 ; Andras et *al.*, 2005 ; Saifullah et Rabbani, 2009).

La culture de cette plante est exceptionnelle et originale car toutes ses parties (racines, tiges, feuilles, fruits et graines) sont valorisées sur les plans alimentaire, médicinal, artisanal et même industriel (Marius et *al.* 1997). Le gombo a été classé parmi les légumes, fournissant des produits à valeur nutritionnelle appréciable dépassant même celle de la tomate (Hamon et Charrier, 1997). Ses fortes teneurs en glucides, protéines, vitamines A et C, fer, phosphore, potassium et magnésium ont été démontrées par Hamon (1988) ; Koechlin (1989) et Nzikou et *al.* (2006).

Le tourteau issu du pressage des graines de gombo, contient 30% de protéines (Marius et *al.* 1997). Ainsi, ses vertus thérapeutiques ont été argumentées par Lapointe (1987) ; Nacoulma (1996) et Oyen et Lemmens (2002).

I.2 Origine

Le gombo est originaire d'Éthiopie (Simmone et *al.* 2004), ensuite sa culture s'est propagée en Afrique du Nord, en Méditerranée, en Arabie et en Inde dès le XIIe siècle (Nzikou et *al.* 2006), puis en Amérique au XVIIe siècle.

Généralement, *Abelmoschus esculentus* est une plante cultivée, à l'état sauvage est très répandue dans les régions tropicales et tempérées chaudes, située principalement en Afrique de l'ouest, en Inde, au Philippines, en Thaïlande et en Brésil (Fig. 01). Le fruit de gombo est consommé dans la quasi-totalité de l'Afrique et en Inde qu'est le premier producteur mondial.

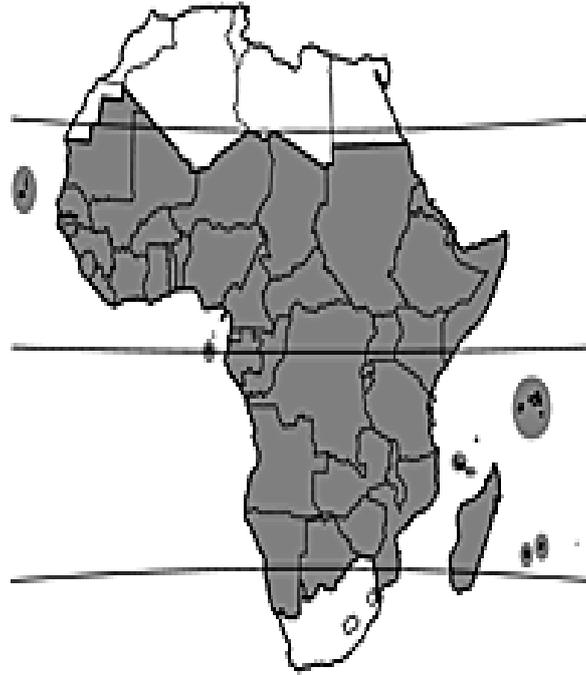


Figure 01 : Répartition du gombo en Afrique.

I.3 Description botanique

Abelmoschus esculentus est une plante herbacée annuelle atteignant 2,50 mètres de hauteur. Ses tiges dressées ne sont pas ramifiées. Elles sont de couleur vert, parfois rouge tout comme les pétioles et les nervures principales des feuilles. Ces dernières sont grandes (jusqu'à 35 centimètres), disposées de façon alterne, longuement pétiolées et de forme palmatilobée (Fig.02 a). Les fleurs sont formées d'un calice enveloppant à 5 dents, d'une corolle composée de 5 pétales jaunes ou jaunâtres à base pourpre, d'un pistil à 5 carpelles et d'étamines soudées (Fig.02 b). Le fruit est une capsule ovoïde de 8 à 25 centimètres de longueur, pointue, que l'on cueille verte comme un légume. A maturité, elle est déhiscente par 5 valves (Fig.02 c).



Figure 02 : Aspect des parties de gombo : a) : feuilles ; b) : fleurs ; c): fruits

I.4 Classification phylogénétique

L'*Abelmoschus esculentus* (gombo) est une espèce végétale appartenant à la famille des *Malvacées* (sous –famille des Malvoïdées, tribu des Hibiscées) originaire d’Afrique.

Le tableau ci-dessous présente la classification phylogénétique de l’espèce *Abelmoschus esculentus* (Chevalier, 1940)

Tableau I : Classification phylogénétique de l’espèce *Abelmoschus esculentus*.

Règne	Plantae
Sous règne	Viridiplantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Diléniidées
Ordre	Malvales
Famille	<i>Malvacées</i>
Genre	<i>Abelmoschus</i>
Espèce	<i>esculentus</i>

I.5 Composition nutritionnelle

Le gombo présente deux intérêts majeurs : sa teneur élevée en protéines, calcium, et vitamines, permettant de pallier de nombreuses déficiences et la possibilité de l’envisager dans les projets de diversification alimentaire (Hamon, 1988). Au regard de sa composition (Tableau II).

Le gombo a été qualifié de « parfait légume du villageois » en raison de sa nature robuste, de ses fibres alimentaires et de son équilibre protéique distinct de la lysine et les acides aminés du tryptophane (contrairement aux protéines des céréales et des légumineuses) (Sanjeet et al. 2010).

La composition en acides aminés de la protéine de la graine de gombo est comparable à celle du soja (Adetuyi et al. 2012). En effet, le profil en acides aminés constitue un complément aux régimes alimentaires à base de légumineuses ou de céréales (Ndangui et al. 2010).

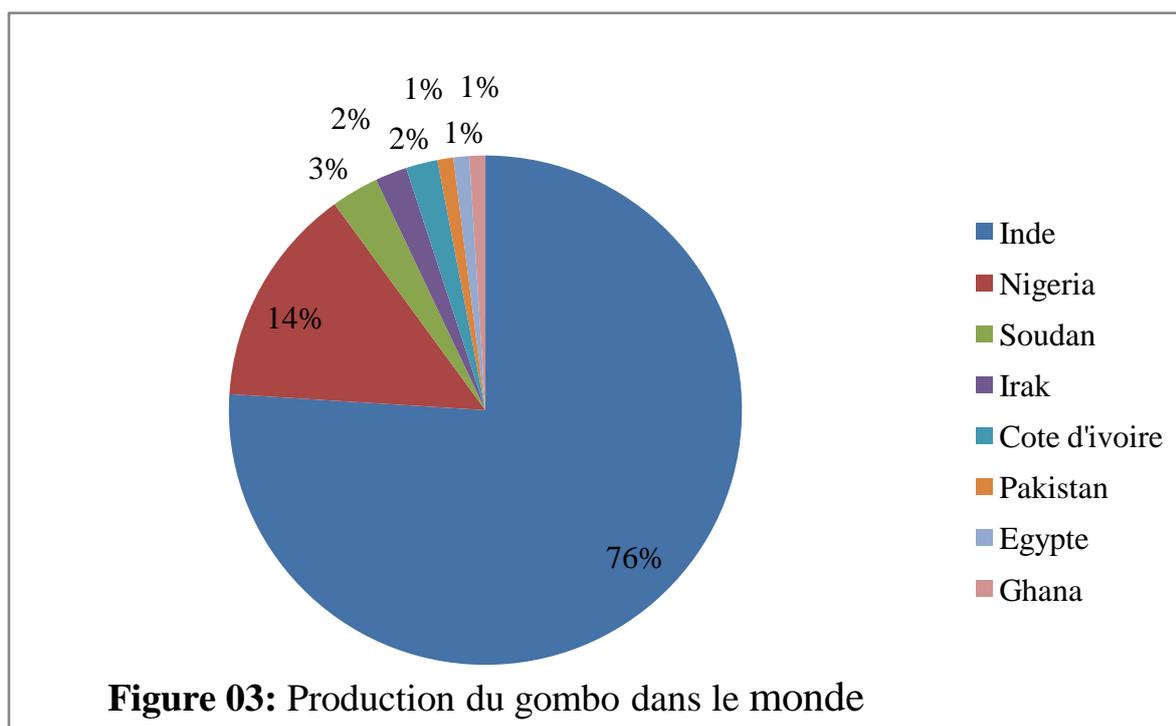
Tableau II : Valeur nutritive pour 100g de gombo consommés (Grubben, 1977 ; Charrier, 1983)

Généralités sur le gombo

Eléments nutritifs	Organes	
	Fruits	feuilles
Matière sèche (g)	10,4	10
Energie (Keal)	31,00	33,00
Protéines (g)	1,80	2,00
Calcium (mg)	90,00	70,00
Fer (mg)	1,00	1,00
Carotène (mg)	0,10	0,99
Thiamine (mg)	0,07	0,10
Riboflavine (mg)	0,08	0,10
Niacine (mg)	0,80	1,00
Vitamine C (mg)	18,00	25,00

I.6 Production mondiale

Selon la FAO (2011), le premier producteur du gombo dans le monde est l'Inde (5884000 tonnes) qui représente 76% de la production mondiale suivie de Nigeria (1060620 tonnes) avec 14%, le soudan, l'Irak et la cote d'Ivoire 2%. Cependant, l'Egypte figure le septième producteur mondial du gombo après le Pakistan avec une production de 84041 tonnes (Fig03).



I.7 Bienfaits

Le gombo présente une bonne source de nutriments qui permet de procurer d'importants bienfaits pour la santé humaine à savoir :

Traitement de certains cancers

Le gombo fait partie des aliments permettant de prévenir le cancer du côlon. En effet, les fibres réduisant le risque du cancer du côlon et du rectum et débarrassant les intestins de leurs toxines.

La pectine extraite du gombo diminuait la prolifération de cellules cancéreuses de la peau, induisant à leur apoptose (mort cellulaire) (Vayssade *et al.* 2010).

Abaissement du cholestérol

Le gombo constitue un très bon régulateur de cholestérol en partie grâce à sa forte teneur en fibres. En outre, il ne contient aucun cholestérol et très peu de graisses. En effet, ses fibres solubles participent dans la régulation du cholestérol (capture des lipoprotéines LDL et leur élimination dans les selles).

Contrôle du diabète

De multiples études montrent que le gombo peut aider à la prévention et au traitement du diabète (Sabitha *et al.*, 2012; Mishra *et al.*, 2016; Huang *et al.*, 2017).

D'autres études similaires réalisées par Fan *et al.* (2014) qui ont étudié l'effet du gombo sur la réduction des taux de glucose et de lipides sanguins chez les souris obèses. Le même effet a été prouvé sur des rats obèses rendus diabétiques par la streptozotocine (Erfani Majd *et al.* 2018).

Effet sur le système immunitaire

Grace à ses fortes teneurs en antioxydants (polyphénols et flavonoïdes) (Vayssade et *al.*, 2010 ;Wang et *al.*, 2016) et en vitamine C (16,3mg/100g), le gombo présente de potentielles propriétés anti-inflammatoires (Wang et *al.* 2016).

En effet, la vitamine C stimule le système immunitaire en favorisant la création de globules blancs dans l'organisme. Ce légume agit également comme antirides, ses antioxydants combattent l'excès de radicaux libres responsables du vieillissement tissulaire, l'apparition de certaines maladies dont l'asthme, et l'affaiblissement du système immunitaire.

Effet sur la digestion

Le fruit de gombo permet le bon fonctionnement de l'appareil digestif en facilitant le transit intestinal grâce à la présence d'une source de fibres. Il contribue aussi à réguler le transit intestinal améliorant l'absorption de l'eau sous forme des mucilages en milieu aqueux (Saravanan et *al.* 2013).

Les effets de la digestion salivaire gastro-intestinale simulée *in vitro* sur les propriétés physico-chimiques et bioactivité des polysaccharides de gombo (OPS) ont été étudiés par Yuan et *al.* (2020). Ces auteurs ont démontré que les digestibilités de l'OPS étaient d'environ 5,1%, 37,5% et 41,3% après la digestion salivaire (SD) et la digestion salivo-gastrique (SGID).

Le SGID a considérablement modifié les propriétés physico-chimiques de l'OPS, telle que les acides uronique totaux, les flavonoïdes totaux, la composition des monosaccharides, les propriétés rhéologiques et les poids moléculaires.

Effet sur la peau

L'étude réalisée par Rival et *al.*(2009), ont développé un ingrédient actif cosmétique contenant de l'extrait de graines d'*Hibiscus Abelmoschus* qui peut maintenir la teneur en FGF-2 dans la peau en imitant l'effet protecteur des protéoglycanes sulfates d'héparane. En empêchant la dégradation naturelle du FGF-2.

***Chapitre II: Généralités
sur la graine de lin***

II.1 Historique

Le lin, est une plante de famille des linacées, fut l'une des premières plantes cultivées par l'homme. Des traces de son existence datant de 8000 ans avant J.C. Il a été découvert dans des sites archéologiques à Tell Abu Hureya en Syrie. Cette plante était largement implantée en Egypte (Fig. 04) et en Europe où elle a été utilisée pour fabriquer du papier et des tissus durant plusieurs siècles (Chatain et *al.*, 2016).

Le nom botanique, *Linum usitatissimum* a été donné par Linnaeus en 1857 dans son livre *Species Plantarum* (Jhla et Hall, 2010).



Figure 04 : Arrachage du lin, par un dignitaire et sa femme, Tombe de Sennedjem, Der el Medineh, XIX^{ème} dynastie, (Savoire, 2008)

II.2 Description botanique

Le lin est une plante herbacée annuelle, avec un système racinaire peu profond et a besoin d'une humidité suffisante pendant la saison de croissance (Hocking et *al.*1997).

Ses feuilles sont simples et épaisses et alternes, disposées tout en long de la tige dressée, elles sont simples et sessiles d'une longueur d'environ de 25 mm (Fig 05. a) (Casa et *al.*1999).

L'inflorescence est en forme de cyme qui porte plusieurs fleurs bleues ou blanches (Fig. 05 a). Les fleurs sont pour la plupart hermaphrodites.

Généralités sur la graine de lin

Les fruits ont la forme de petites capsules sphériques (Fig. 05. b) qui renferment des graines brunes ovales et aplaties (Cardenas 2017). La texture de ces graines (Fig. 05. C) est croquante et moelleuse possédant un goût agréable de noisette) (Carter, 1996).



Figure 05 : Aspect de lin : a)- Fleurs et feuilles; b-) capsules à maturité ; c)- contenu des capsules (graines)

II.3 Classification

La famille des *Linaceae* est géographiquement répandue avec environ 3000 espèces dans le monde entier. Cette famille est positionnée dans le royaume des plantes comme suit (Tableau III).

Tableau III : Classification du lin (Diedrechsens et Richards, 2003)

Division	Pteridophyta
Sous division	Angiosperme
Classe	Dicotyledoneae
Sous classe	Rosidae
Ordre	Geraniales
La famille	<i>Linaceae</i>
Tribu	Linoideae
Genre	<i>Linum</i>
Espèce	<i>Usitatissimum</i> L

II.4 Composition biochimique

La graine de lin contient environ 40% lipides, 30% de fibres alimentaires et 20% de protéines (Tableau IV). Elle est riche en lipides (oméga-3), essentiellement l'acide alphalinoléique (ALA).

Généralités sur la graine de lin

En effet, la composition biochimique varie considérablement d'une variété à une autre et dépend aussi des conditions de l'environnement. Les cotylédons contiennent 75% de lipides et 76% de protéines concentrées dans les semences. Cependant, l'endosperme contient seulement 23% des lipides et 16% de protéines (Daun et *al.* 2003 ; Oomah, 2003).

Tableau IV : Composition biochimique (%) des graines de lin (Rubilaret *al.* 2010)

Humidité	Protéines	Lipides	Fibres	Cendres
7,4	23,4	45,2	-	3,5
4-8	20-25	30-40	20-25	3-4

II.5 Utilisation

Le lin est redécouvert comme véritable aliment indispensable pour la santé. Traditionnellement, le lin et son huile sont utilisés pour divers usages incluant l'usage industriel tels que la fabrication de la peinture, vernis, et linoléum, l'alimentation animale et comme un aliment humain ou un ingrédient alimentaire dans les aliments transformés (Laiq Khan et *al.* 2010). L'utilisation de la graine de lin est résumée dans le diagramme de la Figure 06.

Généralités sur la graine de lin

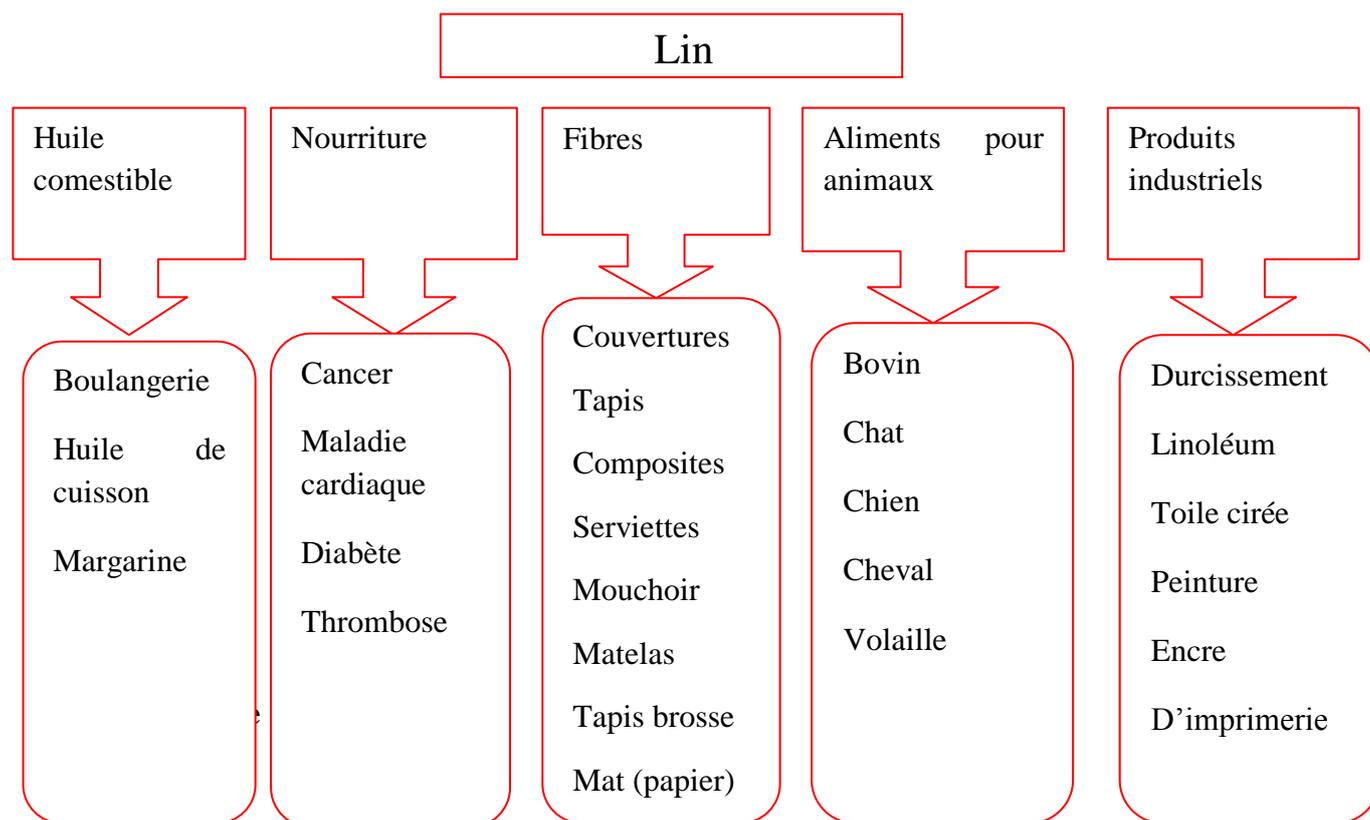


Figure 06 : Diagramme d'utilisation de lin (Laiq Khan et *al.* 2010)

II.6 Bienfaits du lin sur la santé

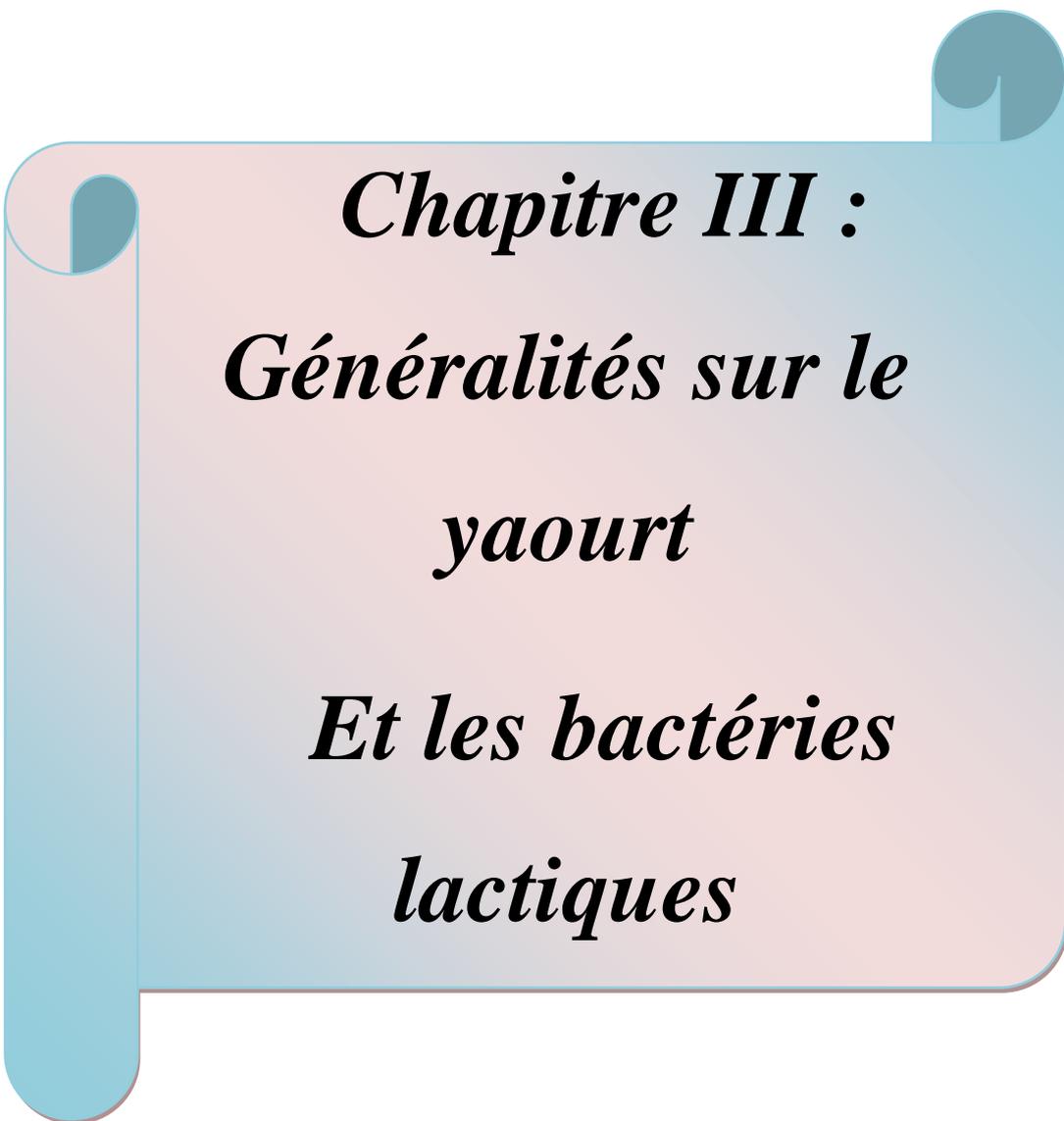
Les graines de lin constituent une source riche en acide alpha linoléique (ALA), en lignanes et en fibres alimentaires (Day et *al.* 2005). Ces composés ont des effets contre plusieurs maladies (Tableau V). En effet, le lin abaisse les concentrations en cholestérol total sérique et contribue à réduire le risque des maladies cardio-vasculaires, grâce aux actions de l'ALA (Mozaffarian, 2005).

Notamment, les fibres alimentaires du lin exercent un effet laxatif et aident au bon fonctionnement de l'intestin. Le goût de noisette du lin le rend un ajout idéal aux céréales chaudes et froides, aux pâtes, aux biscuits, aux frappés aux fruits, et à la soupe (Zhang et *al.* 2008).

Généralités sur la graine de lin

Tableau V : Bienfaits du lin pour la santé (Zhang et *al.* 2008)

Composés des graines de lin	Bienfaits pour la santé
Fibres solubles	-Réduction de la cholestérolémie et de glycémie
Fibres insolubles	-Réduction de la fonction intestinale
Acide alpha-linolénique (ALA)	-Réduction du risque de coronaropathie et de cancer. - Réduction de la cholestérolémie et des concentrations de biomarqueurs inflammatoires
Lignanes (SDG)	-Traitement de l'hypertrophie de la prostate -Prévention du cancer -Maîtrise de la néphropathie lupique (insuffisance rénale) -Réduction des risques liés aux maladies cardiovasculaires, et aux maladies inflammatoires chroniques de l'intestin.



Chapitre III :
Généralités sur le
yaourt
Et les bactéries
lactiques

Généralités sur le yaourt et les bactéries lactiques

III.1 Historique

Le mot yaourt ou yoghourt est originaire d'Asie, il dérive du verbe « yoghurmark » qui signifie : épaissir, cailler, coaguler (Tamime et Deeth., 1980, in Bendou, 2018).

Les laits fermentés sont apparus il y a plusieurs millénaires et ont été adoptés par différentes cultures à travers le monde. La production originale de produits laitiers fermentés dérivée de la nécessité de prolonger la durée de conservation du lait.

La fabrication du yaourt était initialement basée sur des connaissances et des processus empiriques sans procédures standard ni enquête sur les étapes qui se produisent tout au long du processus. Ce n'est qu'après la fin du 20^e siècle, lorsque le yaourt est devenu un bien commercial rentable, que sa fabrication s'est industrialisée. Les découvertes scientifiques ont suggérés de nouveaux produits laitiers bénéfiques pour la santé humaine (cultures probiotiques). Ainsi, la demande des consommateurs pour le yaourt et les produits laitiers fermentés similaires a augmenté.

III.2 Définition

Le yaourt c'est un produit qui résulte de la fermentation lactique du lait (pasteurisé, concentré, partiellement écrémé, enrichis en extrait secs...) sous l'action des bactéries lactiques spécifiques : *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*. Ces bactéries d'origine intestinale dits « probiotique » qui lui confèrent une valeur santé. Des ingrédients non laitiers peuvent être ajoutés, citant des exemples des fruits sous différentes formes (jus, sirop, pulpes), de légumes ou de sucre.

Cette définition a été établie par le Codex Alimentarius en 1975 puis a été révisée en 2003 par la FIL comme suit :

- Le yaourt nécessite l'utilisation obligatoire et exclusive des deux ferments : *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* (Luquet et Carrieu., 2005, in Loumani, 2010).
- Les bactéries dans ce produit doivent être vivantes avec une quantité au moins 10 millions de bactéries par gramme de produit.
- La quantité d'acide lactique doit être supérieure ou égale à 0,7 gramme pour 100 gramme de produit.

Généralités sur le yaourt et les bactéries lactiques

- La quantité d'ingrédients non laitiers est fixée à moins de 30% en poids du produit fini.

III.3 Classification de yaourts

Les yaourts sont devisés en différents types selon plusieurs critères :

III.3.1 Selon la technologie de fabrication

III.3.1.1 Yaourt brassé: est un yaourt fermenté en vrac dans des cuves, le caillé obtenu après fermentation est brassé puis refroidit avant d'être conditionné en pots, ensuite stocké au froid.

III.3.1.2 Yaourt ferme : ce type de yaourt estensemencé dans des pots à fermenter dans une étuve à 42 - 45°C pendant 3 à 5 heures. Les bactéries lactiques vont se multiplier et transforment le lactose du lait en acide lactique. Les yaourts sont stockés à 2-4 °C.

III.3.1.3 Yaourt à boire « liquide » : c'est un yaourt qui a une texture liquide comme une boisson, après avoir été brassé et battu dans les cuves, son conditionnement s'effectue dans des bouteilles.

III.3.2 Selon la teneur en matière grasse

II.3.2.1 Lait entier : est un yaourt plus riche en matière grasse.

II.3.2.2 Lait demi-écrémé: est un yaourt qui renferme une teneur entre 15 et 18 grammes de matière grasse par litre.

II.3.2.3 Lait écrémé : est un yaourt dépourvu de matière grasse.

III.3.3 Selon la teneur en sucre

II.3.3.1 Yaourt light : ne possède pas de sucre

II.3.3.2 Yaourt sucré: il est composé de sucre.

III.4 Généralités sur les bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont utilisées dans l'alimentation en grandes quantités. Elles représentent le deuxième plus grand marché de production de biomasse, après les levures (Luquet et Carrieu., 2005, in Loumani., 2010).

Selon la réglementation française, dans le yaourt, seulement deux bactéries qui interviennent dans la fermentation du produit : *Streptococcus thermophilus* (Fig. 07.a). *Lactobacillus bulgaricus* (Fig 07. b).

Généralités sur le yaourt et les bactéries lactiques



Figure 07: Aspect des bactéries lactiques, a) : *Streptococcus thermophilus* ; b) : *Lactobacillus bulgaricus*

III.4.1 *Lactobacillus bulgaricus*

- Définition

C'est une bactérie lactique anaérobie à Gram positif, de forme bâtonnet ou chaînette, sporulée, qui ne possède pas de flagelles donc immobile, thermophile et sa température optimale de croissance est de 42°C.

- Classification

- Royaume: Bactéries
- Embranchement: Firmicutes
- Classe: Bacilles.
- Ordre : *Lactobacillales*
- Genre : *Lactobacillus*
- Espèce : *Lactobacillus bulgaricus*

III.4.2 *Streptococcus thermophilus*

Définition

C'est une bactérie lactique anaérobie facultative non pathogène et homofermentaire avec une longue histoire d'utilisation dans la fabrication industrielle artisanale et moderne de produits laitiers fermentés, en particulier le yaourt (Wu et *al.* 2014).

Cette bactérie a une forme sphérique à ovoïde, à Gram positif, immobile, de diamètre qui varie entre 0,7 à 0,9 μm associée par paire et en chaîne. Elle a la propriété de convertir rapidement du lactose en acide lactique et donc une réduction rapide de pH entraînant la coagulation des protéines du lait (la caséine). De plus, cette bactérie confère de nombreuses excellentes.

Généralités sur le yaourt et les bactéries lactiques

Les propriétés de transformation du yaourt, telles que la saveur, l'acidité, la viscosité et la capacité de rétention d'eau (Sun et *al.* 2011).

III.5 Notion de probiotiques

Au cours de ces dernières décennies, de nombreuses études *in vivo* et *in vitro* ont montré l'importance de consommer des produits alimentaires qui contiennent des microorganismes vivants avec des avantages pour la santé.

Le terme « probiotique » définit cette entité comme microorganismes vivants lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, confèrent un avantage pour la santé de l'hôte. Cette définition est faite par l'association scientifique internationale pour les probiotiques et prébiotiques en 2002 (Guarner et *al.* 2005).

Les espèces bactériennes courantes utilisées dans les préparations des probiotiques comprennent les souches de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus* et *Saccharomyces*.

Le rôle des probiotiques a été étudié dans la prophylaxie et la gestion de différentes pathologies, en mettant l'accent sur les maladies du tractus gastro-intestinales (Elmer et *al.* 1996 ; Anderson et Gilliland., 1999 ; Van de Water et *al.*, 1999 ; Meydani et Ha., 2000).

III.6 Notion de prébiotiques

Un prébiotique est une substance alimentaire fermentée sélectivement induisant des changements spécifiques, à la fois dans la composition et/ou l'activité de la microflore gastro-intestinale qui confère des avantages au bien-être et à la santé de l'hôte, tandis que la combinaison synergique de probiotiques et prébiotiques sont appelées symbiotiques. Ce sont des fibres alimentaires ayant un impact positif bien établi sur la microflore intestinale (André Allaert et Pillon, 2010).

Les prébiotiques les plus utilisés actuellement sont les oligosaccharides (Delzenne, 2003). Ces composés ont de multiples effets bénéfiques sur la santé humaine notamment la prévention de la diarrhée ou de la constipation, modulation du métabolisme de la flore intestinale, prévention du cancer, effets positifs sur le métabolisme des lipides, stimulation de l'adsorption minérale.

Le lait est considéré comme une bonne source de transmission prébiotique car il contient un grand nombre de composés bioactifs tels que les peptides bioactifs, les lipides, des

Généralités sur le yaourt et les bactéries lactiques

minéraux, les vitamines, les immunoglobines, les facteurs de croissance et les cytokines qui sont bénéfiques pour la santé.

Les produits laitiers tels que le yaourt, la crème glacée et d'autres boissons lactées contiennent un grand nombre de composés fibreux et d'oligosaccharides. Les prébiotiques présents dans ces produits aromatisés améliorent le goût et augmente aussi les probiotiques dans les produits laitiers fermentés notamment ceux présents dans les yaourts.

Certaines études ont démontré que les produits laitiers fermentés composés d'oligosaccharides du raffinose présentent un avantage d'augmenter l'acidification, celle-ci influence positivement la croissance des probiotiques dans l'intestin (Khangwal et shukla, 2019).

III.7 Rôles bénéfiques des yaourts

Les premières conclusions scientifiques qui apportent la preuve des bienfaits des yaourts remontent au début du siècle dernier. Le prix Nobel de médecine 1908 attribué à Metchnikoff a récompensé le travail sur l'immunité. Le premier scientifique qui a démontré que les bactéries présentes dans les yaourts améliore la santé.

III.7.1 Intolérance au lactose

Le lactose est le sucre du lait constitué du galactose-glucose. Dans le tube digestif, le lactose est hydrolysé en glucose et galactose par une lactase. Il s'agit d'une B-galactosidase. L'absence ou le déficit de cette enzyme induit l'apparition des symptômes digestifs causés par l'incapacité ou la diminution de la digestion du lactose.

Les bactéries lactiques que contient le yaourt restent actives dans le tube digestif tout au long du tractus digestif, ce qui permet une bonne hydrolyse, et donc une bonne digestion du lactose présent dans le yaourt. C'est pourquoi les yaourts sont parfaitement tolérés chez les personnes déficientes en lactose (De Roissart et luquet, 1994, in Brahami, 2018).

L'action favorable n'existe que si les bactéries sont vivantes et leur lactase est active. Cependant, le traitement thermique des yaourts fait disparaître cette propriété.

III.7.2 Effet sur le système immunitaire

Différentes recherches affirment que l'administration des bactéries lactiques vivantes est susceptible de modifier la réponse immunitaire chez les animaux conventionnels et chez l'homme (Marteau et Brassard., 1994 ; Perdigon et *al.* 1995). Ces bactéries stimulent à plusieurs niveaux, la défense antimicrobienne de l'hôte, et aussi les défenses situées au niveau

Généralités sur le yaourt et les bactéries lactiques

du tube digestif. Elles agissent sur les cellules impliquées dans l'immunité spécifique ou non spécifique (Marteau et *al.*1994 in Brahami, 2018).

III.7.3 Guérison des diarrhées

L'utilisation du yaourt comme traitement contre les diarrhées de nourrisson et certaines infections intestinales de l'adulte a donné des résultats très positifs (Vrignaut, 1982, in Brahami, 2018).

III.7.4 Valeur nutritionnelle

Le yaourt et les laits fermentés contiennent du calcium qui représente une meilleure biodisponibilité que celui du lait (Béal et Sodini, 2003, in Brahami, 2018).

Partie expérimentale

Chapitre IV: Matériel et méthodes

IV.1 Cadre de l'étude

Notre travail pratique a été réalisé au niveau des laboratoires commun (I) d'analyses physico-chimiques et au niveau du laboratoire de microbiologie de la Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

L'objectif principal de cette étude est :

D'optimiser les conditions de formulation d'un yaourt naturel fonctionnel en faisant des combinaisons entre les levains lactiques et de la graine de lin et le gel de gombo comme prébiotiques.

Le travail pratique est subdivisé en trois parties :

1-Préparation de gel de gombo et la poudre de la graine de lin ;

2-Optimisation des conditions de coagulation du yaourt en appliquant le plan d'expériences composite centré à cinq niveaux ;

3- Analyses et traitements statistiques des réponses recherchés (temps de coagulation, volume de synérèse, l'acidité, taux des flavonoïdes totaux, et l'activité antioxydante) caractérisant les yaourts élaborés par des logiciels statistiques.

IV.2 Matériel

IV.2.1 Matériel biologique

Une mixture de bactéries lactiques (*Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*) lyophilisées d'origine de la Hollande a été utilisé comme ferments.

La quantité utilisée de ce dernier est de 3mg nécessaire pour coaguler de 10ml du lait.

IV.2.2 Matériel végétal

Le fruit de gombo (*Abelmoschus esculentus*) séché à l'air libre a été utilisé est d'origine de la région de Ghardaia.

Le gel de ce fruit est riche en mucilage a été utilisé comme prébiotique qui aide la prolifération des ferments lactiques et l'obtention d'un yaourt fonctionnel.

La poudre des graines de lin a été aussi utilisée comme prébiotique, ces graines ont été achetées chez l'herboriste de la ville de Tizi-Ouzou.

La figure 08 montre l'aspect de fruit de gombo coupé en deux à l'état sec et les graines de lin.



Figure 08: Aspect de produits prébiotiques utilisés pour l'élaboration du yaourt :

(a) fruit de gombo séché à l'air libre ;(b).les Graines de lin.

IV.3Méthodes

IV.3.1 Préparation du gel de gombo

Tout d'abord le fruit de gombo doit être bien lavé avant la préparation afin d'éliminer les résidus de la poussière.

La macération de morceaux de gombo dans de l'eau chaude bouillante a été réalisée pendant 15 minutes. A la fin de la macération on obtient un liquide visqueux (mucilages) d'une couleur marron. La récupération du gel de gombo se fait par filtration à l'aide d'une passoire. Le gel (Figure 9) a été conservé dans un flacon stérile au réfrigérateur jusqu'à l'utilisation ultérieure.

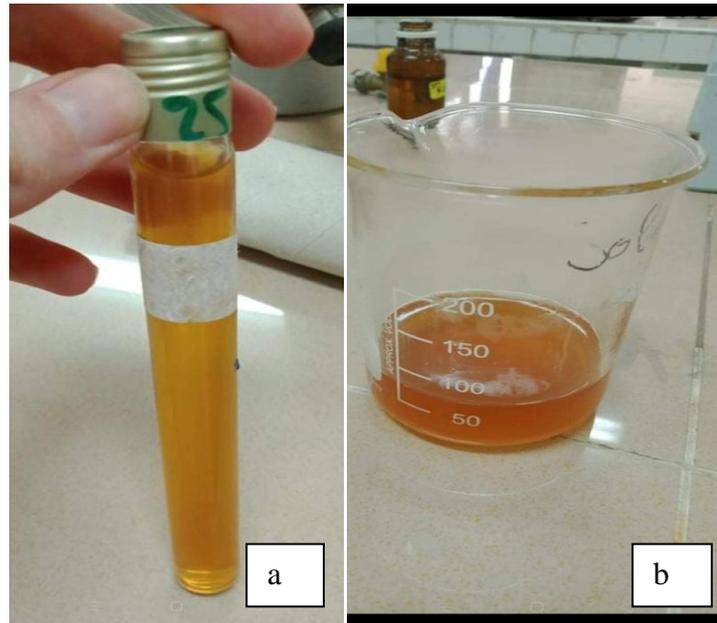


Figure 09: Gel extrait à partir de fruit de gombo

IV.3.1.2 Préparation de la poudre des graines de lin

Les graines ont été lavées puis séchées à air libre afin de débarrasser l'excès de l'humidité puis broyées à l'aide d'un broyeur électrique afin d'obtenir une poudre fine (Fig. 10).



Figure 10: Poudre des graines de lin.

IV.4 Essai d'élaboration d'un yaourt fonctionnel

L'ensemble des essais réalisés pour l'optimisation des conditions de préparation du yaourt naturel fonctionnel nécessite l'utilisation d'un matériel stérile (tubes, entonnoir, pince..), avec utilisation de gants pour éviter toute contamination. Les essais de coagulation ont été réalisés dans des tubes en verre stériles.

La méthodologie de surface de réponse a été utilisée pour optimiser les conditions optimales de formulation d'un yaourt fonctionnel préparé à base du mixture ferments, gel de gombo (mucilage) et la poudre des graines de lin comme prébiotiques.

18 essais de coagulation avec 3 essais de répétitions pour chaque essai ont été réalisés en appliquant le plan d'expériences composite centré (Tableau V). Trois variables : la quantité de la poudre des graines de lin (PG) (g), volume du gel de gombo (V) (ml), et la température de coagulation (T) (°C) ont été étudiées.

Tableau VI: Niveaux des variables utilisées pour la construction plan composite centré.

Variables	Etiquette	Niveaux codés				
		-1.682	-1	0	1	1.682
x_1	Volume du gel de gombo (V) [ml]	0.5	1.41	2.75	4.09	5
x_2	Température de coagulation (T) [°C]	40	41.16	42.85	44.54	45.7
x_3	Poudre de graines de lin (PG) [g]	0.2	0.46	0.85	1.24	1.5

La quantité des ferments lactiques (probiotiques) inoculée est identique pour l'ensemble des essais est de 3mg pour 10ml du lait.

IV.4.1 Réalisation des essais de coagulation

Les essais de coagulation sont menés conformément au plan composite centré pour les 3 facteurs : Volume du gel de gombo (V), Température de coagulation (T) et la quantité de la poudre des gaines de lins (PG). Les expériences se sont déroulées selon la matrice de ce plan comme il est démontré dans le tableau VII:

Tableau VII: Conditions de la conception expérimentale basée sur le plan d'expériences composite centré à cinq niveaux.

Expérience s	Facteurs						Tc	Vs	Acidité (%)	FT	Inhibition [%]
	Variables codées			Variables normales							
	x_1	x_2	x_3	$V[ml]$	$T [^{\circ}C]$	$PG[g]$					
1	0	0	0	2.75	42.85	0.85					
2	-1	-1	-1	1.41	41.16	0.46					
3	+1	-1	-1	4.09	41.16	0.46					
4	-1	+1	-1	1.41	44.54	0.46					
5	+1	+1	-1	4.09	44.54	0.46					
6	-1	-1	+1	1.41	41.16	1.24					
7	+1	-1	+1	4.09	41.16	1.24					
8	-1	+1	+1	1.41	44.54	1.24					
9	+1	+1	+1	4.09	44.54	1.24					
10	0	0	0	2.75	42.85	0.85					
11	0	0	0	2.75	42.85	0.85					
12	-1.68	0	0	0.5	42.85	0.85					
13	+1.68	0	0	5	42.85	0.85					
14	0	-1.68	0	2.75	40	0.85					
15	0	+1.68	0	2.75	45.7	0.85					
16	0	0	-1.68	2.75	42.85	0.2					
17	0	0	+1.68	2.75	42.85	1.5					
18	0	0	0	2.75	42.85	0.85					

Les réponses choisies sont le temps de coagulation, le volume de synérèse, l'acidité, la teneur en flavonoïdes totaux, et l'activité antioxydante.

IV.4.2 Etape de coagulation

- Préparation du blanc

Pour chaque test un blanc est préparé qui serve de témoin pour chaque essai de coagulation, il est composé juste de 10ml du lait avec 3mg des ferments lactiques.

- Préparation des échantillons

Dans des tubes à essai en verre on pipete un volume du gel de gombo par une pipette stérile et le lait préchauffé à 100°C et refroidie à 45°C on leur rajoute la poudre des graines de lin à l'aide d'un entonnoir, puis on rajoute 3mg des ferments lactiques à l'ensemble, fermer les tubes et les incuber au bain marie.

- Incubation

Les échantillons ainsi que leurs blancs sont incubés dans un bain marie (Fig. 11).



Figure 11: Incubation des échantillons au bain mari.

Le volume du gel, la quantité de la graine et la température de coagulations sont respectés, selon le tableau VII :

Un chronomètre est indispensable pour le contrôle de temps de coagulation pour chaque expérience.

IV.4.3 Mesure de volume de synérèse (Lactosérum)

La synérèse qui résulte après la coagulation du lait a été mesuré à l'aide d'une pipette Pasteur et éprouvette de 5ml. Le lactosérum a été récupéré pour doser les flavonoïdes totaux.

IV.5 Méthodes d'analyses physico-chimiques des yaourts obtenus

IV.5.1 Détermination de l'acidité

- Peser 10g de l'échantillon (yaourt) ;
- Placer l'échantillon dans une fiole conique, puis on ajoute 70ml d'eau distillée récemment bouillie et refroidie, puis mélanger jusqu'à l'obtention d'un liquide homogène;
- Chauffer le contenu au bain marie pendant 30min ;
- Refroidir, transvaser quantitativement le contenu de la fiole conique dans une fiole jaugée de 10ml et compléter jusqu'au trait de jauge avec l'eau distillée, bien mélanger puis filtrer ;
- Additionner 10ml du filtrat à 10ml d'eau distillée ;
- Ajouter trois gouttes de phénolphaléine et tout en agitant, titrer avec de la solution d'hydroxyde de sodium 0,1N jusqu'à l'obtention d'une couleur rose persistante pendant 30 secondes.

Expression des résultats :

L'acidité titrable est calculée selon la formule suivante :

$$A(\%) = \frac{175 \times V_1}{V_0 \times M} \quad (6)$$

Soit :

M : masse prélevée en gramme ;

V₀ : volume en ml de la prise d'essai ;

V₁ : volume en ml de la solution NaOH à 0,1N.

IV.6 Dosage des flavonoïdes

La méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) a été utilisée pour quantifier les flavonoïdes totaux dans le liquide de synérèse de yaourts élaborés.

➤ Principe

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium).

Le diagramme ci-dessous montre les différentes étapes respectées pour doser Les flavonoïdes totaux.

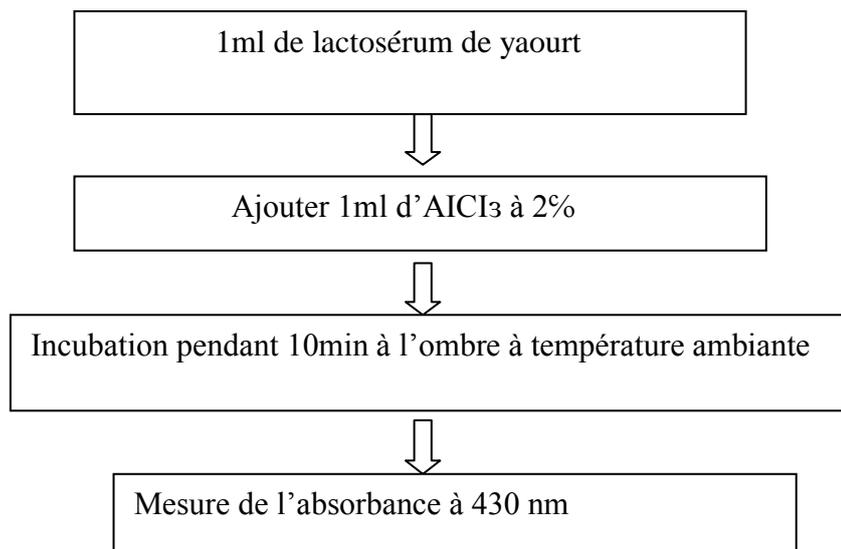


Figure12 : Etapes de dosage des flavonoïdes totaux dans le lactosérum de yaourt (Kosalec et al. 2004)

IV.7 Activité anti-oxydante

La capacité antioxydante des lactosérums des yaourts élaborés a été déterminée selon la méthode de (Kim et al. 2002).

- Préparation du réactif DPPH (1,1 Diphényl 2 Pycril Hydrazil)

Pour préparer 100 ml du réactif, on met dans un bécher 20ml de l'eau distillée et 80 ml du méthanol à qui on rajoute à la fin 4 mg du réactif DPPH. Ce réactif ne doit pas être exposé à la lumière et faut l'utiliser le jour même de la préparation.

- Test de l'activité anti oxydante
- Préparation du blanc

2,9 ml du réactif est ajouté à 0,1 de l'eau distillée comme témoin.

Préparation de l'échantillon

A l'aide d'une pipette on met dans un tube 0,1 ml d'extrait de l'échantillon, ensuite ajouté 2,9 ml du réactif DPPH puis incubé 30 min à l'obscurité. Après incubation, la lecture de l'absorbance a été faite à 517 nm. Le blanc accompagne la lecture de chaque série.

La solution radicalaire de DPPH a été préparée fraîchement et les essais sont repris au moins trois fois Kim et al. (2002).

La formule de DPPH : C₁₈H₁₂N₅O₆

IV.8 Analyse statistique des résultats

L'analyse des résultats obtenus a été réalisée par le plan expérimental à l'aide du logiciel *Statgraphics Centurion XVIII version 18*. L'analyse de variance des réponses et les estimations des effets de chaque paramètre ont été étudiées afin de déterminer les facteurs qui ont des effets significatifs sur les réponses.



***Chapitre V: Résultats et
discussion***

Résultats et discussion

Les résultats des réponses choisies (temps de coagulation, volume de synérèse, taux de flavonoïdes totaux, l'activité anti-oxydante) sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau VIII : Conditions et résultats de la conception expérimentale basée sur le plan d'expériences composite centré à cinq niveaux (n=3).

Expériences	Variables normale			Tc	Vs	Acidité	F	Inhibition [%]
	V[ml]	T [°C]	G[g]					
1	2.75	42.85	0.85	31,333 ±10,26	1,066± 0,152	0,15±0	2,766± 0,315	0,286 ± 0,061
2	1.41	41.16	0.46	26±6,928	1±0,435	0,166 ±0,028	5,196 ±2,767	0,34± 0,09
3	4.09	41.16	0.46	26,666± 1,154	1,533± 0,251	0,116 ±0,028	4,453 ±2,677	0,223± 0,061
4	1.41	44.54	0.46	20± 2,645	1,4± 0,556	0,133 ±0,028	3,216 ±3,786	0,516 ± 0,155
5	4.09	44.54	0.46	24,333 ±2,5166	1,066 ±0,808	0,123 ±0,040	6,366 ±3,624	0,4± 0,29
6	1.41	41.16	1.24	40,666± 8,144	0,5± 0,2	0,166 ±0,028	3,496 ±1,344	0,266 ± 0,049
7	4.09	41.16	1.24	46,333 ±3,786	0,133 ±0,057	0,173 ±0,075	12,626± 1,606	0,22± 0,072
8	1.41	44.54	1.24	22,666 ±4,041	0,3± 0,346	0,216 ±0,028	9,41± 2,314	0,303 ± 0,005
9	4.09	44.54	1.24	17,333 ±2,081	0,3±0,1	0,233 ±0,028	2,013± 0,904	0,283± 0,015
10	2.75	42.85	0.85	40±0	0,833± 0,305	0,233± 0,028	6,326 ±1,844	0,336 ± 0,148
11	2.75	42.85	0.85	40±0	0,866± 0,586	0,1± 1,699	3,143± 1,645	0,186± 0,098
12	0.5	42.85	0.85	30±0	0,133 ±0,152	0,09± 0,053	1,906± 0,591	0,173± 0,077
13	5	42.85	0.85	26,333± 1,154	0,7± 0,435	0,1± 0,05	2,73± 1,624	0,29± 0,233
14	2.75	40	0.85	27± 6,245	0,5± 0,360	0,073 ±0,025	5,303± 2,434	0,236 ± 0,097
15	2.75	45.7	0.85	13± 3,605	0	0,066 ±0,028	3,11± 0,371	0,156± 0,056
16	2.75	42.85	0.2	25,333± 3,512	2,333± 0,763	0,116± 0,028	3,146± 1,413	0,103± 0,011
17	2.75	42.85	1.5	33,333± 2,886	0,366± 0,378	0,116± 0,028	6,376± 3,82	0,216± 0,12
18	2.75	42.85	0.85	13± 6,557	0,033± 0,057	0,133± 0,057	1,704± 3,82	0,023± 0,12

V.1 Interprétation des résultats selon le diagramme de Pareto

Les diagrammes de Pareto classent par ordre décroissant l'importance des facteurs et de leurs interactions sur les réponses. Le niveau critique α utilisé est de 5%, ce qui signifie que notre niveau de confiance est de 95% et c'est la valeur standard. Tous les facteurs et les interactions ayant un niveau (P-value) inférieur à la limite sont négligeables et ne sont pas représentés ici.

Les diagrammes de Pareto, (figures 13, 14, 15, 16, 17) illustrent l'impact de volume du gel de gombo, de la température de coagulation et de la quantité de la poudre des graines de lin sur le temps de coagulation, le volume de synérèse, le taux des flavonoïdes totaux, l'activité anti oxydante et l'acidité. Les diagrammes de Pareto montrent qu'il n'y a pas d'effets des facteurs examinés sur les flavonoïdes, l'activité antioxydante et l'acidité (figures 15, 16, 17).

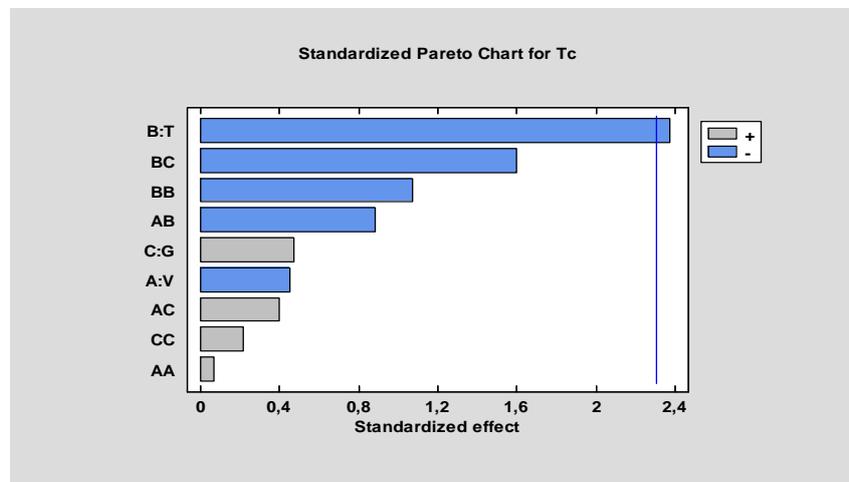


Figure 13 : Diagramme de Pareto de temps de coagulation avec effet significatif

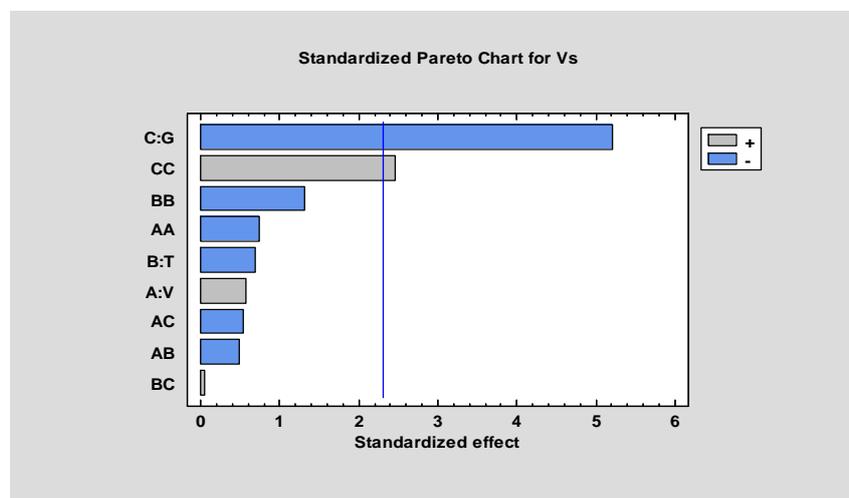


Figure 14 : Diagramme de Pareto de volume de synérèse avec effet significatif

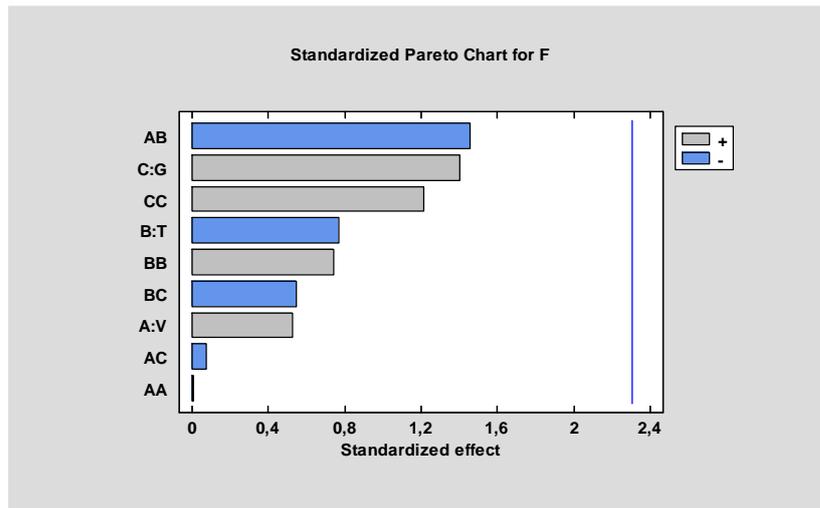


Figure 15 : Diagramme de Pareto de flavonoïdes avec effet non significatif

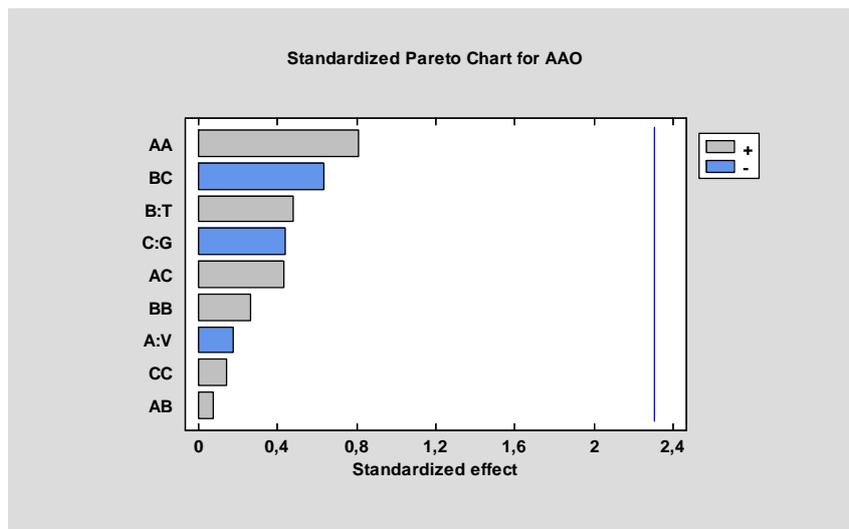


Figure 16 : Diagramme de Pareto d'activité anti-oxydante avec effet non significatif

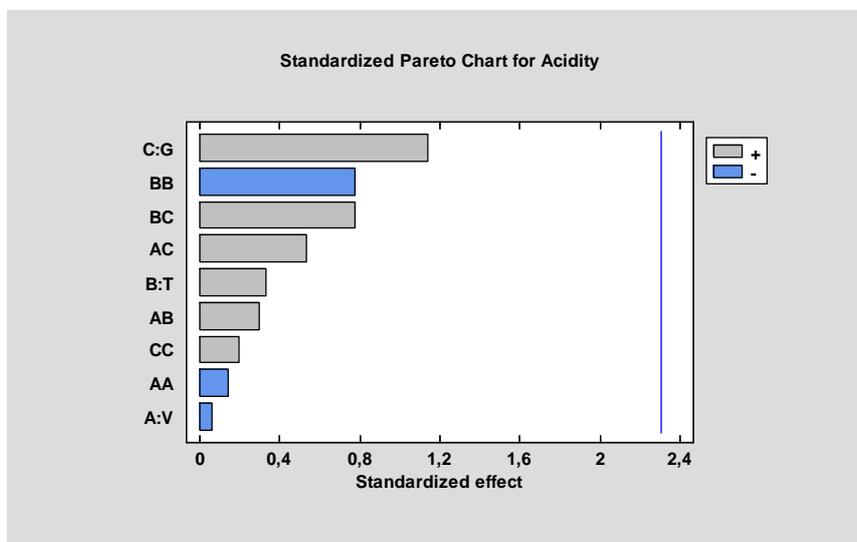


Figure 17 : Diagramme de Pareto d'acidité avec effet non significatif

V.2 Interprétation des résultats selon les diagrammes des effets principaux

Les diagrammes des effets principaux nous renseignent sur l'influence simultanée de volume du gel de gombo, de la température et de la quantité de la poudre des graines de lin sur le temps de coagulation et le volume de synérèse. Nous pouvons conclure d'après ces diagrammes (figures 18 et 19) que la température de coagulation et la quantité de la poudre des graines de lin, sont les facteurs les plus influents sur le temps de coagulation et le volume de synérèse.

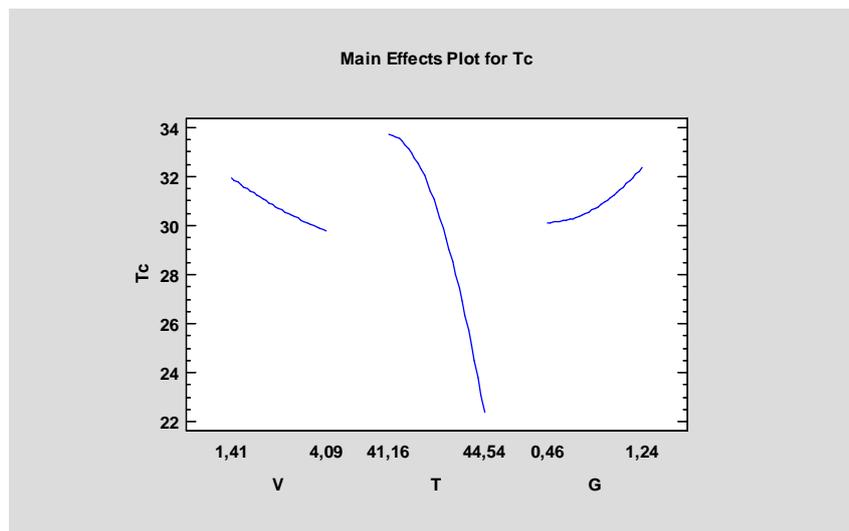


Figure 18 : Effets de volume du gel de gombo, de la température et de la quantité de la poudre des graines de lin sur le temps de coagulation.

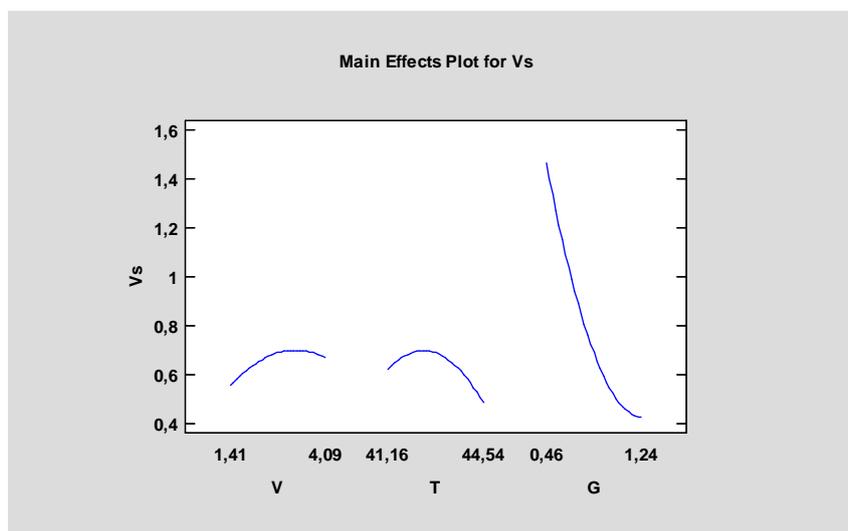


Figure 19 : Effets de volume du gel de gombo, de la température de coagulation et de la quantité de la poudre des graines de lin sur le volume de synérèse.

Nous constatons d'après les deux figures 18 et 19 que :

- La température a le plus d'effet sur le temps de coagulation ; plus celle-ci augmente et plus le temps de coagulation diminue. Ceci s'explique par, la vitesse rapide de coagulation qui se manifeste par une prolifération des bactéries lactiques dans les conditions optimales de croissance (température optimale)
- La poudre des graines de lin a le plus d'effet sur le volume de synérèse ; plus celle-ci augmente et plus le volume de synérèse diminue. Ceci est dû à la richesse de la graine de lin en fibres responsables de la rétention d'eau et la formation des réseaux de polymères voir la fermeté des yaourts. Nos résultats sont similaires à ceux présentés par Oliveira et *al.* (2011) ont démontré l'effet de l'incorporation des fibres sur la texture des yaourts.

L'effet de la combinaison la poudre de feuilles de Muscat d'Alexandrie et l'extrait de feuilles de vigne comme prébiotiques et les bactéries lactiques (*S.thermophilus* et *L.bulgaricus*) sur la fermeté de yaourt a été démontré par Benahmed Djilali et *al.* (2021).

- **Activité antioxydante**

Les résultats obtenus montrent que l'extrait du yaourt élaboré présente un pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH de l'ordre de 51% à la concentration de 1mg/ml, ce yaourt est très riche en substances antioxydantes en comparaison avec l'extrait d'huile de la graine de lin qui présente un pourcentage d'inhibition de l'ordre de 13,570% Messaoudi (2017).

Nous pouvons conclure que, ce yaourt est de type fonctionnel possédant des substances antioxydantes qui permettent de diminuer le risque de développement des bactéries pathogènes et de nombreuses maladies.

- **Temps de coagulation**

L'utilisation du gel de gombo et la poudre des graines de lin comme prébiotiques a accélérer la vitesse de coagulation du lait en comparaison avec l'utilisation des billes préparées à base de la poudre des fleurs de cardon comme prébiotique (1,06min) (Benahmed Djilali et al. 2015).

La prolifération rapide des bactéries lactiques s'explique par la nature des molécules (fibres et mucilage) qui constituent le gel de gombo et de la poudre des graines de lin.

V.3 Equations des modèles mathématiques

Les valeurs des réponses significatives telles que le temps de coagulation (T_c) et le volume de synérèse (V_s) obtenus à partir de toutes les expériences sont présentés dans le tableau IX. Le logiciel STATGRAPHICS a généré les équations de régression qui démontrent la relation empirique entre les valeurs des réponses significative (T_c et V_s) et les conditions de préparation tel que le volume du gel de gombo (V), la température de coagulation (T) et les graines de lin (G) comme suit :

V.3.1. Analyse de surface de réponse de temps de coagulation (T_c)

L'analyse de la surface de réponse des données du tableau VII indique que la relation entre le temps de coagulation et le volume du gel de gombo (V), la température de coagulation (T) et la quantité de la poudre des graines de lin (PG) est un polynomiale quadratique :

$$T_c = -1944,07 + 48,6828*V + 86,1423*T + 315,27*PG + 0,0933606*V^2 - 1,21434*V*T + 2,39189*V*PG - 0,930101*T^2 - 7,5861*T*PG + 3,59814*PG^2$$

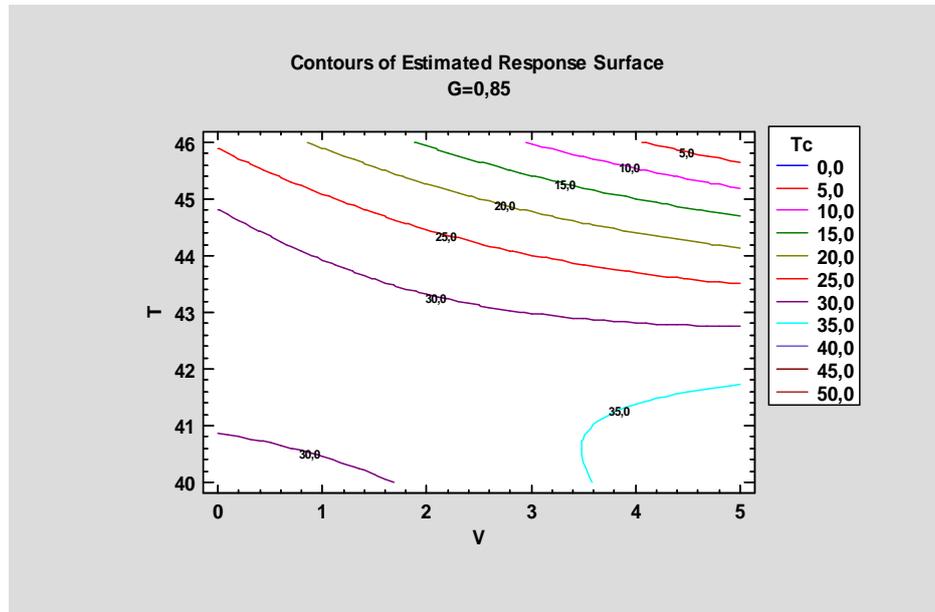


Figure 20: Analyse de surface de réponse de temps de coagulation (Tc).

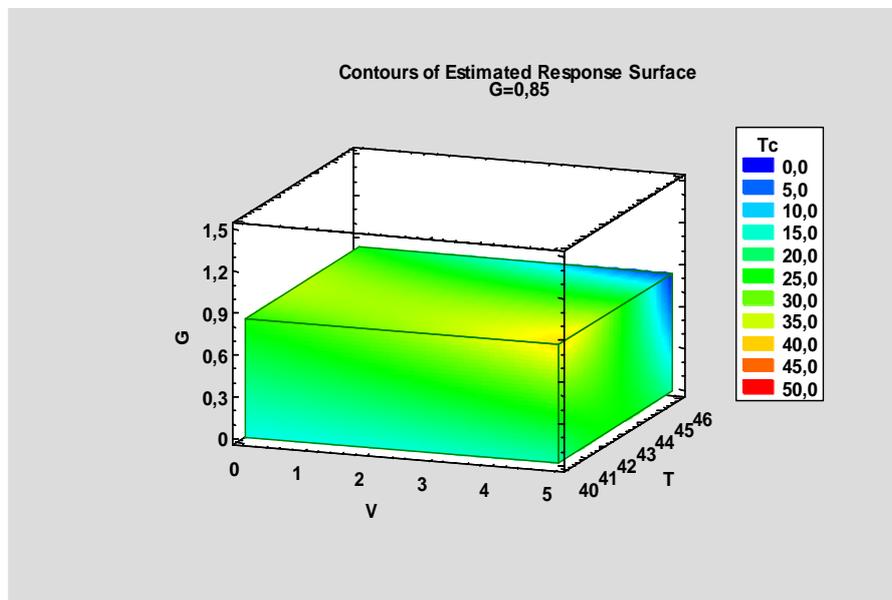


Figure 21 : Contours de surface de réponse (Tc)

V.3.2 Analyse de surface de réponse de volume de synérèse (V_s)

L'analyse de la surface de réponse des données du tableau VII indique que la relation entre le temps de coagulation et le volume du gel de gombo (V), la température de coagulation (T) et la quantité de la poudre des graines de lin (PG) est un polynôme quadratique :

$$V_s = -85,1605 + 1,57356*V + 4,05312*T - 4,16573*PG - 0,0426518*V^2 - 0,0275987*V*T - 0,133946*V*PG - 0,0469597*T^2 + 0,0075861*T*PG + 1,6922*PG^2$$

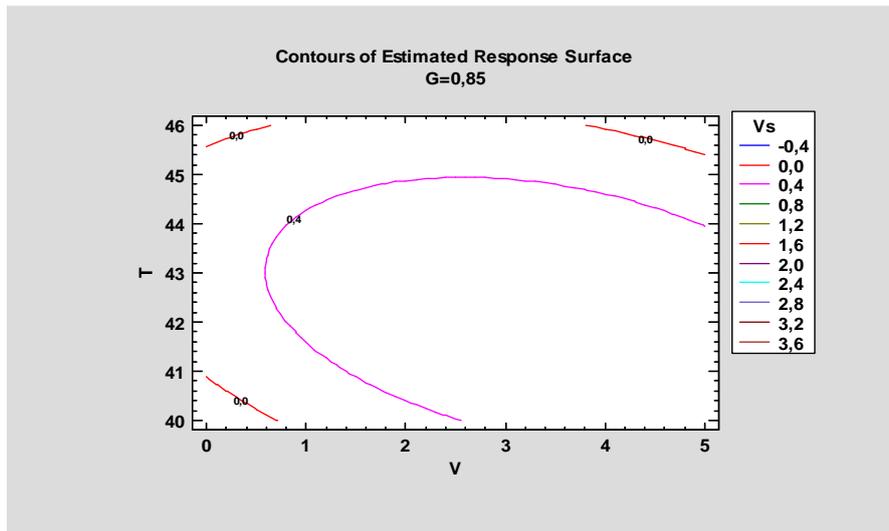


Figure 22: Analyse de surface de réponse de volume de synérèse (Vs).

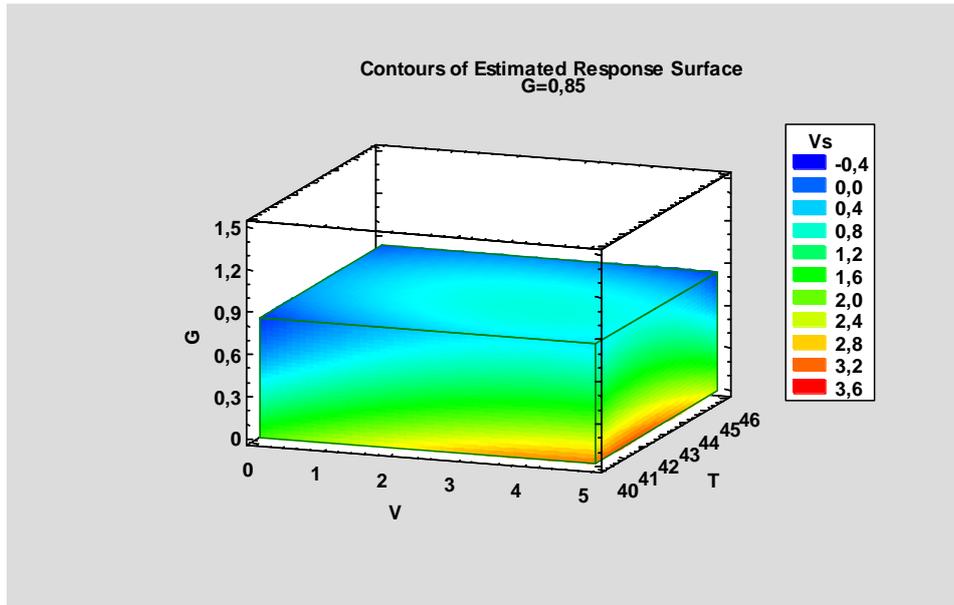


Figure 23 : Contours des surfaces de réponses (Vs)

V.4 Optimisation des conditions de la formulation de yaourts par RSM

Les conditions de formulation de yaourts seraient optimales si les flavonoïdes, l'activité anti oxydante atteignaient des valeurs maximales et le temps de coagulation, le volume de synérèse, et l'acidité atteignaient des valeurs minimales. Les valeurs de toutes les réponses aux conditions de fonctionnement ont été converties en une fonction de désirabilité. Les valeurs de désirabilité du minimum et du maximum ont été configurées comme 0 et 1, respectivement (figure 22). La désirabilité globale est de 72% et cela montre qu'il est approprié d'expliquer cette étude. La fonction de désirabilité maximale obtenue a été prise comme la condition optimale de fonctionnement. La formulation optimale de yaourt prédite par le modèle de régression est la suivante : pour le volume de gel de gombo ($V= 0,5\text{ml}$), pour la température ($T=45,7\text{ °C}$) et la quantité de la poudre des graines de lin ($PG = 0.91\text{g}$).

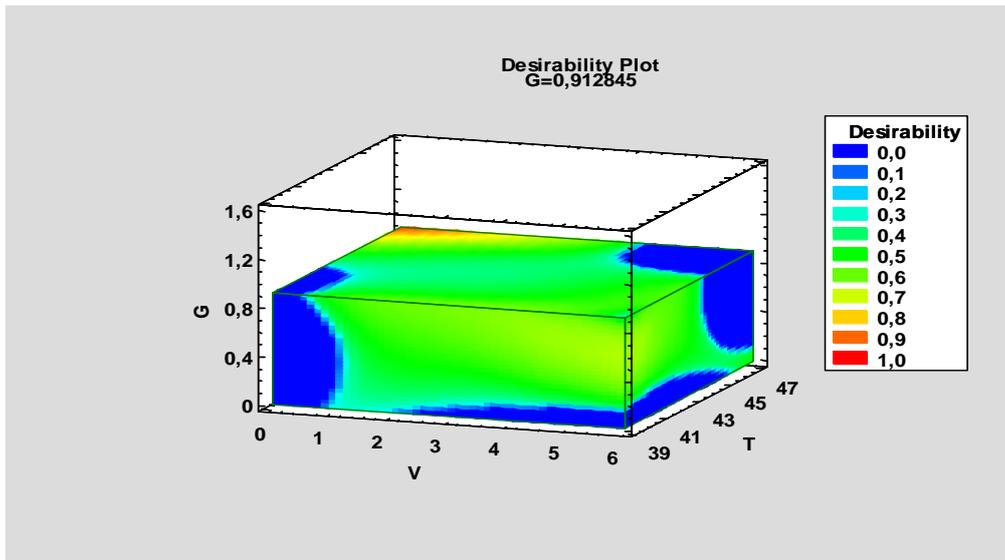


Figure 24: 3D contour plot de la fonction désirabilité.

V.5 Résultats de la structure microscopique de yaourt élaboré

Nous remarquons d'après la figure 23 que, les formulations Y1(a) et Y1(b) présentent des structures rugueuses avec des grumeaux et très poreux.

Par contre la formulation de référence présente une structure poreuse, un peu lisse surtout dans Y2(b) et peu rugueuse dans Y2(a).

Le yaourt nature de Soummam possède une structure dense avec quelques pores c'est un yaourt ferme. Contrairement le yaourt élaboré à base de gel de gombo et de la graine de lin est composé de plusieurs flocons (probiotiques) de différentes tailles bien emprisonnés dans le gel bien dispersés d'une structure qui ressemble à une émulsion. Ce yaourt est moins dense que le yaourt de Soummam, il est conseillé pour les gens qui souffrent du ballonnement et les problèmes gastriques (riche en fibres et mucilages) doués des activités thérapeutiques.

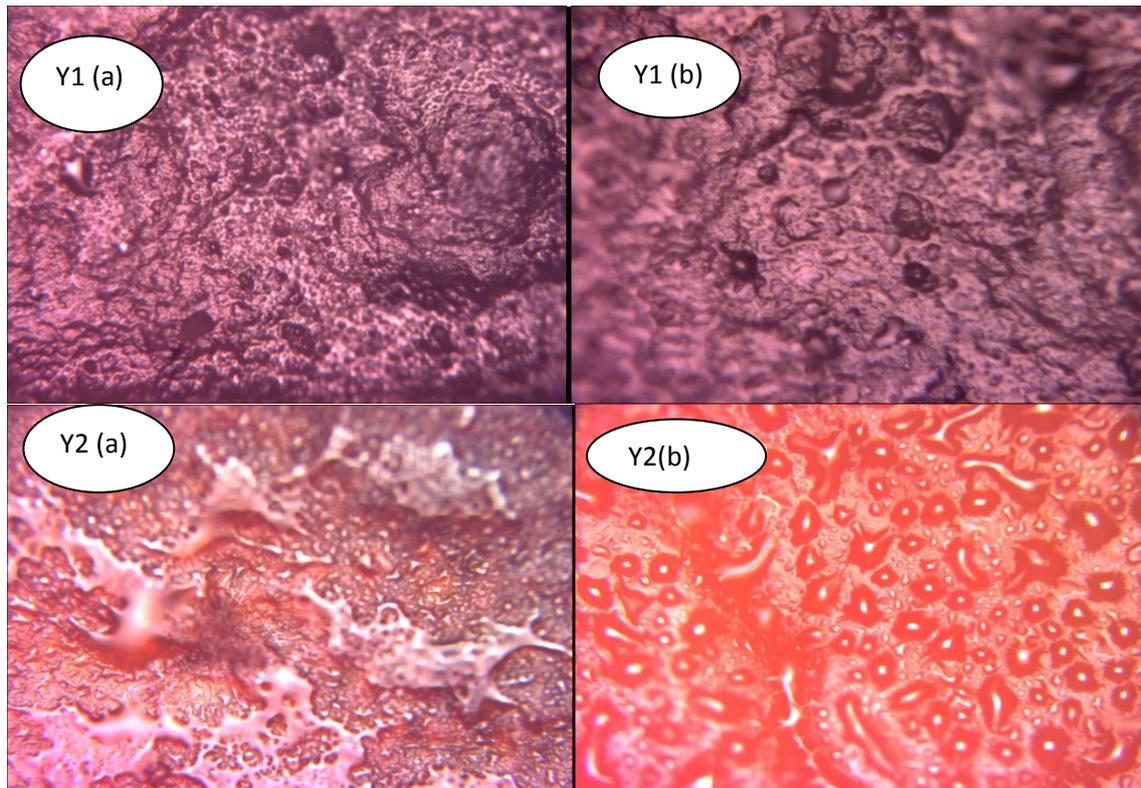


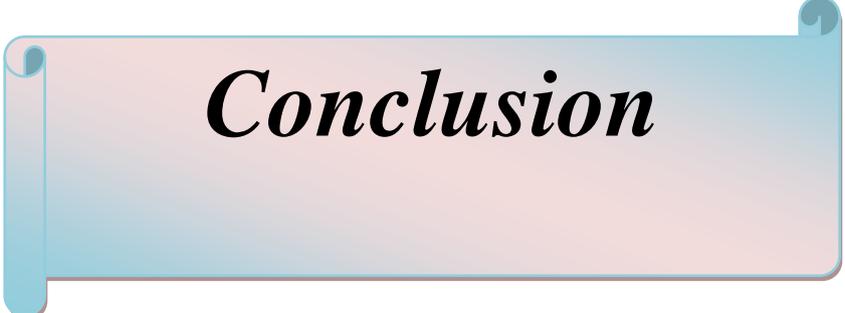
Figure 25 : Structures microscopiques des yaourts

Y1 (a): yaourt Soummam observé au microscope optique (G250)

Y1(b) : yaourt Soummam observé au microscope optique (G500)

Y2(a) : yaourt élaboré à base de gel de gombo et de la graine de lin observé au microscope optique (G 250)

Y2(b) : yaourt élaboré à base de gel de gombo et de la graine de lin observé au microscope optique (G 200).

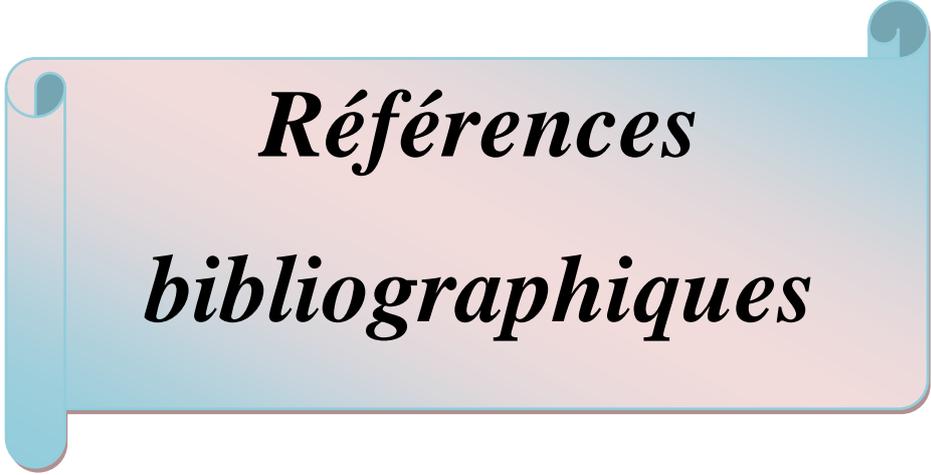


Conclusion

Conclusion

De nombreux essais ont été menés sur l'élaboration d'un yaourt fonctionnel à base de gel de gombo et la poudre des graines de lin comme prébiotiques pour différentes conditions opératoires : le volume du gel de gombo (0.5-5ml), la température (40-45.7°C) et la poudre des graines de lin (0,2- 1,5g). Une conception expérimentale a été construite selon les conditions de conception RSM D-optimal afin d'étudier l'influence des paramètres ci-dessus sur le temps de coagulation, le volume de synérèse, les flavonoïdes totaux, l'activité anti oxydante et l'acidité. RSM et les méthodes classiques de fonction graphique et de désirabilité ont été efficaces pour déterminer la zone optimale dans la région expérimentale. À partir du modèle quadratique de surface de réponse, nous avons constaté que les conditions d'élaboration de ce yaourt étaient significativement affectées par le volume du gel de gombo, la température de coagulation et la quantité de la poudre des graines de lin. Dans des conditions optimales de formulation de ce yaourt fonctionnel, le temps de coagulation, le volume de synérèse, les flavonoïdes totaux, l'activité anti oxydante et l'acidité se sont avérés être respectivement de 22.16, 0.0005, 0.75, 0.35 et 0.098. Enfin, la production, l'utilisation et la consommation de yaourt à base de gel de gombo et la poudre des graines de lin doivent être encouragées car ce produit sera utile pour fournir des composés nutraceutiques naturels et des propriétés technologiques recherchées.

Au terme de ce travail, il ressort qu'il est possible de valoriser l'extrait de gel de gombo et les graines de lin comme prébiotique nécessaire à l'obtention d'un yaourt enrichi en fibres alimentaires et doté d'un pouvoir antioxydant intéressant faisant de lui, un aliment bénéfique pour l'organisme et donc fonctionnel.



*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- LINARES DM, O'CLLAGHAN TF, O'CONNOR PM, ROSS RP et STANTON C (2016). Streptococcus thermophiles APC151 strain is suitable for the manufacture of naturally GABA-Enriched bioactive yogurt. *Frontier microbiology*.7:1876.
- STAMATOVA IV, MEURMAN JK, KARI KI, TERVAHARTIALA TA, SORSA TI et BALTADJIEVA MA (2007). Safety issues of *Lactobacillus bulgaricus* with respect to human gelatinases in vitro. *FEMS immunology and medical microbiology*, 51(1) p.194-200.
- SFAKIANIKIS PA, TZIA CO (2014), traitement conventionnel et innovant du lait pour la fabrication du yaourt ; développement de la texture et de la saveur, *Nourriture*, 3(1), p176-193.
- HOLOWAX SO, CORTHER GE (2001), effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés sur la santé, 32(2), 101-117.
- Les différents yaourts, <https://www.lanutrition.fr/bien-dans-son-assiette/aliments/produits-laitiers/yaourt/les-differents-yaourts>, consulté le 16 aout2021.
- Les différentes textures et variétés de yaourts, <https://www.gastronomico.fr/les-differentes-textures-et-varietes-de-yaourts/>, consulté le 16 aout2021.
- <https://sites.google.com/site/lactobulgaricus/bibliography>, consulté le 15 aout 2021.
- <https://sites.google.com/site/lactobulgaricus/habitat>, consulté le 15 aout 2021.
- DOREDDULA SK., BONAM SR., GADDAM DP., DESU BS., RAMARO N., PANDY V.(2014)- Phytochemical analysis, antioxidant, antistress, and nootropic activities of aqueous finger (*Abelmoschus Mesculentus* L.) in mice. *Scientific World Journal*. 2014:519848.
- MISHRA N, KUMAR D, RIVZI SI. (2016)- Protective Effect of *Abelmoschus asculentus* Against Alloxan-induced Diabetes in Wistar Strain rats. *J Diet Suppl*.2016 Nov; 13 (6):634-46.
- ERFANI MAJD N., TABANDEH MR., SHAHRIAR A., SOLEIMANI Z. (2018)- Okra (*Abelmoschus esculentus*) improved islets Structure, and Down-Regulated PPARs Gene Expression in Pancreas of High-fat Diet and Streptozocin-induced Diabetic Rats. *Cell J*. 20(1):31-40.

Références bibliographiques

- KOECHLIN J. (1989)- Les gombos africains (*Abelmoschus*) : Etude de la diversité en vue de l'amélioration. Thèse Doctorat, Institut National Agronomique.
- FAO (FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION). (2001) – La foresterie urbaine et peri-urbaine.
- HAMON S. (1998)- Organisation évolutive du genre *Abelmoschus* (GOMBO) :Co-Adaptation et évolution de deux espèces de gombo cultivées en Afrique de l'ouest (*A. esculentus* et *A. caillei*), Thèse de doctorat, université de Paris XI, centre d'Orsay.
- WANG H., CHEN G., RESN D., YANG ST. (2014)-Hypolipidemic activity of Okra is mediated through inhibition of lipogenesis and upregulation of cholesterol degradation. *Phytother Res.* 28(2):268-73.
- DALI S. (2019) – Plantes médicinales et pratiques médicales traditionnelles au Burkina Faso. Cas du plateau central. Thèse DOCTORAT-LMD, Tome I. Université Oran 1 AHMED BEN BELLA.
- CHEVALIER A., 1940 – Origine la culture et les usages de *Hibiscus* de la section *Abelmoschus esculentus*, *Rev. Bot. App. Agric. Trop.*20 :319-328.
- BENAHMED DJILALI A, BENSEDDIK A, BOUGHALOUT H, ALLAF K, NABIEV M. 2021. Biological and Functional Properties of Vine Leaves. *North African Journal of Food and Nutrition Research.* 5(11): 43-52.
- OLIVEIRA, R.P.S., PEGO, P., OLIVEIRA, M.N., & CONVERTI, A. (2011). Effect of inulin as prebiotic to improve growth and counts of a probiotic cocktail in fermented skim milk. *LWT - Food Science and Technology*, 44(2): 520–523.
- YUAN Q; HE Y; XIANG PY; WANG S; CAO ZW; GOU T; SHEN MM; ZHAO L; QIN W; GAN RY; WU DT. (2020).Effects of simulated saliva-gastrointestinal digestion on the physicochemical properties and bioactivities of okra polysaccharides. *Carbohydr Polym*, 15(238):10-1016.
- VAYSSADE M., SENGKHAMPA N., VERHOEF R., DELAIGUE C., GOUNDIAM O., VIGNERON P., VORAGEN A.G., SCHOLS H.A., NAGEL

Références bibliographiques

M.D. (2010)- Antiproliferative and proapoptotic actions of okra pectin on B16F10 melanoma cells. *Phytother Res.* 24(7):928-989.

- MONTE L.G., SANTI-GADELHA T., REIS L.B., BRAGANHOL E., PRIETSH R.F., DELLAGOSTIN O.A., E LACERDA R.R., GADELHA C.A., CONCEICAO F.R., PINTO L.S. (2014)- Lectin of *Abelmoschus esculantus*(okra) promotes selective antitumor effects in human breast cancer cells. *Biotechnol Lett.* 36(3):461-469.



Annexes

Annexes

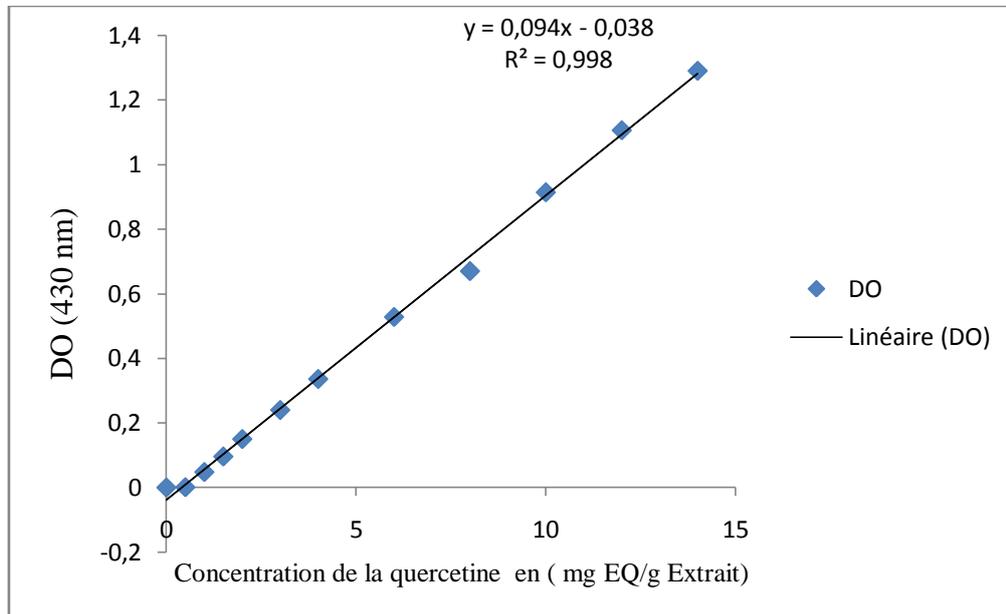
Annexes 01: Matériels et réactifs utilisés pour l'analyse phisico-chimique.

Appareillage	Verrerie	Réactifs	Autres instruments
pH mètre	Pipettes graduées	Phéniphtaline à 1%	Spatule
Spectrophotomètre	Tubes à essai	Trichlorure	Papier aluminium
Agitateur magnétique	Béchers	d'aluminium	Portoirs
Etuves	Eprouvettes	Na OH (1N)	Compresse stériles
Réfrigérateur	Entonnoir	Ethanol	
Plaque chauffante	Flacons	Méthanol	
Bain marie	Cuves	DPPH	
	Fioles		
	Erlen Meyer		

Annexes

Annexe 02 : Préparation de la gamme d'étalonnage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode d' AlCl_3 en utilisant comme standard la quercétine, les teneurs en flavonoïdes sont exprimées en mg EQ/g d'extrait.



Expression des résultats

La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme de poids sec de l'extrait.