

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA**  
**RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou**  
**Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques**  
**Département de Biochimie - Microbiologie**



**Mémoire de fin d'études**  
**En vue de l'obtention du diplôme de Master**  
**Spécialité : Sciences Biologiques**  
**Option : Biochimie Appliquée**

**Thème**

***Essai d'élaboration d'un yaourt  
fonctionnel à base de mixture de  
probiotique et prébiotique***

**Présentée par :**  
Brahami Hayat

**Soutenu le: 26/09/2018**

**Devant le jury composé de :**

**Présidente : Mme HALLAL Z.**

**Maître Assistante(A) à l'U.M.M.T.O**

**Examinatrice : Mme REMANE Y.**

**Maître Assistante(B) à l'U.M.M.T.O**

**Promotrice : M<sup>me</sup> BENAHMED DJILALI A.**

**Maître de Conférences (A) à l'U.M.M.T.O**

**Année universitaire : 2017-2018**

## **Remerciements**

Au terme de ce modeste travail, nous remercions avant tout ALLAH de nous avoir gardés en bonne santé afin de mener à bien ce mémoire de fin d'études.

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui je voudrais témoigner toute ma reconnaissance.

Mes remerciements les plus sincères vont à ma promotrice Melle BENAHMEDDJILALI Adiba; Maître de conférence à l'UMMTO de m'avoir proposer et confier le thème de ce travail, mais aussi pour sa disponibilité et tous ses conseils avisés. et pour sa simplicité, et sa gentillesse à mon égard.

Mes sincères remerciements vont à Mme HALLAL Z. Maître Assistante à l'U.M.M.T.O d'avoir accepter de présider mon jury ainsi que Mme REMANE Y. Maître Assistante à l'U.M.M.T.O d'avoir bien voulu examiner notre travail.

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

Enfin nous tenons à remercier toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

## Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail à:*

*La mémoire de mon père. Que Dieu le tout  
puissant l'accueille en son Vaste paradis.*

*Ma chère mère.*

*Toute ma famille.*

- °C:degré Celsius
- °D: degré dornic
- mg/ml :milligramme par millilitre
- g: gramme
- ISO: International Organization for Standardization
- pH: potentiel d'hydrogène
- SS :gelose Salmonelle -Shigella
- UFC: unité formant colonie
- PPT : poly phenoles totaux
- Y : yaourt
- N.C : non coagulé

## Liste des figures

Figure n°1: Hydrolyse de la k-caséin.....	4
Figure n°2: Flocculation micellaire du lait.....	4
Figure n°3: Réaction primaire de la coagulation enzymatique.....	5
Figure n°4: Réaction secondaire de la coagulation enzymatique.....	5
Figure n°5: Image de <i>Pulicaria odora</i> .....	8
Figure n°6: Images des Feuilles de vignes.....	9
Figure n°7: Image de la Peau de banane.....	10
Figure n°8: Diagramme général de la fabrication du yaourt ferme et du yaourt brassé .....	16
Figure n°9 : Diagramme de dosage des PPT.....	20
Figure n°10: Filtration des extraits de prébiotiques .....	<a href="#">21</a>
Figure n°11: Viscotester VT 550.21	
Figure n°12: Echantillons des yaourts obtenus par la poudre et l'extrait de feuilles de vigne. ....	32
Figure n°13 : Le pH des yaourts obtenus. ....	33
Figure n°14 : Le taux d'acidité des yaourts obtenus. ....	34
Figure n°15 : La teneurs en protéines des yaourts obtenus selon LOWRY. ....	35
Figure n°16 : Résultats de la viscosité des yaourts obtenus. ....	36

## Liste des tableaux

<b>Tableau I:</b> Représentation de germes recherchés dans le yaourt.....	24.
<b>Tableau II:</b> Analyses physicochimiques des poudres .....	28
<b>Tableau III:</b> Teneur en polyphenols les poudres de la peau de la banane, <i>Pulicaria odora</i> et les feuilles de vignes .....	28
<b>Tableau IV:</b> pH et temps de coagulation du lait par la poudre et l'extrait de la peau de banane ,sans ferment lactiques (pH=5).....	29
<b>Tableau V:</b> pH et temps de coagulation du lait par la poudre et l'extrait de la peau de banane ,avec ferment lactiques (pH=5).....	30
<b>Tableau VI:</b> pH et temps de coagulation du lait par la poudre et l'extrait des feuilles de vigne ,sans ferment lactiques (pH=4,6).....	31
<b>Tableau VII:</b> pH et temps de coagulation du lait par la poudre et l'extrait des feuilles de vigne ,avec ferment lactiques (pH=4,6).....	31
<b>Tableau VIII:</b> pH et temps de coagulation du lait par la poudre et l'extrait des feuilles de <i>Pulicaria odora</i> ,sans ferment lactiques (pH=6,3).....	32
<b>Tableau IX:</b> pH et temps de coagulation du lait par la poudre et l'extrait des feuilles de <i>Pulicaria odora</i> , avec ferment lactiques (pH=6,3).....	32
<b>Tableau X:</b> Analyses physico-chimiques des yaourts obtenus .....	33
<b>Tableau XI:</b> Résultats des analyses microbiologiques des produits obtenus .....	36

## Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Résumé	
Abstract	
Introduction.....	1
<b>Première partie :Synthèse Bibliographique</b>	
Chapitre I: Généralité sur la coagulation	
I.1. Mécanisme de la coagulation .....	3
I.1.1. Coagulation par acidification .....	3
I.1.2. Coagulation par les enzymes .....	3
I.1.3. Coagulation mixte .....	5
I. 2 Différents types de peptidases.....	6
I.2. 1. Enzymes d'origine animale.....	6
I. 2.2 . Enzymes d'origine microbienne .....	6
I.2.3. Enzymes d'origine végétale .....	6
I.3 Caractéristiques des différents gels obtenus .....	7
I.3.1.Propriétés de coagulum obtenu par voie enzymatique .....	7
I.3.2.Propriétés de coagulum obtenu par voie acide .....	7
Chapitre II: Généralités sur les pro et prébiotiques	
II.1. Probiotiques.....	8
II.2. Prébiotiques .....	8
Chapitre III: Généralités sur le yaourt	
III.1. Définition .....	11
III.2.Différents types de yaourts.....	12
III.2.1.Yaourt liquide (ou à boire).....	12
III.2.2. Yaourt brassé.....	12
III.2.3. Yaourt ferme .....	12
III.3. Etapes de fabrication du yaourt.....	12
III.3.1. Récupération et préparation du lait .....	12
III.3.2. Standardisation.....	12
III.3.3. Homogénéisation .....	13
III.3.4. Traitement thermique .....	13
III.3.5.Refroidissement .....	13
III.3. 6.Ensemencement .....	14
III.3.7. Fermentation .....	14
III.3.8. Arrêt de la fermentation par refroidissement .....	14
III.3.9. Incorporation d'ingrédients.....	15
III.3.10. Conditionnement.....	15
III.3.11.Conservation et stockage.....	15
III.4. Qualités des yaourts .....	17
III.4.1. Aspect organoleptique .....	17
III.4.2. Aspect hygiénique.....	17
III.5. Effets bénéfiques du yaourt .....	17
<b>Deuxième partie : Matériel et méthodes</b>	
I. Méthodes d'analyses physicochimiques des extraits de plantes .....	19
I.1. La tyndallisation.....	19

I.2. Caractérisation physicochimique des extraits de plantes.....	19
II. Coagulation du lait avec différents prébiotiques .....	21
II.1. Obtention des extraits de prébiotiques.....	21
II.2. Filtration .....	21
II.3. Essais de la coagulation .....	21
II.4. Etapes de fabrication du yaourt .....	22
II.5. Analyses physicochimiques de produit obtenu (le yaourt).....	22
II.6. Analyse microbiologique .....	24
<b>Résultats et discussion</b>	
I. Résultats physicochimiques des poudres de prébiotiques .....	28
II. Caractérisation des yaourts obtenus.....	33
II.1. pH.....	33
II.2. Acidité.....	34
II.3. Teneurs en protéines.....	35
II.4. Viscosité.....	35
III. Résultats des analyses microbiologiques des produits finis.....	36
III.1. Résultats concernant les germes pathogènes .....	36
Conclusion .....	37
Références bibliographiques	
Annexes	

## *Résumé*

## Résumé

Ce travail a pour objectif d'effectuer des essais d'élaboration d'un yaourt avec un mélange de pro-biotique et pré-biotique en utilisant la peau de la banane, les feuilles de *pulicaria odora* et de vigne.

Les résultats des essais de coagulation de lait ont montré que la poudre de feuilles de vigne et son extrait possèdent une meilleure vitesse de coagulation (préser le temps de coagulation) en comparaison avec les autres pré-biotiques utilisés.

Les analyses physico-chimiques ont été faites sur les produits obtenus tout en les comparants à un produit standard " Yaourt nature Soummam".

Les pH de ces produits finis sont proches du standard ainsi que leurs acidités titrables. La teneur en protéine de ces produits obtenus est presque proche aux standards.

L'analyse microbiologique a montré que les yaourts obtenus sont d'une bonne qualité hygiénique.

**Mots clés :** Coagulation, Prébiotique, Probiotique, yaourt.

### **Abstract**

The purpose of this work is to test yoghurt with a mixture of pro-biotic and pre-biotic using banana skins, pulicaria odora and vine leaves after drying them. crushed.

The dosage of polyphenols is a little high in the leaves of the vine.

The coagulation tests showed the coagulating property of the leaves of the vine. With the extract of the vine leaves and its powder we tried to produce a functional yoghurt.

The finished products obtained underwent physicochemical analyzes while comparing them to a standard product "Soummam plain yoghurt".

The pH of these finished products are close to the standard and their titrable acidities. The protein content in these finished products is almost close to standards.

Microbiological analysis has shown that the yogurts obtained are of adequate hygienic quality.

**Key word** : Coagulation, Prebiotic, Probiotic, yughurt.

# *Introduction*

## **Introduction**

Il est bien connu que les produits laitiers frais fermentés, comme le yaourt, sont des aliments de grande consommation dans beaucoup de pays. L'évolution actuelle du marché des produits alimentaires incite l'industrie de la transformation à élaborer sans cesse de nouveaux produits.

Le yaourt est l'un des produits laitiers le plus vendu sur le marché, c'est un produit très digeste qui possède une grande valeur nutritionnelle et qui est apprécié pour son goût et sa texture, consommé la plus part du temps comme dessert, il convient à toutes les tranches d'âge et même chez les sujets intolérants au lait. En plus, il a été recommandé depuis longtemps en tant que nourriture saine due à l'action bénéfique de ces bactéries vivantes. Ces dernières concurent les bactéries pathogènes aussi bien dans l'aliment que dans l'environnement (**Tamime et Robinson,1985**). Même avec les progrès technologiques actuels, son élaboration nécessite l'apport obligatoire de probiotiques qui demandent des techniques d'obtention délicates dont ils reviennent chers aux industriels, ainsi y'en t'ils de nouveaux ingrédients qui peuvent substituer à ces probiotiques, tout en garentissant les critères qualité, quantité et pris de revient?

Plusieurs recherches ont été activement appuyées ces dernières années, visant à la mise en évidence des enzymes de remplacement dits succédanés de la présure de différentes origines (animales, végétales et microbiennes), capables de coaguler le lait et d'assurer de meilleurs rendements

Les plantes ont connu, ces dernières années, une exploitation appréciables en nette augmentation, dont elles servent dans plusieurs domaines. En outre, la coagulation du lait et à l'élaboration des produits alimentaires de grande valeur énergétique et diététique dont il figure le yaourt.

Ce présent travail traite cette thématique et a comme objectif l'élaboration d'un yaourt fonctionnel à base de mixture de probiotique et prébiotique en utilisant, après séchage, broyage, tamassage et conditionnement: la peau de la banane, les feuilles de la vigne et pulicaria odora.

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressées à valoriser ces matières végétales en vue de mettre en évidence un nouveau agent texturant à base d'un mélange de pré-biotique et de probiotiques.

A cet effet, quatre formules de yaourts ont été élaborées en utilisant un mélange de poudre et d'extrait de poudre de vigne avec les ferments lactiques. Une caractérisation physico-chimique a été mise en évidence, les yaourts obtenus sont comparés aux yaourts industriels commercialisés.

Enfin, une analyse microbiologique a été effectuée sur les produits finis, afin d'assurer une qualité hygiénique des yaourts.

# *Synthèse Bibliographique*

# *Chapitre I*

## *Généralités sur la Coagulation*



## **I.1 Mécanisme de la coagulation :**

La coagulation du lait résulte d'un changement irréversible du lait de l'état liquide à l'état semi solide appelé gel ou coagulum (Cecchinato et *al.*, 2012).

Les mécanismes de la formation du coagulum diffèrent totalement suivant que ces modifications sont induites par acidifications ou par action d'enzymes coagulantes (Lefebvre-Case et *al.*, 1998).

### **I.1.1 Coagulation par acidification :**

Le mécanisme de la coagulation acide est de nature électrochimique (Ramet, 1985). Elle est provoquée par la flore lactique qui transforme le lactose en acide lactique (Gelais et Tirard, 2002) ou par addition d'un acide minérale ou organique comme l'acide citrique (Gelais et Tirard, 2002).

L'acidification entraîne une chute du degré de dissociation des groupements acides (COO, PO<sub>3</sub>H) du phospho caséinate de calcium. Les ions H<sup>+</sup> libérés par l'acidification neutralisent progressivement les charges électrochimiques : la répulsion électrostatique diminue au fur et à mesure de l'enrichissement du milieu en ion H<sup>+</sup>, puis disparaît. A la température ambiante, les micelles commencent à s'agréger à pH 5,2. Lorsque le pH isoélectrique est atteint (pH 4,6), il y a floculation totale (Ramet, 1985).

### **I.1.2 Coagulation par les enzymes :**

Il y a un grand nombre d'enzymes protéolytiques, d'origine animale, végétales ou microbienne, qui ont la propriété de coaguler le lait. Elle consiste à transformer le lait de l'état liquide à l'état de gel sous action d'enzymes protéolytiques (Dalglish et Corredig, 2012).

La coagulation enzymatique du lait peut se décomposer en deux étapes (ECK et Gilis. 1997 ; Mahaut et *al.*, 2000).

**I. 1.3 La phase primaire ou enzymatique :** déclenche la coagulation par hydrolyse de la caséine k au niveau de la liaison phénylalanine (105) et méthionine(106). Il y a libération du caséinomacropeptide (CMP106-169) et diminution des répulsions électrostatiques qui, à l'état initial, contribuent à la stabilité du système colloïdale (Fig 1).

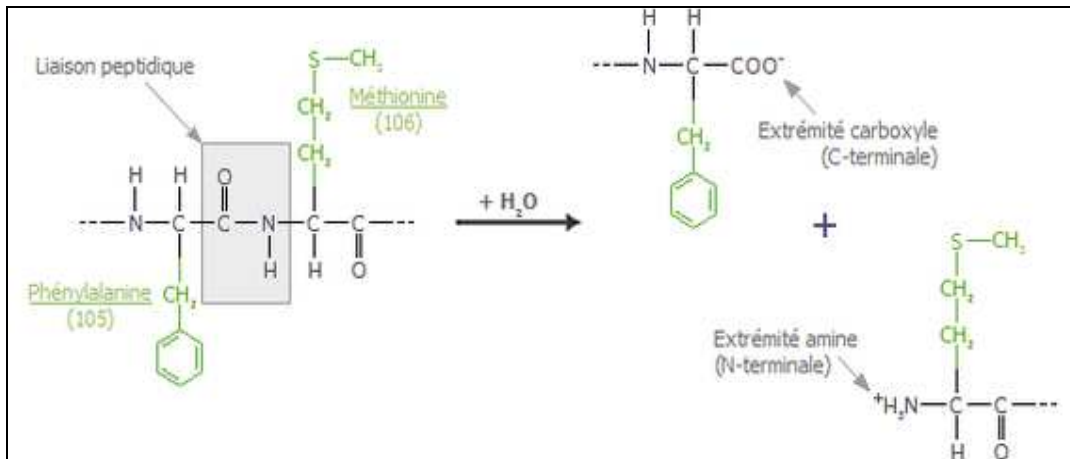


Figure n°1 : Hydrolyse de la k-caséine

**1.2.2. La phase secondaire :** correspond à la coagulation proprement dite : elle commence lorsque à PH 6,6 ,80 à 90% de la caséine k est hydrolysée. La chaîne peptidique de la caséine k est ainsi coupée en deux segments de caractéristiques différentes .Le segment 1-105 ou para caséine k est hydrophobe, basique et reste intégré à la micelle .Le segment 106-169 ou caséinomacropéptide est très hydrophile, acide passe dans le lactosérum .Des liaisons hydrophobes et électrostatiques s'établissent alors entre les micelles modifiées et vont entrainer la formation du gel (Fig 2).

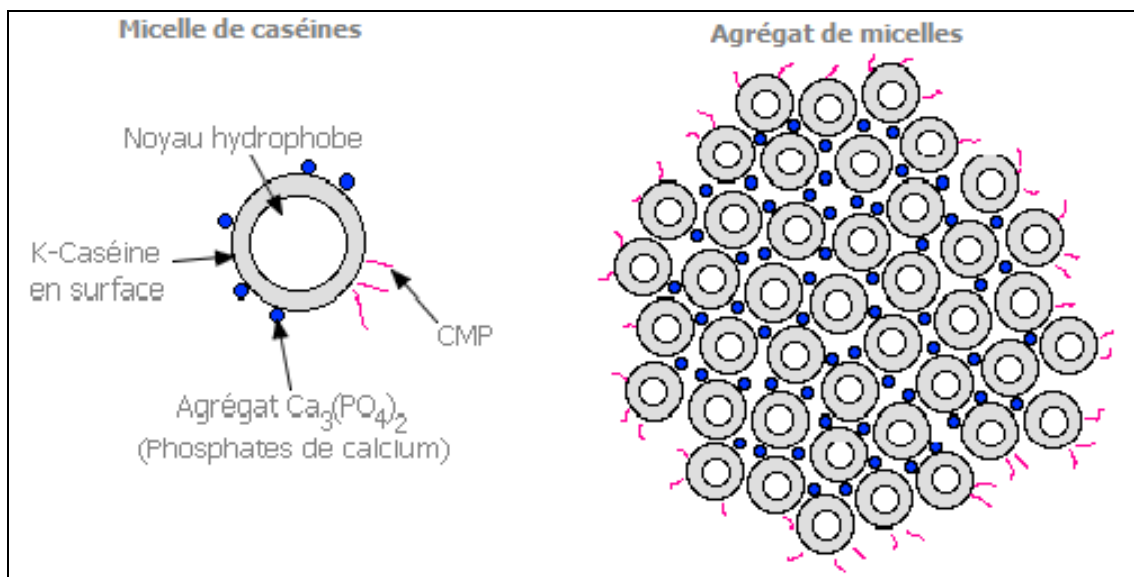
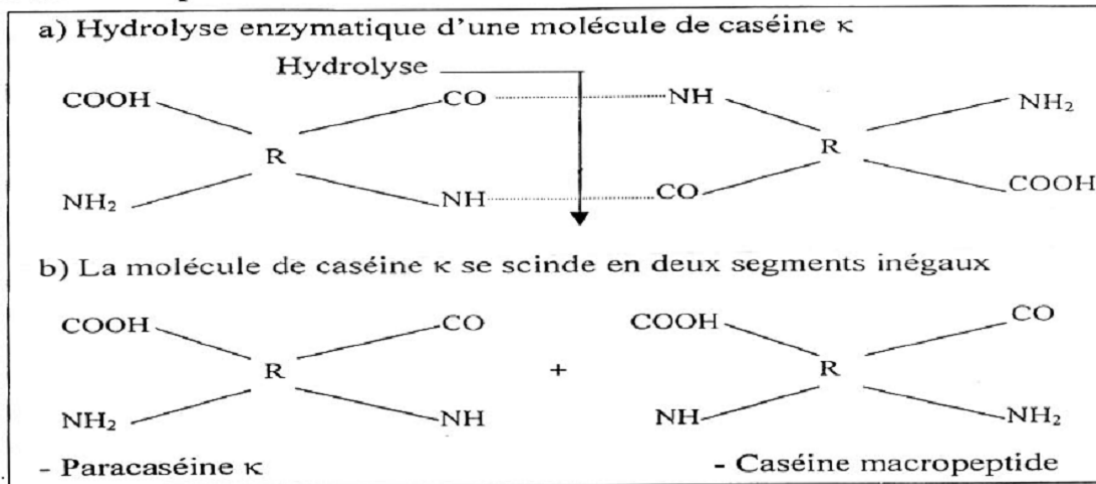


Figure n°2 : Flocculation micellaire du lait

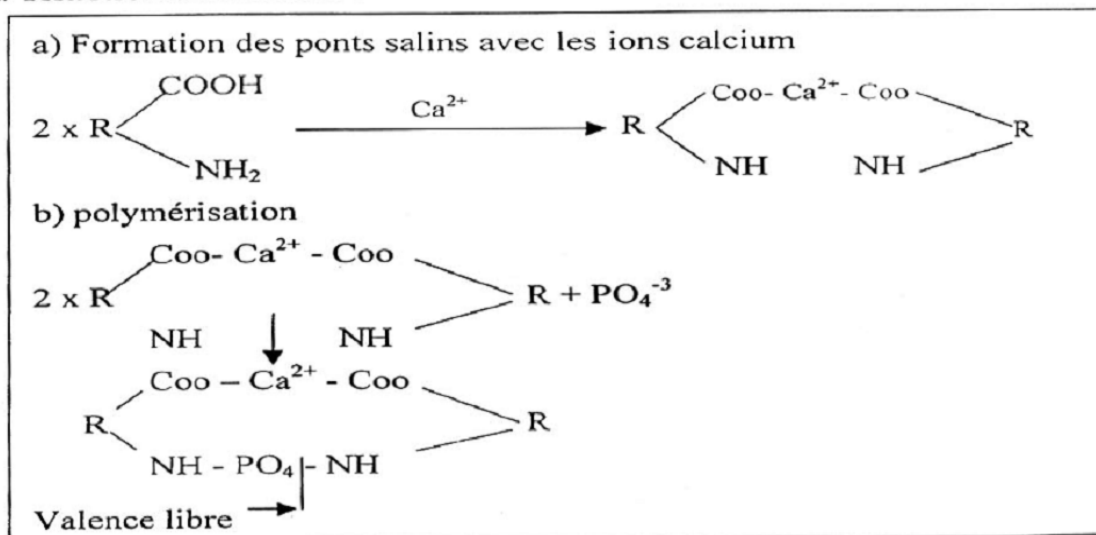
Les figures 3 et 4 illustrent les mécanismes réactionnels suivis lors d'une coagulation enzymatique

**1/ Réaction primaire :**



**Figure n°3 :** Réaction primaire de coagulation enzymatique

**2/ Réaction secondaire :**



**Figure n°4 :** Réaction secondaire de coagulation enzymatique

**I.1.3 Coagulation mixte :**

Résultat de l'action conjuguée de la présure et de l'acidification lactique. Dans la pratique industrielle, un gel mixte peut être obtenu selon deux techniques soit :

- en emprésurant un lait au cours de l'acidification, la coagulation est alors généralement, plus rapide et le gel ainsi obtenu offre des caractères intermédiaires entre un gel à base de présure et un gel lactique.
- Soit en laissant s'acidifier naturellement un caillé emprésuré, ce qui permet à ce dernier d'acquies progressivement les caractères lactiques (Veisseyre, 1979).

Les protéases ou peptidases sont des enzymes protéolytiques qui catalysent l'hydrolyse de liaisons peptidiques. Les enzymes qui constituent le groupe de coagulases sont des protéases à acide aspartique (APs) (Barret, 1998 ; Claverie et Hernandez, 2007).

## **I.2. Différents types de peptidases :**

Il existe des peptidases d'origine animale, végétale et fongique

### **I.2.1 L'enzyme d'origine animale :**

- **La présure :** La présure (mélange de chymosine et pepsine) est une enzyme extraite à partir d'estomac des jeunes ruminants, elle est la plus anciennement utilisée en industrie fromagère (Claverie et Hernandez, 2007).

La présure est toujours considérée comme étant l'enzyme la plus adaptée pour coaguler le lait, cependant son utilisation est confrontée à la contrainte de sacrifice des jeunes veaux (Mohanty et al ., 1999). En conséquence l'industrie fromagère subit une crise dans l'approvisionnement de ce coagulant et cette situation a donné une impulsion aux recherches sur les enzymes de remplacement de la présure ,elles concernent divers sources potentielles de protéases (Sardinas, 1968; Arima et al .; 1970; Martin et al ., 1980; Arces et al .; 1992; Hashem,1999; Claverie et Hernandez, 2007; Germonvilles, 2012).

### **I.2. 2. Les enzymes d'origine microbiennes**

Plusieurs souches de microorganismes font l'objet de production industrielles de protéases coagulantes citant :*Mucor miehei*, *Mucor pusillus*, *Endothia parasitica*, *Irpex lacteus*, *Aspergillus niger*, *Kluyveromyces lactis* et *Escherichia coli* (Olson, 1995; et Shewale, 1998).

### **I.2. 3 Les enzymes d'origine végétales :**

Les préparations coagulantes provenant du règne végétale sont extraites par macération de divers organes de plantes supérieures, tel que le gaillet, l'artichaut, le chardon qui ont été ou et sont encor utilisés dans des fabrications de fromages fermiers.

D'autres extraits coagulants ont été obtenus à partir de plantes tropicales : les ficines, extraites du latex du figuier, la papaïne, extraite des feuilles du papayer et la bromélaïne, extraite de l'ananas.

Par ailleurs, des travaux récents menés sur des substrats de plantes ont été publiés montrant le nouvel intérêt que suscite les enzymes d'origine végétale (Tejada et *al.*, 2008; Benahmed Djilalli et *al.*, 2015).

### **I.3. Caractéristiques des différents gels obtenus :**

#### **I.3.1. Propriétés de coagulum obtenu par voie enzymatique :**

Le gel issu de la présure est rigide, de grande cohésion, contracté et imperméable.

#### **I.3.2. Propriétés de coagulum obtenu par voie acide :**

Le coagulum formé par voie acide possède des propriétés rhéologiques caractéristiques : il est friable, peu élastique, son raffermissement est très limité et très long, sa porosité est bonne, sa perméabilité élevée, mais son aptitude à l'égouttage est limitée (Ramet, 1985).

***Chapitre II***  
***Généralités sur les pro et***  
***prébiotiques***

## **II.1 Les probiotiques:**

Initialement, les **probiotiques** sont des micro-organismes vivants (bactéries ou levures) qui, ajoutés comme compléments à certains produits alimentaires comme les yaourts, vont procurer bénéfique pour la santé.

## **II.2 Les prébiotiques:**

Les prébiotiques sont des substances alimentaires composées généralement de sucres liés connus sous le vocable d'oligosaccharides et de polysaccharides à courte chaîne, qui sont censés promouvoir de façon sélective la croissance de certaines bactéries de type probiotique ou l'activité du microbiote.

### ✓ *Pulicaria odora*



**Figure n°5** Image de *Pulicaria odora*

L'espèce *P. odora* L., (Appelée ouden el hallouf dans certaines régions d'Algérie). Selon Hussein et *al.*, (2007). Le genre pulicaria comprend 100 espèces largement diffusées en Europe, l'Afrique du nord et en Asie. *Pulicaria odora* L. est une plante vivace de 30-60 cm, elle est velue ou laineuse. Elle présente une tige dressée, simple, ou rameuse dans sa moitié supérieure. La tige souterraine renflée en tubercules est couverte de feuilles écailleuses. Elle est constituée de feuilles alternes de forme ovale.

### **Utilisation thérapeutique**

*Pulicaria odora* L. est exclusif des pathologies dermiques (gale, plaies, et brûlures, engelures, eczéma, alopecie, champignon Pityriasis versicolore (Maddour, 2010). Les parties aériennes de cette plante sont également utilisées comme agent antibactérien ou anti-diarrhéitique (Awen et *al.*, 2010).

✓ **Les feuilles de la vigne**



**Figure n°6** Feuilles de vignes

La vigne est une espèce pérenne appartenant à la famille des Vitacées. Cette famille concerne une douzaine de genres pour environ 700 espèces (Galet 1991). Elle est largement répandue dans les zones tropicales et tempérées à travers le monde. Les vignes cultivées sont toutes du genre *Vitis* qui est composé d'environ quatre-vingts espèces.

**Les principaux constituants des feuilles de vigne**

Potassium et calcium, des antacyanosides, des tanins, des proanthocyanidols (Lucienne.A, 2013). Les sucres, les protéines et les polyphenols.

**Utilisation thérapeutique**

Les feuilles de la vigne rouge est tonique, astringente, hémostatique et diurétique ; c'est un remède courant des troubles de la ménopause, utile en cas d'hémorragie utérine, de diarrhée chronique et d'hémorroïdes, de jambes lourdes, de varices, de couperoses (Lucienne.A, 2013).

✓ **Peau de la banane :**



**Figure n°7** de la peau de banane

- **Origine :** Originaires d'Asie du Sud-est, la plus ancienne trace fossile de bananiers date de l'ère tertiaire en Inde. Ces derniers se sont répandus de l'Inde à la Polynésie (Simmonds, 1962) avec un centre de diversification semblant être situé en Malaisie ou en Indonésie (Daniells, 2001). Transporté par les commerçants, le bananier s'est propagé vers l'Afrique de l'ouest il y a au moins 2500 ans (Mbida Mindzie, 2001).

- **Caractéristiques physico chimiques et nutritionnelles de la banane :**

Le fruit du bananier est très répandu et largement consommé à l'échelle mondiale. Sa composition chimique a été étudiée afin de déterminer son intérêt alimentaire (Ali et *al.*, 1997 ; Nagueira et *al.*, 2003).

- **Composition nutritionnelle de la peau de banane :**

Les principaux constituants de la peau sont en pourcentage du poids frais : l'eau (89,45), les glucides totaux (2,29), les sucres totaux (2,06), le saccharose (1,55), les pectines (0,58), les sucres réducteurs (0,51), les lipides (0,50), l'amidon (0,23).

La peau est plus riche en eau que la pulpe, elle a la même faible proportion de matières grasses mais elle est beaucoup plus pauvre en pectines et glucides.

Les analyses de cendres de pulpe et de peau montrent que la proportion de tous les constituants minéraux, notamment celle de la potasse est plus élevée dans la peau que dans la pulpe.

***Chapitre III***  
***Généralités sur le yaourt***

### **III. Généralités sur le yaourt :**

Le yaourt est aujourd'hui le lait fermenté le plus consommé, il constitue une alimentation privilégiée et considérée comme aliment bénéfique pour la santé, car il est riche en protéines et très digeste. De ce fait, la production de yaourt et d'autres laits fermentés ne cesse de croître et la dynamique actuelle du marché oblige donc les industriels à formuler sans cesse de nouveaux produits laitiers frais (Paci Kora, 2004)

#### **III.1. Définition :**

La dénomination yaourt ou yoghourt est réservée au lait fermenté obtenu par le développement des seules bactéries lactiques thermophiles spécifiques (*Lactobacillus Bulgaicus* et *Streptococcus thermophilus*) qui doivent êtreensemencées simultanément et se trouver vivantes dans le produit fini à raison d'au moins 10 millions de bactéries par gramme et la quantité d'acide lactique libre ne doit pas être inférieure à 0,8g/100g lors de la vente au consommateur (Mahaut et al., 2000). Il existe une synergie entre les deux souches qui élaborent des composés utiles l'un pour l'autre, *lactobacillus bulgaricus*; agent d'acidification *Streptococcus thermophilus*; agent d'aromatisation (Guiraud et Galzy, 1998).

Originaire d'Asie, le mot yaourt (yoghourt ou yogurt) vient de "yoghurmarl", mot turc signifiant "épaissir" (Tamime et Deeth, 1980). Le yaourt fait son apparition en France à l'époque de François premier qui en le consommant, se trouve guérie d'une infection intestinale, celui-ci est préparé par un médecin turc dont il a été le seul à avoir la recette.

Selon la FAO/OMS (1977), le yaourt est un lait coagulé obtenu par la fermentation lactique acide due à *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* du lait pasteurisé ou concentré avec ou sans addition (de lait en poudre, etc.) (Luquet, 1990).

Selon la norme A-11a de 1975 du codex alimentarius, le yaourt ou yogurt est défini comme suit : le yogurt est un produit laitier, coagulé obtenu par fermentation lactique grâce à l'action de *Lactobacillus bulgaricus* et de *Streptococcus thermophilus*, à partir de lait pasteurisé avec ou sans addition de saccharose, amidon, et différents fruits.

#### **III.2 Les différents types de yaourts :**

En technologie, trois types de yaourts, différents selon la consistance ou non du gel formé peuvent être fabriqués :

**III.2.1 Yaourt liquide (ou à boire) :** est battu après avoir été brassé puis conditionné et stoké au froid.

**III.2.2 Yaourt brassés :** est préparé en vrac. Le lait caillé subit un brassage puis un refroidissement avant être conditionné en pots qui seront stockés au froid.

**III.2.3 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.

### **III.3 Les étapes de Fabrication du yaourt :**

#### **III.3.1 Récupération et préparation du lait :**

Le lait utilisé pour la fabrication du yaourt peut être soit frais ou du lait reconstitué ou encore un mélange des deux .cette matière première subira des procédures permettant de vérifier si on atteint les limites d'acceptabilités du point de vu microbiologique et physico-chimique.

#### **III.3.2 Standardisation :**

Afin de remédier aux variations naturelles de la composition du lait qui sont dues aux variations saisonnières ou de race, la standardisation améliore la qualité du yaourt désiré en tenant compte de :

- **Teneur en matière grasse** Le gras joue un rôle sur la qualité finale du produit, car il a un effet sur l'onctuosité et la sensation de douceur en bouche (Lamontagne, 2002). La teneur en matière grasse de yaourt varie entre 1et 3,5%.

Selon qu'il s'agit de yaourt maigre ou lait entier, il est donc nécessaire de standardiser le lait de fabrication à la teneur en matière grasse souhaitée, et pour cela, il est tout d'abord écrémé puis mélangé avec la crème dans les proportions souhaitées , dans certains cas la M.G.L.A peut remplacer la crème (Béal et Ssodini, 2003).

- **La teneur en protéines** les protéines de par leur coagulation et leur capacité de liaison avec l'eau agissent sur la texture particulièrement sur la viscosité , l'élasticité, consistance et la fermeté du produit (Lamontagne,2002).

Le lait doit être enrichi en protéines laitières, pour former un yaourt consistant et exempt de synèrese. les quantités ajoutées sont variables et dépendant de la texture recherchée (yaourt à

boire, yaourt ferme ou brassé).la fortification du lait se fait par la poudre de lait entier ou écrémé(totalement ou partiellement ), du lait concentré par les lactoremplisseurs (retentât de lait , lactosérum, concentré de protéines sériques, casernâtes) (Béal et Sodini, 2003) la fermentation ,à hauteur de 5à 10% .pour un yaourt , la concentration finale en matière sèches varie généralement entre 1001et 180g/l ,la plus grande amplitude étant liée à la quantité de sucre ajoutée.

Le lait ainsi standardisé en matière grasse, enrichi en protéines éventuellement sucré, constitue le "mix de fabrication"(Béal et Sodini, 2003).

### **III. 3.3 Homogénéisation**

L'homogénéisation est un traitement industriel employé pour stabiliser l'émulsion de la matière grasse du lait afin d'éviter la séparation de la crème par gravité, évitant ainsi une montée de la crème à la surface durant la fermentation (carole et Vignola ,2002)

### **III.3. 4 Traitement thermique**

Le lait enrichi subi un traitement thermique à 90°C -95°C pendant 3 à 5 minutes (Mahautet *al*, 2000). Ce traitement a pour but de :

- Détruire les germes pathogènes et indésirable ainsi que d'inactiver de nombreuses enzymes (Sechet, 2000).
- provoquer une dénaturation partielle des protéines solubles (85% des protéines du lactosérum) et leur fixation sur les caséines. cet effet a pour conséquences 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 homogènes et visqueuse (Anonyme, 1995).

### **III.3. 5 Refroidissement**

Le lait pasteurisé est ramené à la température avoisinant les 43°C pour l'inoculation des ferments lactiques thermophiles (Carole et Vignola, 2002).

### **III.3. 6 Ensemencement**

Consiste à l'inoculation de deux germes spécifiques du yaourt *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*, dont le rapport est de 1/2 (yaourt nature) jusqu'à 1/10 (yaourt aux fruits). L'ensemencement du lait doit se faire à un taux suffisamment élevé, pour avoir l'assurance d'une acidification correcte et il doit être homogène, c'est-à-dire que l'on doit avoir une répartition des germes bonne et régulière dans le lait (Luquet, 1985).

### **III.3. 7 Fermentation**

C'est la phase d'incubation, elle correspond au développement de l'acidité dans le yaourt. Cette phase se déroule à une température optimale de 42 à 45°C et sa durée dépend de l'activité des cultures, du taux d'ensemencement et de la vitesse de refroidissement (Boudier, 1990) au cours de cette étape une partie du lactose est fermenté en acide lactique, ce dernier entraîne une diminution du pH du lait conduisant à une déminéralisation de la micelle de caséine. Cette déminéralisation provoque une déstabilisation de la micelle de caséine ce qui aboutit à la coagulation.

### **III. 8. Arrêt de la fermentation par refroidissement**

Lorsque l'acidité du yaourt atteint un seuil (70 à 80°D dans le cas des yaourts étuvés, 80 à 100°D dans le cas des yaourts brassés), il est nécessaire d'arrêter l'acidification en inhibant le développement des bactéries lactiques, ceci est réalisé par un abaissement considérable de la température. C'est la phase dite de refroidissement, conduite différemment selon le type de produit.

- Pour les yaourts étuvés, le refroidissement se fait entre 2 à 4°C dans les chambres fortement ventilées.
- Pour les yaourts brassés, le refroidissement s'effectue de 2 à 4°C par passage dans des échangeurs refroidisseurs à plaques tubulaires (Luquet, 1985).

### **III.3. 9 Incorporation d'ingrédients**

L'addition de différents ingrédients intervient soit avant la fermentation pour les yaourts fermes (aromes, colorants) soit après la fermentation par l'addition de préparation de fruits pour les yaourts brassés (Béal et Sodini, 2003).

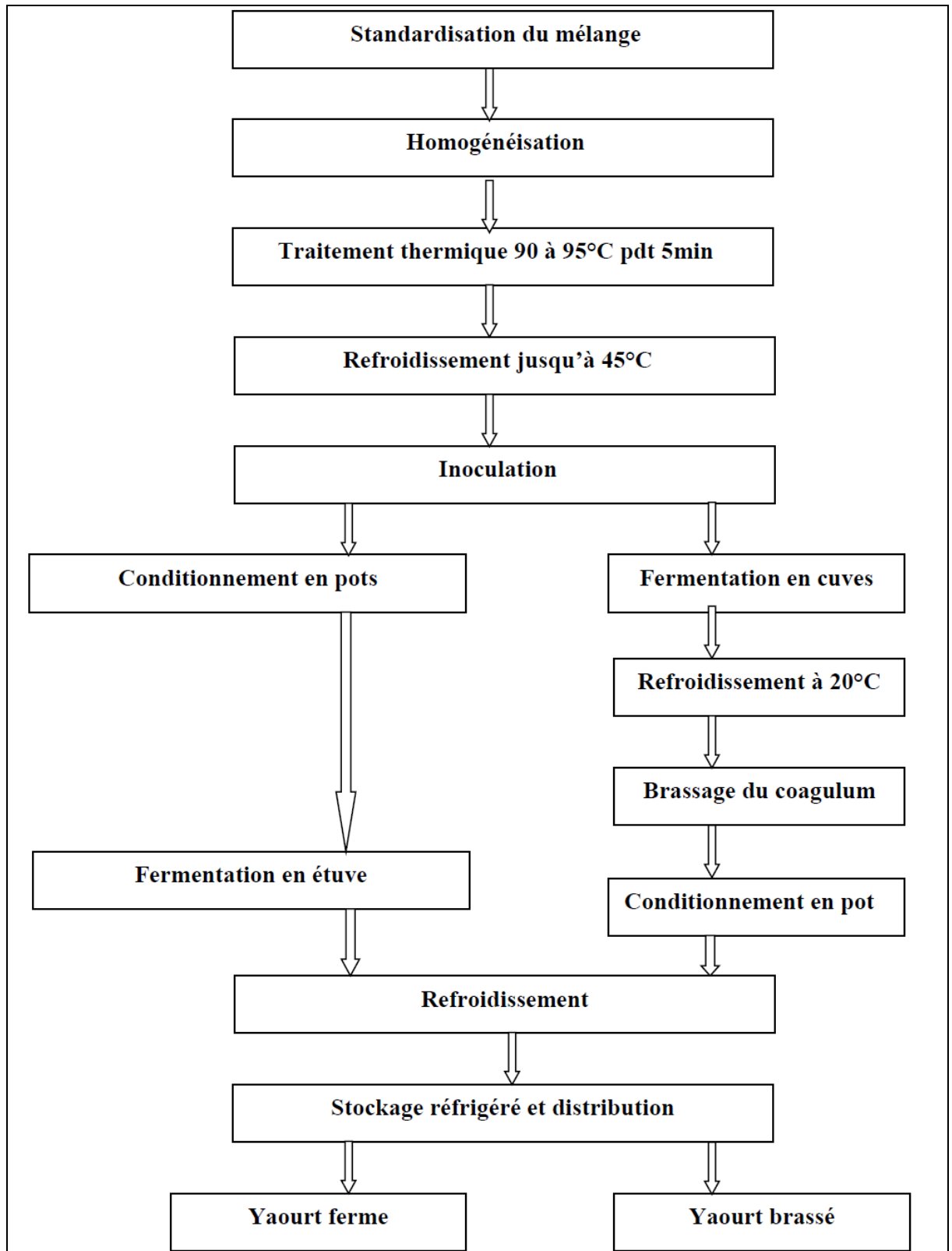
### **III.3. 10 Conditionnement**

C'est la phase ultime de la fabrication .les yaourts sont généralement conditionnés dans deux types d'emballages : les pots en plastiques (yaourt étuvé ou yaourt brassé) ou des bouteilles en plastiques (yaourt brassé).

Lors de remplissage et du dosage des pots ,s'effectuent l'ajout d'aromes ,de pulpe ou de fruit pour les pots multiples , sous protection bactériologiques avec air filtré , et la fermeture des pots sera par thermo scellage avec l' impression et le marquage de la date de consommation (Luquet,1990).

### **III.3. 11 Conservation et stockage**

Généralement, le yaourt se conserve à froid, à une température ne devant pas dépasser 8°C pendant 24 jours au plus. dans ces conditions, les bactéries du yaourt ne se multiplient pas mais conservent néanmoins une activité métabolique (Hermier et al ., 1996).lorsqu'un récipient est ouvert , il convient de consommer son contenu rapidement pour éviter l' installation des moisissures favorisées par l'acidité (Trémolière et al .,1984). Le diagramme de fabrication du yaourt est illustré dans la figure n°8



**Figure n°8** Diagramme général de la fabrication du yaourt ferme et du yaourt brassé (Beal et al.,2008).

### **III.4 Qualités des yaourts :**

#### **III.4.1. Aspects organoleptiques**

Le yaourt doit répondre aux caractéristiques organoleptiques suivantes :

- Couleur franche et uniforme
- Goût franc et parfum caractéristiques ;
- Texture homogène (pour le yaourt brassé) et ferme (pour le yaourt étuvé).

#### **III.4.2. Aspect hygiénique :**

Selon la norme nationale 1998, N°35 parue au journal officiel, les yaourts ne doivent pas contenir aucun germe pathogène. Le traitement thermique du lait avant fabrication étant suffisant pour détruire les microorganismes non sporulés, pathogène 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 plus part des germes indésirables.

Les levures et les moisissures peuvent se développer dans le yaourt.

Ces derniers proviennent principalement de l'air ambiant dont la contamination se situe au stade du conditionnement (Larpent., 1989)

### **III.5 Effets bénéfiques du yaourt :**

#### **✓ Valeur nutritionnelle du yaourt :**

Calis (1975) a montré que des substances issues de la dégradation thermique de la matière grasse, du lactose et des protéines du lait sont présentes dans l'arome du yaourt et lui confèrent sa saveur typique. Selon Croux(1973), certains acides aminés (thréonine, Méthionine, Tryptophane, proline...) sont des précurseurs de certains composés aromatiques (acétaldéhyde) qui contribuent à la finesse du yaourt.

Selon (Béal et Sodini, 2003), le calcium contenu dans le yaourt et les laits fermentés présente une meilleure biodisponibilité que celui du lait.

En effet, le yaourt présente une meilleure digestibilité des protéines et matières grasses que le lait. La proportion d'acides aminés libres, peptides, acides gras libres se trouvent augmentée dans le yaourt par rapport au lait grâce à l'activité protéolytique et lipolytiques des ferments lactiques au cours de la fermentation (Loones, 1994).

En consommant quotidiennement 1/2 litre de yaourt, on couvre entièrement les besoins en vitamines B2, les 3/4 des besoins en calcium, le 1/3 environ des besoins en protéines animales (Peyrot et Larpent, 1986).

### **Propriétés thérapeutiques du yaourt**

La présence de bactéries vivantes dans le yaourt bénéfique pour la santé :

#### **✓ Digestibilité de lactose**

La présence de bactéries vivantes dans le yaourt permet une meilleure assimilation du lactose chez les personnes déficientes en lactose (De Roissart et Luquet, 1994).

#### **✓ Stimulation du système immunitaire**

Les bactéries lactiques présentent une action stimulante sur le système immunitaire de l'hôte en agissant sur les cellules impliquées dans l'immunité spécifique ou non spécifique (Marteau et *al.*, 1994).

#### **✓ 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 (Vrignaud, 1982).

## *Matériel et méthodes*

## I. Méthodes d'analyses physico chimiques des extraits des plantes :

### a- La tyndallisation :

- Mettre les poudres dans des flacons stériles ;
- Incuber dans l'étuve à 50°C pendant 4heures ;
- Refaire l'incubation trois fois successives.

### b - Caractérisation physico chimique des extraits de plantes :

- **Détermination du pH selon (AFNOR, 1970) :** elle est basée sur la détermination, en unité pH, de la différence de potentiel existant entre deux électrodes plongées dans une solution aqueuse des poudres de prébiotiques utilisés.

- **Détermination de la teneur en eau (AFNOR, 1970) :** la teneur en eau est le pourcentage de la masse d'eau contenue dans la poudre elle est déterminée à l'aide d'une étuve à 180°C

- **Dosage des polyphénols totaux :**

- **Principe :** Les polyphénols ont été déterminés par spectrométrie selon la méthode de Folin-ciocalteu (Singleton *et al.* 1999). Ce réactif de couleur jaune est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3 PW_{12} O_{40}$ ) et l'acide phosphomolybdique ( $H_3 PMo O_{40}$ ).

- Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-ciocalteu en un complexe ayant une couleur constituée d'oxyde de tungstène ( $W_8 O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8 O_{23}$ ), l'intensité de la couleur est proportionnelle aux taux des composés phénoliques oxydés (Biozot et Charpentier ,2006).

- **Mode opératoire :** La poudre des feuilles de vigne (2g) est soumise à une extraction par macération dans deux solvants, l'eau distillée et l'éthanol (20 ml) pendant 72 h puis les extraits sont filtrés.

Le dosage des polyphénols dans chaque extrait est adopté selon le diagramme suivant :

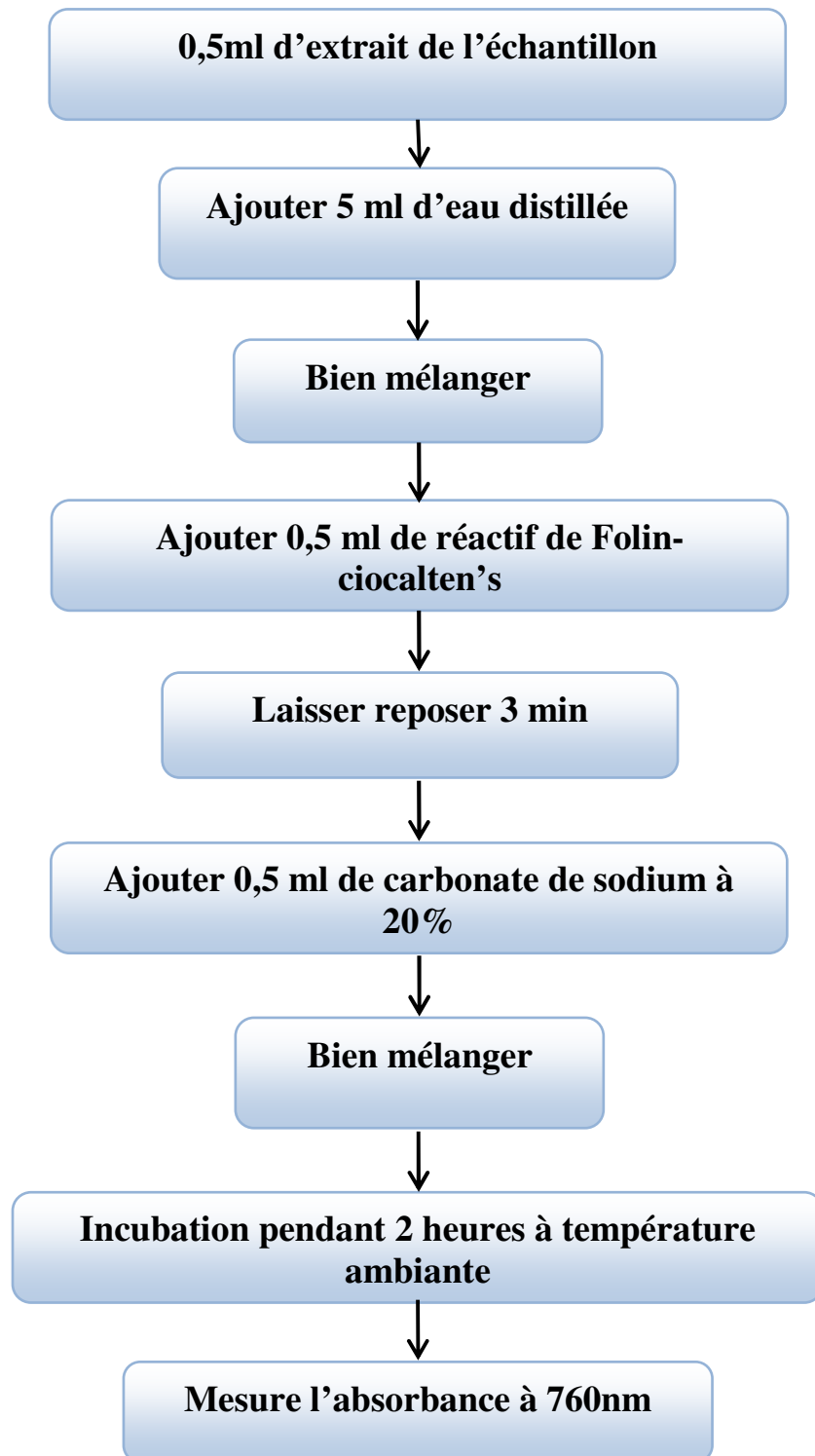


Figure n°9 Diagramme de dosage des PPT (Singleton et *al.*,1999).

**Courbe d'étalonnage** La concentration en composés phénoliques totaux est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard d'étalonnage.

**Expression des résultats** Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche de plante (mg EAG /g MF).

## **II La coagulation du lait avec différentes prébiotiques**

Les poudres de feuilles de vigne, pelure de banane, *Pulicaria-odoratont* été utilisées pour la coagulation du lait à différentes concentrations (0,5g/10ml ,1g/10ml et 1,5g/10ml) du lait pasteurisé ; les mélanges obtenus sont incubés à 45°C pendant 4h ;

### **II. 1. Obtention des extraits de prébiotiques :**

Les différentes poudres ont été macérées dans l'eau distillée stérile à raison de 2%, l'incubation des mélanges obtenus a été faite à 65°C pendant 2 heures.

### **II.2. Filtration :**

Les extraits de prébiotiques ont été filtrés à l'aide d'un filtre Wattman (Fig. 9).



**Figure 10** Filtration des extraits de prébiotiques.

### **II.3. Essai de la coagulation**

Les essais sont réalisés dans des tubes à essais stériles en deux séries de trois de chaque :

- **La première une série:** pipeter 0,5ml,1ml, 1,5ml de chaque extrait puis l'ajouter à 10ml du lait dans les tubes "1","2" et "3" respectivement puis les incuber dans un bain mari à 45°C.

- **La deuxième série** : peser 0,5g, 1g, 1,5g de chaque poudre dans 10ml de lait puis les incuber dans un bain mari à 45°C.
- **La troisième série** : est réalisée en ajoutant les mêmes ingrédients additionnés les ferments lactiques (40g/3000l).

Ainsi, le meilleur coagulant (pré-biotique) ayant le temps de coagulation le plus court fera l'objet pour la fabrication du yaourt.

#### **II. 4 Etapes de fabrication du yaourt :**

- Portée à l'ébullition du lait pendant 3min à 95°C ;
- Puis, refroidissement à 45°C ;
- Ajout de tous les ingrédients et du bien mélangé ;
- Pasteurisation à 95°C, pendant 3minutes ;
- Refroidissement à 45°C ;
- Ajout de la quantité nécessaire de ferments lactiques (30g pour 3000litres du lait) ;
- Répartition de ce mélange en cinq(05) fraction F1, F2, F3, F4, F5 dans des pots de 250ml, 1/2 ferment+1/2 extrait caillé, 1/2 ferment+1/2 caillé de poudre, extrait seul et tous les ingrédients, poudre seule et tous les ingrédients+ un yaourt commercialisé comme référence " Yaourt nature Soummam».
- Mise à l'étuve à 45°C pendant 4heures.

#### **II.5 Analyses physico chimiques de produit obtenu (le yaourt)**

##### **II.5.1. Mesure du pH (AFNOR, 1986) :**

Le pH nous renseigne sur la fraîcheur du produit, il nous permet aussi de suivre la croissance des bactéries lactiques dans leur milieu de culture (De Marigny et *al*, 1994). La valeur du pH est déterminée de la même manière que précédemment à l'aide d'un pH mètre préalablement étalonné et à une température 20°C.

##### **II.5.2. Acidité titrable**

L'acidité totale représente la somme des acides organiques et minéraux elle est exprimée en fonction de l'acide dominant, cette mesure est importante dans l'évaluation de la saveur des aliments (De Marigny et *al*, 1994).

##### **II.5.3. Mesure de l'extrait sec total (AFNOR, 1986)**

Elle consiste à faire évaporer l'eau d'une prise d'essai et de déterminer par pesée la quantité restante de matière sèche.

**II.5.4. teneur en protéines :**

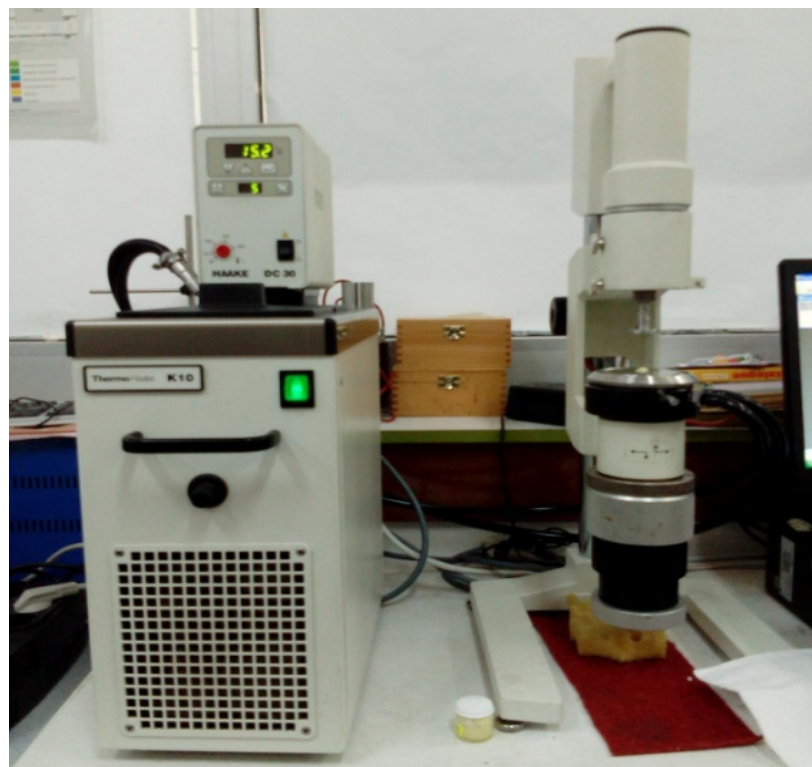
Elle est déterminée selon la méthode de Lowry (voir annexe n°5)

**II.5.5. Synérèse :**

Les échantillons de yaourt sont placés dans un bécher de 100ml est stockés à 4°C .le volume de sérum séparé à la surface d'un yaourt est déterminé après 15jours de stockage (Koksoy et KiLic, 2004).

**II.5.6. Mesure de la viscosité :**

Le viscosimètre utilisé est de type couette, le Viscotester VT550 (Fig 10). Il est utilisé pour caractériser des fluides en mode de rotation déterminant leur propriétés rhéologiques à savoir la viscosité, la contrainte seuil et la thixotropie. Il consiste à imposer une vitesse de cisaillement et calculer la contrainte de cisaillement et la viscosité apparente. Un régulateur de température de type HAAKE DC 30 a pour but de maintenir la température voulue (Chelah, 2012).



**Figure 11 :** Viscotester VT 550.

## **II.6. L'analyse microbiologique :**

### **II.6.1. Présentation de la qualité microbiologique :**

Les analyses microbiologiques sont indispensables voire obligatoires pour apprécier la qualité microbiologique d'un produit alimentaire.

La maîtrise de la qualité microbiologique (hygiénique obligatoire et marchande, souhaitée par le fabricant mais aussi par le consommateur) passe par un ensemble de démarches qui vont du contrôle de la matière première, brute, en cours de transformation ou de l'aliment fini, aux pratiques de bonne fabrication en passant par l'identification des principaux points critiques du système production/distribution, le plus souvent par une démarche HCCP.

### **II.6.2. Objectif du contrôle microbiologique :**

Ces analyses permettent de détecter les micro-organismes existants dans les produits alimentaires, notamment les pathogènes, afin de garantir pour le consommateur, une sécurité hygiénique, et un niveau appréciable de la qualité organoleptique. Ces analyses se font toujours dans les meilleures conditions d'asepsie (Bosgraud, 2003). Dans ce cas, la mise en évidence d'une bactérie végétative serait une preuve d'une mauvaise qualité de la matière première. Les analyses microbiologiques réalisées sur nos échantillons de yaourt correspondent à la recherche et au dénombrement des germes représentés dans le tableau suivant :

**Tableau 1** Représentation de germes recherchés dans le yaourt

<b>Germes recherchés</b>	<b>Milieu utilisé</b>	<b>Type d'ensemencement</b>	<b>T° d'incubation</b>	<b>Durée d'incubation</b>
Coliformes totaux	VRBL	En profondeur	37°C	24h
Coliformes fécaux	VRBL	En profondeur	44°C	24h
<i>Staphylococcus aureus</i>	<b>Giolitti contonii</b>	EN SURFACE	37°C	24h
Salmonelles	<b>SFB</b>	EN SURFACE	37°C	72h
Levures et moisissures	<b>SABOURAUD</b>	EN SURFACE	25°C	3 à 4 j

### **II.6.3. Méthodes d'analyses microbiologiques :**

#### **a- Préparation de la solution mère :**

Prendre 25g de yaourt, les introduire dans 225ml d'eau peptone, ce dernier ne doit pas induire de variation quantitative ni qualitative dans la flore microbienne présente, il doit assurer la survie de tous les micro organismes sans favoriser leur multiplications (Bourgeois et *al.*, 1990).

Cette suspension est homogénéisée et constitue la suspension mère SM qui correspond à la dilution 1/10.

#### **b- Préparation des dilutions décimales (NF EN ISO6887-1) :**

A partir de la solution mère SM, on prépare une série de dilution allant de 10<sup>-1</sup> à 10<sup>-6</sup> puis on répartit d'une manière aseptique les dilutions décimales à l'aide d'une pipette Pasteur.

- On induit 1ml de la solution mère dans 9ml de TSE (dilution 1/10 ou 10<sup>-1</sup>).
- On prélève ensuite 1ml de la dilution 10<sup>-1</sup> que l'on introduit dans 9ml de TSE (dilution 1/100 ou 10<sup>-2</sup>).
- Après avoir mélangé on introduit 1ml de la dilution 10<sup>-2</sup> dans 9ml de TSE (dilution 1/1000 ou 10<sup>-3</sup>).

#### **c- Recherche et dénombrement des coliformes totaux CT et coliformes fécaux CF (J.O.R.A.1998) :**

Les coliformes sont des Entérobactéries fermentant le lactose (avec production de gaz) à 30°C. Les bactéries correspondantes appartiennent au genre : Escherichia, Citrobacter, Klebsiella et Enterobacter. On entend par le terme coliforme thermo tolérant ou coliformes fécaux l'ensemble de coliformes fermentant le lactose (avec production de gaz) à 44°C (Joffin C et Joffin, 1999).

Selon la définition ISO, les coliformes sont des bacilles à Gram-, non sporulé, oxydase, aérobies ou anaérobies facultatives, leur présence dans les aliments traduit une contamination fécale par le manque d'hygiène (Bourgeois et *al.*, 1996).

Les coliformes présentent des risques d'infections pour le consommateur et ils ont des conséquences technologiques négatives : fermentation du sucre avec production de gaz d'acides ou d'autres substances visqueuses à saveur souvent désagréables. C'est pour cela qu'on devrait s'assurer que leur nombre dans le produit alimentaire ne dépasse pas les normes.

Le dénombrement des coliformes totaux CT et coliformes fécaux CF peut s'effectuer soit par colimétrie (milieu liquide sur bouillant lactosé bilié au vert brillant), soit sur milieu

solide: VRBL ou Gélose désoxycholatée 1% renfermant une faible teneur en sel biliaires et en citrates suffisante pour inhiber la croissance de la majeure partie de la flore à Gram+ tout en préservant le développement des coliformes (Joffin et Layral ,2001) (voir annexe 8).

**d- Recherche et Dénombrement des salmonelles (AFNOR, 1973) :**

Ce sont des bacilles à Gram négatif, anaérobies facultatifs, habituellement mobiles grâce à des flagelles péritriches ; mais des mutations immobiles, non sporogènes, catalase positive, oxydase négative (Multon, 1992 ; Bourgeois, 1996). Leur température optimale de croissance est de 35/37°C mais peuvent supporter des variations importantes (inférieur à 10 °C jusqu'à 45°C), elles sont détruites à 72°C pendant 15 secondes dans le lait (Bourgeois ,1996). Cependant les salmonelles figurent parmi les bactéries responsables de toxi-infections alimentaires (Avril, 1991).

La recherche des salmonelles a pour but de voir si le produit est dangereux ou pas à la consommation car se sont des bactéries pathogènes provoquant chez l'homme des gastro entérites (Joffin, 1999). La recherche des salmonelles se fait en trois étapes : pré enrichissement, enrichissement et isolement (voir annexe 10).

Selon Alais, (1984), leur présence dans le yaourt peut avoir des origines variées, les manipulateurs, principalement les eaux polluées.

**e- Recherche et dénombrement des *Staphylococcus aureus* (J.O .R.A, 1998) :**

Les staphylocoques appartiennent à la famille des Micrococcaceae, ce sont des microorganismes de forme sphériques à ovoïdes se divisant en plusieurs plans et formant des paquets et des amas ^plus au moins réguliers, ils sont immobiles, à Gram+, aéro-anaérobies facultatifs, à coagulase et catalase positifs, non sporulés, et leurs colonies sont souvent pigmentés (Lèbre ,2002). C'est un germe mésophile dont la température optimale de croissance est entre 30°C et 35°C et le pH optimal est de 7et 7,5.

Le pouvoir pathogène de *Staphylococcus aureus* est du à des toxines (hémolysine, leucocidine et enterotoxine causant des intoxications alimentaires .donc leur recherche permet de savoir si le produit alimentaire présente un risque ou non pour le consommateur (Guireaud, 1998) (voir annexe 9).

La presence des staphylocoques dans le yaourt est la conséquence de négligence des mesures d'hygiènes du manipulateur. En effet ils sont très répandus dans la nature. Ce sont des commensaux fréquents dans la peau et des cavités naturelles de l'homme et des animaux (Pilet et *al.*, 1978).

**f- Recherche et dénombrement des levures et moisissures (J.O.R.A, 1998) :**

Les levures et moisissures sont des champignons microscopiques dont la présence dans les produits alimentaires n'est pas souhaitée. En effet, ils provoquent des accidents organoleptiques tels que : l'altération de goût, le gonflement, la mauvaise présentation et la diminution de la durée de conservation des produits (Guiraud et Galzy, 1980).

▪ **Les levures :** se présentent sous une forme unicellulaires, et se multiplient par bourgeonnement formant des spores d'origine sexuées (Bourgeois et Mescle ,1988). D'un point de vue hygiénique, il n'est pas nécessaire de rechercher les levures dans les produits alimentaire, par contre d'un point de vue technologique, elles peuvent causer des altérations importantes dans une fabrication rendant celle-ci non commercialisées (Bourgeois et Leveau ,1991).

**Les moisissures :** Ce sont des micromycètes saprophytes, se développant au dépend de substrat inertes ou en voie de décomposition. Ce sont des champignons filamenteux (Bourgeois et Mescle, 1988). Certains d'entre eux sont toxinogènes et libèrent dans l'aliment des mycotoxines qui représentent un danger de point de vue sanitaire (Gyraud et Galzy, 1980).

Le dénombrement est réalisé sur milieu Gélose Sabouraud au chloramphénicol ou sur le milieu OGA à l'oxytétracycline, ces milieux permettent la croissance des levures et des moisissures (voir annexe 11).

## *Résultats et discussion*

I. Résultats physico-chimiques des poudres de prébiotiques :

Tableau II Résultats d'analyses physicochimiques des poudres utilisées.

	Peau de banane	Feuilles de vigne	Pulicaria Odora
EST des poudres	88%	105%	92%
pH des extraits	5	4,6	6,3

La valeur de pH la plus élevée est enregistrée dans l'extrait du *Pulicaria odora* et la plus petite valeur est enregistrée dans celui des feuilles de vigne, un extrait acide, comme il est indiqué dans le tableau précédent.

Tableau III Teneur de polyphenol dans les poudres de la peau de la banane, Pulicaria Odora et les feuilles de vigne.

	Extrait	Teneur en polyphénols (gEAG/g MS)
Poudre de banane	Extrait éthanolique	190 ± 1,91
	Extrait aqueux	140,1± 1,09
<i>Pulicaria odora</i>	Extrait éthanolique	170,909 ± 0,091
	Extrait aqueux	100,272 ± 0,091
les feuilles de vigne	Extrait éthanolique	200 ± 1,91
	Extrait aqueux	120,1± 1,30

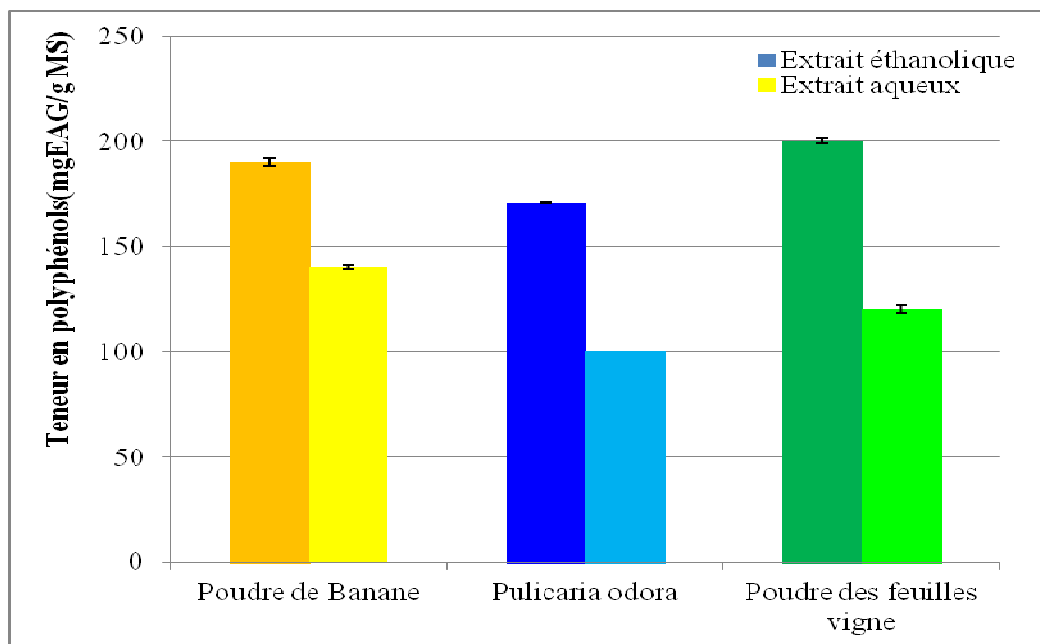


Figure n°12 Teneur en polyphenols des poudres de la peau de la banane, *Pulicaria Odora* et les feuilles de vigne.



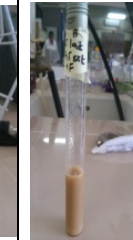
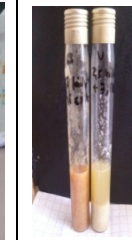



L'analyse quantitative des composés phénoliques montre que, les extraits éthanoliques de l'ensemble des poudres analysées présentent des teneurs plus élevées en ces composés en comparaison avec les extraits aqueux. Nous constatons aussi que les feuilles de vigne présentent le meilleur taux d'extraction en polyphénols.

La moyenne de la teneur en polyphénols totaux est de 253,62 mg EAG/100g pour la pelure de betterave. Cette valeur est inférieure avec celle citée par Rairos, *et al.*, (2016) , qui ont mentionné des valeurs entre 279,4 et 399,6mg EAG/100g pour plusieurs variétés de la betterave.

Nos résultats montrent que la concentration en PPT dans les extraits éthanoliques est supérieure à celle dans les extraits aqueux pour les trois poudres analysées, les valeurs sont comprises entre 170-200gEAG/gMS des poudres et entre 100,272-140,1gEAG/g des poudres pour les extraits éthanoliques et aqueux respectivement.








La concentration la plus élevée est représentée par les feuilles de vigne dans l'extrait éthanolique (200 pour l'extrait E et 120,1 pour l'extrait A), suivie par la peau de banane qui a un taux de 190 pour l'extrait E et 140,1 pour l'extrait A, et enfin la *Pulicaria odora* avec une concentration de 170 pour l'extrait E et 100 pour l'extrait A.

**Tableau IV** pH et temps de coagulation du lait par la poudre et l'extrait de la peau de banane, sans ferments (pH=5)

	Extrait de la peau de banane				Poudre de la peau de banane		
Quantité	Temoin Negatif 10ml lait	5ml+ lait5ml	2,5ml +7,5ml lait	7,5ml +2,5ml Lait	0,5g/10ml	1g/10ml	1,5g/10ml
pH	6,3	5,7	5,9	6	5,9	5,5	5,3
Temps de coagulation	-	-	-	-	Floculation Après 2h	Floculation Après 2h	Floculation Après 2h
Echantillons							

Avec l'extrait de la banane il n'y a pas de coagulation. La poudre de la banane n'a entraîné que des floculations même après 4 h d'incubation ; par contre le témoin négatif est resté liquide.

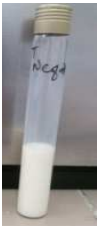
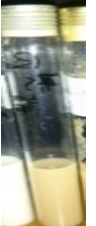




**Tableau V** pH et temps de coagulation du lait par la poudre et l'extrait de la peau de banane, avec ferments lactiques (pH=5)

	Extrait de la peau de banane				Poudre de la peau de banane		
Quantité	Temoin Negatif 10ml lait+ ferment	5ml+ 5ml lait+ ferment	2,5ml +7,5ml lait+ ferment	7,5ml +2,5ml Lait+ ferment	0,5g/10 ml+ ferment	1g/10ml + ferment	1,5g/10 ml + ferment
pH	6,5	5,4	5,3	6,4	5,8	5,5	5,3
Temps de coagulation	N.C	sur le champ	Sur le champ	sur le champ	Après 45mn	Après 15mn	Après 15mn
Echantillons							

Après addition de ferments lactiques les extraits ont coagulé immédiatement le lait ; mais avec la poudre la coagulation est comme suit :

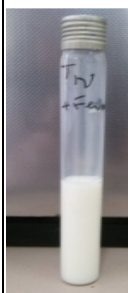




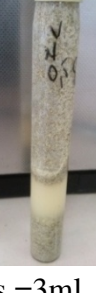

- 0,5g/10ml+ FERMENT : 45mn ;
- 1, g/10ml+ FERMENT : 15mn ainsi que celui de 1,5g/10ml+ FERMENT ;
- Le témoin négatif pendant ce temps est toujours non coagulé comme le montre la photo.

**Tableau VI** pH et temps de coagulation du lait par la poudre et l'extrait de les feuilles de vigne, sans ferments lactiques (pH=4,6)






Quantité	Extrait des feuilles de vigne				Poudre des feuilles de vigne		
	Négatif 10ml lait	5ml+5 ml lait	2,5ml +7,5ml lait	7,5ml +2,5ml Lait	0,5g/10ml l	1g/10ml	1,5g/10ml
pH	6,3	5,4	6	5,7	5,4	4,6	4,6
Temps de coagulation	N. C	N.C	N.C	N.C	2h	1h	1h
Echantillons							

- Les extraits sans ferments lactiques n'ont pas subi de coagulation par contre avec la poudre des feuilles de vigne, la coagulation du lait est survenue après 1h pour 1g et 1,5g et après 2h pour 0,5g.






**Tableau VII** pH et temps de coagulation du lait par la poudre et l'extrait des feuilles de vigne, avec ferments lactiques (pH=4,6)

Quantité	Extrait des feuilles de vigne				Poudre des feuilles de vigne		
	Témoin Négatif 10ml lait+ ferment	5ml+ 5ml lait+ ferment	2,5ml +7,5ml lait+ Ferment	7,5ml +2,5ml Lait+ ferment	0,5g/10ml+ ferment	1g/10ml + ferment	1,5g/10 ml + ferment
pH	6,6	4	5,9	3,6	5,4	4,6	4,6
Temps de coagulation	N.C	Sur le champ	Sur le champ	Dès l'ajout d'extrait	30mn	15mn	30mn
Echantillons							
			L s =3ml	L s =6ml	L s =3ml	L s =1ml	L s =2ml

**Tableau VIII** pH et temps de coagulation du lait par la poudre et l'extrait de les Feuilles de *Pulicaria odora*, sans ferments lactiques (pH=6,3)

	Extrait des feuilles <i>Pulicaria odora</i>				Poudre des feuilles <i>Pulicaria odora</i>		
Quantité	Temoin négatif 10ml lait	5ml+ lait5ml	2,5ml +7,5ml lait	7,5ml +2,5ml Lait	0,5g/10ml	1g/10ml	1,5g/10ml
pH	6,3		6,4	5,3	5,8	6,1	6
Temps de coagulation	N.C	N.C	N.C	N.C	N.C	N.C	N.C
Echantillons							

**Tableau IX** pH et temps de coagulation du lait par la poudre et l'extrait des feuilles de *Pulicaria odora*, avec ferments lactiques (pH=6,3)

	Extrait des feuilles <i>Pulicaria odora</i>				Poudre des feuilles <i>Pulicaria odora</i>		
Quantité	Témoin Négatif 10ml lait+ ferment	5ml+ 5ml lait+ ferment	2,5ml +7,5ml lait+ ferment	7,5ml +2,5ml Lait+ ferment	0,5g/10ml+ ferment	1g/10ml + ferment	1,5g/10ml + ferment
pH	6,6	6	6,3	6,1	5,8	5,6	5,6
Temps de coagulation	N.C	N.C	N.C	N.C	N.C	N.C	Après 2h
Echantillons							

D'après ces essais, les mixtures de probiotiques (ferments lactiques) avec les prébiotiques issus de la poudre et l'extrait des feuilles de vigne ainsi que ceux issus de la poudre et l'extrait de la peau de banane ont des résultats probants (**voir** les tableaux IV et VI).

**II. Caractérisation des yaourts obtenus :**



**Figure n°13** Echantillons des yaourts obtenus par la poudre et l'extrait de feuilles de vigne.

Les caractéristiques physico- chimiques du produit fini(le yaourt) sont illustrés dans le tableau suivant :

**Tableau X** Analyses physico-chimiques des yaourts obtenus.

Produit / paramètre	Yaourt Commercialise	Y+ ferments lactiques des feuilles de vigne	1/2 ferment 1/2extrait caillé des feuilles de vigne	1/2ferment 1/2poudre caillée des feuilles de vigne	Extrait directe des feuilles de vigne	Poudre directe des feuilles de vigne
pH	4,5	4,50±0,110	5,09±0,100	4,27±0,15	6,93±0,068	6,42±0,052
ACIDITE (°D)	100	80±0,43	60±0,35	60±0,40	30±0,56	20±0,27
TAUX DE PROTEINES (g/100g)	3,2	2,83 ±0,86	2,73 ±0,73	2,22 ±0,43	2,320 ±0,56	1,732 ±0,07

**II.1. Valeur de pH**

Après fermentation, les valeurs de pH des produits analysés: 1/2 ferment lactique et 1/2 extrait de vigne , : 1/2 ferment lactique et 1/2 caillé de vigne sont proche de yaourt nature commercialisé entre 4,4, 5,09, 4,27 .Ces résultats s'accordent bien avec ceux présentes par Jimoh et Kolapo(2007) qui varient entre 3 ,39 et 5,68.mais les valeurs de yaourt enrichis avec

la poudre de la vigne et son extrait sans ferments lactiques sont élevées et cela est du que ces échantillons ne sont pas fermentés .

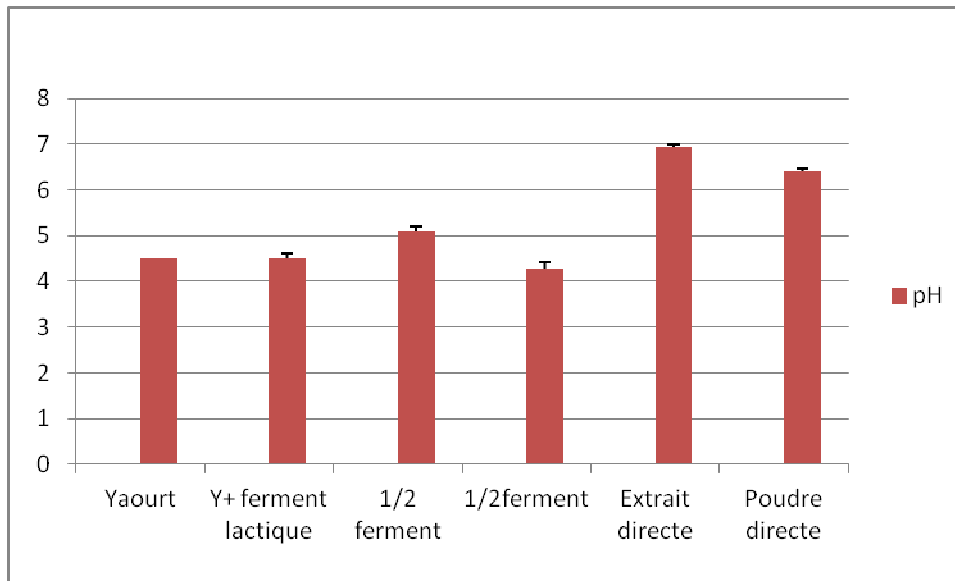


Figure 14 pH des yaourts obtenus.

## II.2. L'acidité

Après fermentation, les valeurs de l'acidité titrable pour le yaourt nature et le yaourt à base de mixture de la poudre des feuilles de vigne et de son extrait YV1, YVII, YVIII, sont respectivement 100, 80, 60,60°D. Ces valeurs sont conformes à la norme recommandée par le JORA (1998) et la FIL qui préconise respectivement des teneurs de 80°D et 70°D.

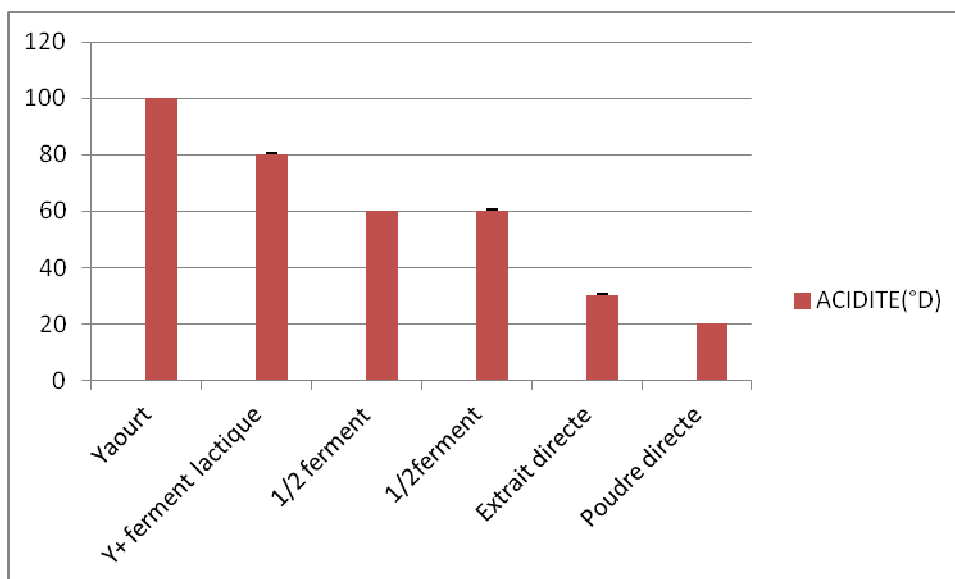
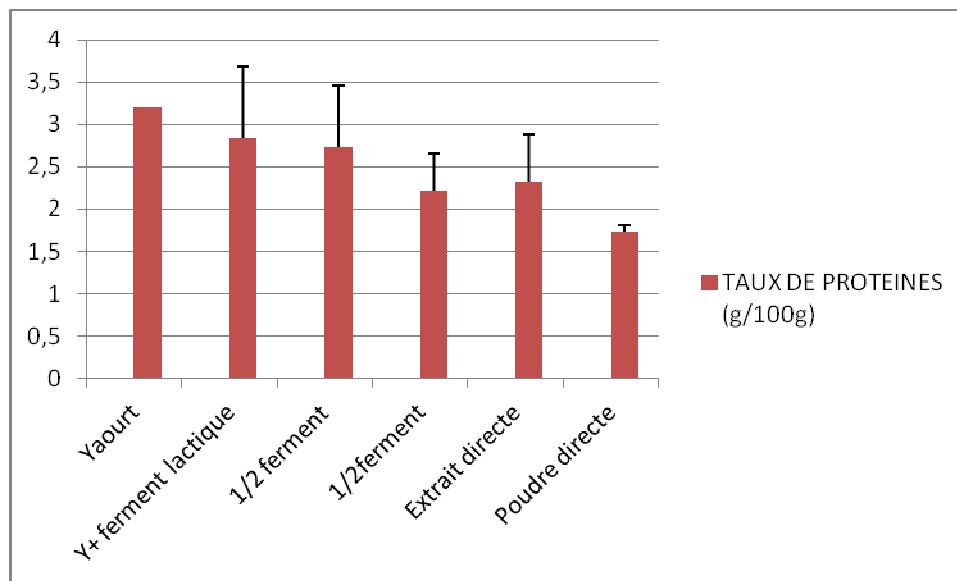


Figure 15 Taux d'acidité des yaourts obtenus.

### II.3. Teneurs en protéines

Les teneurs en protéines obtenues dans les yaourts fabriqués sont un peu inférieures à celles trouvées dans le yaourt commercialisé, ceci est peut être du à la quantité de lait enrichi .

Pour ce qui est du taux de protéines ,celui du yaourt additionné de poudre des feuilles de vigne est inférieur à ceux des autres yaourts (1,73) .Il est de 2,83, 2,73, 2,22, 2,32 pour y+ferment, Y+1/2 ferment/1/2 extraitde vigne, Y+1/2 ferment/1/2 poudre caillé de vigne et yaourt additionné d'extrait de nigne respéctivement.Ces données sont infériuers à celles trouvées par Ozer et *al.*,(1998) .



**Figure 16** Teneurs en protéines des yaourts obtenus selon LOWRY.

### II.4. Viscosité

Les comportements rhéologiques des yaourts ainsi fabriqués sont représentés par les courbes d'écoulements illustrés (Fig. 16). Pour l'ensemble des yaourts, la viscosité diminue avec l'augmentatio de la vitesse de cisaillement montrant ainsi un écoulement non Newtonien.

Cette variation de la viscosité peut s'expliquer par les réarrangements protéique qui ont lieu ou les interactions -protéines-protéines sont favorisées par les liaisons de faibles énergies (hydrogène, hydrophobes, Van Der Walls....), ce qui conduit à une augmentation de la viscosité au cours du temps (Abu- JDAYIL, 2002).De ce fait, ce réseau de gel est d'autant plus important que la proportion de protéines dans le yaourt.

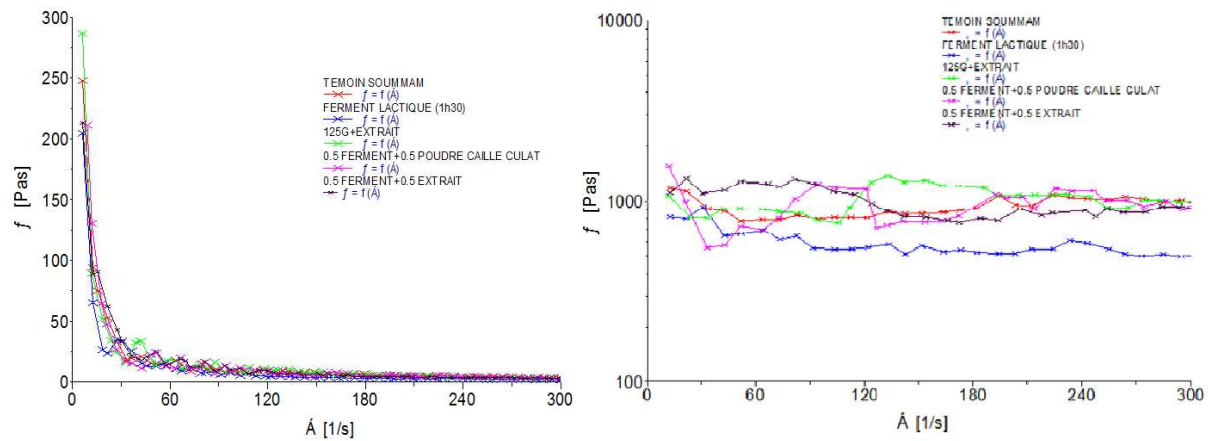


Figure 17 Résultats de la viscosité des yaourts obtenus.

### III. Résultats des analyses microbiologiques des produits finis

Les résultats des analyses microbiologiques de produit fini sont illustrés dans le tableau suivant :

Tableau XI Résultats des analyses microbiologiques des produits à btenus.

Yaourt Germe recherches	Y commercialise	Y+ ferment lactique	1/2 ferment 1/2extrait caillé des feuilles de vigne	1/2ferment 1/2poudre caillée des feuilles de vigne	Extrait directe des feuilles de vigne	Poudre directe des feuilles de vigne	Noemes de J.O.R.A (UFC/ml)
Coliformes totaux	Abs	Abs	abs	Abs	abs	abs	10
Coliformes Fécaux	Abs	Abs	abs	Abs	abs	abs	1
<i>Staphylococcus Aureus</i>	Abs	Abs	abs	Abs	abs	abs	10
salmonnelles	Abs	Abs	abs	Abs	abs	abs	0
Levures	Abs	Abs	abs	Abs	abs	abs	<10 <sup>2</sup>
moisissures	Abs	Abs	abs	Abs	abs	abs	Abs

#### III.1. Les résultats concernant les germes pathogènes :

Le tableau n°10, traduit une conformité aux normes exigées par J.O.R.A, l'absence de germes pathogènes à savoir *Staphylococcus aureus* et salmonnelles ainsi que les bactéries indicatrices de contamination fécales. Nous avons noté aussi l'absence de levures et moisissures.

Ces résultats reflètent les bonnes conditions d'hygiène et une bonne qualité hygiénique de produit fini.

*Conclusion*

**Conclusion :**

L'objectif initial de ce travail est d'effectuer des essais d'élaboration d'un yaourt fonctionnel à base d'une mixture de prébiotique et de probiotique afin de chercher les plantes capables de fermenter le lait, de réagir avec les ferments lactiques, tout en améliorant les caractéristiques organoleptiques du produit.

Cette étude s'est focalisée à l'expérimentation de trois plantes à savoir : la peau de banane, les feuilles de vignes et *Pulicaria odora*, de tester leurs aptitudes à coaguler le lait seules ou en les associant avec les ferments lactiques.

Les résultats de l'évaluation des paramètres physico-chimiques effectués sur ces trois prébiotiques indiquent des pH différents et varient respectivement de 4,6 -5 et 6,3 pour les extraits de feuilles de vignes, peau de banane et la *Pulicaria odora*. Comme elles contiennent des teneurs en polyphénols obtenus par extrait éthanolique proches et varient de 170 à 200 (mgEAG/gMS) ce qui démontrent qu'elles sont riches en antioxydant et suscitent un intérêt grandissant quant à la substitution des antioxydants de synthèse par des extraits naturels des plantes dans les produits alimentaires.

A l'issue des différents essais de coagulation à base de mélange d'extraits de prébiotique étudiés, nous avons constaté que le pH d'extrait de feuilles de vigne (pH=4,3) est nettement inférieur à celui de la pelure de banane (pH=5) et celui de *Pulicaria odora* (pH=6,3).

De ce fait, le pré-biotique distingué pour la formulation du yaourt, en le mixant avec le pro-biotique, est celui qui est à base des feuilles de vigne.

Des résultats physico chimies des produits obtenus (yaourt), ont été presque proches des standards, à part la teneur en protéines présente la faible valeur.

Du point de vue rhéologique, les yaourts obtenus peuvent être considérés comme des fluides rhéofluidifiants.

Et en outre, les résultats des analyses microbiologiques attestent que les produits obtenus sont sains.

Au terme de ce travail, il ressort qu'il est possible de valoriser les feuilles de vigne pour l'utiliser comme pré-biotique nécessaire à l'obtention d'un yaourt enrichi en polyphénols et est doté d'un pouvoir antioxydant intéressant faisant de lui, un aliment bénéfique pour l'organisme et donc fonctionnel.

Références bibliographiques :

- **ABU- JDAYIL B, and MOHAMEED H.**, 2002. Experimental and modeling studies of the flow properties of concentrated yogurt as affected by the storage time .Journal of food Engineering, 52,359-365.
- **AFNOR**, (1986). Norme Française de la normalisation.
- **ALAIS C.** (1984) Science du lait SPAIC.4<sup>ème</sup> édition paris.
- **Ali,M; Bhutani, KK and Atal, CK.** *Chemical Constituents of Banana.* Journal of Scientific & Industrial Research 1984, 43: 316-323. 97.
- **Amellal, H.,Benamara, S., Halladj, F., Chibane, M.**, (2012). Characteristics and acceptance of yogurt containing pomegranate (*Punica granatum*) peel powder. *Archives Des Sciences Vol 65, No. 11 ; Pp 289-300.*
- **Avril, J, I.**, 1991.Dictionnaire pratique de bactériologie clinique,Ed.marketing.
- **Avril., J.I.**, 1991.Dictionnaire pratique de bactériologie clinique,Ed.marketing.
- **Barret A.J., Rawlilgs N .D. Woessles J. F.** ,1998.Handbook of proteolytic enzyme, Academic Press, Londres, 1666p.
- **Beal Catherine, Sodini I.**,Fabrication des yaourts et des laits fermentés .F6315V1.2003).
- **Benahmed Djilalli Adiba** ,2015. **BENAHMED-DJILALI A.** (2012). Analyse des aptitudes technologiques de poudre de dattes (*Phoenix-dactylifera.l*) améliorées par la spiruline. Etude des propriétés rhéologiques, nutritionnelles et antibactérienne. Thèse de doctorat en génie des procédés. Université M'hamed Bougara, Boumerdes.
- **Bougeois,C.M., et Leveau,J.Y.**, 1991. Techniques d'analyses et de control les industries agro-alimentaire. VOLUME 3. 2<sup>ème</sup> édition. Technique et documentation .Lavoisier.
- **Bougeois,C.M.,et Mescle,F.M.**,1988.Microbiologie alimentaire,aspect microbiologique de la securité et de la
- **Bourgeois ,C.M.,Mescle ,F.,Zucca,J.**, 1996.Microbiologie alimentaire.TomeI :Aspet microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments .Ed.Tech et Doc-Lavoisier,paris,650p.
- **Bourgeois, C.**, 2003. Les vitamines dans les industries agroalimentaires. Ed. Tech et Doc- Lavoisier, Paris, 483p.
- **Bourgeois, C.M., Mescle, J.F., Zucca, J.**, 1996. Microbiologie alimentaire. Tome I : Aspect microbiologie de la sécurité et de la qualité des aliments. Ed .Tech et Doc-Lavoisier, Paris, 650p.
- **Bosgiraud.**, (2003). In Etude d'un extrait coagulant de fleurs de cardon (*Cynara Cardunculus L*) comme succédané de présure : Bouraoud D et Hakim K.2003-2004.
- **Carole L. Vignola.**, 2002. Science et technologie du lait. Edit. Fondation de technologie laitière du Québec Inc, 599p.
- **Carole., Vignola**, Science et technologie du lait Transformation du lait, Fondation de technologie Laitière du Québec inc., Presses Internationals Polytechniques, 2<sup>ème</sup> Edition, (2010).
- **Casalis.**, (1975). Facteurs technologiques influençant la consistance, l'arôme et le gout. Revue : Industries alimentaires et agricoles n°11, pp, 125361962.
- **CECCHINATO A, PENASA M, CIPOLAT GOTET C, DE MARCHI M, BITANTE G.**, 2012. Short communication : Factors affecting coagulation properties of Mediterranean buffalo milk. J. Dairy Sci. ,95: 1709-1713.

- **CHALAH K.** (2012). Influence de l'ajout des polymères (PAC, HEC) et de la température sur le comportement rhéologique et les propriétés électrocinétiques des fluides des forages à base d'eau. Mémoire de magistère en sciences et génie des matériaux. Université de M'hamed Bougara, Boumerdes.
- **CLAVERIE -MARTIN F., HERANDEZ M .C .** ,2007. Aspartic proteases used in cheese making *in* POLAINA J. et MACCABE A. P., industrial enzyme, pp : 207-219.
- **Croux M.** (1973).Etude des composants de la flaveur du yaourt. Le lait n°523-524, pp146-150.
- **DALGLEISH D.G., et CORREDIG M,** 2012. The structure of the casein micelle of milk and its changes during processing .Annu . Rev. Food Sci. Technol. ; 3:449-467.
- **Daniells J.W.et al.,** (2001).Musalogue: a catalogue of *Musa Germplasm*.Diversity in the genus *Musa*.Montpellier,France: INIBAP.
- **De Marigny, Y., Juillard V. Deschamps, N. et Richard,J.** (1994).Comparaison sur le plan pratique de 3 models de la cinétique d'abaissement du pH du lait cultivé par *Lactococcus Lactis*. Le lait, 74:23-32.
- **De Roissart H., et Luquet F.M.,** (1994).Bactéries lactiques : Volume 2.Edition SAINT GEORGE : LORICA.
- **ECK A ., GILIS J.,** 1997.Le fromage : de la science à l'assurance qualité .Ed.Tec et Doc, Lavoisier, Paris, pp : 7-39.
- **Galet P** (1991), Précis d'ampélographie pratique, Montpellier-France. 256p.
- **Galet P** (2000).Précis de viticulture, Montpellier-France.602p.
- **Gelais-st ; D., TIRARD-C.P.BELONGER G., COUTURE R.et DRAPEAU R.** (2002).Chapitre 6 : Fromage .pp3496412. Science et Technologie du lait, transformation du lait .coord.VIGNOLA.Edition école polytechnique.600p.
- **Guirand, J. et Galzy, p.** (1988). L'analyse microbiologique dans les industries amlimentaire, Ed, l'usine nouvelle ,70-72.
- **Hermier,J., Accola, J.P., et Desmazeaud,M.,**(1996).Les yaourts et les laits fermentés. In Microbiologie alimentaire. Aliments fermentés et fermentation alimentaires. Ed2. Tec et Doc. Lavoisier-Paris .2:310-317.
- **Hussein S.R., Marzouk M.M., Soltan M.M., Ahmed E.K., Said M.M., Hamed A.R.,** (2017) Phenolic constituents of *Pulicaria undulata* (L) C.A. Mey. Sub SP. Undulata (Asteraceae): Antioxidant protective effets and chemosystematic significances. *Journal of food and drug Analysis*, 25: 333-339.
- **Jimoh, K.O.et Kalpa, A.L.** (2007).Effect of different stabilizers on acceptability and shelf -stability of soy-yogurt. *African Journal of Biotechnology*, Vol.6(8), 1000-1003.
- **J.O.R.A.N°69,1993.**Arrêté interministériel du 18aout 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation, pp : 16-20.
- **Imhof, R., Glättli, H., BOSSEt.J.O.** (1994).Volatile organic aroma compound produced by thermophilic and mesophilic mixed starain dairy starter cultures. *Lebensmittel Wissenschoft und Technologie*, 27,442-449
- **Joffin,Christaine**(1999).Microbiologie alimentaire.Ed: dictionnaire des tec .132-139p.
- **Koksoy, A., Kilic,M.**(2004).Use of hydrocolloids in textural stabilization of a yogurt drink, ayran. *Food Hyhydrocoloids*, 18,593-600.
- **Lamontagne M.** (2002). produits laitiers férmentés : In Science et technologie du lait, (Vignola C.L.). 2<sup>ème</sup> Edition, Lavoisier, Paris, France.
- **Raikos, V., Mc Donagh, A., Ranawana, V., Duthi, G.** (2016). Processed beetroot (*Betavulgaris L*) asa natural antioxidant in mayonnaise : Effects on physical stability, texture and sensory attributes. *Science Direct*. Pp 8.

- **Ramet J.P.**, 1985. La fromagerie et les variétés du bassin méditerranées .187p.
- **RAMET J.P.**, 1997. Les agents de transformation du lait in *Le fromage*, 3<sup>ème</sup> édition, Tec & Doc. Paris, pp : 165-172
- **Ramet J.P. et Scher J.**, (1997). Partie 2, la préparation du caillé .Chapitre 7 : propriétés physiques du coagulum. Dans *le fromage* coord : ECK A., et GILLIS J. C .3<sup>ème</sup> édition Tec et Doc Lavoisier, Paris. pp. 324- 333, 875p.
- **Sechet**, (2000). Les bases de la technologie laitière (connaissance du lait). Ed Inilia, p1-23.
- **Simmouds N.**, (1962). The evolution of the bananas ; New York, USA : John Willey & Sons Ins.
- **Singleton, V .L. , Orthofer, R ., Lamuela-Raventos, R .M.**(1999) . Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299 ,152-178.
- **Tamime A. Y. et Robinson R. K**, *Yogurt science and technology*, 2<sup>ème</sup> Edition, 1999.
- **Tamime A.Y. and Deeth H.C.** *Yogurt : technology and biochemistry*. *Journal of Food Protection*, 43, 12, 939-977.
- **Tejada L., Abellan A., Cayuela J., Martinez-Cacha A., Fernandez Salguero J.**, (2008). Proteolysis in goats milk cheese made with calf rennet and plant coagulant. *International Dairy Journal*, 18, 139-146.
- **Trémolière, Y.S., Jacquat, R., et Depin, H.**, 1984. *Manuel d'alimentation humaine*. Edition ESF. Tome 2 : PP176-185.
- **VEISSEYRE P.** (1975). *Technologie du lait* 3<sup>ème</sup> édition. La maison rustique. Paris, p 699.
- **VIGNOLA C.L.** (2002). *Science et technologie du lait*. Tec et Doc., Lavoisier, Paris
- **Vrignaud, Y.**,( 1982). Les ferments lactiques dans les industries alimentaires, I.A.A, n°3, pp, 147-160.



*Annexes*

Annexe 1 : Appareillage, petit matériel, réactifs et milieux de culture :

Tableau n° I : Présentation des appareils et matériels utilisés pour les différentes analyses.

Appareillages	Petit matériel
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agitateur magnétique</li> <li>• Autoclave</li> <li>• Balance analytique</li> <li>• Balance de précision</li> <li>• Bain marie</li> <li>• Bec bunsen</li> <li>• Broyeur électrique</li> <li>• Dessiccateur</li> <li>• Etuve</li> <li>• PH -mètre</li> <li>• Pied à coulisse</li> <li>• Plaque chauffante</li> <li>• thermomètre</li> <li>• Spectrophotomètre UV</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Anse de platine</li> <li>• Baguette en verre</li> <li>• Barreaux magnétiques</li> <li>• Burettes graduées</li> <li>• Boites de pétri</li> <li>• Capsules en verre</li> <li>• Creusets en porcelaine</li> <li>• Epruvettes graduées</li> <li>• Erlen Meyer</li> <li>• Fioles coniques</li> <li>• Flacons (250ml)</li> <li>• Mortier pilon</li> <li>• Papiers filtres</li> <li>• Pipettes graduées</li> <li>• Pipettes pasteurs</li> <li>• Prélèveur</li> <li>• portoirs</li> <li>• Spatule</li> <li>• Tubes à essais</li> <li>• entonnoirs</li> <li>• Béchers</li> <li>• micropipettes</li> </ul>

Tableau n° II Listes des réactifs et milieux de cultures.

Réactifs	Milieux de cultures
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Eau distillée</li> <li>• BSA</li> <li>• Carbonate de sodium anhydre</li> <li>• FOLIN et CIOCALTEU</li> <li>• Hydroxyde de sodium(NAOH)</li> <li>• Sulfate de cuivre</li> <li>• Tartrate double de sodium et de potassium</li> <li>• Soude</li> <li>• Phénophtaléine</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bouillon d'eau péptonnée tamponnée</li> <li>• Baird parker</li> <li>• Héctoén</li> <li>• Sabouraud au chloramphenicol</li> <li>• TSE</li> <li>• VRBL</li> <li>• G.C</li> <li>• SFB</li> </ul>

ANEXE 2 : Analyses concernant les poudres et extraits :

Détermination de EST :

Mode opératoire :

- dans une capsule séchée, introduire 3g de l'échantillon à analyser.
- Laisser à l'étuve pendant 3heures à une température = $103\pm 2^{\circ}\text{C}$  jusqu'à obtenir un poids constant.
- Faire sortir l'échantillon et l'introduire dans un dessiccateur jusqu'à refroidissement puis effectuer la pesé .

Expression des résultats :

La teneur en eau est déterminée selon la formule suivante:

$$\text{EST}\% = \frac{M1 - M2}{M0} \cdot 100.$$

M1:masse de la capsule +matière sèche après etuvage(g) .

M2: masse de la capsule vide(g) .

M0: masse de la prise d'essai(g).

Dosage des poly phénols totaux :

mode opératoire:

peser 200g d'acide galique;

les dissoudre dans 100ml d'éthanol, soit une solution ( $S_1$ )avec une concentration de 2mg/l

faire des dilutions

prélever 5ml de la solution mère puis ajouter 5ml d'eau distillée ;

prélever 0,5ml de chaque dilution;

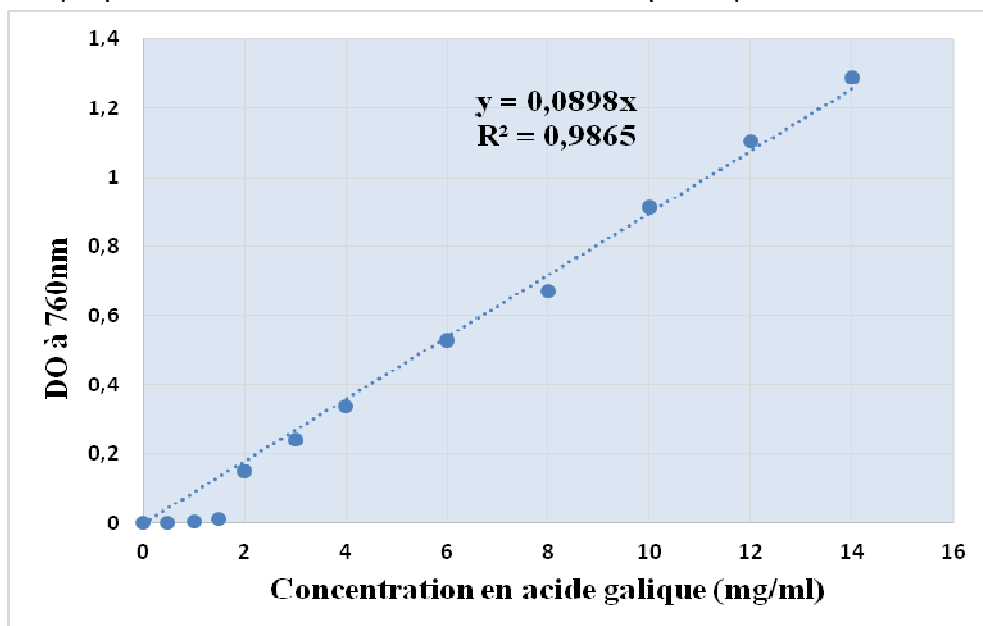
ajouter 5ml d'eau distillée;

ajouter 0,5ml de reactif de folin Ciocaltu's;

après 3mn ajouter 0,5ml de carbonate de sodium à 20%;

laisser incuber une heure à température ambiante et à l'abri de la lumière.

La densité optique de chacune est obtenue à l'aide d'un spectrophotomètre à 760nm.



Les analyses du yaourt (produit fini) :

ANNEXE 3 : mesure du pH :

mode opératoire :

Homogénéiser une quantité de yaourt dans un bécher

Imprégner l'électrode d'une façon à ce qu'il soit immergé dans la solution.

Effectuer la lecture directement sur le PH -mètre.

ANNEXES 4 : Détermination de l'acidité titrable :

solution :

Solution de phénolphtaléine à 1 :

Phénolphtaléine.....1g.

Ethanol 95° .....100ml.

Solution de soude à N/9 :

NaOH N/9.....2,22g.

Eau distillée .....500ml.

Mode opératoire :

Dans un bécher, introduire 10ml du yaourt.

Ajouter quatre gouttes de phénolphtaléine (solution à 1%).

-Titrer par la solution d'hydroxyde de sodium (N/9) jusqu'au début de virage à la rose pale.

On considère que le virage est atteint lorsque la coloration persiste une dizaine de secondes.

Expression des résultats :

L'acidité exprimée en degré Dornic est donnée par la relation suivante :

$$\text{Acidité} = V \cdot 10.$$

V : Chute de burette ou volume de soude.

NB : (0,1ml de NaOH (N/9) correspond à 1mg d'acide lactique soit 0,1g/l.

ANNEXE 5 : Dosage des protéines par la méthode de LOWRY :

Solution mère BSA (100µ/ml) :

BSA.....1mg.

Eau distillée .....10ml.

Gamme étalon :

A partir de la solution de BSA, des dilutions sont préparées suivant le tableau 1. La densité optique de chacune est obtenue à l'aide d'un spectrophotomètre à 750nm.

Tableau n° III : Concentrations et densités optiques des dilutions préparées.

Gamme étalon : A partir de la solution de BSA (0,1mg/ml), des dilutions sont préparées suivant le tableau ci-dessous

Tubes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Solution mère de BSA (ml)	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1
Eau distillée (ml)	1	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	0
Concentration en BSA (mg/ml)	0	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09	0,1
DO à 750nm	0	0,007	0,04	0,078	0,082	0,114	0,256	0,176	0,285	0,273	0,200

Mode opératoire :

- 0,2ml d'échantillon contenant 100µg de protéines au maximum et
- Ajouter 1ml de la solution C et mélanger ;
- Laisser 10mn à température ambiante ;
- A ajouter 0,1 ml de réactif D ;
- laisser 30mn à l'obscurité ;
- Lire les densités optiques à 750nm.

Expression des résultats :

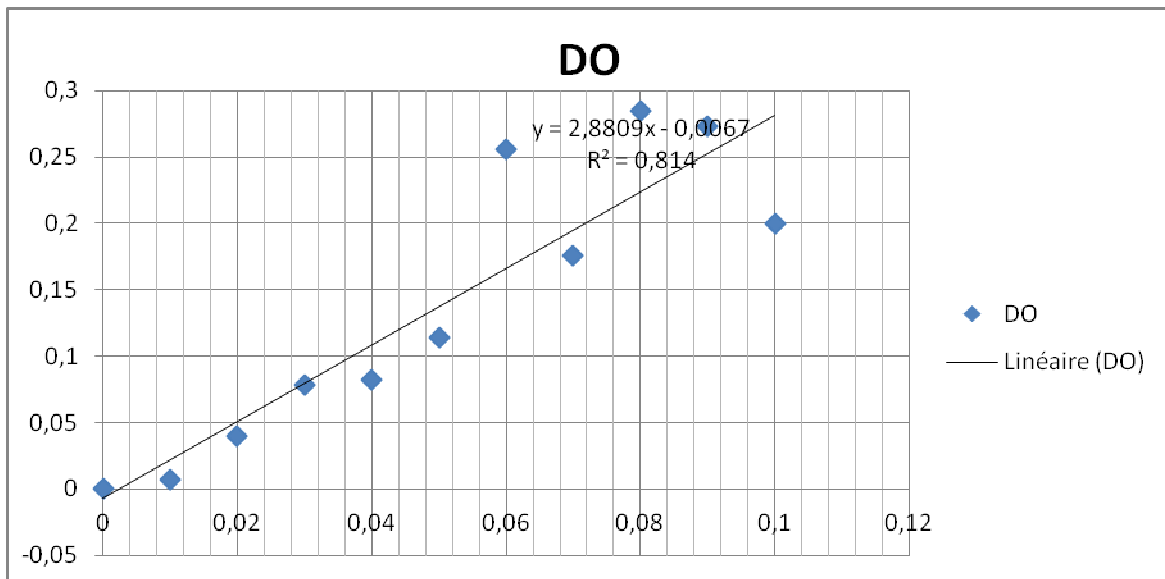


Figure n°18 : courbe étalon du dosage des protéines par la méthode de Lowry et al(1951)

L'albumine sérique bovine (BSA) est utilisée comme protéine R=coefficient de corrélation. Une courbe étalon est tracée en portant sur l'axe des abscisses, les concentrations en BSA des dilutions (gamme étalon) préalablement préparées et sur l'axe des ordonnées, les DO mesurées respectivement pour chaque dilution.

La concentration de la protéine X est déterminée en portant la valeur de la DO mesurée sur l'axe des ordonnées qui est ensuite projeté sur l'axe des abscisses.

Annexe 6 : Détermination de la viscosité :

Mode opératoire : régler à zéro à l'aide de la molette, vérifier l'horizontalité à l'aide de la bulle (au centre puis on règle la vitesse).le produit doit avoir une température homogène

10°C(j+1) après on place le module propre et sec .après avoir mis en route le viscosimètre et sélectionne le programme voulu , on fait descendre le module dans le produit jusqu'au repère situé au dessus de disque puis on fait démarrer le programme de mesure .on laisse tourner le module pendant 45 secondes .

Lecture et expression des résultats :

Lecture (viscosimètre)\*facteur : viscosité au centpoise, ou milli pascal par seconde.

Annexe 7 : Dosage des poly phénols totaux

Analyses microbiologiques :

Annexe 8 : Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux :

Milieu de culture : milieu VRBL

Mode opératoire :

Les dilutions décimales : 10, 10, 10 sont portées respectivement à l'aide d'une pipette pasteur en deux séries de boîtes de pétri (Beeren et Luquet, 1987) ;

On fait couler une couche de VRBL, puis on fait un mouvement circulaire de va et Vient en forme de 8 et on laisse solidifier ;

Incubation : Incubation des boîtes\_pétrées "couvercle en bas" se fait en deux séries :

La première incubation : les boîtes de pétri sont incubées pendant 24heures ±2heures à 37°C, et ce afin de dénombrer les coliformes totaux (Beeren et Luquet, 1987) ;

La deuxième incubation : les boîtes de pétri sont incubées pendant 24heures à 44°C, ceci a pour but de dénombrer les coliformes fécaux (Beeren et Luquet, 1987) ;

La lecture : les coliformes apparaissent en masse sous forme de petites colonies rouges fluorescentes d'un diamètre de 0,5 mm.

Interprétation : Le dénombrement des colonies fluorescentes est basé sur la dilution et la température utilisée.

Seul les boîtes de pétri renfermant un nombre de colonies compris entre 30 et 150 sont retenus.

Multiplier le nombre de colonies trouvé par l'inverse de la dilution pour trouver le nombre en germe par millilitre ou par milligramme.

Annexe 9 : Recherche et dénombrement des staphylocoques :

Milieu de culture : Tillurite de potassium, milieu Gioliti cantoni.

mode opératoire :

Prélèvement de 0,1 ml à partir de la dilution 10<sup>-1</sup> à l'aide d'une pipette graduée stérile ;  
ensemencement sur le milieu de culture Baird Parker à l'aide d'un rateau

Mise à l'étuve à 37°C pendant 48heures

la lecture de boîte de pétri

Annexe 10 : Recherche et dénombrement des salmonelles :

Milieu de culture : Bouillon d'eau pitonnée tamponnée, milieu sélectif Héktoéne +additif, milieu TSI.

mode opératoire :

a. pré enrichissement :

On introduit aseptiquement 25g de yaourt dans 225ml d'eau pitonnée tamponnée,  
Le flacon à visse stérile est incubée à 37°C pendant 24h ;

**b. Enrichissement :**

On prend 10ml de pré enrichissement sur un tube contenant 100ml du bouillon Sélénite et qui sera incubé à 37°C pendant 24h ;(norme ISO 6579).

Prélèvement de 0,1ml du bouillon Sélénite à l'aide d'une pipette graduée stérile.

Ensemencement sur le milieu SS à l'aide d'un rateau.

Mise à l'etuve à 37°C pendant 24h à 48h.

Le flacon de résultat positif fera l'objet d'un isolement en série sur milieu gélose Hektoen (milieu préalablement couler en boite de pétri à raison de 15à 18ml puis séché à l'aide d'une anse à platine).

Lecture des boites et identification :

Les salmonelles se présentent sous forme de colonies souvent gris bleu à centre noir sur gélose Hektoen.

Annexe 11 : Recherche et dénombrement des levures et moisissures :

Milieu de culture : milieu sabouraud