

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de MOULOU D MAMMERI de Tizi-Ouzou



Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de Biochimie et de Microbiologie



Mémoire de fin d'études

*En vue de l'obtention du diplôme de master en Sciences Biologiques
Option : Microbiologie Appliquée*

Thème

**Essai d'élaboration d'un yaourt fonctionnel à
base de *Pulicaria odora* et de plaquemine**

Présenté par:

M^{elle} BENDOU NAZIHA

Encadré par :

M^{elle} BENAHEMD DJILALI Adiba

Maître de Conférences A (U.M.M.T.O)

Devant le jury:

M^{me} HELLAL Zohra (Présidente)

Maître assistante A (U.M.M.T.O)

M^{elle} ASMANI Katia (Examinatrice)

Maître de conférences B (U.M.M.T.O)

Soutenu le : 26. 09. 2018

Année Universitaire : 2017/2018

REMERCIEMENTS

Le grand merci s'adresse au Bon Dieu le tout puissant, de nous avoir donné la force et la patience et qui nous a guidé et éclairé notre chemin pour la réalisation de notre mémoire de fin d'étude.

Au terme de ce modeste travail, nous tenons à présenter nos remerciements les plus sincères particulièrement à M^{elle} BENAHMED DJELLALI Adiba. Maître de conférences A à l'Université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou pour d'une part, son accord a nous encadré et le fait de nous proposé un sujet aussi passionnant et sa présence permanente, d'autre part.

Nous tenons à exprimer nos remerciements les plus sincères à M^{me} HELLAL Zohra. Maître assistante A (UMMTO), pour nous avoir fait l'honneur de présider notre jury.

On tient également à remercier M^{elle} ASMANI Katia. Maître de conférences B (UMMTO), pour avoir accepté de faire partie des membres du jury.

Les directions des Universitaires de Boumerdès Mr BELMOULAH, Directeur de l'unité de recherches.

L'ensemble du personnel de laboratoire physicochimique et microbiologie du l'UMMTO ainsi que laboratoire de la Rhéologie de l'Université de Boumèrdès pour leurs aides.

L'ensemble des enseignants ayant contribué à notre formation durant notre cycle d'étude, sans oublier tout le personnel de la bibliothèque, pour leurs aides.

Enfin nos remerciements s'adressent plus particulièrement à nos familles et nos amis(es) qui ont su nous soutenir, nous encourager, nous aider et nous supporter tout au long des années.

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail à :

Mes très chers parents, qui m'ont soutenu tout au long de ces années, avec leurs affections et leurs amours, et que dieu leurs offres une bonne santé et longue vie.

Mon frère : FAHED.

Mes sœurs : KAMILIA, MEISSA, LYDIA et son mari KARIM et ses enfants WAIL, EMILIA.

Mes chères grandes mères : FATMA, DAHIBA.

Ma chère HAKIMA.

Mes oncles et tantes ainsi que leurs familles.

Mes cousins et cousines.

Ma copine de chambre THIZIRI

Mes chers amis (es) : LYES, MOHAMMED, GHANIA, KENZA, HANANE, SEMINA, AHLAM, WASSILA, FATIMA.

A toute la promotion MA 2017-2018

NAZIFA



Sommaire

Sommaire

| | |
|------------------------|--|
| Résumé | |
| Liste des abréviations | |
| Liste des tableaux | |
| Liste des figures | |
| Introduction générale | |

Partie bibliographique

Chapitre I : Généralités sur *Pulicaria odora*

| | |
|--|---|
| I.1. Famille des <i>Asteraceae</i> | 3 |
| I.2. Genre <i>Pulicaria</i> | 3 |
| I.3. Espèce <i>pulicaria odora</i> | 3 |

Chapitre II : Généralités sur le yaourt

| | |
|---|----|
| II.1. Définition | 6 |
| II.2. Historique | 6 |
| II.3. Matières premières utilisées pour la production du yaourt | 6 |
| II.4. Comportement associatif des deux souches | 8 |
| II.5. Intérêts et fonctions des bactéries du yaourt | 9 |
| II.6. Types de yaourts | 10 |
| II.7. Technologie de fabrication du yaourt | 11 |
| II.8. Défauts de fabrication du yaourt | 14 |
| II.9. Intérêts thérapeutiques | 16 |

Partie expérimentale

Chapitre III : Matériel et méthodes

| | |
|--|----|
| III.1. Matériel | 18 |
| III.1.2. Matériel biologique | 18 |
| III.1.1. Matériel végétal | 18 |
| III.2. Méthodes | 18 |
| III.2.1. Séchage de la plante | 18 |
| III.2.2. Analyses physicochimiques | 19 |
| III.2.3. Activité antimicrobienne | 27 |

Sommaire

| | |
|---|----|
| III.2.4. Essai de préparation d'un yaourt fonctionnel aromatisé étuvé | 29 |
| III.2.5. Analyses physicochimiques de yaourts | 32 |
| III.2.6. Analyse sensorielle | 32 |
| III.2.7. Analyses statistiques | 32 |
| III.2.8. Mesure de la viscosité | 32 |
| III.2.9. Analyses microbiologiques | 33 |
| III.2.10. Test de stabilité | 35 |

Chapitre IV : Résultats et discussion

| | |
|--|----|
| IV.1. Résultats des analyses physicochimiques de la plante (<i>pulicaria odora</i>)..... | 36 |
| IV.2. Résultats de dosage des polyphénols totaux | 36 |
| IV.3. Résultats de dosage des flavonoïdes | 37 |
| IV.4. Résultats de l'activité antimicrobienne des extraits phénoliques et tanniques | 38 |
| IV.5. Résultats d'aspect des différents yaourts élaborés | 40 |
| IV.6. Résultats des analyses physicochimiques de yaourt | 40 |
| IV.7. Résultats d'analyses sensorielles des yaourts élaborés | 42 |
| IV.8. Résultats d'analyse statistique | 45 |
| IV.9. Résultats d'analyse de la viscosité | 51 |
| IV.10. Résultats d'analyse microbiologique | 52 |
| IV.11. Résultats de teste de stabilité..... | 52 |
| Conclusion et perspectives | |
| Référence bibliographiques | |
| Annexes | |

Résumé :

L'objectif du présent travail est l'élaboration d'un produit laitier nouveau de type fonctionnel à base des poudres des feuilles de *Pulicaria odora* et de plaquemine (*Diospyros kaki*).

Pulicaria odora est une plante médicinale appartenant à la famille des Astéracée, cette espèce connue sous le nom de «Amzogh Ghilaf» dans la région de Kabylie, est une plante d'intérêt nutritionnel et médicinal décrit pour sa richesse en métabolites secondaires (Composés phénoliques, Tannins...Etc.). De même le Kaki apportent la totalité des besoins quotidiens), magnésium, pectine, phénols pour prévention contre les maladies cardiovasculaires, tanins (responsables de son astringence et de son goût âpre et astringent quand il est insuffisamment mûr) et pigments (carotène, lycopène, xanthine).

Les principaux résultats montrent que les feuilles de cette plante sont riches en polyphénols totaux et en flavonoïdes. L'extrait éthanoïque présente les teneurs les plus élevées en ces composés ($170,909 \pm 0,091$ mg EAG/gMS ; $0,305 \pm 0,003$ mg EQ/gMS) respectivement.

Par ailleurs, l'activité antimicrobienne a permis d'affirmer que l'extrait phénolique et l'extrait tannique de cette plante présentent un spectre large d'action sur les microorganismes pathogènes (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Escherichia coli* ATCC 25322), ainsi que une activité fongicide.

Les résultats des analyses physico-chimiques, organoleptiques et microbiologiques montrent que le yaourt préparé à base de plaquemine est choisi comme un meilleur yaourt parmi les quatre yaourts dégustés. Il répond aux critères des yaourts fonctionnels.

Mots clés : *Diospyros kaki*, flavonoïdes, polyphénols totaux, *Pulicaria odora*, yaourt fonctionnel.

Abstract :

The objective of the present work is the elaboration of a new dairy product of functional type based on the powders of leaves of *Pulicaria odora* and of plaquemine (*Diospyros kaki*).

Pulicaria odora is a medicinal plant belonging to the family Asteraceae, this species known under the name "Amzogh Ghilaf" In the Kabyle region, is a plant of nutritional and medicinal interest described for its wealth in secondary metabolites (Phenolic compounds, Tannins ... etc.). In the same way Khaki bring the totality of the daily needs), magnesium, pectin, phenols (prevention against the cardiovascular diseases), tannins (responsible for its astringency and its tart and astringent when it is insufficiently ripe) and pigments (carotene, lycopene , xanthine).

The main results show that the leaves of this plant are rich in PPT and flavonoids. The ethanoid extract exhibited the highest levels of these compounds (170.909 ± 0.091 mg EAG / gMS, 0.305 ± 0.003 mg EQ / gMS) respectively.

In addition, the antimicrobial activity has shown that the phenolic extract and the tannic extract of this plant have a broad spectrum of action on pathogenic microorganisms (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Escherichia coli* ATCC 25322), as well as they have a fungicidal activity against *Candida albicans*.

The result of the physicochemical, organoleptic and microbiological analyzes show that the yoghurt prepared with plaquemine is chosen as a better yogurt among the four yogurts tasted. It meets the criteria of functional yogurts.

Key words: *Diospyros kaki*, flavonoids, total polyphenols, *Pulicaria odora*, functional yoghurt.

ملخص

الهدف من هذا العمل هو تطوير منتج غذائي وظيفي جديد يعتمد على مسحوق أوراق نبات *Pulicaria odorata* و (*Diospyros kaki*) *plaquemine*.

Pulicaria odora هو نبات طبي ينتمي لعائلة *Asteraceae* ، هذه الأنواع المعروفة تحت اسم "Amzogh Ghilaf" في منطقة القبائل ، عبارة عن نبات ذو أهمية غذائية موصوفة لثروتها في المركبات الثانوية (المركبات الفينولية ، التانينات... الخ). بنفس الطريقة التي يحضر بها كاكي مجموع الاحتياجات اليومية ، المغنيسيوم ، البكتين ، الفينول (الوقاية من أمراض القلب والأوعية الدموية) ، التانينات (المسؤولة عن الأوعية القشرية وحامضتها وقابضتها عندما تكون غير ناضجة بما فيه الكفاية) والأصبغ (كاروتين ، الليكوبين الزانثين).

في البداية ، تم إجراء توصيف فيزيوكيميائي للمصنع. تم تحديد محتوى المركبات الفينولية باستخدام كاشف Folin-Ciocalteu ، فمن 0.091 ± 170.909 mg EAG / gMS لمستخلص الإيثانول بالمقارنة 0.003 ± 0.305 mg EQ / gMS.

بالإضافة إلى ذلك ، أظهر النشاط المضاد للميكروبات أن مستخلص الفينول ومستخلص مسحوق التانيك لهما طيف واسع من الكائنات الحية الدقيقة المسببة للأمراض (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 و *Escherichia coli* ATCC 25322) ، بالإضافة إلى لديهم نشاط فطريات ضد المبيضات البيض.

تظهر نتائج التحليل الميكروبيولوجي للزبادي الأربعة بوضوح التزامها التام بالمعايير ، التي تؤكد الجودة الميكروبيولوجية الجيدة للمواد الخام. بالإضافة إلى ذلك ، تم إجراء اختبار تذوق للحصول على تقدير أفضل للمنتجات التي تم الحصول عليها بفضل المتذوقين ، والتي سمحت بتسليط الضوء على الترتيب المرجعي. فضلا عن النتائج في تجربتنا تخضع لتحليل 1- اتجاه التباين لجميع المعلمات اختبار الحسية من عينات الزبادي لدينا.

الكلمات المفتاحية: *Pulicaria odora* / أوراق / مسحوق ، *Diospyros kaki* ، البوليفينول الكلي ، الفلافونويد ، والأنشطة المضادة للميكروبات ، والتحليلات الميكروبيولوجية ، والتحليلات الحسية والتحليلات الإحصائية للزبادي المصنوع.

Liste des abréviations

AC : Acide gallique.

AFNOR : Association Française de la Normalisation.

ATCC: American Type Culture Collection.

EAG : Equivalent d'acide gallique.

ED : Eau distillée.

EQ : Equivalent de quercétine.

MH : Muller-Hinton.

GC : Giolitti Cantoni.

PCA : Plate Count Agar.

PPT : Polyphénols totaux.

SM : Solution Mère.

SS : Salmonella- Shigella.

VRBL : Lactose Biliée au Cristal Violet et au Rouge neutre.

Liste des figures

| Numéro des figures | Titre des figures | Pages |
|--------------------|---|-----------|
| Figure 1 | Aspect de <i>pulicaria odora</i> . | 4 |
| Figure 2 | Interactions de <i>streptococcus thermophilus</i> et <i>lactobacillus bulgaricus</i> . | 8 |
| Figure 3 | Diagramme de fabrication du yaourt. | 13 |
| Figure 4 | Etapas respectées pour obtenir la poudre de <i>Puicaria odora</i> . | 19 |
| Figure 5 | Diagramme du dosage des PPT. | 26 |
| Figure 6 | Etapas de dosage des flavonoïdes. | 27 |
| Figure 7 | Etapas de préparation et de stérilisation des extraits aqueux de <i>P.odora</i> et de <i>D.kaki</i> . | 30 |
| Figure 8 | Diagramme de préparation de yaourt aromatisé étuvé. | 31 |
| Figure 9 | Aspect des différents yaourts élaborés. | 40 |
| Figure 10 | Aspect des 4 meilleures formulations. | 42 |
| Figure 11 | Résultats de dégustation du point de vue texture. | 42 |
| Figure 12 | Résultats du goût des formulations. | 43 |
| Figure 13 | Résultats de dégustation du point de vue odeur. | 44 |
| Figure 14 | Résultats de dégustation du point de vue couleur. | 45 |
| Figure 15 | Valeurs moyennes de la texture des yaourts. | 46 |
| Figure 16 | Valeurs moyennes de goût des yaourts. | 47 |
| Figure 17 | Valeurs moyennes de l'odeur des yaourts. | 49 |
| Figure 18 | Valeurs moyennes de la couleur des yaourts. | 50 |
| Figure 19 | Variation de la viscosité des yaourts en fonction du taux de cisaillement. | 51 |
| Figure 20 | Evolution de pH en fonction de temps durant 21 jours pour les yaourts élaborés. | 52 |
| Figure 21 | Evolution de l'acidité titrable en fonction de temps durant 21 jours pour les yaourts élaborés. | 53 |
| Figure 22 | Aspect de yaourt aromatisé étuvé produit à base de la poudre de plante (<i>P.odora</i>) et l'extrait de plaquemine (<i>D.kaki</i>). | 54 |

Liste des tableaux

| Numéro des tableaux | Titre des tableaux | Pages |
|----------------------|---|-----------|
| Tableau I | Classification de <i>Pulicaria odora</i> . | 5 |
| Tableau II | Types et caractéristiques des différents types de yaourts. | 10 |
| Tableau III | Principaux défauts de fabrication du yaourt. | 14 |
| Tableau IV | Souches utilisées pour l'activité antimicrobienne. | 18 |
| Tableau V | Evaluation de l'effet antibactérien selon le diamètre d'inhibition. | 28 |
| Tableau VI | Composition des mélanges des excipients élaborés. | 29 |
| Tableau VII | Certains paramètres physico-chimiques des feuilles de la plante étudiée. | 36 |
| Tableau VIII | Résultats du dosage des PPT des extraits des feuilles séchées | 36 |
| Tableau IX | Résultats du dosage des flavonoïdes des extraits des feuilles séchées. | 37 |
| Tableau X | Diamètres des zones d'inhibition des extraits de PPT et tanniques testés. | 38 |
| Tableau XI | Résultats des analyses physicochimiques des yaourts élaborés. | 40 |
| Tableau XII | Les meilleures formulations de yaourts. | 41 |
| Tableau XIII | Résultats d'analyse statistique du test sensoriel. | 46 |
| Tableau XIV | Valeur de ρ -value pour la texture. | 46 |
| Tableau XV | Résultats de comparaison entre les différents yaourts par le test de NEWMAN-KEULS au seuil de 5% de point de vue texture. | 47 |
| Tableau XVI | Valeur de ρ -value de goût des yaourts. | 48 |
| Tableau XVII | Résultats de comparaison entre les différents yaourts par le test de NEWMAN-KEULS au seuil de 5% de point de vue goût. | 48 |
| Tableau XVIII | Valeur de ρ -value de l'odeur des yaourts. | 49 |
| Tableau XIX | Résultats de comparaison entre les différents yaourts par le test de NEWMAN-KEULS au seuil de 5% de point de vue odeur. | 49 |
| Tableau XX | Valeur de ρ -value de l'odeur des yaourts. | 50 |
| Tableau XXI | Résultats de comparaison de couleur entre les différents yaourts par le test de NEWMAN-KEULS au seuil de 5%. | 51 |
| Tableau XXII | Résultats des analyses microbiologiques des yaourts. | 52 |

Introduction générale

Les plantes médicinales constituent des ressources précieuses pour la majorité des populations rurale et urbaine en Afrique et représentent le principal moyen par lequel les individus se soignent malgré les progrès de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde et surtout les pays en voie de développement (Hamel et Meddad-Hamza, 2016). Beaucoup de ces plantes, ont été ajoutées dans plusieurs aliments pour améliorer ses valeurs nutritionnelle et sensorielle et prolonger la durée de vie (Shahidi et *al.*, 1992).

Pulicaria odora L. *Rchb* une parmi ces plantes traditionnellement utilisée pour ses propriétés anti-inflammatoires (Ezoubeiri et *al.*, 2005), pour l'activité antibactérienne de ses huiles essentielles (Hanbali et *al.*, 2005) et pour ses composés phénoliques (Ezoubeiri et *al.*, 2005). Notamment, les feuilles fraîches de cette plante spontanée sont utilisées par la population locale de Tizi-Ouzou et de Tipaza pour soigner les plaies, pour préparer du pain, ou encore pour préparer de tisane utilisée pour le traitement des problèmes gastriques.

Diospyros kaki (plaquemine), fruit de l'arbre appelé plaqueminier, est originaire d'Extrême – Orient où il existe environ un millier de cultivars (Chine, Japon) (Montagnac, 1960). Le kaki est d'abord consommé frais. Il entre dans la fabrication de confitures, de glaces et de desserts variés. Certains cultivars présentent de très bons fruits secs. Il faut attendre sa parfaite maturité (Zuang, 1988). Les feuilles du plaqueminier sont reconnues par leur pouvoir hypotensif et antitussif. En effet, les Japonais utilisent ses feuilles comme tisanes contre la toux et permettant de soigner certains troubles digestifs. Par contre, son fruit, en l'occurrence est légèrement laxatif (Bonnassieux, 1988). Outre, la présence de carotènes actifs (provitamine A) dans la pulpe de ce fruit, ses autres pigments lycopènes et xanthines sont également des facteurs de protection des complications cardio-vasculaires et de certains cancers (Souci et *al.*, 1993).

Il est bien connu que les produits laitiers frais fermentés, comme le yaourt, sont des aliments de grande consommation dans tous les pays (Nakasaki et *al.*, 2008). Avec le progrès technologique, le yaourt apparait comme un produit laitier très digeste qui possède une grande valeur nutritionnelle et qui est apprécié pour son goût et sa texture (Rohman, et *al.*, 2010). Généralement, le yaourt est consommé la plupart du temps comme un dessert, largement consommé par le monde, car il convient à toutes les tranches d'âge et même chez les sujets intolérants au lactose (Nagai et *al.*, 2011).

Il y a lieu de signaler que ce produit laitier est obtenu par incubation de laitensemencé par un mélange de bactéries lactiques (*Streptococcus salivarius* ssp. *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* ssp., *Lactobacillus bulgaricus* (JORA, 1998).

Introduction générale

Des études récentes se focalisent sur l'application des substances bioactives (peptides et polysaccharides dérivés des aliments) dans la production des produits laitiers et ce afin de résoudre plusieurs problèmes d'ordre biologique ou technologique : on peut citer l'incorporation des fibres comme agents de texturation dans les yaourts (Oliveira et *al.* 2011) et l'extrait de caroube dans les glaces (Guler-Akin et *al.* 2016), la poudre de jujube comme prébiotique dans la fabrication d'un yaourt fonctionnel (Benahmed Djilali et *al.* 2018).

Notre travail fait partie de projet d'une recherche par ma promotrice qui s'inscrit dans le cadre de la valorisation des ressources agricoles en vue de mettre sur le marché un yaourt de type fonctionnel.

L'objectif principal de cette étude est d'élaborer un yaourt fonctionnel à base de feuilles de *Pulicaria odora* et le fruit de plaquemine à caractère nutritionnel et thérapeutique. Le choix du matériel végétal est justifié par la richesse des feuilles de cette plante et la pulpe de ce fruit en vitamines, et en composés phénoliques (tanins, acides phénoliques et flavonoïdes).

Afin de traiter cette thématique, notre travail se divise en deux grandes parties :

- Une synthèse bibliographique composée de deux chapitres : le premier annonce des généralités sur la plante *Pulicaria odora* et le deuxième contient des généralités sur le yaourt.
- Dans la partie expérimentale constituée l'ensemble de matériel et méthodes on cite :
 - ✓ Analyses physicochimiques
 - ✓ Activité antimicrobienne
 - ✓ Essai de préparation d'un yaourt fonctionnel aromatisé étuvé
 - ✓ Analyses physicochimiques de yaourts
 - ✓ Analyse sensorielle
 - ✓ Analyses statistiques
 - ✓ Mesure de la viscosité
 - ✓ Analyses microbiologiques
 - ✓ Test de stabilité

Et résultats de discussion puis en terminera par une conclusion et perspectives.



Chapitre I
Généralités sur
Pulicaria odora

I.1. Famille des *Asteraceae*

Le mot « Aster » du grec signifie étoile, en relation avec la forme de la fleur. Quant au mot *Asteraceae* (anciennement appelées Composées), il désigne la famille de composés appartenant aux Dicotylédones comprenant plus de 1500 genres et plus de 25000 espèces décrites dont 750 endémiques.

En Algérie, cette famille compte environ 109 genres et plus de 408 espèces (Abdel-Lateff et *al.*, 2002). C'est l'une des familles la plus importante des Angiospermes (Magalhaes et *al.*, 2006).

Elle regroupe les plantes herbacées, arbustes, et parfois des arbres ou plantes grimpantes et quelques fois, plantes charnues. Ses feuilles sont alternes, opposées ou verticillées, simples parfois lobées ou découpées. Les fleurs sont hermaphrodites, ou unisexuées, parfois stériles, actinomorphes ou zygomorphes (Walters et *al.*, 2002).

I.2. Genre *Pulicaria*

Le genre *Pulicaria*, appartenant à la famille des *Asteraceae*, est représenté par 80 espèces réparties en Europe, en Afrique du Nord et en Asie. En Algérie, le genre *Pulicaria* est représenté par 16 espèces dont quatre sont situées au Sahara. Les espèces de *Pulicaria* ont été utilisées en médecine populaire comme insectifuges, galactagogues, antiépileptiques, ainsi que pour le traitement du rhume, de la toux, des coliques, de la transpiration excessive et du carminatif (Boumaraf et *al.*, 2016).

I.3. Espèce *pulicaria odora***I.3.1. Description**

Pulicaria odora L. *Rchb* synonyme *Inula odora* L. *Rchb*, son nom commun : la pulicaria odorante (botanica, 2011). D'après Emberger et Chadefaud (1960), l'espèce *Pulicaria odora* L. connue en arabe sous le nom "Ouden El hallof" ou encore " Amzough guilef " en berbère, 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. Hémicryptophyte, elle est constituée de feuilles alternes de forme ovale oblongue denticulées, les inférieures atténuées en pétiole, persistant à la floraison, les caulinaires embarrassantes, mais sans oreillettes saillantes. Elle comporte de grands capitules (15-25mm) longuement pédonculés, solitaires au sommet de la tige et des rameaux, involucre à bractées velues, linéaires,

acuminées ; toutes les fleurs jaunes celles en languette étalées, dépassant longuement le disque formé par les fleurs en tube ; akènes blanchâtres, velus ; aigrette rousse dotée d'une couronne dentée de 10 à 12 poils 3 fois plus longs que l'akène. La floraison de la plante a lieu au mois de juin à août ; polonisée par les insectes (ou autogame) ; dispersée par le vent (Rameau et *al.*, 2008 ; Roubaudi, 2011).



a)



b)



c)

Figure 1 : Aspect de *pulicaria odora* (ANONYME, 2017).

a) : plante entière, b) : les feuilles ; c) : les fleurs

I.3.2. Classification botanique

La classification de la plante *Pulicaria odora* est présentée dans le tableau I.

Tableau I : Classification de *Pulicaria odora* (Cronquist, 1988).

| | |
|--------------------|------------------------|
| Règne | Plante |
| Sous-règne | Tracheobionta |
| Division | Magnoliophyta |
| Classe | Magnoliopsida |
| Sous-classe | Asteridae |
| Ordre | Asterales |
| Famille | Asteraceae |
| Genre | <i>Pulicaria</i> |
| Espèce | <i>Pulicaria odora</i> |

I.3.3. Utilisations et propriétés thérapeutiques

Pulicaria odora est une plante médicinale largement utilisée en médecine traditionnelle pour traiter les douleurs dorsales, les troubles intestinaux et les crampes menstruelles. Elle est également considérée comme remède traditionnel appelé " Mssakhen ", donné aux femmes après l'accouchement (Ezoubeiri et *al.*, 2005). Sa fleur est utilisée comme épice et dans la préparation de divers aliments délicieux (Lewis et Ausubel, 2006). Les parties aériennes de cette plante sont également utilisées comme agent antibactérien ou anti-diarrhéique (Awen et *al.*, 2010). Ses racines sont aussi utilisées pour leur action anti-inflammatoire (Bellakhdar, 1997).



Chapitre II

Généralités sur le yaourt

II.1. Définition

Le yaourt (yoghourt) est un lait fermenté obtenu par la multiplication dans le lait de deux bactéries lactiques spécifiques associées : *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*. Ces bactéries lactiques sont cultivées sur du lait préalablement pasteurisé, dans le but d'éliminer la plus grande partie ou la totalité de la flore microbienne préexistante. Après la fermentation le yaourt est refroidi à température comprise entre 1 et 10°C, à l'exclusion de tout autre traitement thermique. Il est alors prêt à être consommé (LUQUET, 1990).

II.2. Historique

Originaire d'Asie, le mot yaourt (yoghourt ou yogourt) vient de «yoghurmak» mot Turc signifiant « épaissir » (Tamime et Deeth, 1980). Depuis des siècles, on a attribué aux laits fermentés un grand nombre d'effets bénéfiques pour la santé, de l'amélioration du bien être ou le prolongement de la durée de vie. Au XVI siècle, le roi de France François Ier, souffrant de diarrhées persistantes, avait essayé plusieurs traitements sans succès quand un médecin turc lui fit connaître une recette secrète : celle du yoghourt. Le roi fut rapidement guéri de son infection intestinale (Adjtoutah et Boudraa, 2012). Au début du XXe siècle, grâce aux travaux du biologiste Elie Metchnikoff (prix Nobel de médecine en 1908 travaillant à l'institut Pasteur), rédigeait un ouvrage intitulé «la prolongation de la vie » dans lequel il affirme entre autres que la consommation des yaourts est indispensable pour une bonne santé de l'intestin, les premiers yaourts ont d'ailleurs été distribués en pharmacie (De France, 1994). Traditionnellement, c'est le yaourt dit « nature » et ferme qui constituait l'essentiel des productions de laits fermentés. Dans les années 1960-1970 sont apparus les produits sucrés puis aromatisés et aux fruits. Actuellement, ils sont majoritaires sur le marché (BRULE, 2003).

II.3. Matières premières utilisées pour la production du yaourt**II.3.1 Lait**

En France, le lait, sans précision, est le lait de vache. Nous n'oublions pas, cependant, que les laits d'autres mammifères sont exploités, lait de brebis, lait de chèvre ; et dans d'autres pays, laits de bufflonne, de jument.

Légalement, « le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum » (André Eck, 1975).

Le lait est un liquide opaque blanc mat plus ou moins jaunâtre selon la teneur de la matière grasse en beta carotène. Du fait de sa composition physico-chimique, le lait est un excellent substrat pour la croissance microbienne (Bourgeois et *al.*, 1988).

II.3.2. Poudre du lait

Selon la loi sur les aliments et drogues du Canada, les poudres du lait sont des produits résultant de l'enlèvement partiel de l'eau du lait. On répartit les poudres du lait en trois groupes: la poudre du lait entier, la poudre du lait demi écrémé et la poudre du lait écrémé. La loi américaine recommande que la poudre du lait doit être issue du lait pasteurisé (Vignola, 2002).

II.3.3. Bactéries lactiques

❖ *Streptococcus thermophilus* : est une cocci Gram positif anaérobie facultative, non mobile, on le trouve dans les laits fermentés et les fromages (Mouedden, 2009). Ladite bactérie est thermorésistante, sensible au bleu de méthylène (0,1%) et certaines antibiotiques. Elle est aussi résistante au chauffage à 60°C pendant 30 minutes (CODEX ALIMENTARIUS, 1975). Elle est isolée exclusivement du lait et des produits laitiers sous forme de coques disposées en chaînes de longueurs variables ou par paires. Sa température optimale de croissance varie entre 40 et 50°C (Labioui et *al.*, 2005).

L'espèce *S. thermophilus* présente un caractère homofermentaire, avec un spectre de fermentation restreint, mais plus large que celui de *Lb.delbrueckii ssp bulgaricus*. Cette espèce dégrade préférentiellement le lactose et le saccharose mais fermente aussi le glucose et le fructose en produisant de l'acide lactique L(+). La croissance de cette espèce inhibée par de fortes concentrations en lactate (Terre, 1986).

❖ *Lactobacillus bulgaricus* : est un bacille Gram positif, immobile ; sporulé ; microaérophile. Il est isolé sous forme de bâtonnets ou de chainettes. Il possède un métabolisme strictement fermentaire avec production exclusive d'acide lactique comme principal produit final à partir des hexoses de sucres. Cette bactérie lactique est incapable de fermenter les pentoses. *L. bulgaricus* est une bactérie thermophile, très exigeante en calcium et en magnésium et sa température optimale de croissance est d'environ de 42°C. Cette bactérie à un rôle essentiel dans le développement des qualités organoleptiques et hygiéniques du yaourt (Marty-Teyssset et *al.*, 2000).

II.4. Comportement associatif des deux souches

Streptococcus thermophilus et *Lactobacillus bulgaricus* se développent en association appelée proto-coopération (Figure 2), dans des cultures mixtes ayant un intérêt à la fois d'ordre technologique et nutritionnel. Ces bactéries, par leur activité acidifiante, ont un effet bénéfique du point de vue qualité hygiénique du produit fini. En parallèle, elles engendrent des produits secondaires qui contribuent à la qualité organoleptique du yaourt. D'un point de vue nutritionnel, l'activité fermentaire de deux espèces lactiques favorise la solubilisation des différents constituants du lait, améliorant ainsi leur biodisponibilité (Ngounou et al., 2003).

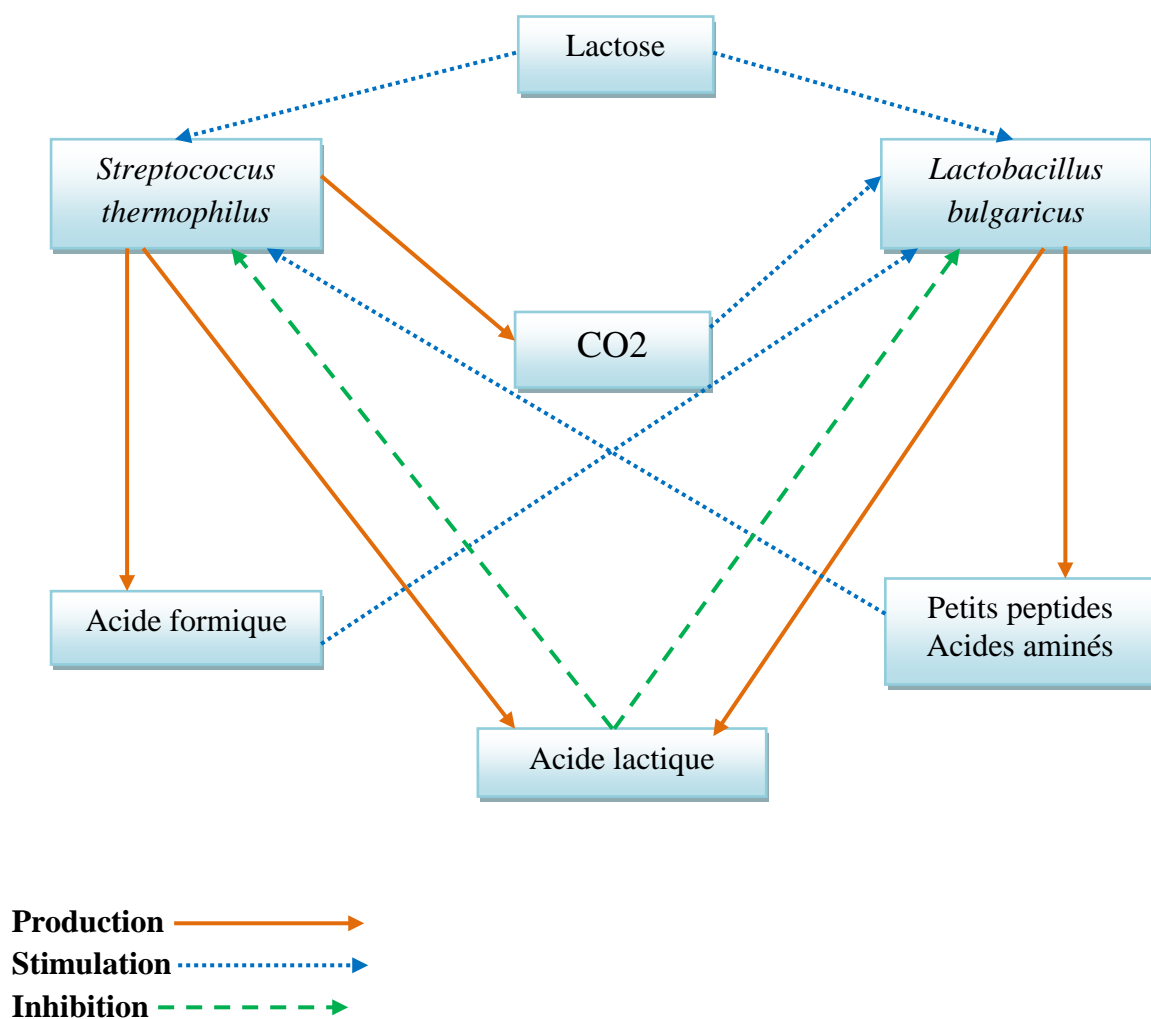


Figure 2 : Interactions de *streptococcus thermophilus* et *lactobacillus bulgaricus* (Mahaut et al., 2005).

II.5. Intérêts et fonctions des bactéries du yaourt

II.5.1. Production d'acide lactique

Lors de leur croissance les bactéries lactiques, grâce à la β -galactosidase, hydrolysent le lactose du lait pour produire deux nouveaux sucres : le glucose et le galactose. Le glucose provenant de cette hydrolyse sera fermenté pour produire de l'acide lactique, qui va amener à un abaissement du pH du produit se caractérisant par des odeurs et à sa coagulation (Vignola, 2002).

II.5.2. Production de composants d'arômes

La fermentation lactique ne conduit pas seulement à la production d'acide lactique, il y a aussi formation de quantités plus ou moins importantes de produits secondaires, par exemple : acide formique, éthanol, acide acétique, le diacétyle, acétaldéhyde, le gaz carbonique et certains de ces composés participent au développement de la saveur et de l'arôme (Frederikson, 1996). Citant, l'acétaldéhyde qu'est principalement produit par *Lb delbrueckii ssp bulgaricus* à partir de la thréonine, réaction catalysée par la thréonine aldolase (Zourrari et al., 1991).

II.5.3. Activité protéolytique

La protéolyse est un phénomène impliqué au cours de la fabrication du yaourt et les autres laits fermentés. Il se traduit par la libération de peptides et d'acides aminés qui sont d'importants substrats d'une variété de réactions cataboliques produisant des composés volatiles essentiels à la flaveur, la texture et à la saveur (Mc Sweeney et Sousa, 2000).

En effet, la dégradation de la caséine par les protéases et une peptidase provenant respectivement de *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* (Poznanski et al., 1965). Le lactobacille étant le seul à posséder des protéases, il s'ensuit que le streptocoque ne poursuivra activement sa croissance que grâce aux peptides libérés par lactobacille (Desmazeaud et al., 1996).

II.5.4. Activité lipolytique

La lipolyse est une réaction de nature enzymatique qui est catalysée par la lipase. Cet enzyme est naturellement présent dans le lait ou peut être développé par les bactéries. La lipolyse consiste donc, avec l'aide de la lipase, à briser le lien entre les acides gras et le

glycérol et cette réaction se produit principalement sur les triglycérides (Amiot et *al.*, 2002). La lipolyse est un phénomène qui participe au développement des qualités gustatives des produits laitiers (Pougheon, 2001). Bien que l'activité lipolitique des bactéries lactiques soit peu élevée, il ya une augmentation de la teneur en acides gras libres dans le yaourt (Mahaut et *al.*, 2000).

II.5.5. Activité de texturation

La texture et l'onctuosité consistent, pour le consommateur, d'importants éléments d'appréciation de la qualité du yaourt. Certaines souches bactériennes produisent, à partir du glucose, des polysaccharides qui en formant des filaments, limitent l'altération du gel par les traitements mécaniques et contribuent à la viscosité du yaourt (Schmidt et *al.*, 1994).

II.6. Types de yaourts

Le tableau ci-dessous résume les différents types de yaourts et leurs caractéristiques.

Tableau II : Types et caractéristiques des différents types de yaourts (Carole et Vingola, 2002).

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

II.7. Technologie de fabrication du yaourt**II.7.1. Préparation du lait**

La matière première utilisée est du lait frais, ou du lait recombinaé (à partir de lait en poudre maigre et de matière grasse laitière anhydre), ou du lait reconstitué (à partir de lait en poudre maigre), ou encore un mélange. Dans tous les cas, elle doit être de bonne qualité microbiologique, exempte d'antibiotiques ou d'autres inhibiteurs et parfaitement homogénéisée (FAO, 1995).

II.7.2. Enrichissement en matière sèche

La teneur en matière sèche de lait mis en œuvre dans la fabrication du yaourt est un facteur important, car elle conditionne la viscosité et la consistance du produit. Cet enrichissement est réalisé plus fréquemment par addition de la poudre de lait ou de protéines de lactosérum. Le poudrage, effectué à 40°C environ pour une bonne réhydratation des poudres, est généralement suivi d'une étape de filtration et désaération (Jeantet et *al.*, 2008).

II.7.3. Homogénéisation

Le lait est homogénéisé afin de réduire la taille des globules gras. Cette opération est indispensable pour éviter la remontée des matières grasses pendant la fermentation. Elle permet aussi d'augmenter la viscosité (Luquet, 1990) du yaourt et de réduire le phénomène d'exsudation de sérum (ou synérèse) pendant le stockage du yaourt ferme (Beal et Sodini, 2003). L'homogénéisation peut s'effectuer pendant la montée en température avant la section de pasteurisation mais elle peut aussi se faire après. Elle est réalisée sous pression (généralement entre 100 et 300 bars) (Corrieu et Luquet, 2005).

II.7.4. Traitement thermique

Le lait enrichi, éventuellement sucré, subit un traitement thermique. Le barème de traitement thermique le plus couramment utilisé est 90-95°C pendant 3 à 5 min (Mahaut et *al.*, 2000). Ce traitement a de multiples effets sur la flore microbienne ainsi que sur les propriétés physicochimiques et fonctionnelles du lait. Il crée des conditions favorables aux développements des bactéries lactiques, il détruit les germes pathogènes et indésirables (Boudier, 1990) et inactive les inhibiteurs de croissance tels que les lactopéroxydases (Farkye et Imafidon, 1995).

Le traitement thermique a également un effet sur la conformation tridimensionnelle des protéines, induisant la modification de leurs propriétés fonctionnelles. En outre, il dénature la majorité des protéines du lactosérum (85%) qui se fixent ainsi sur les molécules de caséines (Mahaut et *al.*, 2000).

II.7.5. Refroidissement

Après la pasteurisation, le lait est refroidi à la température d'ensemencement souhaitée, habituellement de 40 à 45 °C (Pascal, 1998).

II.7.6. Ensemencement

Le lait, enrichi et traité thermiquement, est refroidi à la température de fermentation, 40 à 45°C. Cette température correspond à l'optimum de développement symbiotique des bactéries lactiques (Loones, 1994). Leur inoculation se fait à un taux assez élevé, variant de 1 à 7% pour un ensemencement indirect à partir d'un levain avec un ratio *S.thermophilus*/*L. bulgaricus* de 1,2 à 2 pour les yaourts naturels, et pouvant atteindre 10 pour les yaourts aux fruits (Mahaut et *al.*, 2000). L'ensemencement direct à partir de bactéries lactiques concentrées congelées se fait à des taux de l'ordre de 0,03%. Une bonne agitation est nécessaire pour rendre parfaitement homogène le mélange lait/ferments (Enkeljda, 2004).

II.7.7. Fermentation

Pour les yaourts fermes, le mélange lait/ferments est soutiré et l'acidification se fait en pots. Pour les yaourts brassés, le lait est acidifié en cuve. Dans les deux cas, l'incubation réalisée à des températures entre 42 et 45°C dure entre 2 h 30 et 3 h 30. L'objectif de cette phase est d'atteindre une acidité de 70-80°D dans le cas des yaourts étuvés et de 100-120°D dans le cas des yaourts brassés (Mahaut et *al.*, 2000).

II.7.8. Refroidissement

Lorsque l'acidité est atteinte, on procède à un refroidissement rapide pour bloquer la fermentation (Mahaut et *al.*, 2000).

II.7.9. Conditionnement et stockage

Enfin, les yaourts conditionnés dans des pots en verre ou en plastique, sont stockés dans une chambre froide à 4°C en passant au préalable dans des tunnels de refroidissement. A ce stade, ils sont prêts à être consommés. La durée limite de leurs consommations est de 28

jours. Pendant le stockage, les bactéries lactiques maintiennent une activité réduite. Cette évolution, appelée post-acidification, se traduit par une légère baisse du pH, surtout pendant les 2 premiers jours de stockage (Enkelejda, 2004).

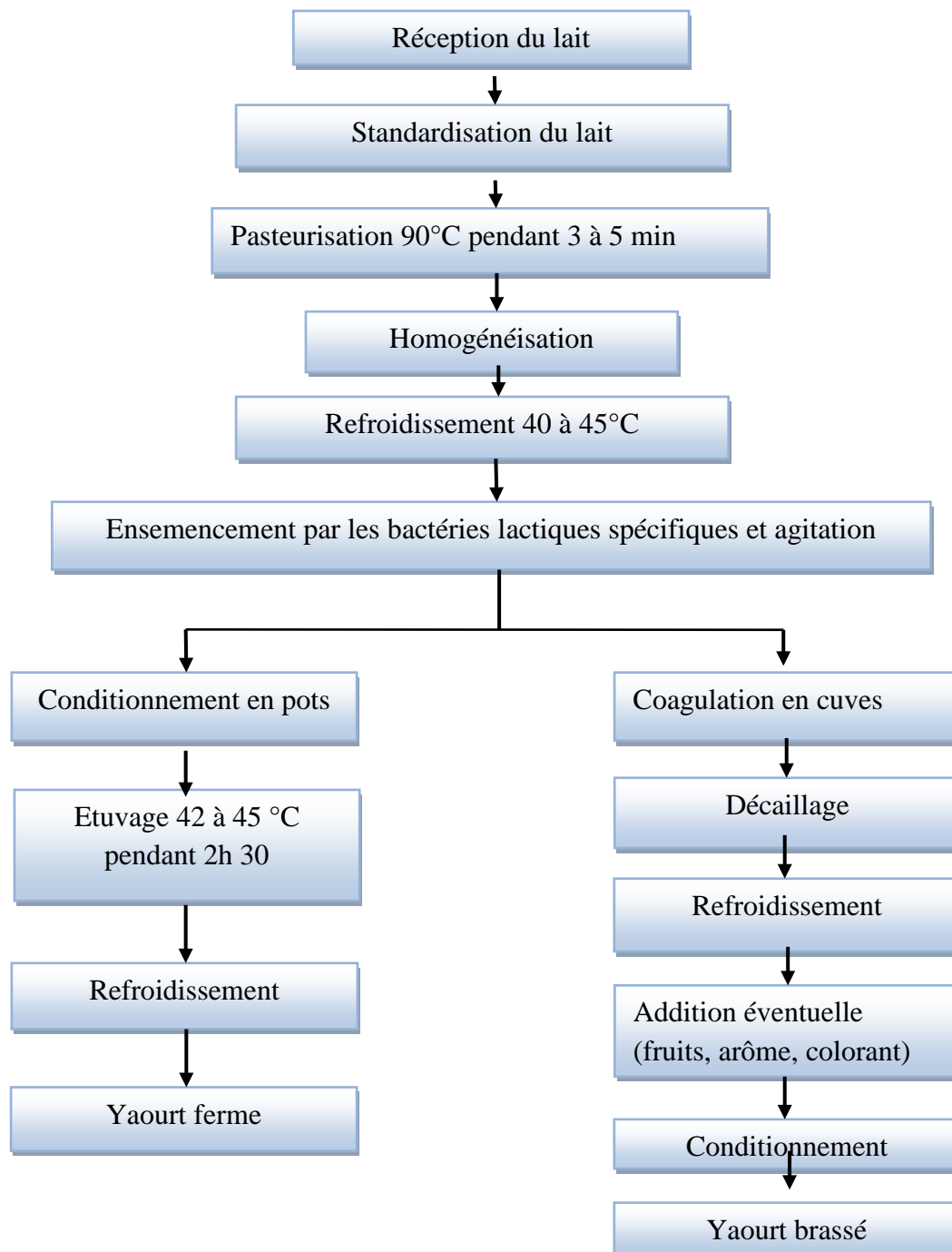


Figure 3 : Diagramme de fabrication du yaourt (Veisseyre, 1979).

II.8. Défauts de fabrication du yaourt

On peut regrouper sous 3 catégories les principaux défauts rencontrés chez le yaourt : défaut de goût, défaut d'apparence et, défaut de texture, dans chaque catégorie on indiquera la nature du défaut et les causes (Tableau III).

Tableau III : Principaux défauts de fabrication du yaourt (Luquet, 1990).

| Défaut du goût | |
|------------------------------------|--|
| Nature | Causes |
| Amertume | Trop longue conservation. Activité protéolytique trop forte des ferments. Contamination par des germes protéolytiques. |
| Goût levuré, fruité, alcool | Contamination par des levures. Contamination par des moisissures. Fruits de mauvaises qualités pour les yaourts aux fruits. |
| Manque d'acidité | Mauvaise activité des levains (taux d'ensemencement trop faible. incubation trop courte ou à trop basse température, inhibiteurs dans le lait, bactériophages). |
| Trop d'acidité | Mauvaise conduite de la fermentation (taux d'ensemencement trop fort, incubation trop longue ou à température trop élevée. Refroidissement pas assez poussé, trop lent. Conservation a trop haute température. |
| Rancidité | Contamination par les germes lipolytiques et traitements thermiques trop faibles. |

| Défaut d'apparence | |
|------------------------------|--|
| Nature | Causes |
| Décantation, synérèse | <p>Sur-acidification ou post-acidification (mauvaise conduite de la fermentation : température trop élevée pendant le stockage, conservation trop longue). Refroidissement trop faible. Agitation trop poussée et admission exagérée d'air (pour les yaourts brassés)- utilisation de pompe centrifuge. Mauvaise adjonction des fruits ou des pulpes de fruits Agitation des yaourts (yaourts fermes) Teneur en matière sèche trop faible</p> |
| Production de gaz | Contamination par des levures ou coliformes |
| Colonies en surface | Contamination par levures ou moisissures |
| Couche de crème | Mauvaise ou absence d'homogénéisation |

| Défaut de texture | |
|---|---|
| Nature | Causes |
| Déculottage | Agitation ou vibration pendant le transport faisant suite à un refroidissement mal conduit en chambre froide (pour les yaourts fermes). |
| Manque de fermeté (pour yaourt traditionnel) | <p>Ensemencement trop faible Mauvaise incubation (temps et/ou température trop faible) Agitation avant complète coagulation Matière sèche trop faible</p> |
| Trop liquide (pour le yaourt brassé) | <p>Brassage trop violent Mauvaise incubation (temps trop faible) Matière sèche trop faible Mauvais ferments (pas assez filants ou épaississants) Fruits ou arômes pas assez concentrés.</p> |
| Trop filant | <p>Mauvais ferment (trop filant) Température d'incubation trop faible.</p> |

| | |
|---------------------------|--|
| Texture sableuse | Chauffage du lait trop important Homogénéisation à température trop élevée Poudrage trop fort Mauvais brassage Acidification irrégulière et trop faible. |
| Texture granuleuse | Mauvais brassage Teneur en matière grasse trop élevée Mauvais choix dans les ferments. |

II.9. Intérêts thérapeutiques

II.9.1. Activité antimicrobienne

Le yaourt a un rôle préventif contre les infections gastro-intestinales. L'intérêt du yaourt dans le traitement des diarrhées infantiles a été démontré par de nombreux auteurs. L'acide lactique est légèrement antiseptique. L'acidité du yaourt inhibe le développement des germes pathogènes de plus elle stimule les mouvements péristaltiques de tube digestif. En dehors de l'acide lactique, les bactéries du yaourt produisent des substances antimicrobiennes et des prébiotiques, notamment des oligosaccharides (Mahaut et *al.*, 2000).

II.9.2. Stimulation de système immunitaire

Le yaourt a un effet immunitaire régulateur, il augmente la production d'interférons et d'immunoglobulines et d'exciter l'activité des lymphocytes B. Cet effet est attribué à *Lactobacillus bulgaricus* (Jeantet et *al.*, 2008).

II.9.3. Action anticholestérolémiant

La consommation du yaourt permet de prévenir les maladies coronariennes et serait plus efficace que le lait pour maintenir une cholestérolémie basse (Mahaut et *al.*, 2000). Des tests *in vitro* ont démontré une réduction du taux de cholestérol dans un milieu de culture avec *L. bulgaricus*. Plusieurs hypothèses ont été émises pour expliquer ce fait, comme l'assimilation du cholestérol par les bactéries (Izquierdo-Alegre, 2009).

II.9.4. Action préventif contre les cancers

Les lactobacilles modifieraient les enzymes bactériennes à l'origine des carcinogènes (inducteurs des tumeurs cancéreuses) dans le tube digestif, inhibant ainsi la formation de ces

substances précancéreuses. Cet effet serait notamment attribué à la production de polysaccharides par ferments (Jeantet et *al.*, 2008).



Chapitre III

Matériels et Méthodes

Cadre de l'étude

Notre étude expérimentale a été réalisée au sein des laboratoires pédagogiques communs (I et II) d'analyse physicochimique et de microbiologie de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou (UMMTO), ainsi que le laboratoire de la Rhéologie de l'Université de Boumèrdès durant la période 08 avril 2018 au 04 juillet 2018.

Objectif de l'étude

Dans notre démarche expérimentale, nous avons effectué quelques analyses physicochimiques (teneur en eau, pH, teneur en cendre, l'acidité titrable, dosage des sucres, dosage de l'acide ascorbique), et l'activité antimicrobienne d'une plante médicinale *Pulicaria odora*. Un essai de fabrication d'un yaourt fonctionnel à base de *Pulicaria odora et diospyros kaki*. Des analyses physicochimiques et microbiologiques sur le produit fini « yaourt » et enfin un test sensoriel a été réalisé afin de choisir la meilleure formulation du yaourt.

III.1. Matériel

III.1.1. Matériel végétal

La plante *pulicaria odora* a été récoltée le matin le : 08/04/2018, dans un climat hyper humide de la région de voyilfane de la commun de Tizi Gheniff de la wilaya de Tizi Ouzou (Algérie).

III.1.2. Matériel biologique

Deux bactéries et un champignon ont été utilisés pour le test de l'activité antimicrobienne (Tableau IV)

Tableau IV : Souches utilisées pour l'activité antimicrobienne.

| Souches utilisées | Types | Référence |
|------------------------------|-------------------------|------------|
| <i>Staphylococcus aureus</i> | Bactéries Gram Positif | ATCC 25923 |
| <i>Escherchia coli</i> | Bactéries Gram Négative | ATCC 25322 |
| <i>Candida albican</i> | Champignon | / |

III.2. Méthodes

III.2.1. Séchage de la plante

Les feuilles de *P odora* récoltées sont lavées afin d'éliminer les débris de particules et de poussières, par la suite séchées à l'air libre à l'obscurité pendant 15 jours pour avoir une

humidité finale de l'ordre de 4%. Les feuilles séchées sont ensuite broyées à l'aide d'un broyeur électrique.

La poudre obtenue a été tamisée à l'aide d'un tamis de 100µm. Une fois tamisée, elle est conservée, à l'abri de la lumière, dans des flacons en verre pour les analyses ultérieures. Les différentes étapes de la transformation des feuilles en poudre sont présentées dans la Figure 4.



(A)



(B)



(C)



(D)

Figure 4 : Etapes respectées pour obtenir la poudre de *Puicaria odora*.

A : ; B : ; C:....., D :

III.2.2. Analyses physicochimiques

III.2.2.1. Détermination de la teneur en eau

Principe

La teneur en eau a été déterminée sur un échantillon des feuilles sèches de *P. odora* qui sont introduites dans des capsules en aluminium pour les faire subir un séchage dans une étuve réglée à 105°C pendant 15 min. l'opération est répétée jusqu'à avoir un poids constant.

Mode opératoire

La détermination de la teneur en eau se fait de la manière suivante :

- 1-Peser les capsules en aluminium ;
- 2-Tarer les capsules ;
- 3-Peser dans chaque capsule 10g, et les placer dans l'étuve ;
- 4-Retirer les capsules de l'étuve, les placer dans un dessiccateur, après refroidissement, on les pèse, l'opération est répétée chaque 15 minutes jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

Expression des résultats

La teneur en eau a été déterminée selon la formule suivante :

$$H(\%) = \frac{M1-M2}{P} \times 100 \dots\dots\dots(1)$$

Soit :

H(%) : humidité

M₁ : masse de la capsule + la matière avant séchage en (g) ;

M₂ : masse de la capsule + la matière après séchage (g) ;

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

A partir de la teneur en eau, on détermine le taux de la matière sèche qui est donné par la formule suivante

$$Ms(\%) = 100 - H(\%) \dots\dots\dots(2)$$

Soit

Ms (%) : taux de la matière sèche (%) ;

H (%) : taux d'humidité(%).

III.2.2.2. Mesure de pH

Principe

La détermination du pH par la méthode potentiométrique, a été réalisée à l'aide d'un pH mètre.

Mode opératoire

- 1-4g de l'échantillon dans 100ml d'eau distillée chaude ;
- 2-Agiter le mélange et laisser refroidir ;
- 3-Etalonner le pH mètre en utilisant une solution tampon ;
- 4-Prélever un volume V de l'échantillon suffisamment important pour permettre l'immersion de l'électrode ;
- 5-Noter ensuite la valeur de pH.

Il faut rincer l'électrode avec l'eau distillée avant chaque mesure puis sécher à l'aide du papier absorbant.

III.2.2.3. Détermination de la teneur en cendres

Principe

Chaque échantillon est calciné à 550°C dans un four à moufle jusqu'à l'obtention des cendres blanchâtres de poids constant.

Mode opératoire

- 1- Peser les capsules en porcelaine vides ;
- 2- Dans ces capsules en porcelaine, peser 10g de l'échantillon ;
- 3- Placer les capsules dans un four à moufle fermé ; la température est augmentée progressivement de manière à éviter une calcination violente de produit ce qui entrainerait des pertes maintenues à une température de 550±15°C jusqu'à obtention d'une couleur blanchâtre de poids constant ;
- 4- Retirer les capsules du four et les mettre à refroidir dans le dessiccateur, puis le peser.

Expression des résultats

La teneur en cendres est calculée par la formule suivante :

$$\text{MO}(\%) = \frac{M_1 - M_2}{P} \times 100 \quad \dots\dots\dots(3)$$

Soit

MO : Matière organique en (g) ;

M₁ : Masse de creuset + la prise d'essai en (g) ;

M₂ : Masse de creuset après incinération en (g) ;

P : Masse de la prise d'essai (g).

La teneur en cendres est calculée conformément à l'équation suivante :

$$Tc(\%) = 100 - MO(\%) \quad \dots\dots\dots(4)$$

III.2.2.4. Détermination de l'acidité titrable

Principe

Le principe de cette méthode consiste en un titrage de l'acidité avec une solution de NaOH (0.1N) en présence de phénolphthaléine comme indicateur de couleur.

Mode opératoire

- 1- Peser 5g de l'échantillon ;

- 2- Placer l'échantillon dans une fiole conique, puis on ajoute 70 ml d'eau distillée récrément bouillie et refroidie, puis mélanger jusqu'à l'obtention d'un liquide homogène ;
- 3- Chauffer le contenu au bain marie pendant 30mn ;
- 4- Refroidir, transvaser quantitativement le contenu de la fiole conique dans une fiole jaugée de 100 ml et compléter jusqu'au au trait de jauge avec l'eau distillée, bien mélanger puis filtrer.
- 5- Prélever 10 ml du filtrat dans 10 ml d'eau distillée ;
- 6- Ajouter trois gouttes de phénolphtaléine et tout en agitant, titrer avec de la solution d'hydroxyde de sodium 0,1N jusqu'à l'obtention d'une couleur rose persistant pendant 30 secondes.

Expression des résultats

L'acidité titrable est calculée par la formule suivante :

$$A(\%) = \frac{175 \times V_1}{V_2 \times M} \dots\dots\dots(5)$$

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.

III.2.2.5. Dosage des sucres

Pour ce dosage, on met en évidence trois catégories de sucres à savoir : les sucres totaux, les sucres réducteurs et le saccharose.

Avant de procéder aux différents dosages, on prépare les solutions de Fehling A et B et les deux filtrats (1) et (2) de compositions suivantes :

➤ *Filtrat (1)*

- 1- Peser 10g de l'échantillon dans un bécher de 100 ml ;
- 2- Ajouter 2,5 ml d'acétate de plomb ;
- 3- Remplir jusqu'au 2/3 du volume de bécher avec l'eau distillée ;
- 4- Agiter à plusieurs reprises et laisser reposer pendant 15 min ;
- 5- Ajuster avec d'eau distillée à 100 ml ;
- 6- Homogénéiser et filtrer sur un papier filtre et récupérer le filtrat.

➤ *Filtrat (2)*

- 1- Prélever 50 ml du **filtrat (1)** et ajouter 5 ml d'HCl concentré ;
- 2- Chauffer le mélange au bain marie à 70°C pendant 5 min ;
- 3- Neutraliser avec NaOH (10N) en présence de phénolphthaléine à 1%.

❖ *Dosage des sucres totaux**Mode opératoire*

- 1- Prélever 5 ml de la solution Fehling A et 5 ml de la solution Fehling B ;
- 2- Ajuster jusqu'à 100 ml avec l'eau de robinet ;
- 3- Chauffer le contenu jusqu'à ébullition durant 2 mn ;
- 4- Titrer par le **filtrat(2)** obtenu jusqu'à la disparition de la couleur bleue ;
- 5- Ajouter 2 gouttes de bleue de méthylène jusqu'à ce que la coloration bleue soit remplacée par une coloration marron cuivrée ;
- 6- Noter le volume de **filtrat (2)** V_2 .

Expression des résultats

La quantité des sucres totaux dans la prise d'essai est estimée par la formule suivante :

$$S_T = \frac{500}{V \times (V_2 - 0.05)} \times 10 \dots\dots\dots(6)$$

Soit

S_T : Quantité des sucres totaux (g/100ml) ;

V : Volume de la prise d'essai ;

V_2 : Volume du filtrat (2) utilisé lors du titrage.

❖ *Dosage des sucres réducteurs**Mode opératoire*

- 1- Introduire 5 ml de la solution Fehling A et 5 ml de la solution Fehling B dans un bécher de 500 ml ;
- 2- Ajuster jusqu'à 100 ml avec l'eau de robinet ;
- 3- Chauffer le contenu jusqu'à l'ébullition durant 2 mn ;
- 4- Titrer par le **filtrat (1)** jusqu'à ce que la teinte bleue disparaisse ;
- 5- Ajouter 2 gouttes de bleue de méthylène et continuer le titrage jusqu'à ce que la coloration bleue devienne rouge brique ;
- 6- Arrêter le titrage et noter le volume du **filtrat (1)** dépensé V_1 .

Expression des résultats

La quantité de sucres réducteurs dans la prise d'essai est donnée par la formule suivante :

$$S_R = \frac{240}{V \times (V_1 - 0.05)} \dots\dots\dots(7)$$

Soit

S_R : Quantité des sucres réducteurs (g/100ml) ;

V : Volume de la prise d'essai (ml) ;

V_1 : Volume du filtrat (l) utilisé au titrage.

❖ **Taux de saccharose**

La quantité de saccharose est calculée selon la formule suivante :

$$S = (S_T - S_R) \times 0.95 \dots\dots\dots(8)$$

Soit

S : Quantité de saccharose en g/l ;

S_T : Quantité des sucres totaux en g/l ;

S_R : Quantité des sucres réducteurs en g/l.

III.2.2.6. Dosage de l'acide ascorbique

Le dosage direct par méthode iodométrique a été adopté.

Principe

Cette méthode est basée sur la réaction d'oxydation de l'acide ascorbique par l'iode en milieu acide.

Mode opératoire

- 1- Prendre 50 ml de filtrat ;
- 2- Ajouter 3 ml de l'acide sulfurique (H_2SO_4) à 0,1 N et quelques gouttes d'amidon à 0,5% comme indicateur coloré ;
- 3- Titrer le mélange par une solution d'iode à 0,05% jusqu'à l'apparition de la couleur bleue.

Expression des résultats

La quantité d'acide ascorbique est donnée par la formule suivante :

$$Y = N \times 20 \times 4.4 \text{ d'acide ascorbique par litre.} \dots\dots\dots(9)$$

Soit

N : Nombre de ml d'iode versés ;

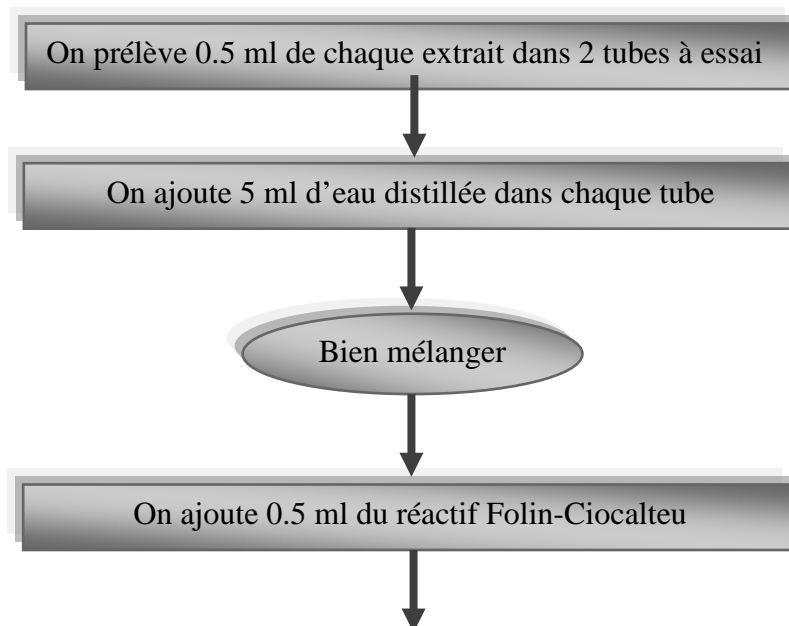
Y : La quantité de la vitamine C dans l'échantillon (mg/l).

III.2.2.7. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé selon la méthode décrite par (Juntachote et al., 2006), en utilisant le Folin Ciocalteu de couleur jaune. Ce réactif est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et l'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe ayant une couleur bleue constitué d'oxyde de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (MO_8O_{23}). L'intensité de la couleur est proportionnelle au taux des composés phénoliques oxydés (Boizot et Charpentier, 2006).

Mode opératoire

Le matériel végétal broyé (10g) est soumis à une extraction par macération dans deux solvants, l'eau distillée et l'éthanol (50 ml) pendant 72 heures au réfrigérateur puis les extraits sont filtrés. Le dosage des polyphénols totaux dans les différents extraits est adopté selon le diagramme présenté par la Figure 5.



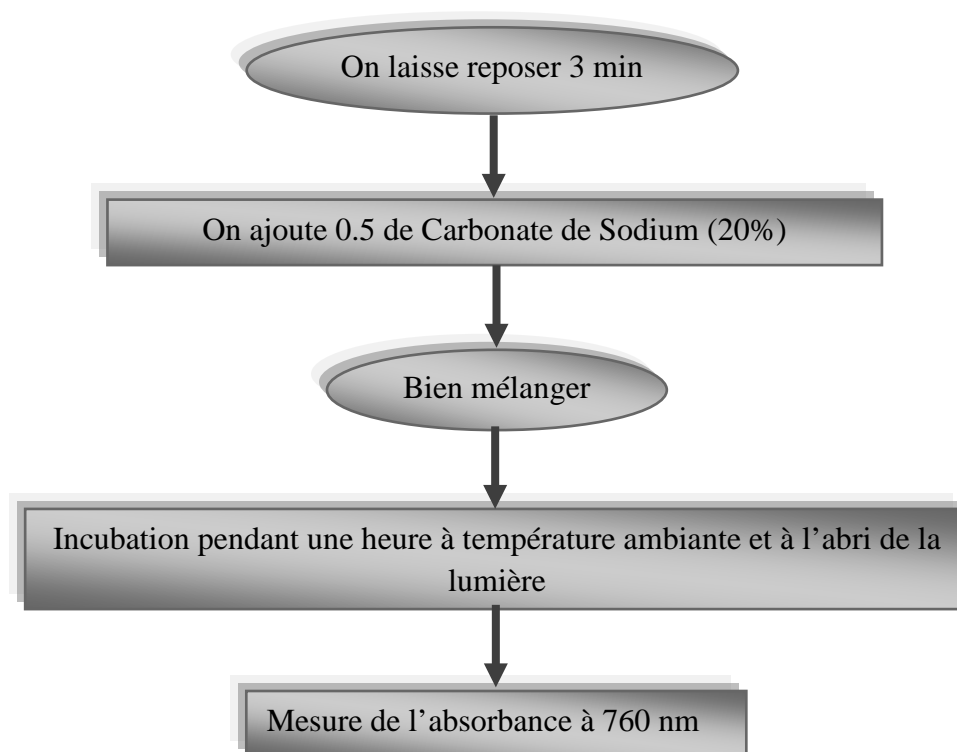


Figure 5 : Diagramme du dosage des PPT (Juntachote et *al.*, 2006).

➤ *Courbe d'étalonnage*

La concentration en composés phénoliques totaux a été 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'Equivalent d'Acide Gallique par gramme de matière sèche de plante (mg EAG/g MS).

III.2.2.8. Dosage des flavonoïdes

Principes

Les flavonoïdes donnent avec le chlorure d'aluminium des complexes de couleur jaune, coloration dont l'intensité est mesurable à un spectrophotomètre à UV (Mbaye Dieng, 2007).

Mode opératoire

Le matériel végétal broyé (10g) est soumis à une extraction par macération dans deux solvants, l'eau distillée et l'éthanol (50 ml) pendant 72 heures puis les extraits sont filtrés.

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

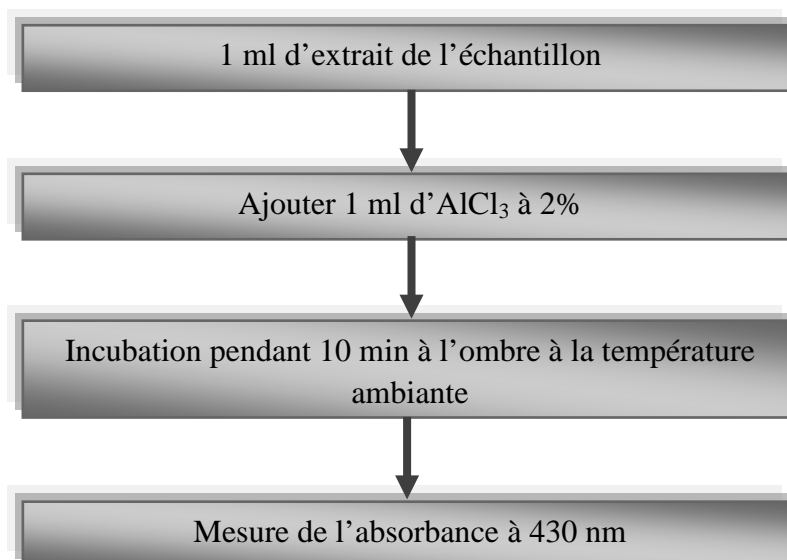


Figure 6 : Etapes de dosage des flavonoïdes.

➤ *Courbe d'étalonnage*

La quantification des flavonoïdes se fait en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée en utilisant la Quercetine comme un flavonoïde standard.

Expression des résultats

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

III.2.3. Activité antimicrobienne

III.2.3.1. Préparation de l'extrait de phénolique de *P.odora*

Deux extraits aqueux et éthanolique ont été préparés par macération dans de l'eau distillée et de l'éthanol à raison de 2g de poudre des feuilles à une température ambiante et à l'abri de la lumière sous agitation douce pendant 24 heures. Le mélange est ensuite filtré à l'aide de papier Wattman pour avoir un filtrat qui va être conservé dans des tubes à essai stériles au réfrigérateur pour des analyses ultérieures.

III.2.3.2. Extraction des tanins par solvants

Ajouter 50 ml d'éther diéthylique à 30g de poudre de *P.odora* ensuite procéder à une agitation pendant 15 min. Par la suite on récupère le marc, puis reprendre celui-ci dans 100ml du méthanol suivi d'une agitation pendant 2h et récupération du filtrat par filtration puis concentration du filtrat sous vide à 60°C à l'aide d'un rotavapeur (Revilla .E et *al.*, 1998).

III.2.3.3. Activité antimicrobienne

Pour évaluer l'activité antimicrobienne des extraits phénoliques préparés, nous avons adopté la méthode de diffusion sur un milieu gélosé en utilisant des disques stériles en cellulose selon la méthode décrite par (Benjelalli et *al.*, 1986).

Le principe de cette méthode repose sur la diffusion d'un composé antimicrobien en milieu solide dans une boîte de Pétri, avec création d'un gradient de concentration après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible. L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure de diamètre de la zone d'inhibition.

Par conséquent, la souche sera qualifiée de sensible, extrêmement sensible ou résistante (Tableau V).

Tableau V: Evaluation de l'effet antibactérien selon le diamètre d'inhibition. (Ponce et *al.*, 2003).

| Observation | Signe | Diamètre d'inhibition |
|----------------------|-------|-----------------------|
| Non sensible | (-) | < 8mm |
| Sensible | (+) | 8 à 14 mm |
| Très sensible | (++) | 15 à 20 mm |
| Extrêmement sensible | (+++) | > à 20 mm |

Protocole expérimentale

- On coule aseptiquement les milieux de culture gélosés préliquifiés (Mueller Hinton, PCA) dans des boîtes de Pétri.
- On laisse refroidir et solidifier sur la paillasse.
- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne dont sa concentration est varié entre 0,08 – 0,1.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas, en stries serrées. Répéter l'opération deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois.
- Recharger l'écouvillon à chaque fois dans le cas où on ensemence plusieurs boîtes de Pétri avec la même souche.
- A l'aide d'une pince stérile, prélever un disque Wattman stérile, déposer sur la gélose et l'imbiber avec (20 µl) d'extraits des polyphénols à tester.
- Les boîtes de Pétri sont ensuite fermées et laissées diffuser à T° ambiante et mises à l'étuve à 37°C, pendant 24h (pour les bactéries) et à 30°C, pendant 3 jours (pour le champignon). L'expérience est répétée trois fois pour chaque microorganisme.

III.2.4. Essai de préparation d'un yaourt fonctionnel aromatisé étuvé

En basant sur nos résultats d'analyses et les travaux antérieurs de notre promotrice, nous nous sommes intéressés à l'élaboration de 4 formulations de yaourt en utilisant les matières et les excipients suivants :

- Lait partiellement écrémé (lait de Candia commercialisé) ;
- Sucre (sucre blanc cristallisé) ;
- Arôme de noix de coco ;
- La poudre de lait (poudre du lait commercialisée Loya) ;
- Ferments lactiques thermophiles fournis par l'industrie laitière de DRAA BENKHADA ;

Quatre mélanges (Tableau VI) sont préparés à base les excipients suivants :

- Poudre de *P.odora*
- Poudre *Diospyros kaki* (plaquemine)
- Extrait de *P.odora*
- Extrait de plaquemine

Tableau VI : Composition des mélanges des excipients élaborés.

| | F1 | F2 | F3 | F4 |
|---------------------------------------|-----|-----|-----|-----|
| Poudre de <i>P.odora</i> (g) | 0.1 | 0.5 | 0.7 | 1 |
| Poudre de <i>D.kaki</i> (g) | 0.1 | 0.5 | 0.7 | 1 |
| Extrait de <i>P.odora</i> (ml) | 10 | 25 | 50 | 100 |
| Extrait de <i>D.kaki</i> (ml) | 10 | 25 | 50 | 100 |

III.2.4.1. Stérilisation de la poudre de pulcaire et de plaquemine

Les deux poudres de *P.odora* et *D.kaki* ont été stérilisées par tyndallisation et conservées dans des bocaux stériles hermétiquement fermés, à l'abri de l'humidité et de la lumière pour les utilisations ultérieures.

III.2.4.2. Préparation des extraits aqueux de *P.odora* et de *D.kaki*

La préparation des extraits aqueux à base des poudres de *P.odora* et de *D.kaki* est respectée selon le diagramme ci-dessous.

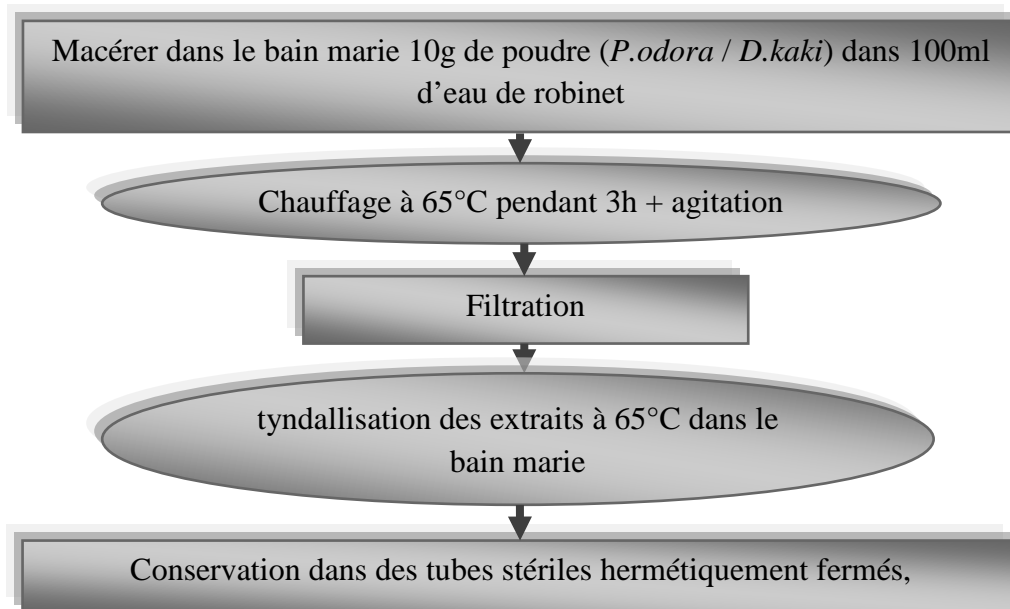


Figure 7 : Etapes de préparation et de stérilisation des extraits aqueux de *P.odora* et de *D.kaki*.

III.2.4.3.2. Processus de préparation des yaourts

❖ Préparation du lait

Le lait est chauffé progressivement à une température de 45°C sur une plaque chauffante.

❖ Chauffage de lait (Pasteurisation)

Le lait additionné de sucre, de poudre de lait et de l'arôme est bien agité à l'aide d'un agitateur magnétique dans le but de bien mélanger les ingrédients, ainsi chauffé pendant quelques secondes à une température de 90°C.

❖ Refroidissement du lait

Le lait refroidit pour atteindre une température de 43°C.

❖ Ajout des ferments

Une fois que le lait est refroidi, les ferments sont ajoutés tout en agitant le mélange dans le but de disperser tous les ferments et éviter la formation des grumeaux.

❖ Ajouter les mélanges des excipients

Une fois que les ferments sont bien dispersés on ajoute les excipients selon le tableau IV.

❖ Incubation

Le mélange obtenu est versé dans des pots de 100g, ces derniers sont ensuite bien fermés avec du papier aluminium pour éviter toute contamination, puis incubés dans un incubateur à une température de 44°C.

❖ Refroidissement

Un refroidissement à 4°C des yaourts fabriqués.

Le diagramme de préparation des yaourts est représenté dans la Figure 9.

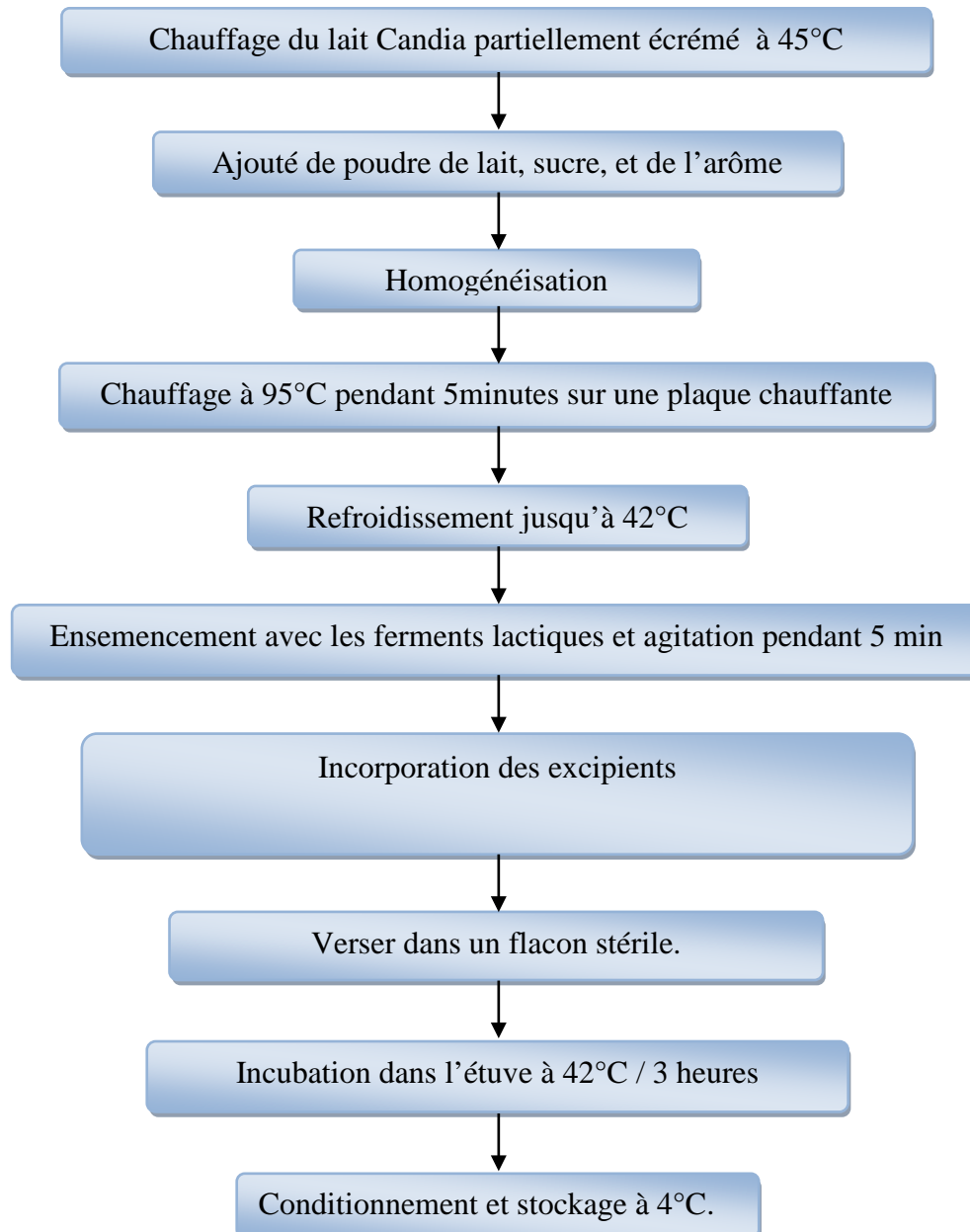


Figure 8 : Diagramme de préparation de yaourt aromatisé étuvé.

III.2.5. Analyses physicochimiques de yaourts

Afin de choisir la meilleure formulation, des analyses physicochimiques ont été réalisées sur les différentes formulations élaborées.

Les mêmes protocoles utilisés dans la caractérisation physicochimiques des matières premières sont appliquées pour l'analyse des différentes formulations des yaourts élaborés, à savoir le pH, l'acidité.

En se basant sur les deux critères le pH et l'acidité, 4 formulations ont été retenues.

III.2.6. Analyse sensorielle

Le choix de la meilleure formulation est basé sur les qualités organoleptiques. Ceci nous a amené à effectuer une analyse sensorielle, qui est basée sur l'analyse des caractéristiques d'apparence, de couleur, de l'odeur et de goût notés sur une fiche proposée aux jurys.

L'évaluation sensorielle des yaourts préparés a été réalisée en Ramadan le 9 juin 2018 entre 21 et 23 heures après le repas de soir (Iftar) par un panel de dégustateurs composé de 20 personnes (membres de ma famille).

III.2.7. Analyses statistiques

Les résultats dans notre expérimentation sont soumis à une analyse de la variance à 1 critère de classification pour tous les paramètres du test organoleptique de nos échantillons de yaourt.

Notre analyse sensorielle montre qu'il y a des différences significatives entre les différents paramètres mesurés, donc on a eu recours au test de NEWMAN-KEULS au seuil significatif de 5%.

Si la probabilité P est :

- $P > 0,05$ → les variables montrent une différence non significative.
- $P \leq 0,05$ → les variables montrent une différence significative.
- $P \leq 0,01$ → les variables montrent une différence hautement significative.
- $P \leq 0,001$ → les variables montrent une différence très hautement significative.

III.2.8. Mesure de la viscosité

La méthode utilisée dans notre étude est basée sur la mesure des forces de cisaillement et permet de mesurer la viscosité dynamique exprimée en Pascal /Seconde.

L'appareil utilisé est un viscosimètre avec hélice d'agitation. Cette analyse a été réalisée au niveau du laboratoire de rhéologie de l'Unité de Recherche de (FSI) de l'Université de Boumerdès.

III.2.9. Analyses microbiologiques

Les analyses microbiologiques réalisées sur notre échantillon (yaourt) correspondent à la recherche et au dénombrement germes suivants :

Dénombrement des germes indicateurs de contamination fécale :

- Coliformes totaux.
- Coliformes fécaux.

Dénombrement des levures et moisissures.

Recherche des germes pathogènes :

- *Staphylococcus aureus*.
- *Salmonella*.

➤ *Préparation de la solution mère*

Prendre 1g de notre produit (yaourt), les introduire dans 9ml 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 microorganismes sans favoriser leur multiplication (Bourgois et *al.*, 1996).

III.2.9.1. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux

Le dénombrement s'effectue sur le milieu solide gélose VRBL selon la norme (AFNOR, 1986). Les colonies apparaissent en masse sous forme de petites colonies rouges fluorescentes d'un diamètre de 0.5mm.

Mode opératoire

- A partir de la solution mère, introduire 1 ml dans les boites de Pétri ;
- On fait couler une couche de VRBL, refroidie préalablement à la température ($45\pm 1^\circ\text{C}$), puis on fait un mouvement circulaire de va et vient en forme de «8» et on laisse solidifier ;
- Incubation des boites de Pétri «couvercle en bas» se fait en deux séries :
 - La première incubation : les boites sont incubées pendant 24 ± 2 heures à 37°C afin de dénombrer les coliformes totaux;

- La deuxième incubation : les boîtes sont incubées pendant 24 heures à 44°C, ceci pour le but de compter les coliformes fécaux (Beerens et Luquet, 1987).

III.2.9.2. Recherche et dénombrement des levures et moisissures

Le dénombrement a été réalisé sur le milieu gélosé Sabouraud au chloramphénicol ou sur le milieu OGA à l'oxytétracycline. Ces milieux permettent la croissance des levures et des moisissures (AFNOR. NF V 03-454, 1981).

Mode opératoire

- On fait couler une couche de la gélose Sabouraud sur les boîtes de Pétri après refroidissement, et on laisse solidifier les boîtes sur la paille ;
- A partir de la solution mère, on ensemence 1ml à la surface de la gélose, puis on étale à l'aide d'un étaloir;
- Les boîtes sont incubées à 30°C pendant 72 heures ;
- Pour la lecture ;
 - **Levures** : colonies de formes arrondies, lisses, brillantes, de différentes couleurs (bleu, jaune, rose).
 - **Moisissures** : colonies de forme plus ou moins grandes et différentes couleurs (jaune, bleu).

III.9.2.3. Recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus*

La méthode d'enrichissement sur Giolitti Cantoni a été adoptée, cette méthode est réalisée en deux étapes consécutives.

La première consiste en un enrichissement sur milieu Giolitti Cantoni qui permet une meilleure revivification des souches stressées.

La deuxième est l'isolement sur gélose Chapman (NF V 08-057).

Mode opératoire

- A partir de la solution mère, introduire 1 ml dans 9ml de milieu Giolitti Cantoni additionné de Tellurite de potassium ;
- Incubation à 37°C pendant 24 à 48 heures ;
- Lecture : tube positif (noircissement du milieu).
- Ensemencement en surface à partir des tubes positif sur gélose Champan ;
- Incubation à 37°C pendant 24 à 48 heures ;
- Lecture : colonies lisses, brillantes et pigmentées en jaune.

III.9.2.4. Recherche et dénombrement des salmonelles

Pour la recherche des salmonelles, il est nécessaire de procéder à un enrichissement sur le Bouillon Sélénite SFB S/C puis à l'isolement sur gélose SS (Guiraud, 2003).

Mode opératoire

- A partir de la solution mère, introduire 1 ml dans 9ml de bouillon sélénite SFB S/C ;
- Incubation à 37°C pendant 24heures ;
- Lecture : tube positif (virage de la couleur du jaune au rouge).
- A partir des tubes positifs on réalise l'isolement sur la gélose SS ;
- Incubation à 37°C pendant 18 à 24 heures ;
- Lecture : colonies incolores.

III.2.10. Test de stabilité

Ce teste est fait pour tester la stabilité du produit, et cela consiste à soumettre le produit fini dans l'étuve à une température de 30°C pendant 21 jours pour vérifier s'il y aura ou pas de gonflement ou de mauvaise odeur ou autres défauts à savoir le développement des levures et des moisissures. Apres7 jours puis 21 jours on mesure le pH et l'acidité.



Chapitre IV

Résultats et discussion

IV.1. Résultats des analyses physico-chimiques de la plante (*Pulicaria odora*)

Les résultats de quelques paramètres physico-chimiques des feuilles de notre plante sont résumés dans le tableau VII. Il est présenté sous forme de moyenne de trois essais \pm l'écart-type (ET).

Tableau VII : Certains paramètres physico-chimiques des feuilles de la plante étudiée.

| Paramètres | Teneurs moyennes \pm (ET) |
|--------------------------------|-----------------------------|
| Taux d'humidité (%) | 6,07 \pm 0,29 |
| Matière sèche (%) | 93,93 \pm 0,29 |
| pH à 20 °C | 6,29 \pm 0,06 |
| Teneur en cendre (%) | 14,25 \pm 0,01 |
| Matière organique (%) | 85,75 \pm 0,01 |
| Acidité titrable (g/ 100g MS) | 0,25 \pm 0,01 |
| Taux des sucres totaux(%) | 10,69 \pm 0,16 |
| Taux des sucres réducteurs (%) | 0,56 \pm 0,03 |
| Taux de saccharose (%) | 9,62 \pm 0,12 |
| L'acide ascorbique | Négatif |

Il ressort de tableau VI que, les feuilles de *Pulicaria odora* présentent un pH plus ou moins neutre (pH= 6,29), par contre le taux de la matière sèche est relativement très élevée (MS% = 93,93%). Cette élévation peut s'expliquer par le taux d'humidité, sa valeur estimée à (H% = 6,07%).

En outre, elles sont très riches en matière organique (MO% = 85,75), mais leurs teneur en sucres sont faibles.

IV.2. Résultats du dosage des polyphénols totaux

Les taux de polyphénols totaux de nos extraits (Tableau VIII), sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS). Les valeurs sont données sous la forme de moyenne de 3 essais \pm ET.

Tableau VIII : Résultats du dosage des PPT des extraits des feuilles séchées.

| Nature de l'extrait | Teneur en polyphénols (mg EAG/gMS) |
|---------------------|------------------------------------|
| Extrait éthanolique | 170,909 ± 0,091 |
| Extrait aqueux | 100,272 ± 0,091 |

Nous remarquons d'après ce tableau que l'extrait éthanolique présente une teneur élevée en PPT (170,909 mg EAG/gMS) en comparaison avec l'extrait aqueux (100,272 mg EAG/gMS).

Cette différence dans les teneurs peut être attribuée aux divers facteurs notamment le type de solvant. Selon Jakopic et *al.*, (2009), l'éthanol est un meilleur solvant d'extraction des PPT.

Nos valeurs sont inférieures à celles enregistrées par Gherib et *al.*, (2016) qui ont pour leur part indiqué pour une autre espèce du genre *Pulicaria* une teneur de $329,9 \pm 0,3$ mgEAG/g pour les extraits de fleurs et $222,7 \pm 1,1$ mgEAG/g pour ceux des feuilles. De même, Parejo et *al.*, (2003) ont noté pour des extraits aqueux de neuf plantes appartenant à la famille des Asteraceae des teneurs en polyphénols comprises entre 71 et 211,5 mgEAG/g, teneurs comprises à celles de notre plante étudiée.

Plusieurs facteurs peuvent influencer les teneurs en composés phénoliques, des études récentes ont montré que les facteurs extrinsèques (facteurs géographique et climatiques) (Generalic et *al.*, 2012), facteurs génétiques, mais aussi le degré de maturation de la plante et la période de stockage ont une forte influence sur les composés phénoliques (Benhouda et *al.*, 2014).

IV.3. Résultats du dosage des flavonoïdes

Les taux de flavonoïdes de nos extraits (Tableau IX), sont exprimés en milligramme équivalent de la quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS). Les valeurs sont données sous la forme de moyenne de 3 essais ± ET.

Tableau IX : Résultats du dosage des flavonoïdes des extraits des feuilles séchées.

| Nature de l'extrait | Teneur en flavonoïdes (mg EQ/gMS) |
|---------------------|-----------------------------------|
| Extrait éthanolique | 0,305 ± 0,003 |
| Extrait aqueux | 0,235 ± 0,004 |

Selon nos résultats présentés dans le tableau X, on constate que la teneur en flavonoïdes diffère selon la nature de solvant utilisé. On remarque que l'éthanol (0,305 mg EQ/gMS) qui donne une meilleure teneur en flavonoïdes par rapport à l'eau (0,235 mg EQ/gMS).

Selon Falleh et *al.* (2008), la teneur en flavonoïdes peut être liée aux conditions climatiques (température chaude, exposition solaire élevée, sécheresse et salinité) qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols.

Madi (2010), a prouvé que les teneurs des polyphénols totaux et des flavonoïdes sont élevées lorsque le milieu de vie de la plante n'est pas adéquat, dans ce cas la plante favorise la synthèse des métabolites secondaires afin de s'adapter et survivre. De plus Lee et *al.*, (2003), ont indiqué que la méthode d'extraction et de quantification peuvent également influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux.

IV.4. Résultats de l'activité antimicrobienne des extraits phénoliques et tanniques

Les diamètres d'inhibition induite par les extraits de PPT et les extraits tanniques des feuilles de la plante étudiée sont consignés dans le tableau X.

Tableau X : Diamètres des zones d'inhibition des extraits de PPT et tanniques testés.

| Microorganismes testés | Valeurs des diamètres d'inhibition (mm) ± ET | | |
|---|--|----------------------|------------------|
| | Extraits phénoliques | | Extrait tannique |
| | Extrait aqueux | Extrait éthanolique | |
| <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923) | 0 | 19 ± 0,14 | 18 ± 0,2 |
| | Non sensible | Très sensible | Très sensible |
| <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25322) | 17,5 ± 0,49 | 17 ± 0,42 | 16,5 ± 0,35 |
| | Très sensible | Très sensible | Très sensible |
| <i>Candida albicans</i> | 21 ± 0,28 | 22,5 ± 0,77 | 14 ± 0,2 |
| | Extrêmement sensible | Extrêmement sensible | Sensible |

Remarque : le diamètre des disques = 6 mm est inclus dans les mesures.

L'activité microbienne a permis de dévoiler l'efficacité des trois extraits testés contre le développement à la fois des bactéries Gram positif (*S.aureus* ATCC 25923), Gram négatif (*E.coli* ATCC 25322) et des champignons (*C.albicans*).

Il ressort du tableau X que, l'extrait aqueux des feuilles de notre plante est très efficace vis-à-vis *E.coli* (ATCC 25322) avec un diamètre de 17,5 mm, même chose pour l'extrait

éthanolique ainsi que l'extrait tannique avec un diamètre de 17 mm et 16.5 mm respectivement. Par ailleurs, ce premier n'exerce aucune inhibition contre l'espèce *S.aureus* ATCC 25923. Contrairement, les extraits éthanolique et tannique ont montré une inhibition modérée vis-à-vis la même souche avec une zone de 19 mm et 18 mm respectivement.

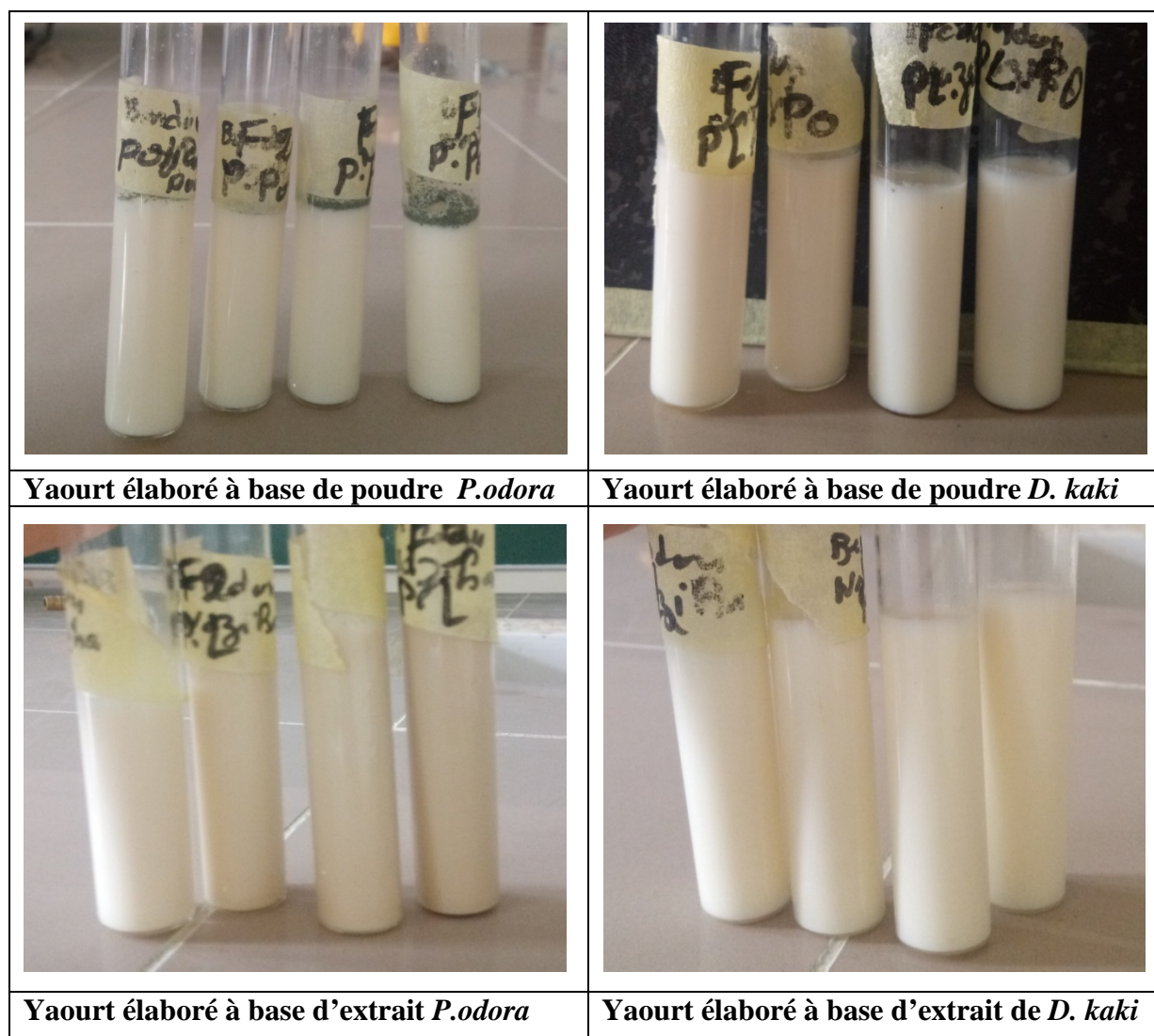
A l'inverse, le champignon *C.albicans* a montré une forte sensibilité à l'extrait aqueux et éthanolique avec un diamètre de 21 mm et 22,5 mm respectivement, Cependant, la même souche est révélée moyennement sensible à l'extrait tannique avec un diamètre de 14 mm.

Concernant la plante *P. odora*, il n'existe aucune étude faisant part de l'activité antimicrobienne des extraits polyphénoliques. Peu de travaux disponibles sont axés sur l'effet des huiles essentielles. Ainsi, des huiles essentielles extraites des racines de cette plante (Ezoubeiri et al., 2005, Hanbali et al., 2005) se caractérisent par une activité antibactérienne et antifongique. Cependant, des travaux menés avec différentes espèces du même genre, notamment des extraits de polyphénols méthanoliques de l'espèce *Pulicaria dysenterica* sont actifs sur des souches de *B. subtilis* et *S. aureus* (Bahman et al., 2002). Alors que, Hashim El-Kamali et Al-TayebMahjoub, (2009) ont démontré une sensibilité des mêmes souches bactérienne qu'on a étudié (Gram+ et Gram-) aux extraits méthanoliques et éthanoliques de l'espèce *Pulicaria undulata*.

En effet, l'activité antimicrobienne des polyphénols est liée au rendement d'extraction et notamment les conditions d'extraction (Benahmed djilali et al., 2012). De même, Santoyo et al., (2009), ont constaté qu'une meilleure activité antimicrobienne est liée à la polarité du solvant utilisé. Ces mêmes auteurs ont prouvé que, l'éthanol est un meilleur solvant d'extraction des substances antimicrobiennes (polyphénols).

Les Figures ci-après représentent les zones d'inhibition selon les souches microbiennes testées.

IV.5. Résultats d'aspect des différents yaourts élaborés



Yaourt élaboré à base de poudre *P. odora*

Yaourt élaboré à base de poudre *D. kaki*

Yaourt élaboré à base d'extrait *P. odora*

Yaourt élaboré à base d'extrait de *D. kaki*

Figure 9 : Aspect des différents yaourts élaborés (Photos personnel).

IV.6. Résultats des analyses physicochimiques des yaourts élaborés

Le tableau ci-dessous présente les résultats du pH et de l'acidité des yaourts élaborés.

Tableau XI : Résultats des analyses physicochimiques des yaourts élaborés.

| Les formulations | pH à 20°C | Acidité (°D) |
|---|-------------|--------------|
| A base de la poudre de <i>P. odora</i> | | |
| F1 | 4,93 ± 0,01 | 16 ± 1,41 |
| F2 | 4,87 ± 0,02 | 17 ± 1,41 |
| F3 | 4,85 ± 0,02 | 20 ± 1,41 |
| F4 | 4,82 ± 0,02 | 23 ± 1,41 |
| A base de la poudre de <i>D. kaki</i> | | |
| F1 | 5,12 ± 0,01 | 23 ± 1,41 |
| F2 | 5,16 ± 0,02 | 21,5 ± 1,41 |

| | | |
|---|-------------|-------------|
| F3 | 5,18 ± 0.01 | 21 ± 1,41 |
| F4 | 5,24 ± 0,01 | 19 ± 0,70 |
| A base de l'extrait de <i>P. odora</i> | | |
| F1 | 5,09 ± 0,01 | 17 ± 0,70 |
| F2 | 5,04 ± 0,02 | 18 ± 1,41 |
| F3 | 5,00 ± 0,01 | 19 ± 2,12 |
| F4 | 4,98 ± 0.01 | 22 ± 1,41 |
| A base de l'extrait de <i>D. kaki</i> | | |
| F1 | 5,21 ± 0 | 16 ± 1,41 |
| F2 | 5,17 ± 0,01 | 17,5 ± 1,41 |
| F3 | 5,14 ± 0,02 | 20 ± 1,41 |
| F4 | 5,09 ± 0,01 | 24 ± 1,41 |

Selon ce tableau nous constatons que les formulations analysées présentent un pH légèrement acide compris entre pH (4.82 à 5.24).

En ce qui concerne l'acidité, les formulations présentent une acidité titrable très importante. Selon BenahmedDjilali et *al.*, (2015), l'obtention d'un bon caillé obtenu à partir d'une coagulation enzymatique était observée à $\text{pH} \geq 5,2$ et qu'un résidu de coagulation acide sous l'action de bactéries lactiques était observée à $\text{pH} \leq 4,6$.

En se basant sur les deux critères du pH et de l'acidité, 4 formulations ont été retenues (Tableau XII) et la Figure 10.

Tableau XII : Les meilleures formulations de yaourts.

| Formulations | Types | pH à 20°C | Acidité (°D) |
|--------------|---|-------------|--------------|
| F1 | A base de poudre de <i>P. odora</i> | 4,82 ± 0,02 | 23 ± 1,41 |
| F2 | A base de poudre de <i>D. kaki</i> | 5,12 ± 0.01 | 23 ± 1,41 |
| F3 | A base de l'extrait de <i>P. odora</i> | 4,98 ± 0.01 | 22 ± 1,41 |
| F4 | A base de l'extrait de <i>D. kaki</i> | 5,09 ± 0,01 | 24 ± 1,41 |

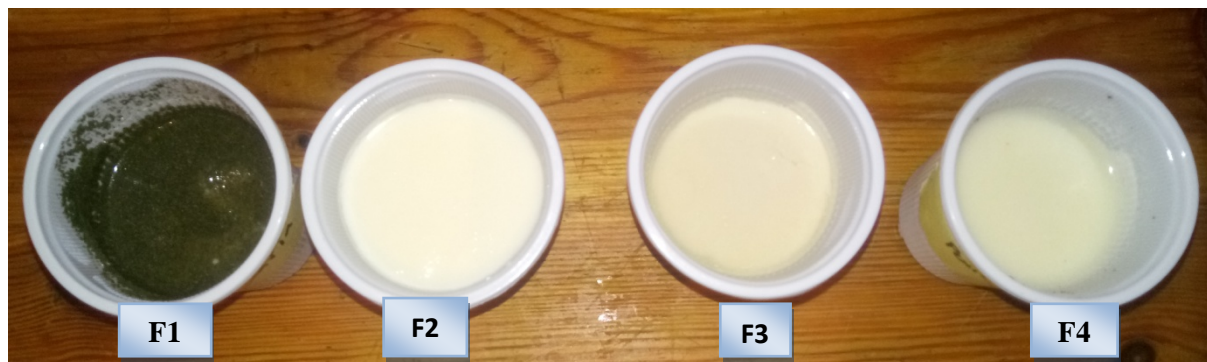


Figure 10 : Aspect des 4 meilleures formulations.

IV.7. Résultats d'analyse sensorielle des yaourts choisis

IV.7.1. Texture

Les résultats d'évaluation de la texture des yaourts sont illustrés par la figure 11.

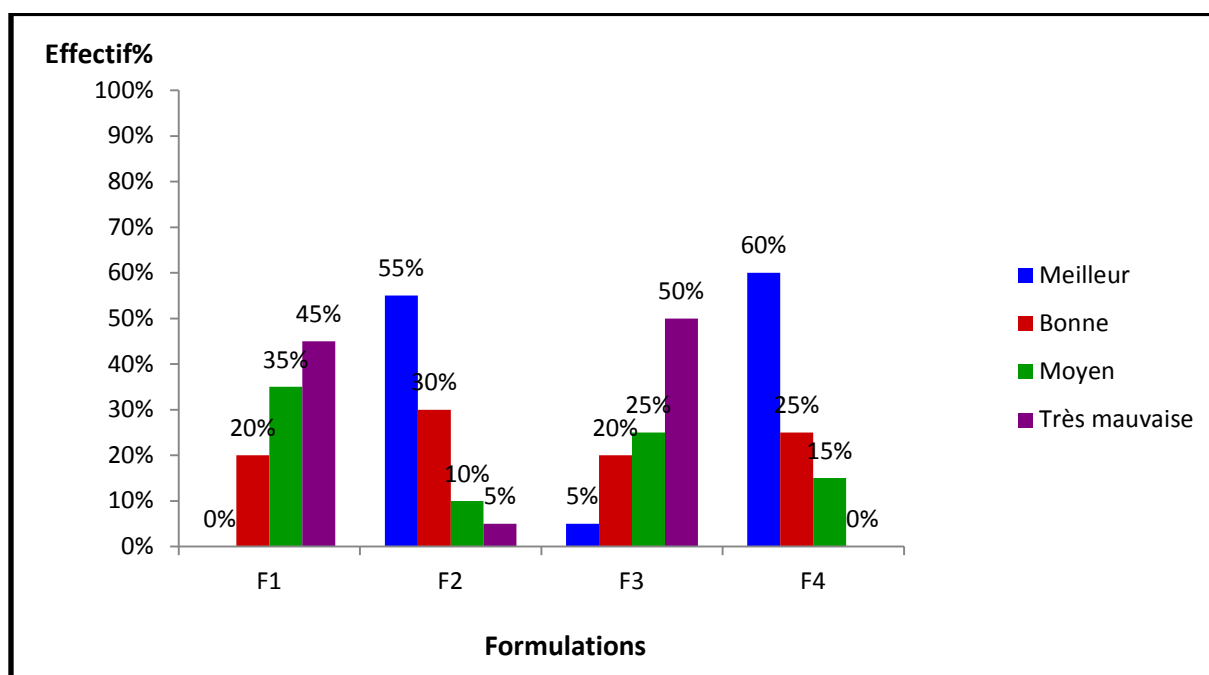


Figure 11 : Résultats de dégustation du point de vue texture.

D'après cette figure, nous remarquons que la formulation F4 est très appréciée par les dégustateurs de point de vue texture avec une fréquence de 60%. Le yaourt de cette formulation est un yaourt composé de l'extrait de plaquemine (*D.kaki*).

Du moment que le yaourt des formulations F1, F2, F3 possédant de la poudre *P.odora*, poudre de *D.kaki* et l'extrait de *D.kaki* sont appréciés avec une qualité acceptable.

Ceci peut s'expliquer par l'effet de notre plante et notre fruit sur le phénomène de coagulation.

IV.7.2. Goût

Le goût varie en fonctions des proportions d'ingrédients utilisés dans les différentes formulations. Les résultats relatifs aux goûts des formulations choisies sont mentionnés dans la Figure 12.

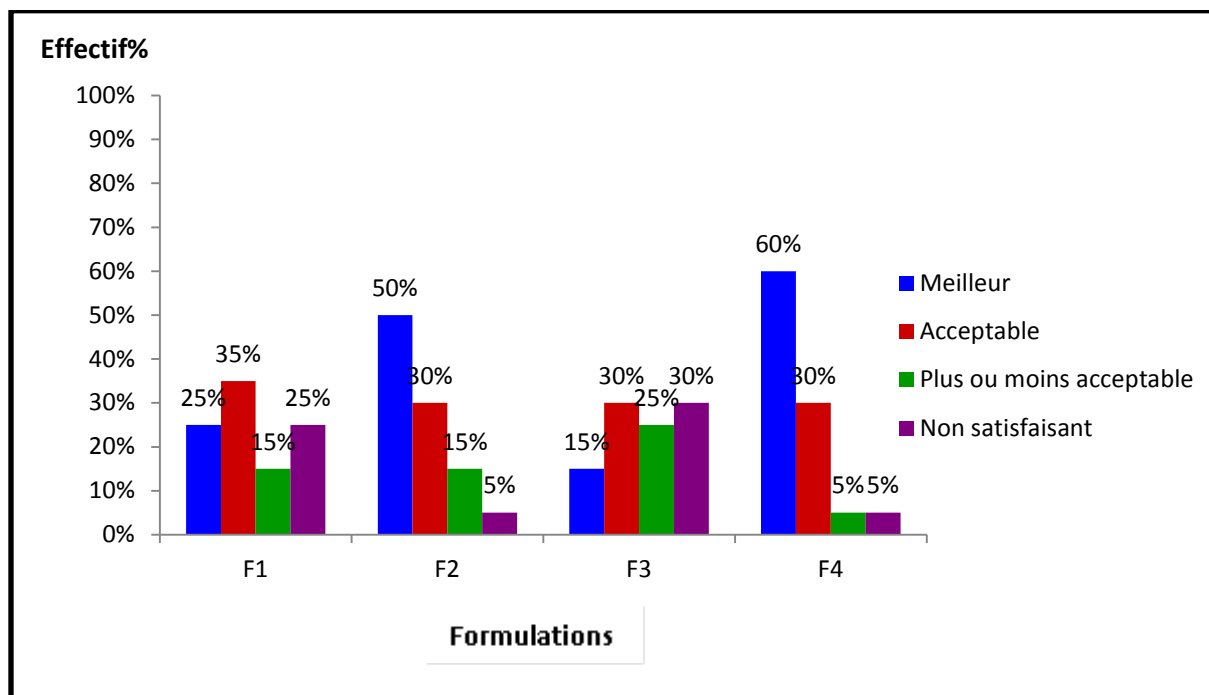


Figure 12 : Résultats du goût des formulations.

D'après cette figure, nous remarquons que les yaourts F2, F4 ont été appréciés par les dégustateurs 50%, 60%, en comparaison avec les formulations F1, F3. Ces yaourts possèdent de la poudre de *D.kaki* et l'extrait de *D.kaki* respectivement. Il y a lieu de signaler que le fruit de *D.kaki* est connu par ses propriétés organoleptiques, en comparaison avec la plante *P.odora* qui se caractérise par un goût légèrement amer.

D'après ces résultats, nous pouvons déduire qu'autant le pourcentage de la poudre et l'extrait de *D.kaki* est important, meilleurs goûts sont obtenus.

IV.7.3. Odeur

L'intensité de l'odeur des yaourts dépend des composés aromatiques constituant les ingrédients utilisés. Les résultats du test sensoriel concernant la qualité d'odeur des yaourts élaborés sont présentés dans la Figure 13.

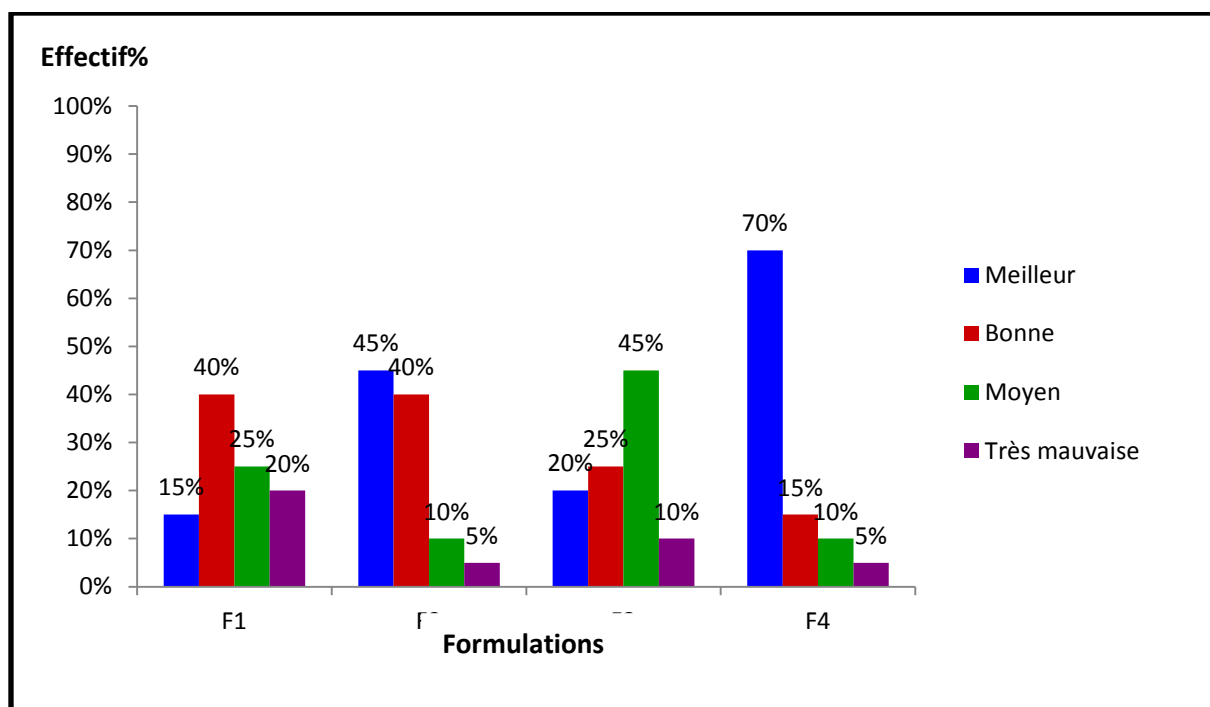


Figure 13 : Résultats de dégustation du point de vue odeur.

D'après la figure ci-dessus, on constate qu' 70% des dégustateurs jugent que la formulation F4 présente une odeur agréable, du fait que cette formulation est composée d'extrait de plaquemine ainsi que 45% jugent que la formulation F2 composée de la poudre de plaquemine est présentée une odeur agréable.

Le yaourt F1 composé de poudre de notre plante, présente une bonne odeur appréciée par le panel de dégustateurs avec une fréquence d'acceptabilité de 40%. Alors, que l'odeur de yaourt F4 est moins appréciée par le panel de dégustateurs avec une fréquence moyenne de 45%.

IV.7.4. Couleur

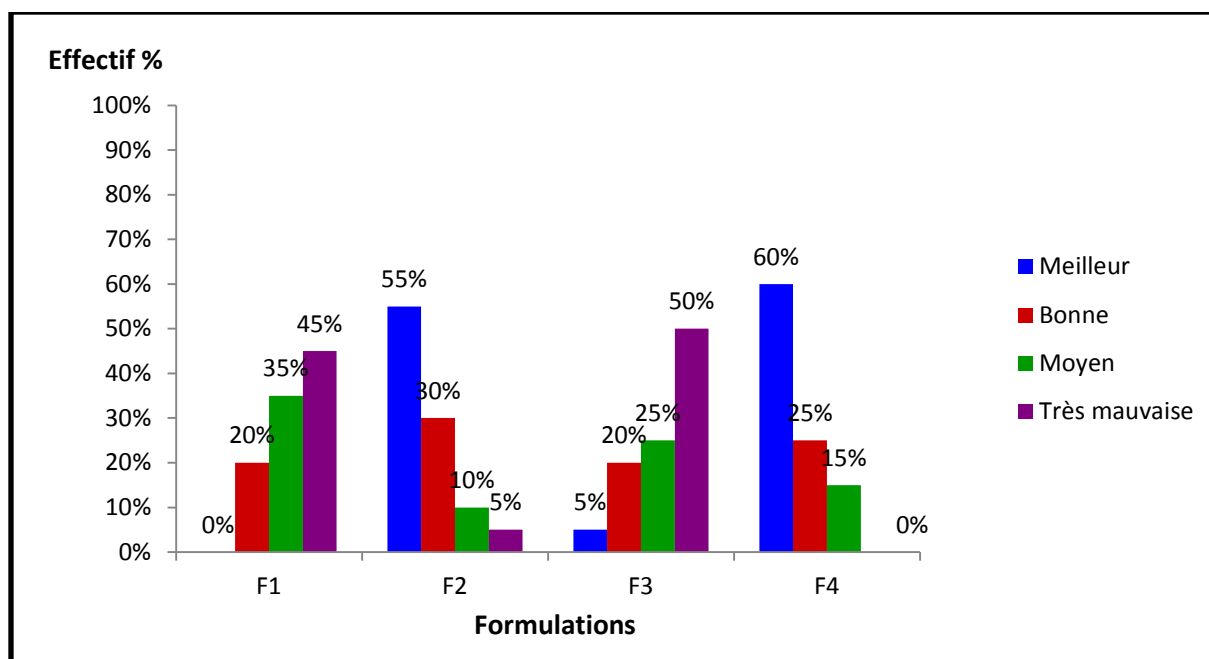


Figure 14 : Résultats de dégustation du point de vue couleur.

Les résultats obtenus montrent que, les formulations F2, F4 présentent une meilleure couleur bien appréciée par le panel de dégustateurs avec des fréquences (55%, 60%) respectivement.

Alors que les formulations F1, F3 ont une couleur non appréciée par les dégustateurs avec une qualité non satisfaisante (45%,50%).

IV.8. Résultats d'analyse statistique

Dans notre analyse statistique nous avons effectué une comparaison entre les quatre formulations que nous avons élaboré en utilisant les quatre excipients.

Yaourt 1 : à base de la poudre de *P.odora*.

Yaourt 2 : à base de la poudre de *D. kaki*.

Yaourt 3 : à base de l'extrait de *P.odora*.

Yaourt 4 : à base de l'extrait de *D. kaki*.

Nous avons utilisé les deux logiciels : Microsoft Office Excel et StatSoft.Statistica.v10.0. On a obtenu les résultats suivants :

Tableau XIII : Résultats d'analyse statistique du test sensoriel.

| Paramètres \ Pots | F1 | F2 | F3 | F4 |
|-------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| Texture | 4,725 ± 1,963 | 5,987 ± 1,918 | 4,775 ± 2,350 | 6,95 ± 1,831 |
| Odeur | 4,237 ± 2,055 | 6,512 ± 2,120 | 4,375 ± 1,955 | 7,062 ± 2,167 |
| Goût | 4,362 ± 2,300 | 6,562 ± 2,004 | 3,887 ± 2,341 | 6,687 ± 2,077 |
| Couleur | 2,737 ± 1,723 | 6,712 ± 2,109 | 2,912 ± 2,146 | 7,05 ± 1,605 |

IV.8.1. Texture

Les valeurs moyennes de la texture varient entre 4,725 à 6,95 ces valeurs sont représentées dans la Figure 15.

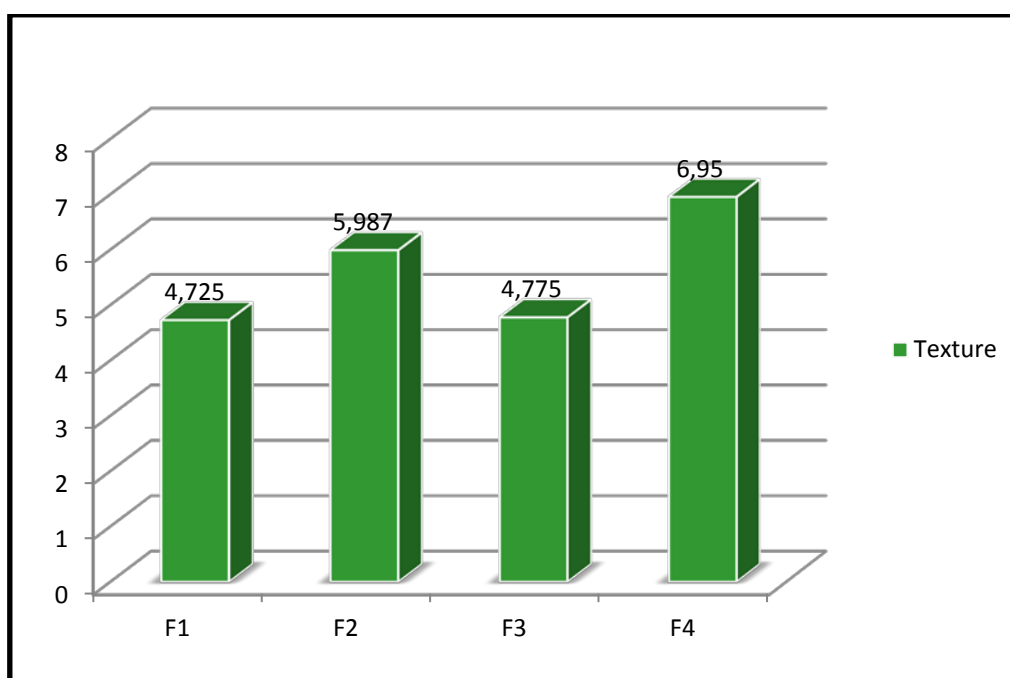


Figure 15 : Valeurs moyennes de la texture des yaourts.

L'analyse de la variance montre qu'il existe une différence hautement significative ($\rho = 0.001683 \leq 0.01$) entre les valeurs de la texture des différents yaourts.

Tableau XIV : Valeur de ρ -value pour la texture.

| Effect | Univariate Tests of Significance for texture (Spreadsheet1) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition | | | | |
|--------------|--|------------------|----------|----------|----------|
| | SS | Degr. of Freedom | MS | F | p |
| Intercept | 2517,207 | 1 | 2517,207 | 613,4423 | 0,000000 |
| formulations | 68,371 | 3 | 22,790 | 5,5540 | 0,001683 |
| Error | 311,859 | 76 | 4,103 | | |

Les résultats du test de NEWMAN-KEULS au seuil de signification représentés dans la Tableau ci-dessous confirment cette différence, ce test regroupe les yaourts ayant des moyennes plus ou moins proches entre elles.

De point de vue de texture les quatre yaourts sont repartis en deux groupes homogènes A et B regroupant les yaourts (F1-F3-F2) et (F2-F4) respectivement et un groupe intermédiaire A-B représenté par le yaourt F2 qui est proche des yaourts F3 et F4 à la fois.

Tableau XV : Résultats de comparaison entre les différents yaourts par le test de NEWMAN-KEULS au seuil de 5% de point de vue texture.

| Newman-Keuls test; variable texture (Spreadsheet1) | | | | | |
|--|--------------|--------------|------|------|--|
| Homogenous Groups, alpha = ,05000 | | | | | |
| Error: Between MS = 4,1034, df = 76,000 | | | | | |
| Cell No. | formulations | texture Mean | 1 | 2 | |
| 1 | yaourt1 | 4,725000 | **** | | |
| 3 | yaourt3 | 4,775000 | **** | | |
| 2 | yaourt2 | 5,987500 | **** | **** | |
| 4 | yaourt4 | 6,950000 | | **** | |

IV.8.2. Goût

Les valeurs moyennes de goût varient entre 3,887 à 6,687. Ces valeurs sont représentées dans la Figure 18.

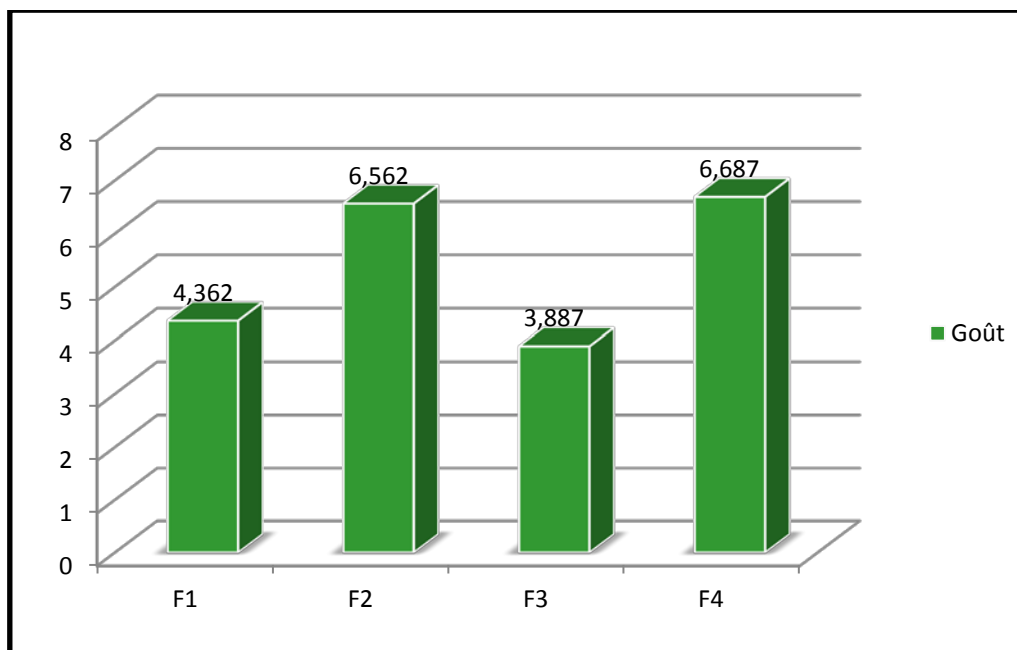


Figure 16 : Valeurs moyennes de goût des yaourts.

L'analyse de la variance montre qu'il existe une différence très hautement significative ($\rho = 0.000040 \leq 0.001$) entre les valeurs de goût des différents yaourts.

Tableau XVI : Valeur de ρ -value de goût des yaourts.

| Univariate Tests of Significance for gout (Spreadsheet4) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition | | | | | |
|---|----------|------------------|----------|----------|----------|
| Effect | SS | Degr. of Freedom | MS | F | p |
| Intercept | 2311,250 | 1 | 2311,250 | 483,7815 | 0,000000 |
| formulations | 127,413 | 3 | 42,471 | 8,8898 | 0,000040 |
| Error | 363,087 | 76 | 4,777 | | |

Les résultats du test de NEWMAN-KEULS au seuil de signification représentés dans la Tableau ci-dessous confirment une différence entre les yaourts de point de vue goût. Ce test permet de classer les yaourts ayant des moyennes plus ou moins proches entre elles.

De point de vue goût nous classons les quatre yaourts en deux groupes homogènes A (F3 et F1) et B (F2 et F4) possédant de goûts différents.

Tableau XVII : Résultats de comparaison entre les différents yaourts par le test de NEWMAN-KEULS au seuil de 5% de point de vue goût.

| Newman-Keuls test; variable gout (Spreadsheet4) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 4,7775, df = 76,000 | | | | | |
|---|--------------|-----------|------|------|--|
| Cell No. | formulations | gout Mean | 1 | 2 | |
| 3 | yaourt3 | 3,887500 | **** | | |
| 1 | yaourt1 | 4,362500 | **** | | |
| 2 | yaourt2 | 6,562500 | | **** | |
| 4 | yaourt4 | 6,687500 | | **** | |

IV.8.3. Odeur

Les valeurs moyennes de l'odeur varient entre 4,237 à 7,062 ces valeurs sont représentées dans Figure 21.

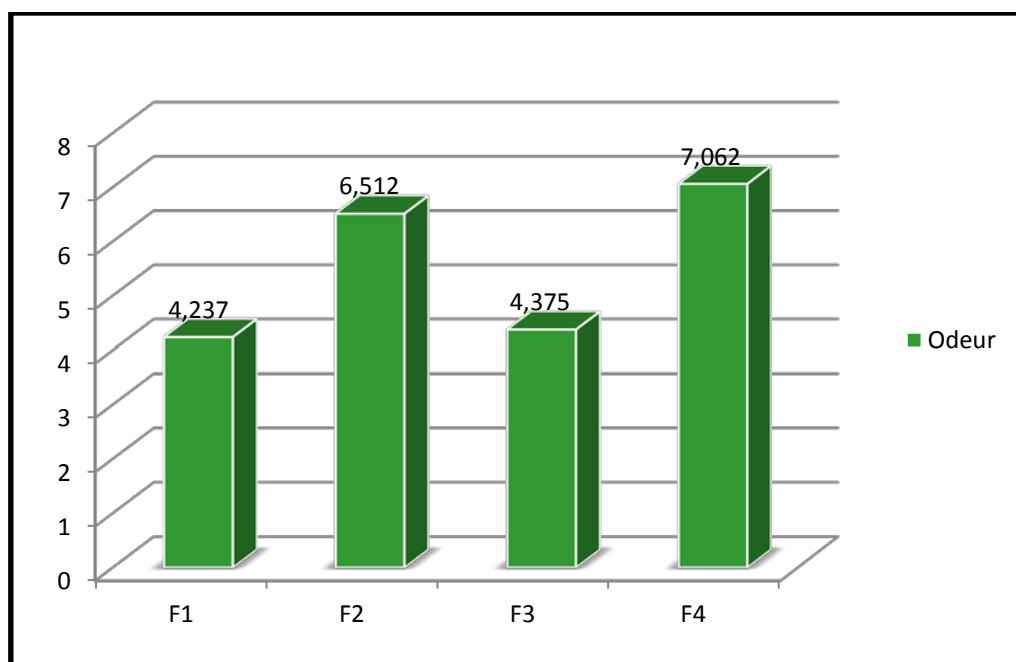


Figure 17: Valeurs moyennes de l’odeur des yaourts.

L’analyse de la variance montre qu’il existe une différence très hautement significative ($\rho = 0.000016 \leq 0.001$) entre les valeurs de l’odeur des différents yaourts.

Tableau XVIII : Valeur de ρ -value de l’odeur des yaourts.

| Univariate Tests of Significance for odeur (Spreadsheet1) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition | | | | | |
|--|----------|------------------|----------|----------|----------|
| Effect | SS | Degr. of Freedom | MS | F | p |
| Intercept | 2461,426 | 1 | 2461,426 | 570,9124 | 0,000000 |
| formulations | 126,346 | 3 | 42,115 | 9,7684 | 0,000016 |
| Error | 327,666 | 76 | 4,311 | | |

Les résultats de test de NEWMAN-KEULS au seuil de signification 5% représentés dans le Tableau N confirment une différence entre les quatre yaourts de point de vue odeur. Selon l’odeur, on classe les formulations en deux groupes homogènes A et B constitués respectivement des formulations (F1-F3) et (F2-F4).

Tableau XIX : Résultats de comparaison entre les différents yaourts par le test de NEWMAN-KEULS au seuil de 5% de point de vue odeur.

| Newman-Keuls test; variable odeur (Spreadsheet1) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 4,3114, df = 76,000 | | | | | |
|--|--------------|------------|------|------|--|
| Cell No. | formulations | odeur Mean | 1 | 2 | |
| 1 | yaourt1 | 4,237500 | **** | | |
| 3 | yaourt3 | 4,375000 | **** | | |
| 2 | yaourt2 | 6,512500 | | **** | |
| 4 | yaourt4 | 7,062500 | | **** | |

IV.8.4. Couleur

Les valeurs moyennes de la couleur varient entre 2,737 à 7,05 ces valeurs sont représentées dans la Figure 24.

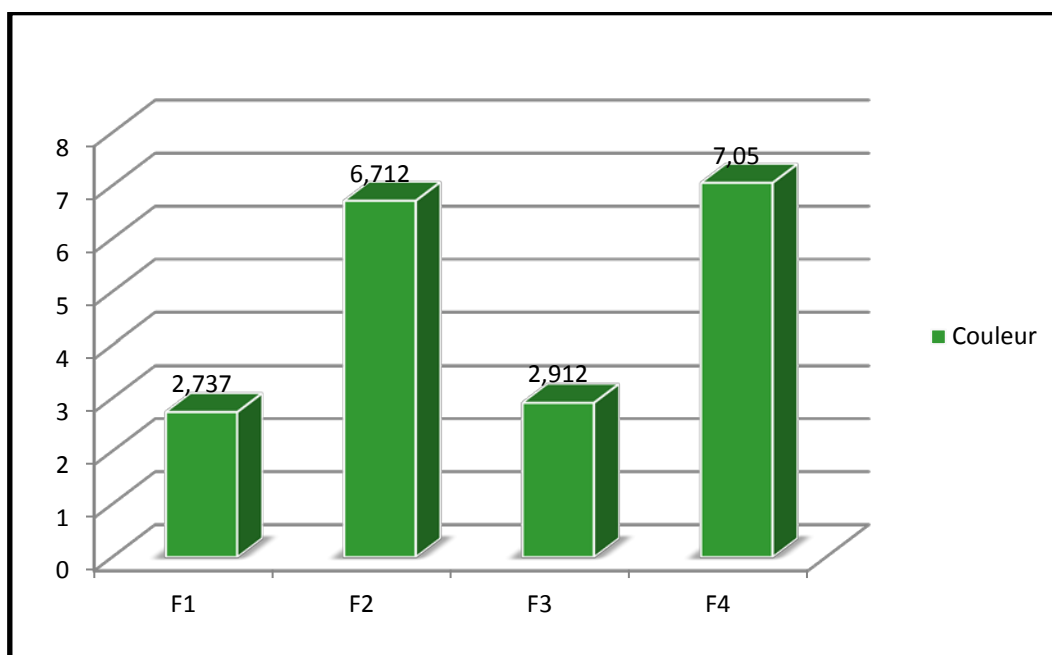


Figure 18: Valeurs moyennes de la couleur des yaourts.

L'analyse de la variance montre qu'il existe une différence très hautement significative ($\rho = 0.000000 \leq 0.001$) entre les valeurs de couleur des différents yaourts.

Tableau XX : Valeur de ρ -value de l'odeur des yaourts.

| Univariate Tests of Significance for couleur (Spreadsheet7) | | | | | |
|---|----------|------------------|----------|----------|----------|
| Sigma-restricted parameterization | | | | | |
| Effective hypothesis decomposition | | | | | |
| Effect | SS | Degr. of Freedom | MS | F | p |
| Intercept | 1884,226 | 1 | 1884,226 | 516,1274 | 0,000000 |
| formulations | 330,509 | 3 | 110,170 | 30,1777 | 0,000000 |
| Error | 277,453 | 76 | 3,651 | | |

Les résultats de test de NEWMAN-KEULS au seuil de signification 5% représentés dans le Tableau XXII confirment une différence entre les yaourts de point de vue couleur.

Selon la couleur les quatre yaourts sont repartis en deux groupes homogènes A et B regroupent respectivement les formulations (F1-F3) et (F2-F4).

Tableau XXI : Résultats de comparaison de couleur entre les différents yaourts par le test de NEWMAN-KEULS au seuil de 5%.

| Newman-Keuls test; variable couleur (Spreadsheet7) | | | | | |
|--|--------------|--------------|------|------|--|
| Homogenous Groups, alpha = ,05000 | | | | | |
| Error: Between MS = 3,6507, df = 76,000 | | | | | |
| Cell No. | formulations | couleur Mean | 1 | 2 | |
| 1 | yaourt1 | 2,737500 | **** | | |
| 3 | yaourt3 | 2,912500 | **** | | |
| 2 | yaourt2 | 6,712500 | | **** | |
| 4 | yaourt4 | 7,050000 | | **** | |

IV.9. Résultats d'analyse de la viscosité

Les résultats de la viscosité des 4 formulations élaborées et un yaourt de référence commercialisé (Danone : ASSIL), sont présentés dans la figure ci-dessous.

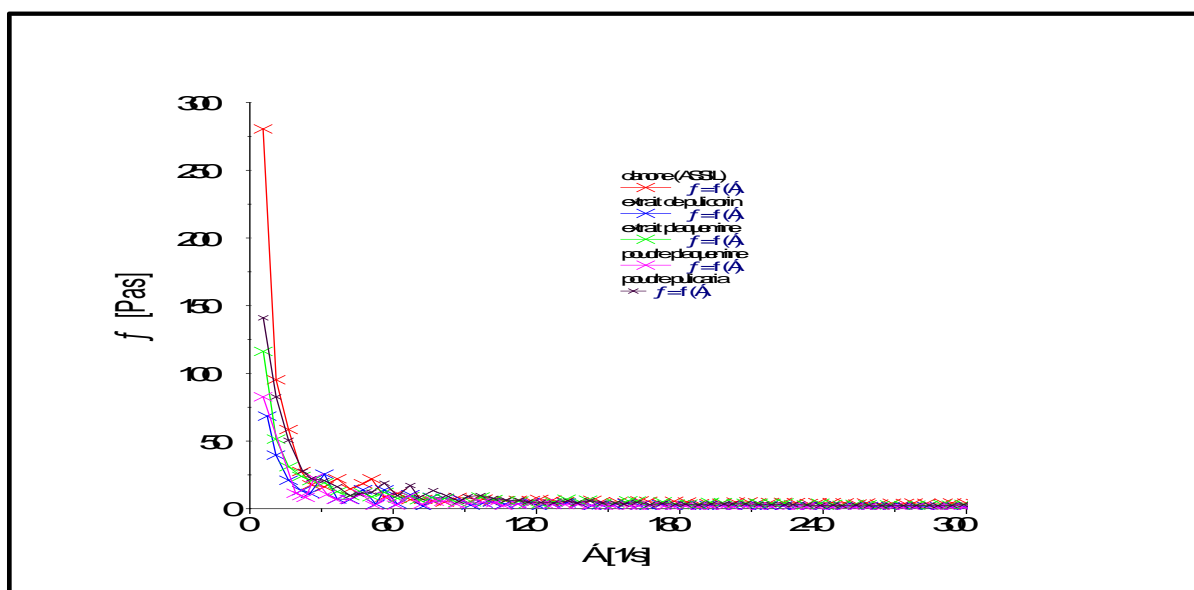


Figure 19 : Variation de la viscosité des yaourts en fonction du taux de cisaillement.

Nous constatons d'après les graphes obtenus que, les yaourts étudiés sont du type dit «rhéofluidifiant» car leurs viscosités diminuent lorsque le taux cisaillement augmente.

IV.10. Résultats d'analyse microbiologique

| Germes / Recherche yaourt | Coliformes totaux | Coliformes fécaux | Levure | Moisissures | <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>Salmonella</i> |
|---------------------------|-------------------|-------------------|--------|-------------|------------------------------|-------------------|
| F1 | 0 | 0 | Abs | Abs | 0 | Abs |
| F2 | 0 | 0 | Abs | Abs | 0 | Abs |
| F3 | 0 | 0 | Abs | Abs | 0 | Abs |
| F4 | 0 | 0 | Abs | Abs | 0 | Abs |
| Normes | 10/g | 1/g | 102/g | Abs/g | 10/g | Abs/25g |

Tableau XXII : Résultats des analyses microbiologiques des yaourts.

Les résultats de la recherche microbiologique des staphylocoques, des coliformes, des salmonelles et de levures et moisissures dans les yaourts sont révélés négatifs.

Ces résultats sont conformes aux normes de J.O.R.A (1998). Ceci est dû aux bonnes pratiques d'hygiène et au traitement appliqué. Ces résultats reflètent la qualité de la matière première utilisée lors de la fabrication du yaourt.

IV.11. Résultats du test de stabilité

Les résultats de l'évolution du pH et de l'acidité titrable en fonction du temps des yaourts élaborés sont présentés dans les Figures 20 et 21.

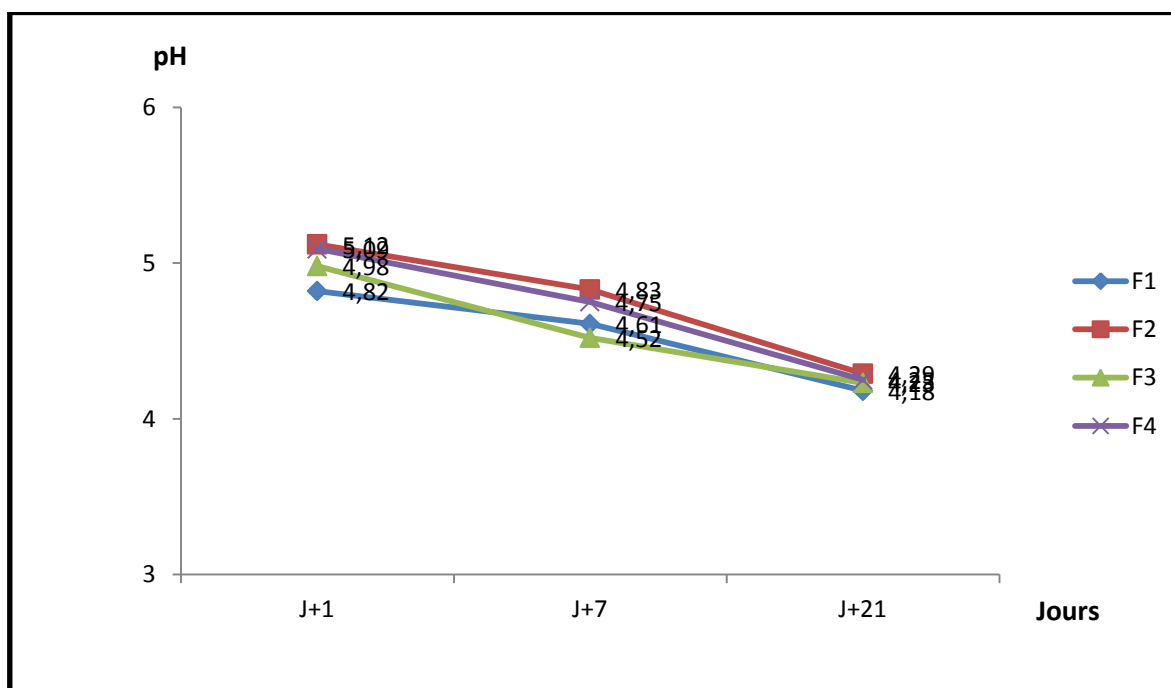


Figure 20 : Evolution de pH en fonction de temps durant 21 jours pour les yaourts élaborés.

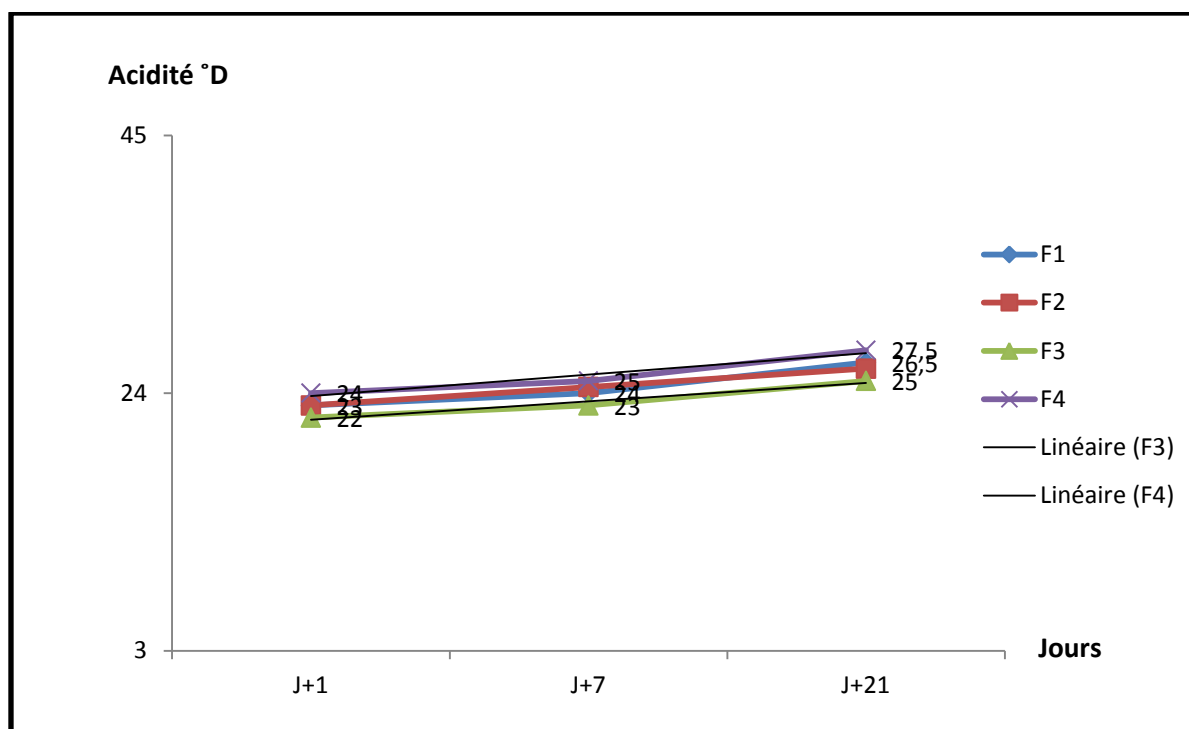


Figure 21 : Evolution de l'acidité titrable en fonction de temps durant 21 jours pour les yaourts élaborés.

Le pH des quatre types de yaourt (Fig. 20) diminue progressivement au cours de 21 jours de stockage. Cette diminution est due à la dégradation du lactose en acide lactique (Hassan et Amjad, 2010).

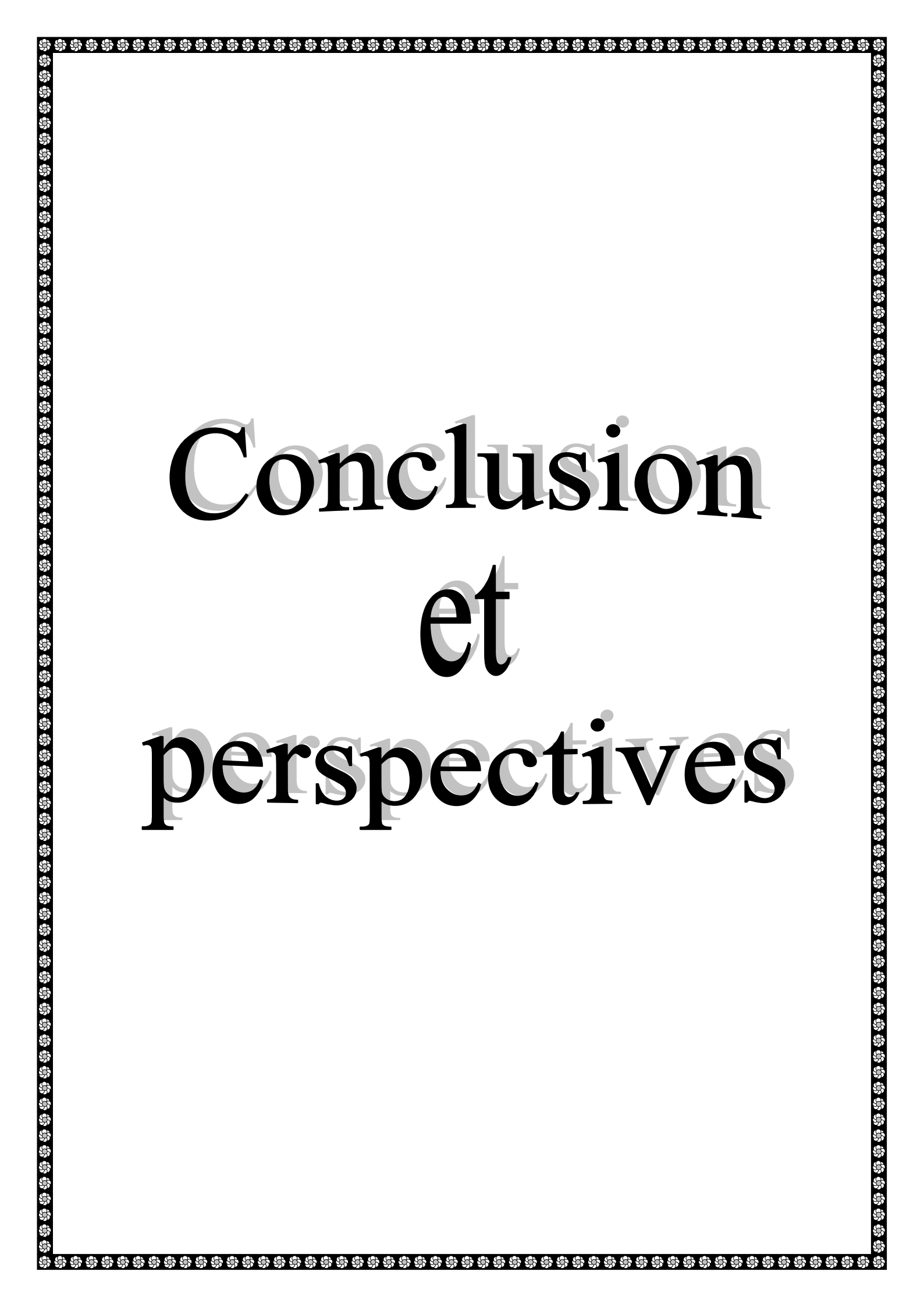
Une faible variation dans l'acidité des quatre types de yaourt a été constatée (Fig. 21) Al.Otaibi et El Demerdash (2008) et Silva et *al.*, (2014) ont trouvé que l'acidité titrable augmente progressivement pendant la période de stockage. Cette augmentation est principalement due aux bactéries lactiques qui continuent à transformer le lactose en acide lactique (Abdalla et Abdel Nabi, 2010).

Conclusion

En se basant sur les résultats physico-chimiques, organoleptiques et microbiologiques la formulation F 5 (Fig 22) préparée à base de poudre *Pulicaria odora* et l'extrait de plaquemine, est choisie comme meilleure formulation



Figure 22 : Aspect de yaourt aromatisé étuvé produit à base de la poudre de plante (*P.odora*) et l'extrait de plaquemine (*D.kaki*) (Photo personnel).



Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier sont riches en molécules bioactives à intérêts bénéfiques sur la santé humaine. Parmi ces plantes, *Pulicaria odora* est une plante utilisée traditionnellement pour leurs vertus thérapeutiques. A cet effet, plusieurs analyses de caractérisations ont été réalisées sur ses feuilles à savoir : l'analyse physicochimique, le dosage des composés phénoliques (polyphénols totaux et flavonoïdes) ainsi que leur effet antimicrobien.

Notre travail avait pour objectif de réaliser un essai d'élaboration d'un yaourt fonctionnel à base des feuilles de cette plante et de plaquemine, suivi d'une étude des propriétés physico-chimiques, microbiologiques et organoleptiques des produits obtenus.

Les analyses physico-chimiques révèlent que, les feuilles de *P. odora* sont riches en métabolites secondaires (polyphénols, flavonoïdes et tanins), reconnus pour leurs propriétés biologiques et thérapeutiques intéressantes.

Par ailleurs, l'étude de l'activité antimicrobienne montre que les extraits phénoliques (aqueux et éthanoïque) et l'extrait tannique de feuilles de cette plante présente un large spectre d'action sur les microorganismes pathogènes tel que (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Escherchia coli* ATCC 25322) avec de diamètres de zones d'inhibition (19 mm et 18 mm) et (17,5 mm 17 mm et 16,5) mm respectivement, ainsi qu'ils présentent une activité fongicide contre *Candida albicans* avec un diamètre de zone d'inhibition (21 mm, 22,5 mm et 14 mm).

L'ensemble des analyses physico-chimiques et microbiologiques et organoleptiques montrent que le yaourt préparé à base de plaquemine et la plante présente une qualité satisfaisante et répond aux critères des yaourts fonctionnels.

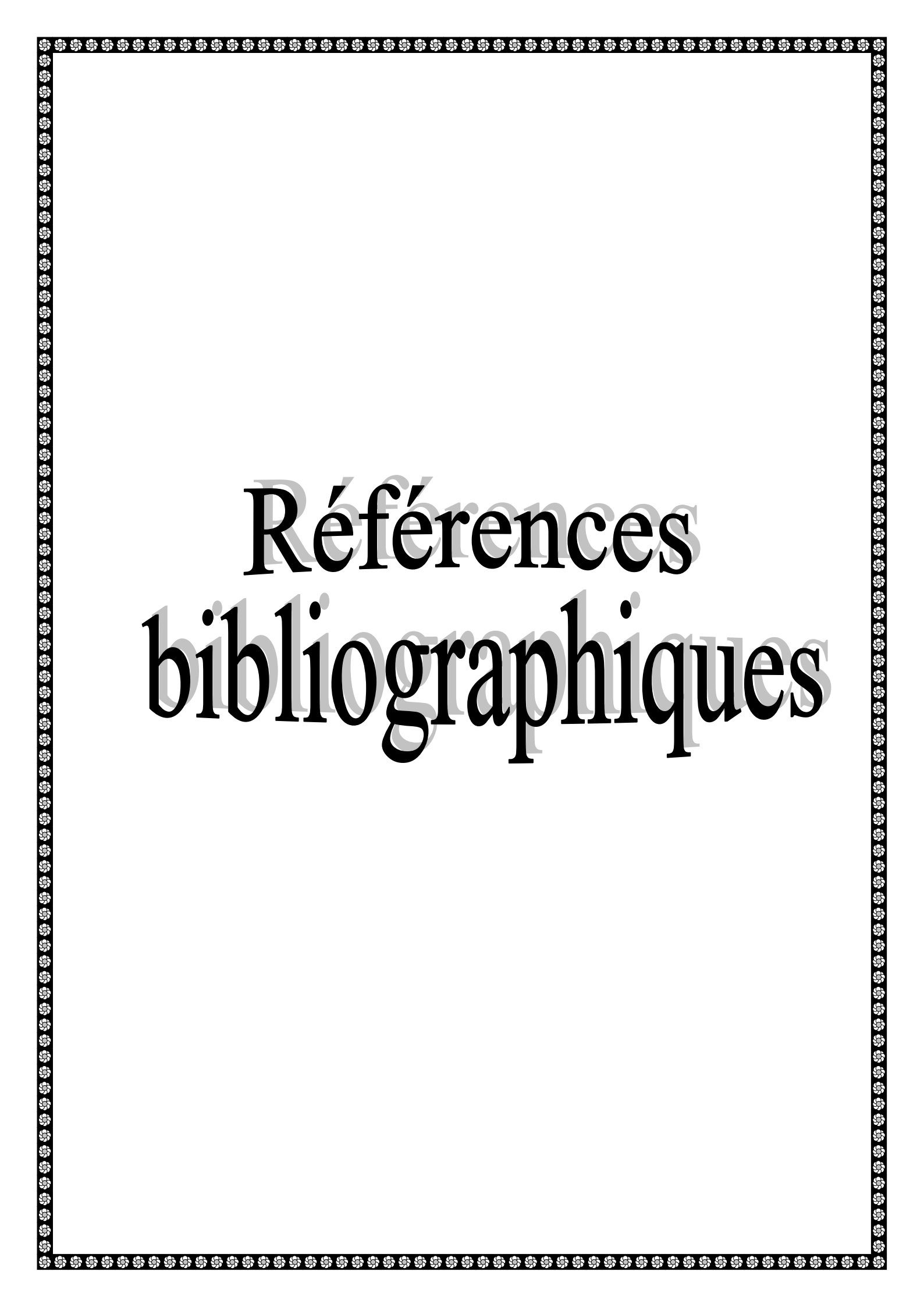
Perspectives

Les perspectives proposées sont résumées comme suit :

- ✓ Mieux évaluer le pouvoir antioxydant des extraits de cette plante, plusieurs tests doivent être appliqués sur d'autres parties de ses dernières afin de localiser la teneur maximale en polyphénols et d'autres métabolites secondaires ayant des effets intéressants ;
- ✓ Etudier l'effet d'autres paramètres d'extraction: granulométrie, extraction par épuisement, la variation du pH ;
- ✓ Tester d'autres méthodes d'extraction exemple : le soxhlet, la sonication, les microondes ;
- ✓ Elargir l'étude de l'activité antimicrobienne des extraits polyphénoliques sur d'autres espèces bactériennes pathogènes pour la santé humaine ;

Conclusion et perspectives

- ✓ Nombreuses analyses seraient nécessaires pour mieux connaître la valeur nutritionnelle de ce yaourt : valeur énergétique, matière sèche, protéines, lipides, glucides, minéraux.



Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

Abdel-Lateff. A; Konig. G. M; Fish.K. M, Holler. U; Jones. P. G; Wright. A. D. (2002). New antioxidant Hydroquinone Derivatives from the the Algicolous Marine Fungus *Acremonium* Sp. *Journal of Natural Products*,65. P 1605-1610.

Adiba BD, Akli O, Arezki D, Fatiha B, Fatiha B (2015). New Way to Develop Mixture of Lactic Leavens and Cardoon Flower Powder (*Cynaraca rdunculus*) in Producing Yoghurt: Approach to Immobilization. *J Plant Pathol Microb* 6: 282. doi:10.4172/2157-7471.1000282.

Adjtoutah D. et Boudraa H. (2012). Etude de la stabilité de Acti+ de SOUMMAM au cours de sa conservation et comparaison entre un Acti+ fabriqué avec la poudre du lait et un autre fabriqué à base du lait crû. Diplôme d'Ingénieur d'Etat en biologie. Option : Contrôle de Qualité et Analyse. Université Abderrahmane Mira, Béjaïa, Algérie. P7.

AFNOR. NF V 03-454. (1981). Dénombrement des levures et moisissures dans les épices et aromates.

AFNOR. (1986). Recueil des normes français. Lait et produits laitiers. Méthodes d'analyses.

Amiot J., Fournier S., Lebeuf Y., Paquin P., Simpson R. (2002). Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyses du lait. IN« science et technologie du lait». Tec et Doc LAVOISIER. P 73.

André Eck. (1975). Le lait et l'industrie laitière. Presses universitaires de France. P5.

Awen B.Z., Unnithan C.R., Ravi S., Lakshmanan A.J. (2010). GC-MS analysis, antibacterial activity and genotoxic property of *Erigeron mucronatus* essential oil. *Natural Product Communication*, 5. P 621-624.

B

Bahman N., Gholan reza A., Parivash G. (2002). Antimicrobial Activity of *Pulicaria dysenterica* L. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 1. P 31-32.

Beal C. et Sodini I. (2003). Fabrication des yaourts et des laits fermentés. Techniques de l'ingénieur, F6. P 315.

Beerens H. et Luquet F.M. (1987). Guide pratique d'analyse microbiologique des laits et produits laitiers. Paris : éd Technique et documentation –Lavoisier. P 144.

Références bibliographiques

- Bellakhdar J. (1997).** La pharmacopée traditionnelle marocaine. Ibis Press. P 764.
- Benahmed Djilali A. (2012).** Analyse des aptitudes technologiques de poudre de datte (*Phoenix-dactylifera.l*) améliorées par la spiruline. Etude des propriétés rhéologiques, nutritionnelles et antibactériennes. Thèse de doctorat, Université de Boumerdès.
- Benahmed Djilali A., Besombes C., Allaf K., Benseddik A., Benzehra A., Hadj Arab F. et Taleb D. (2018).** *Z.jujuba* and spirulina extracts as prebiotic to improve milk clotting and develop functional yoghurt. Exploring Microorganisms Recent Advances in Applied Microbiology.
- Benjelali B., Tantaoui E.A. et Esmaili-Alaoui M. (1986).** Méthodes d'études des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. Plante médicinales et Phytothérapie, 20. P 155-167.
- Benhouda A., yahia M. (2014).** Toxicity, analgesic and anti-pyretic activities of methanolic extract from *hyoscyamus albus*' leaves in albinos rats. International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences. Issn- 0975-1491 vol 6, issue 3.
- Boizot N. et Charpentier J-P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des groupes d'un arbre forestier. Cah. Tech. INRA. P 79-82.
- Bonnassieux. M. (1988).** Tous les fruits comestibles du monde, Bordas, Paris. P 208.
- Boudier J.F. (1990).** Produits frais, In laits et produits laitiers. Vache-brebis-chèvre. Luquet, F, M. (Ed), technique et documentation, Lavoisier, Paris. P 35-66.
- Boumaraf M., Mekkiou R., Benyahia S., Chalchat J.C., Chalard P., Benayache F., Benayache S., (2016).** Essential Oil Composition of *Pulicaria undulata* (L.) DC. (Asteraceae) Growing in Algeria, International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research; 8(5). P 746-749.
- Bourgeois C.M., Mescle J.F., et Zucca J. (1988).** Microbiologie alimentaire. Tome 1. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaires. Tech et Doc, Lavoisier, Paris. P 201.
- Bourgeois C.M., Mescle J.F., et Zucca J. (1996).** Microbiologie alimentaire. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaires. Edition Tech et Doc, Lavoisier, Tome 1. P 272-274.

Références bibliographiques

Brule G., Jeantet R. et Mahaut M. (2003). Introduccion a la Tecnologia Quesera (Spanish Edition) (Spanish) Paperback.

C

Carole et Vingola. (2002). Science et technologie du lait. Ecole polytechnique de Montréal. P 445.

CODEX ALIMENTARIUS. (1975) Normes n°A 11 (A).-Rome :FAO/OMS.p :86.

Corrieu G. et Luquet F.M. (2005). Bactéries lactiques et probiotiques. Editions Technique et Documentation, Lavoisier, Paris.

Cronquist A.J. (1988). The evaluation and classification of flowering plants, 2nd. Edit., New York, New York Bot.Garden. P 566.

D

De France. (1994). Le yaourt à pot. Les cahiers de l'Ocha 4 : P75

Desmazeud., Accolas J.P., Hermier J. (1996). Les laits fermentés d'origine animale. In « microbiologie alimentaire ». Tom 2. 2eme édition tec et doc LAVOISIER. P 317.

Djeridane A., Youdfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P., Vidal N. (2006). Antioxydant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds Food chemistry 97. P 654-660.

E

Emberger, L., Chadefaud, M. (1960). Traité De Botanique. Edition : Masson & Cie, Tome II, Paris. P 1540.

Enkelejda P. (2004). Interactions physico-chimiques et sensorielles dans le yaourt brassé aromatisé : quels impacts respectifs sur la perception de la texture et de la flaveur, thèse de doctorat en science des aliments. INSTITUT NATIONAL AGRONOMIQUE PARISGRIGNON.

Ezoubeiri A., Gadhi C.A., Fdil N., Benharref A., Jana M., Vanhaelen M. (2005). Isolation and antimicrobial activity of two phenolic compounds from *Pulicaria odora* L. Journal of Ethnopharmacology 99. P 287–292.

F

Références bibliographiques

FAO. (1995). Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine Collection FAO: Alimentation et nutrition n° 28 .ISBN 92-5-20534-6, chapitre 5.

Farkye N. Y et Imafidon G. I (1995). Thermal denaturation of indigenous milk enzymes. In Heat-induced changes in milk. Deuxième édition. Fox, P. H. (Ed), International Dairy Federation, Brussels. P 331-345.

Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N ., Trabelsi N ., Boulaaba M ., Abdelly C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities *Comptes Rendus. Biologies* 331:372–37.

Frederikson. (1996). Fonction et choix des bactéries lactiques en technologie alimentaire. In «bactéries lactiques». Ed. Enrico. P 41-49.

J

Jakopic J., Vebric R. et Stampar F. (2009). Extraction of phenolic compounds from green walnut fruits in different solvents. *Acta. Agri. Slov.*, 93(1). P 11-15.

Jeanet R., Crogenec T., Mahaut M., Schuck P. et Brule G. (2008). Les produits laitiers. Technique et Documentation, 2^{ème} édition, Lavoisier, Paris. P 24,25, 185.

JORA. (1998). Arrêté interministériel du 16 Joumada Ethania 1419 correspondant au 7 octobre 1998 aux spécifications techniques des yaourts et aux modalités de leur mis à la consommation. Articles 2, 3 et 4.

J.O.R.A N°35. (1998). Journal Officiel de la République Algérienne, lait et produit laitiers.

Juntachote T., Berghofer E., Siebenhdh S. et Bauer F. (2006). The antioxidative properties of Holy basil and Glangal in cooked ground pork; in «Préparation et incorporation dans la margarine d'un extrait de date des variétés sèches». Thèse de Magister, Université de Boumerdes.

H

Hamel T. et Meddad-Hamza A. (2016). Note sur les Orchidées de la péninsule de l'Edough (Nord-Est algérien). *L'Orchidophile*, 211 (4). 79-86.

Hanbali, F., Akssira, M., Ezoubeyri, A., Chemseddoha, A., Gadhi, F. M., Benherraf, A., Blazquez, A.M. and Boira, H. (2005) .Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Pulicaria odora* L. *Journal of Ethnopharmacology*,99. P 399–401.

Références bibliographiques

Hashim El- kamali H., Al Tayeb Mahjoub S. (2009). Antibacterial Activity of *Francoeuria crispa*, *Pulicaria undulate*, *Ziziphus spina-Christi* and *Cucurbita pepo* Against Seven Standard Pathogenic Bacteria. *Ethnobotanical Leaflets*, 13. P 722-733.

I

Izquierdo-Alegre E. (2009). Les protéines bactériennes en tant que bio-marqueurs de l'activité probiotique. Thèse de Doctorat en chimie analytique. L'Université de Strasbourg, France, P 215.

G

Generalic, I., Skroza, D., Surjaka, J., Mozinab, S.S., Ljubenkovic, I., Katalinic, A., Simate, V. and Katalinic, V. (2012). Seasonal Variations of Phenolic Compounds and Biological Properties in Sage (*Salvia officinalis* L.). *Chemistry & Biodiversity*, 9. P 441-456.

Gherib M., Chahrazed B., El HACI Abdelhamid I., Chaouche T. M., Atik-Bekkara F. (2016). Antioxidant and Antibacterial of Aerial Part Essential Oil and Some Organic Extracts From The Algerian Medicinal Plant *Pulicaria mauritanica* coss. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 7(1). P 76-84.

Guiraud JP. (2003). *Microbiologie Alimentaire*. Edition : Dunod. Paris. P 258.

Guler-Akin Mb, Goncu B and Akin MS (2016). Some Properties of Probiotic Yoghurt Ice Cream Supplemented with Carob Extract and Whey Powder. *Advances in Microbiology* 6, 1010-1020.

L

Labioui H., Elmoualdi L., El Yachioui M., Ouhssine M. (2005) sélection des souches de bactéries lactiques antibactériennes. *bull-Paci Kora*, E. 2004. Interaction physicochimiques et sensorielles dans le yaourt brassé aromatisé : quels impacts respectifs sur la perception de la texture et de la flaveur ? Thèse de doctorat de l'institut national agronomique de Paris-Grignon, science des aliments, 258pl. *Sac. Pharm. Bardeaux*. P 237-250.

Lee K., Kim Y. J., Lee C. Y. (2003). Cacao has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Food Chemistry*, 51. P 7292-7295.

Lewis k., Ausubel FM. (2006). Prospects for plant derived antibacteriel. *Nature Biotechnology*, 24. P 1504-1507.

Références bibliographiques

Loones A. (1994). Lait fermenté par les bactéries lactiques. In «bactéries lactiques». Volume 2. Edition, Loriga, Paris. P 37-151.

Luquet F.M (1990). Les produits laitiers : Vache. Brebis. Chèvre. Techniques et Documentation, 2^{ème} édition, Lavoisier, Paris. P 43-57.

M

Madi A. (2010). Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magister. P 116.

Mahaut M., Jeantet R., Brule G et Schuck P. (2000). Les produits industriels laitiers. Editions technique et documentation, Lavoisier, Paris. P 31, 35, 37.

Mahaut M., Jeantet R., Brule G et Schuck P. (2005). Les produits industriels laitiers. Ed : Tec et Doc ; Lavoisier. France, P 1-40.

Magalhaes LM, Segundo MA, Reis S, Lima JLFC. (2006). Automatic method for determination of total antioxidant capacity using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl assay. Anal Chim Acta; 558. P 310-318.

Marty-Teyssset C. De La Torre F and Garel J-R. (2000). Increasead production of hydrogen peroxide by *lactobacillus delbruekii ssp bulgaricus* upon aeration: involvement. *Applied and environmental microbiology*, 66(1). P 262-297.

Mbaye Dieng M. (2007). Etude phytochimique et activité antifongique des feuilles de *Borassus aethiopum* Mart (Arecaceae). Mémoire de Maîtrise en Sciences naturelles. Faculté des Sciences et techniques. DEA de Chimie et Biochimie des produits naturels. Université Cheikh Anta Diop de Dakar. 69. P 41-42.

Mc Sweeney P L H. et Sousa M J. (2000). Biochemical pathways for the production of flavor compounds in cheese during ripening. Lait 80. P 293-324.

Montagnac. P. (1960). Cultures fruitières à Madagascar, Tome I, Institut de Recherches Agronomiques à Madagascar, document numéro 9. P 146.

Mouedden N.R. (2009) stimulation d'un plan HACCP au niveau de la chaine de fabrication du yaourt pour la mise en place d'un plan assurance qualité Cas laiterie yaourtière DAHRA. *Mémoire de magister*. Université d'Oran.

Références bibliographiques

N

Nagai, T., Makino, S., Ikegami, S., Itoh, H., Yamada, H. (2011). Effects of oral administration of yogurt fermented with *Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus* OLL1073R-1 and its exopolysaccharides against influenza virus infection in mice. *International Immunopharmacology* 11. P 2246-2250.

Nakasaki, K., Yanagisawa, M., Kobayashi, K. (2008). Microbiological quality of fermented milk produced by repeated-batch culture. *Journal of Bioscience and bioengineering*, 105(1). P 73,76.

NF V08-057, (2004). Microbiologie des aliments. Méthode de routine pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive par comptage des colonies à 37 °C - Partie 1 : technique avec confirmation des colonies.

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

P

Parejo I., Viladomat F., Bastida J., Rosas-Romero A., Saavedra G., Murcia M. A., Jiménez A. M., Codina C. (2003). Investigation of Bolivian plant extracts for their radical scavenging activity and antioxidant activity, *Life Sciences* 73. P 1667-1681.

Pascal (1998). Les produits laitiers de culture in «Manuel de transformation du lait ». P 241-262.

Ponce A.G., Fritz R., Delvalle C. et Rouba S.I. (2003). Antimicrobiol activity of essential oils on the native microflora of organic swiss chard. *Lebensmittel-wissenschaft und technologie*, 36. P 679-684.

Pougheon S. (2001). contribution à l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière .thèse de doctorat spécialité vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE. P 102.

Poznanski S., Lenoir J., Mocquot G. (1965).La protéolyse de la caséine par les enzymes intracellulaires de certaines bactéries. *Lait*. P 26.

R

Références bibliographiques

Rameau J.C., Mansion D., Dumé G., Gauberville C. (2008). Flore forestière française. Tome II, Région méditerranéenne. P 2419.

Revilla E., Ryan J.M., Martin-Ortega G. (1998). Comparison of several procedures used for the extraction anthocyanins from red grapes. *Journal of agricultural and Food chemistry* 46. P 4592-4597.

Rohman, A., Riyanto, S., Yuniarti, N., Saputra, W.R., Utami, R et Mulatsih, W. (2010). Antioxidant activity, total phenolic, and total flavaonoid of extracts and fractions of red fruit (Pandanuscoideus Lam). *International Food Research Journal*, 17. P 97-106.

Roubaudi L. (2011). Compte rendu de la section botanique dans les îles d'hygères du 14 au 16 mai 2011. In *Bulletin mensuel de la société linnéenne de lyon*, 80 (9-10). P 227-238.

S

Santoyo S., Rodríguez-Meizoso I., Cifuentes A., Jaime L. et al. García B., Reina F.J., Señorans E. et Ibáñez. (2009). Green processes based on the extraction with pressurized fluids to obtain potent antimicrobials from *Haematococcus pluvialis* microalgae. P 1213-1218.

Schmidt J.L., Tourneur C et Lenoir J. (1994). Fonction et choix des bactéries lactiques laitières in «bactéries lactiques». DE ROISSART H. et LUQUET F.M. *Ed. Lorica*, paris.2. P 37-46.

Shahidi F., Janitha P.K., et Wanasundara P. (1992). Phenolic Antioxidants. *Critical reviews in food science and Nutrition*. 32. P 67-102.

T

Tamime A.Y et Deeth H.C (1980). Yoghurt: technology and biochemistry. *Journal of Food protection* Vol. 43, No.12, P 939-977.

Terre, S., (1986). Propriétés technologiques, nutritionnelles et physiologiques. *Streptococcus thermophilus et Lactobacillus bulgaricus*. *Techniques Laitière et Marketing*, 1008. P 26-36.

V

Références bibliographiques

Vauzour D., Rodriguez-mateos A., Ccorona G., Oruna-concha M.J., Spencer J.P.E. (2010). Polyphenols and human health: prevention oldisease and mechanisms 01 action. *Nutrients*, 2, (11), 1106-1131.

Veissyre, R., (1979). Technologie du lait. Edition : la maison Rustique. P 331-332.

Vignola L. (2002). Science et technologie du lait. Edition Ecole polytechnique. Montréal. P600.

W

Walters S., Judd Christopher S., Campbell Elizabeth A., Kellogg, Peter stevens. (2002). Botanique systématique : Une perspective systématique. de boeck supérieur.France . P 467.

Z

Zourrari A. et Desmazeaud M.J. (1991). Caractérisation de bactéries lactiques thermophiles isolées de yaourts artisanaux grecs. II. Souches de *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* et cultures mixtes avec *streptococcus salivarius subsp thermophilus*. *Lait*, 71. P 463-482.

Zuang H., (1988). Nouvelles espèces fruitières n°12, Edition Centre Technique Interprofessionnel des Fruits et Légumes. P 105-108.

Site internet :

ANONYME. (2017). Flora nel salento e..... anche altrouve. <http://floranelsalento.blogspot.com/2012/05/pulicaria-odora-l-rchb-asteraceae.html>, (page consultée le 15.07.2018).

Botanica. (2011). Pulicaria odora L (eFlore, la flore électronique de Tela Botanica). www.tela-botanica.org. (page consultée le 15.07.2018).

Souci., Fachmann et Kraut «Composition des aliments » ; « Fruits exotiques » (1993); « Minéraux » (1996) – Regal, (1995), Répertoire général des aliments, in line www.aprifel.com. Le site des Fruits et Légumes Frais et de la Santé, date de consultation : 20 août 2018.

Annexes

Liste des Annexes

Annexe 1

Verreries et appareillage

| Appareillage | Verrerie et autres matériel |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> - Agitateur ; - Autoclave de paillasse (WEBECO) ; - Bain marie (MEMMERT) ; - Balance de précision 0.001g (KERN 770) ; - Dessiccateur ; - Etuve (MEMMERT) ; - Four à moufle (NABERTHERM) ; - Plaque chauffante (RYPA) ; - pH-mètre (INOLAB) ; - Réfrigérateur ; - Spectrophotomètre visible (EV 9200) ; - Viscosimètre (Rhéomètre AR2000, Système cône / plan, Géométrie 40/2°). | <ul style="list-style-type: none"> - Anse à boucle ; - Boîtes de pétri en plastique à 90 mm de diamètre ; - Couton ; - Ecouvillon ; - Entonnoir ; - Erlen-Meyers ; - Eprouvettes graduées ; - Flacons stériles ; - Micropipettes (de 10µl à 1000µl) ; - Papier aluminium ; - Tubes à essai stériles ; - Papier wattman. |

Tableau I : Appareillage, verrerie et autres matériel utilisés

Annexe 2

Résultats du certains paramètres physicochimiques des feuilles de la plante étudiée.




| Les sucres totaux | Les sucres réducteurs | L'acide ascorbique |
|---|---|---|
|  |  |  |

Figure 1 : aspect du dosage du certains paramètres physicochimiques.

Annexe 3

Courbe d'étalonnage du dosage des polyphénols totaux

❖ Préparation de la gamme étalon

Une courbe d'étalonnage est préparée à partir de la solution mère (SM) 0,01g/ml, on prépare des dilutions allant de 10 à 100mg/ml selon le tableau suivant :

Liste des Annexes

| | | | | | | | | | | | |
|--------------------------|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|
| Concentration mg/ml | 0 | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Volume SM (μ l) | 0 | 100 | 200 | 300 | 400 | 500 | 600 | 700 | 800 | 900 | 1000 |
| Volume E.D (μ l) | 1000 | 900 | 800 | 700 | 600 | 500 | 400 | 300 | 200 | 100 | 0 |

Tableau II : Préparation des dilutions d'acide gallique.

Ensuite chaque dilution est traitée selon le protocole décrit par la figure ci-dessous :

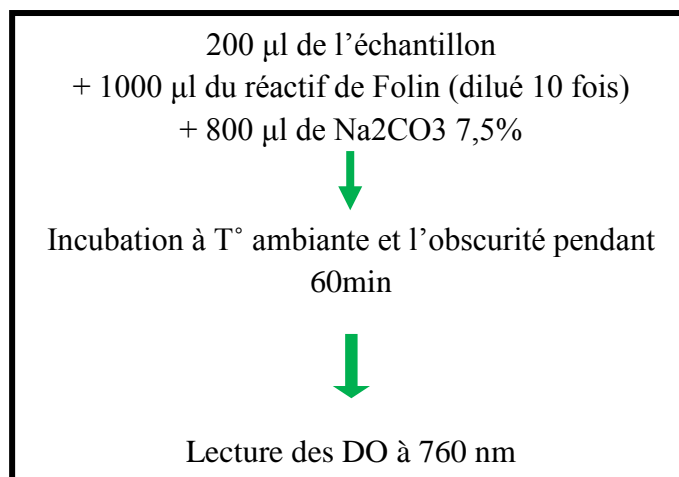


Figure 2 : protocoles de dosage d'acide gallique.

❖ Résultats

| Concentrations Mg/ml | 0 | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
|-------------------------|---|-------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Do | 0 | 0,105 | 0,21 | 0,321 | 0,435 | 0,548 | 0,664 | 0,792 | 0,899 | 1,022 | 1,116 |

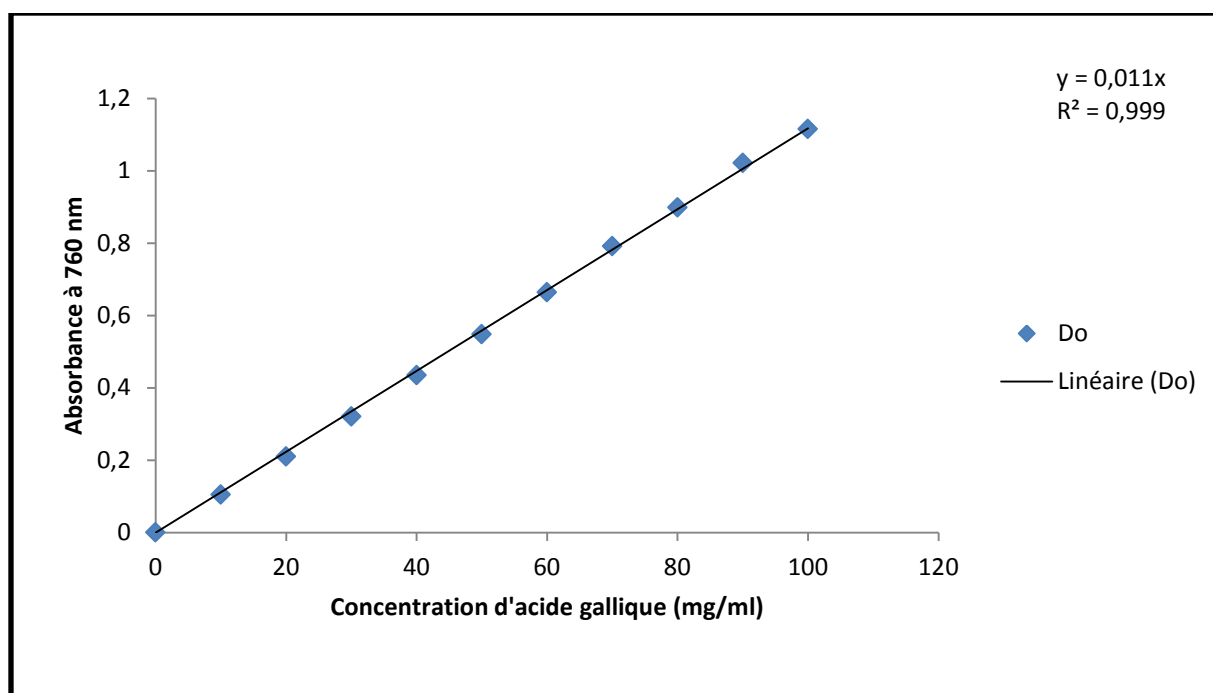


Figure 3 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des PPT en équivalent d'acide gallique.

Liste des Annexes

Courbe d'étalonnage du dosage des flavonoïdes

❖ Préparation de la gamme étalon

Une courbe d'étalonnage est préparée à partir de la solution mère (SM) 0,2mg/ml de méthanol, on prépare des dilutions allant de 0,02 à 0,12mg/ml selon le tableau suivant :

| | | | | | | | |
|----------------------|------|------|------|------|------|------|------|
| Concentration mg/ml | 0 | 0,02 | 0,04 | 0,06 | 0,08 | 0,1 | 0,12 |
| Volume SM (µl) | 0 | 200 | 400 | 600 | 800 | 1000 | 1200 |
| Volume méthanol (µl) | 2000 | 1800 | 1600 | 1400 | 1200 | 1000 | 800 |

Tableau III : Préparation des dilutions de la quercétine.

Ensuite chaque dilution est traitée selon le protocole décrit par la figure ci-dessous :

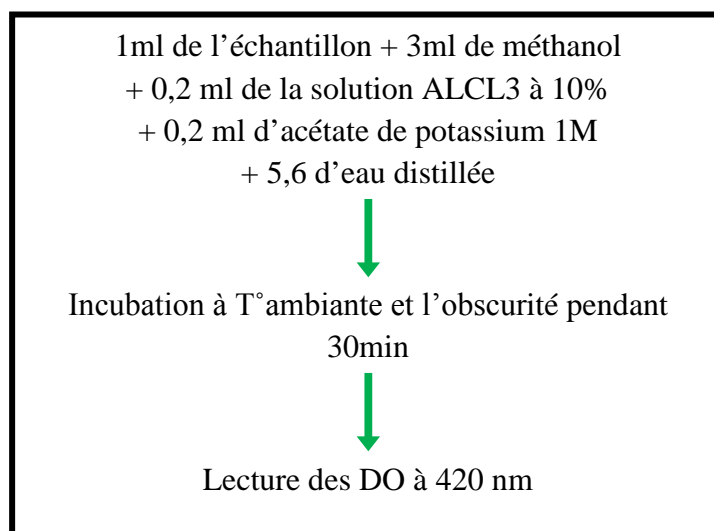


Figure 4 : Protocoles de dosage de la quercétine.

❖ Résultats

| | | | | | | | |
|----------------------|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Concentrations Mg/ml | 0 | 0,02 | 0,04 | 0,06 | 0,08 | 0,1 | 0,12 |
| Do | 0 | 0,085 | 0,172 | 0,269 | 0,358 | 0,429 | 0,568 |

Liste des Annexes

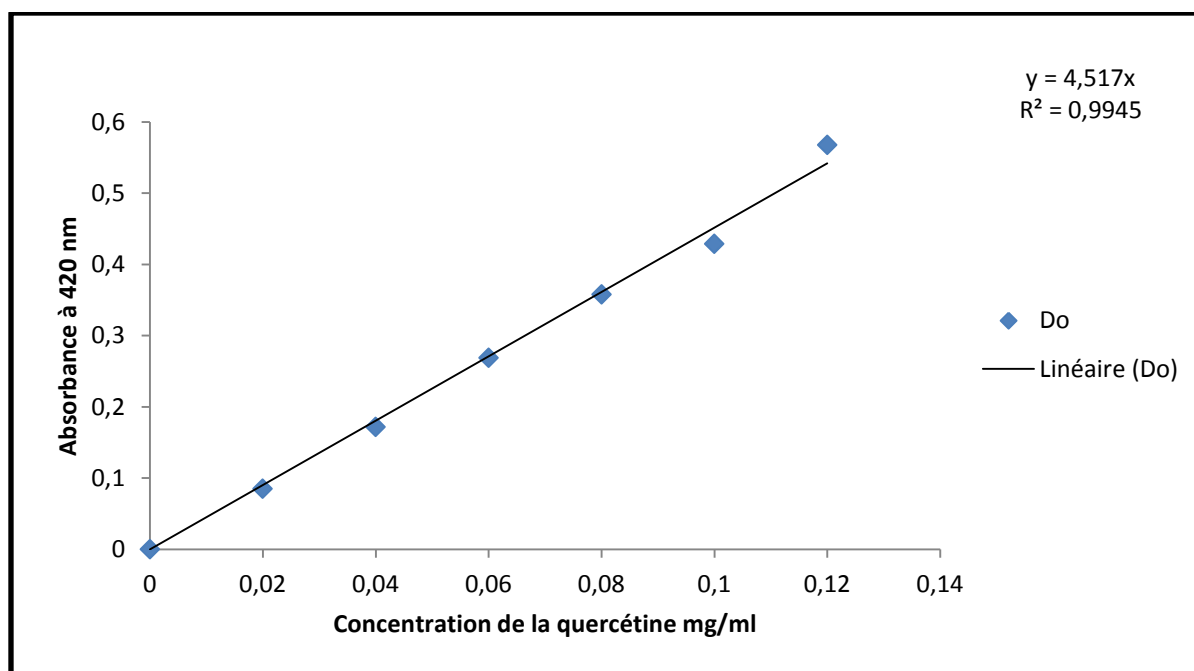


Figure 5 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes en équivalent de quercétine.

Annexe 4

Les zones d'inhibition des différentes souches testées

| Microorganismes Testés | Extraits phénoliques | |
|------------------------------|----------------------|--------------------|
| | Extrait aqueux | Extrait éthanoïque |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | | |
| <i>Escherichia Coli</i> | | |

Liste des Annexes

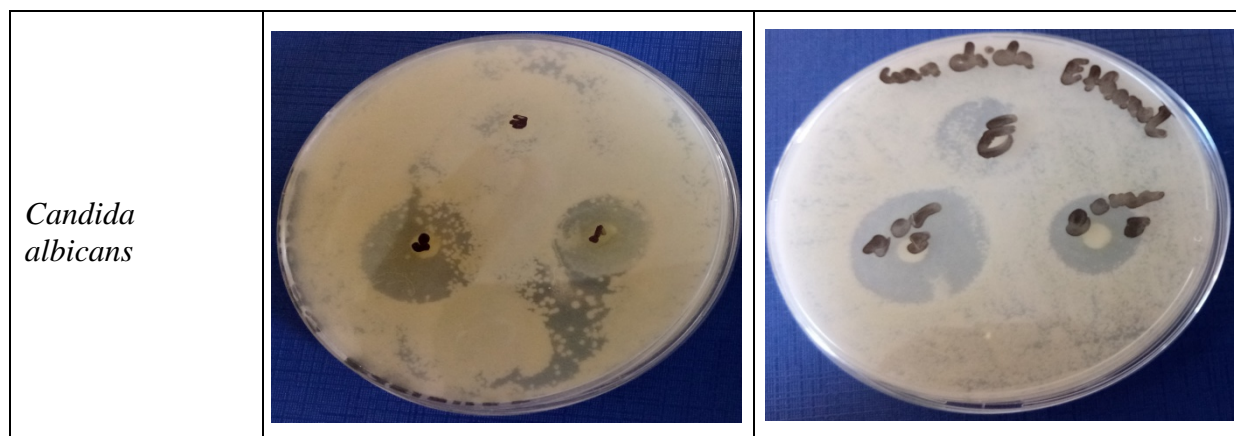


Tableau IV : Zones d'inhibition des souches microbiennes testées.

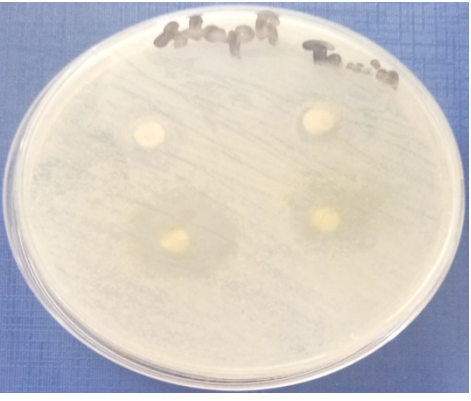
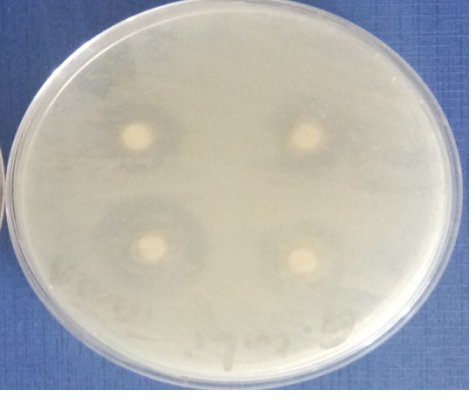
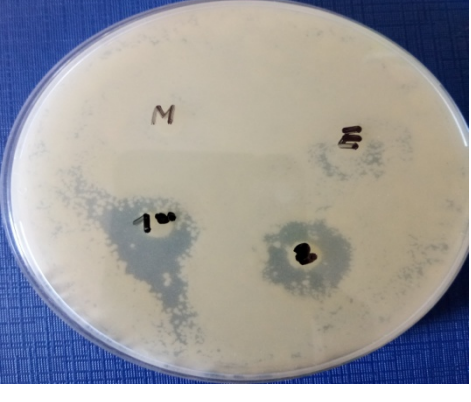
| Microorganismes testés | Extrait tannique |
|-------------------------------------|--|
| <p><i>Staphylococcus aureus</i></p> |  |
| <p><i>Escherichia Coli</i></p> |  |
| <p><i>Candida albicans</i></p> |  |

Tableau V : Zones d'inhibition des souches microbiennes testées.

Liste des Annexes

Annexe 5

Composition des milieux de culture utilisés

Gélose Mueller Hinton (composition en g/l)

- Extrait de viande3g
- Amidon1,5g
- Hydrolysate acide de caséine.....17,5g
- Agar18g
- pH = 7,4

Gélose PCA (*Plate Count Agar, en anglais*) (composition en g/l)

- Tryptone6,0g
- Extrait de levure2,5g
- Glucose1,0g
- Agar15,0g
- pH = 7

Gélose VRBL (g/l) (Milieu lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre)

- Peptone7g
- Extrait de levure3g
- Lactose10g
- Chlorure de sodium5g
- Mélange sel biliaire1,5g
- Cristal violet0,002g
- Rouge neutre0,03g
- Agar-agar15g
- pH = 7,4

Milieu sabouraud (composition en g/L)

- Peptone10g
- Glucose20g
- Agar -agar15g
- Eau distillée1000ml
- pH = 6,3

Bouillon GIOLITTI-CANTONI (composition en g/L)

- Tryptone10g
- Extrait de viande de bœuf.....5g
- Extrait de levure5g

Liste des Annexes

- Chlorure de lithium5g
- Mannitol20g
- Chlorure de sodium5g
- Glycocolle1,2g
- Pyruvate de sodium3,0g
- pH = 6,9

Bouillon SFB (composition en g/L)

- Tryptone5g
- Lactose4g
- Sélénite4g
- Hydrogénosélénite de sodium4,0g
- Eau distillée1000ml

Annexe 6

Caractéristiques des souches microbiennes testées.

| Souche | | Systématique | | Caractère généraux |
|------------------|---------------|--|------------------------------|--|
| Bactéries | Gram + | Règne : Bacteria Embr. : Firmicutes Classe : Bacilli Ordre : Bacillales Famille : Micrococcaceae Genre : Staphylococcus Espèce : Staphylococcus aureus | <i>Staphylococcus aureus</i> | C'est une bactérie aéro-anaérobie facultative, immobile, catalase positive, coagulase positive. Elle appartient à la famille de Micrococcaceae et au genre Staphylococcus. Le nom (aureus) signifie (or) et vient du fait que, sur gélose, les colonies de Staphylococcus aureus sont pigmentées (couleur dorée) Staphylococcus aureus est le pathogène le plus fréquemment rencontré chez l'homme au niveau du naso-pharynx, et de la peau. |
| | | Règne : Bacteria Embr. : Proteobacteria Classe : Gamma | | Escherichia coli ou colibacille (bacille de colon) est une bactérie aérobie anaérobie facultative, |

Liste des Annexes

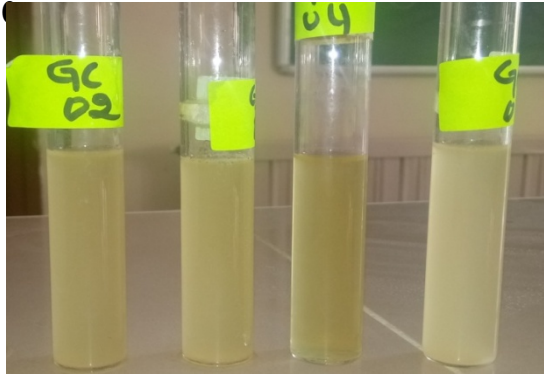
| | | | | |
|---------------|---------------|--|--------------------------------|--|
| | Gram - | <p>proyeobacteria Ordre : Enterobacterales Famille : Enterobacteriaceae Genre : Escherichia Espèce : Escherichia coli</p> | <i>Escherichia coli</i> | <p>oxydase négative, habituellement mobile (flagelles péritriches) et pourvue de fimbriae. Elle appartient à la famille des Enterobacteriaceae, au genre Escherichia. sa présence est un indicateur de contamination fécale, responsable de gastro-entérites, infections urinaires, méningites et septicémies.</p> |
| Levure | | <p>Règne : Fungi Embr. : Ascomycota Classe : Saccharomycetes Ordre : Saccharomycetales Famille : Saccharomycetaceae Genre : Candida Espèce : Candida albicans</p> | <i>Candida albicans</i> | <p>Espèce la plus virulente qui profite d'un affaiblissement des défenses immunitaires pour contaminer les muqueuses de la bouche et du vagin et donner des enduits blanchâtres, les douleurs sont parfois très importantes. Candida albicans est responsable d'infections superficielles aussi bien que systémiques. Les infections superficielles comprennent le Muguet, des vulvo-vaginites, des intertrigos (plis cutanés humides), des onychomycoses et périomyxis.</p> |

Tableau VI : Caractéristiques des souches microbiennes testées (Delarras, 2014).

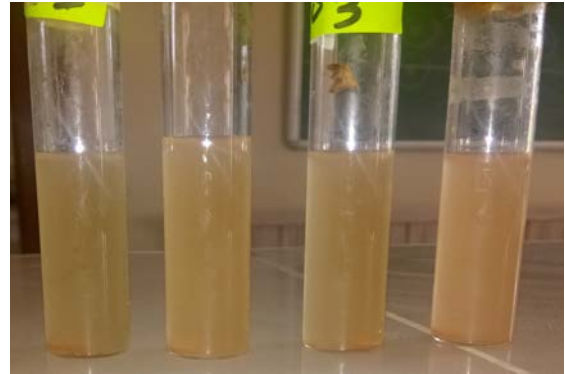
Liste des Annexes

Annexe 7

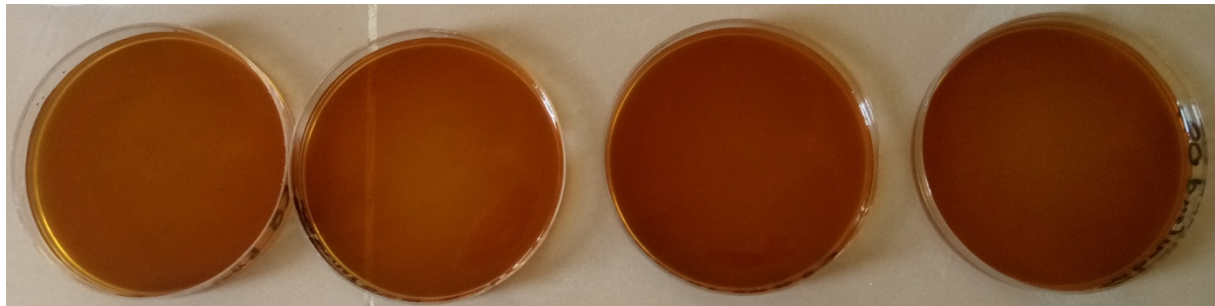
Résultats des analyses microbiologiques



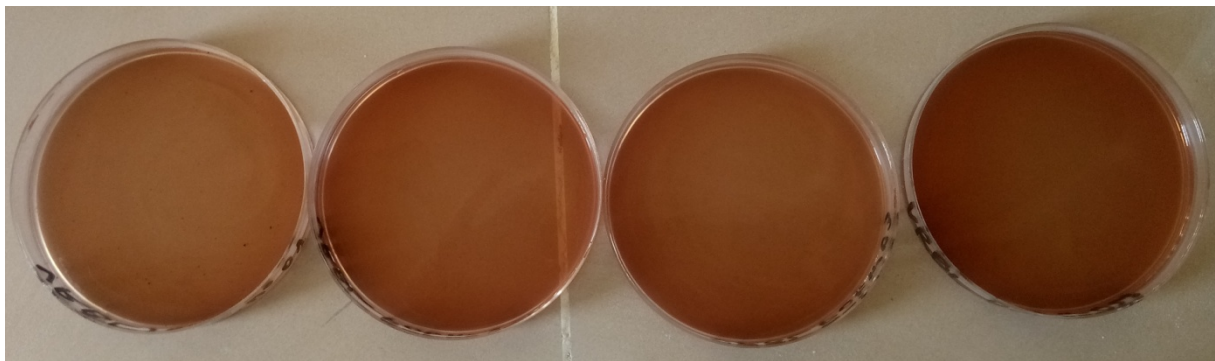
Staphylococcus aureus



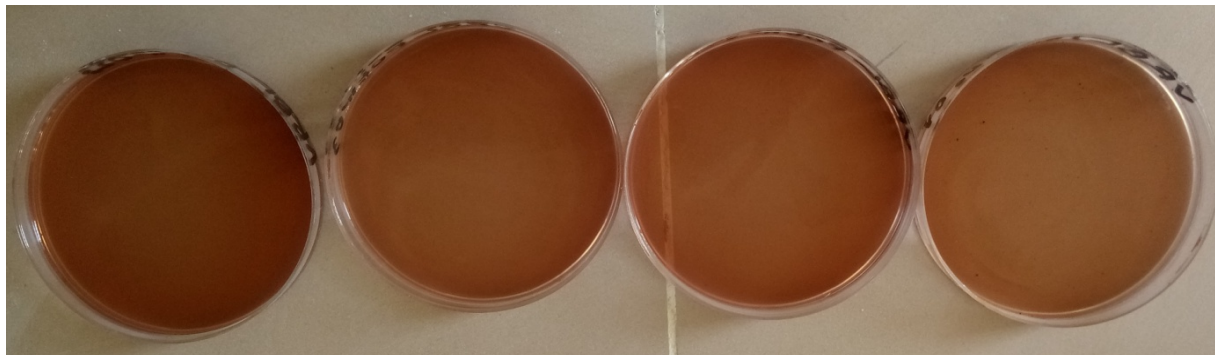
Salmonella



Levures et moisissures



Coliformes totaux



Coliformes fécaux

Liste des Annexes

Annexe 8

Fiche de dégustation

Nom :

Âge :

Prénom :

Date :

Texture

| | Meilleure | Acceptable | Plus ou moins acceptable | Non satisfaisante | Note 1-9 |
|----|-----------|------------|--------------------------|-------------------|----------|
| F1 | | | | | |
| F2 | | | | | |
| F3 | | | | | |
| F4 | | | | | |

Odeur

| | Meilleure | Bonne | Moyen | Très mauvaise | Note 1-9 |
|----|-----------|-------|-------|---------------|----------|
| F1 | | | | | |
| F2 | | | | | |
| F3 | | | | | |
| F4 | | | | | |

Goût

| | Meilleure | Acceptable | Plus ou moins acceptable | Non satisfaisante | Note 1-9 |
|----|-----------|------------|--------------------------|-------------------|----------|
| F1 | | | | | |
| F2 | | | | | |
| F3 | | | | | |
| F4 | | | | | |

Couleur

| | Meilleure | Bonne | Moyen | Très mauvaise | Note 1-9 |
|----|-----------|-------|-------|---------------|----------|
| F1 | | | | | |
| F2 | | | | | |
| F3 | | | | | |
| F4 | | | | | |