

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abderrahmane MIRA-Bejaia

*Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de microbiologie
Spécialité : Microbiologie Appliquée*



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

Mise au point d'une boisson lactée
fermentée

Réalisé par : LOUBAR Redouane

Soutenu le : 11-09-2022

Devant le jury composé de :

| | | |
|---------------------|-----|--------------|
| M. BARACHE Nacim | MAB | Président |
| Mme. BENDALI Farida | PR. | Promotrice |
| Mme. OUARABI Liza | MAB | Examinatrice |

Année universitaire : 2021 / 2022

Dédicaces

Je dédie ce travail :

A mon cher grand père et ma chère grand-mère, Vous qui n'avez jamais cessé de m'encourager. Je vous admire. Que Dieu préserve votre santé et vous accorde une longue vie.

A ma tendre mère et mon cher père, Vous qui m'avez tout appris et qui me poussez à être meilleur chaque jour. Je vous aime infiniment. Que ce travail vous soit le témoignage sincère de ma profonde reconnaissance et de mon amour éternel. J'espère que je serai toujours à la hauteur de vos espérances.

A mes chers petits frères et mes chères petites sœurs que j'affectionne tant, j'espère vous voir tous un jour épanouis et réussir votre vie.

A mes oncles et mes tantes qui me soutiennent et me conseillent tout au long de mes études et de ma vie.

A tous mes amis(e) qui me supportent, de près ou de loin, qui me soutiennent dans les moments de joie ou bien dans les moments un peu moins joyeux. Je vous souhaite la réussite et le bonheur à tous.

A tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment.

Merci !

Redouane

Remerciements

*C'est avec énormément d'estime et de respect que j'aimerais dans un premier temps remercier ma promotrice, le **Pr. BENDALI Farida**, vice Doyen chargé de la Post-Graduation, de la Recherche Scientifique et des Relations Extérieures, pour avoir accepté d'encadrer et de diriger ce travail, pour ses orientations, ses enseignements et sa disponibilité.*

*Mes remerciements sont adressés également aux membres du Jury, **Dr OUARABI Liza** et **Dr BARACHE Nacim**, pour leur lecture attentive du document, l'évaluation et l'examen de mon travail.*

Je tiens à remercier autant La Sarl Laiterie SOUMMAM, l'organisme où j'ai effectué mon stage pratique pendant deux mois, notamment :

- ✓ ***M. HAMITOCHE Lounis**, fondateur et gérant de l'unité, pour m'avoir accepté au niveau de son entreprise.*
- ✓ ***Mme. MAHLOUL Salima**, chef de service laboratoire de control de qualité, pour sa prise en charge et son encadrement au sein de l'entreprise, et pour m'avoir accordé sa confiance et une large indépendance dans l'exécution de mon travail.*
- ✓ ***M. DJAFERI Brahim**, **M. TAALBA Salim** et **M. HAMITOCHE Brahim** pour leurs encouragements, leurs orientations et leurs conseils.*
- ✓ ***M. ALLOUT Nadir**, directeur du département de Recherche et Développement (R&D), pour son encadrement dans la mise au point de mon produit ; ainsi que les deux ingénieurs **Yacine** et **Safi** pour m'avoir conseillé et aidé durant tout le processus d'élaboration de mon produit.*
- ✓ *Tous les contrôleurs de service laboratoire d'analyse : **Azzedine**, **Yamina**, **Assia**, **Lyes**, **Cherifa**, **Chahra**, **Nordine**, **Nacim**, **El Hafid**, **Mourad**, **Karima**, **Amine** et tout ceux que je n'aurai pas pu citer, pour leur accueil chaleureux et pour avoir pris le temps de discuter de mon thème, de me donner des conseils et de m'éclairer sur les différentes manipulations et contrôles effectués. Chacun de ces échanges m'a aidé à faire avancer mon analyse.*

À tous ces intervenants, je présente encore mes remerciements, mon respect et ma gratitude.

Merci à tous !

Liste des Abréviations

AG : Acide Gras

°Brix : Degré Brix

CMC : Carboxyméthylcellulose

EST : Extrait Sec Total

FAO : Food and Agriculture Organization

FTAM : Flore Totale Aérobie Mésophile

IUPAC : International Union of Pure and Applied Chemistry

L. : *Lactobacillus*

micro-S/cm : Micro siemens/ centimètre

MG : Matière Grasse

mPa-s : megaPascal seconde

MRS : de Man, Rogosa et Sharpe

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PCA : Plate Count Agar

TSE : Tryptone Sel Eau

UE : Union Européenne

UFC : Unité Formant Colonie

UHT : Ultra Haute Température

YGC : Yeast extract Glucose Chloramphenicol

Liste des Figures

| | |
|--|----|
| Figure 1 : Jus d'orange à base de concentré sans conservateur et pasteurisé..... | 13 |
| Figure 2 : Suspensions de la souche de <i>Lactocaseibacillus paracasei</i> dans du jus d'orange pasteurisé | 13 |
| Figure 3 : Etapes de standardisation du lait | 14 |
| Figure 4 : Flacon d'un jus lacté | 15 |
| Figure 5 : pH-mètre de paillasse utilisé lors de la manipulation, marque HANNA, modèle HI-2211. | 17 |
| Figure 6 : Etapes de détermination de taux de matière grasse | 20 |
| Figure 7 : Préparation du lait entier avec stabilisant CMC..... | 21 |
| Figure 8 : Mélange Jus-lait. | 22 |
| Figure 9 : Homogénéisation du Jus-lait avec un ULTRA-TURRAX | 22 |
| Figure 10 : Croissance de la souche de <i>Lactocaseibacillus paracasei</i> et son pouvoir acidifiant (pH et acidité Dornic) au cours de la fermentation du Jus-lait fermenté 24 h/37°C (Essai 1). 26 | |
| Figure 11 : Croissance de la souche de <i>Lactocaseibacillus paracasei</i> et son pouvoir acidifiant (pH et acidité Dornic) au cours de la conservation du Jus-lait non fermenté 30 jours à 6°C (Essai 1). | 28 |
| Figure 12 : Croissance de la souche de <i>Lactocaseibacillus paracasei</i> et son pouvoir acidifiant (pH et acidité Dornic) au cours de la fermentation du Jus-lait fermenté 24 h/37°C (Essai 2). 30 | |
| Figure 13 : Croissance de la souche de <i>Lactocaseibacillus paracasei</i> et son pouvoir acidifiant (pH et acidité Dornic) au cours de la conservation du Jus-lait non fermenté 30 jours à 6°C. ... | 32 |
| Figure 14 : Séparation des phases d'un échantillon de jus-lait. | 35 |

Liste des Tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau I : Composition chimique abrégée jus de fruits, pur jus (teneur moyenne) (Table de composition nutritionnelle des aliments Ciquel, 2020). | 5 |
| Tableau II : Composition d'un jus d'orange à base de concentré (Table de composition nutritionnelle des aliments Ciquel, 2020). | 5 |
| Tableau III : Composition détaillée : Boisson lactée, lait fermenté ou yaourt à boire, aromatisé, sucré, au L. casei (Table de composition nutritionnelle des aliments Ciquel, 2020). | 8 |
| Tableau IV : Dilutions décimales utilisées lors de l'analyse microbiologique du jus-lait (Essai 1). | 16 |
| Tableau V : Dilutions effectuées pour le dénombrement de chaque flore sur un temps imparti (Essai 1). | 18 |
| Tableau VI : Dilutions utilisées pour le dénombrement de la flore lactique dans le jus-lait fermenté (Essai 2). | 24 |
| Tableau VII : Dilutions utilisées pour le dénombrement des flores lactique et fongique dans le jus-lait non fermenté et conservé à 6°C (Essai 2). | 25 |
| Tableau VIII : Résultats de la détermination de la viscosité dynamique du jus-lait fermenté pendant 3 h et conservé 3 jours à 6°C. | 27 |
| Tableau IX : Résultats de la mesure de la conductivité électrique, EST et MG du Jus-lait non fermenté et conserve à 6°C/30 jours (Essai 1). | 29 |
| Tableau X : Résultats de la détermination de la viscosité dynamique et du °Brix de l'échantillon à t8 conservé 6 jours à 6°C. | 31 |
| Tableau XI : Résultats de l'analyse viscosité dynamique et degré Brix d'un échantillon sans ferment conservé 7 jours à 6°C | 33 |
| Tableau XII : Résultats de la mesure de la conductivité électrique, EST et MG du Jus-lait non fermenté et conserve à 6°C (Essai 2). | 34 |

Liste des Tableaux en Annexes

Tableau I : Table de composition nutritionnelle des aliments ciqual, 2020 : composition chimique détaillée jus de fruits, pur jus (aliment moyen).

Tableau II : Table de composition nutritionnelle des aliments Ciqual, 2020 : Composition chimique détaillée d'un jus d'orange à base de concentré.

Tableau III : Exemples de jus de fruits fermentés avec diverses souches LAB dans des cultures simples ou mixtes avec les effets respectifs (Plessas, 2021).

Tableau IV : Les types et concentrations d'hydrocolloïdes ajoutés aux ADD ou DAPDs (boissons protéinées directement acidifiées) (Liu et *al.*, 2020).

Tableau V : Résultats du dénombrement de la flore lactique du Jus-lait fermenté (Essai 1).

Tableau VI : Résultats des analyses physicochimiques (pH et acidité) du Jus-lait fermenté (Essai 1).

Tableau VII : Résultats du dénombrement de la flore lactique du Jus-lait non fermenté conservé à 6°C/ 30 jours (Essai 1).

Tableau VIII : Résultats des analyses physicochimiques (pH et acidité) du Jus-lait non fermenté conservé à 6°C/ 30 jours (Essai 1).

Tableau IX : Résultats du dénombrement de la flore lactique du Jus-lait fermenté (Essai 2).

Tableau X : Résultats des analyses physicochimiques (pH et acidité) du Jus-lait fermenté (Essai 2).

Tableau XI : Résultats du dénombrement de la flore lactique du Jus-lait non fermenté (Essai 2).

Tableau XII : Résultats des analyses physicochimiques du Jus-lait non fermenté (Essai 2).

SOMMAIRE

| | |
|--|----|
| INTRODUCTION | 1 |
| Synthèse Bibliographique | 3 |
| 1 Les jus de fruits | 3 |
| 1.1 Définition du jus de fruits | 3 |
| 1.2 Types de jus de fruits | 3 |
| 1.2.1 Jus de fruits à base de concentré | 3 |
| 1.2.2 Jus de fruits concentré | 3 |
| 1.2.3 Jus de fruits extrait à l'eau | 4 |
| 1.2.4 Jus de fruit déshydraté/en poudre | 4 |
| 1.2.5 Nectar de fruits..... | 4 |
| 1.3 Composition chimique du jus aux fruits | 4 |
| 1.4 Intérêt nutritionnel et fonctionnel du jus de fruits | 5 |
| 1.5 Jus de fruits fermenté | 6 |
| 2 Boisson lactée | 7 |
| 2.1 Définition d'une boisson lactée | 7 |
| 2.2 Composition chimique d'une boisson lactée | 7 |
| 2.3 Intérêt nutritionnel et fonctionnel d'une boisson lactée | 7 |
| 2.4 Boisson lactée fermentée | 9 |
| 3 Le lait-jus | 9 |
| 3.1 Définition du lait-jus | 9 |
| 3.2 Lait-jus fermenté | 9 |
| 4 Boissons probiotiques | 10 |
| 4.1 Définition d'un probiotique | 10 |
| 4.2 Définition d'une boisson probiotique..... | 10 |
| 4.3 Exemples de probiotiques..... | 10 |
| 4.4 Avantages d'une boisson probiotique sur la santé..... | 10 |
| Partie Pratique | 11 |
| Présentation de l'organisme d'accueil | 11 |
| 1 Situation géographique | 11 |
| 2 Activité de l'entreprise..... | 11 |
| 3 Gammes de produit..... | 11 |
| 4 Positionnement sur le marché Algérien | 11 |

| | | |
|---|---|-----------|
| 5 | Réseau de distribution, moyens logistiques et humains..... | 11 |
| 6 | Collecte de lait | 12 |
| | Matériel & Méthodes..... | 13 |
| | I. Premier essai | 13 |
| | 1 Etape de préparation | 13 |
| | 1.1 Préparation du Jus d'orange | 13 |
| | 1.2 Préparation du ferment | 13 |
| | 1.3 Standardisation du Lait..... | 14 |
| | 1.4 Mélange du Jus-Lait | 15 |
| | 2 Etape de fermentation / conservation..... | 15 |
| | 2.1 Ensemencement | 15 |
| | 2.2 Incubation / Conservation..... | 15 |
| | 3 Control microbiologique du Jus-lait fermenté..... | 16 |
| | 4 Analyse physicochimique du Jus-lait fermenté..... | 16 |
| | 4.1 Mesure de pH..... | 16 |
| | 4.2 Détermination de l'acidité Dornic (°D)..... | 17 |
| | 4.3 Mesure de la viscosité | 17 |
| | 5 Control microbiologique du Jus-lait conservé (non fermenté)..... | 18 |
| | 6 Analyse physicochimique du Jus-lait conservé (non fermenté)..... | 18 |
| | 6.1 Mesure du pH | 19 |
| | 6.2 Détermination de l'acidité Dornic | 19 |
| | 6.3 Mesure de la conductivité électrique..... | 19 |
| | 6.4 Détermination de l'extrait sec total (EST) | 19 |
| | 6.5 Détermination du taux de Matière Grasse (MG) | 20 |
| | II. Deuxième Essai | 21 |
| | 1 Dénombrement de la FTAM (PCA) du concentré de Jus..... | 21 |
| | 2 Etapes de préparation..... | 21 |
| | 2.1 Standardisation du lait | 21 |
| | 2.2 Mélange Jus-lait | 22 |
| | 3 Etape de traitement..... | 22 |
| | 4 Etape de fermentation / conservation..... | 23 |
| | 4.1 Dénombrement de la FTAM (jus-lait sans ferment)..... | 23 |
| | 4.2 Ensemencement | 23 |
| | 4.3 Incubation / Conservation..... | 23 |

| | | |
|-------------|--|----|
| __5 | Contrôle de la qualité microbiologique du Jus-lait fermenté | 24 |
| __6 | Analyse physicochimique du Jus-lait fermenté | 24 |
| __7 | Contrôle de la qualité microbiologique du Jus-lait non fermenté | 25 |
| __8 | Analyse physicochimique du Jus-lait non fermenté | 25 |
| | Résultats & Discussion | 26 |
| I. | Premier Essai | 26 |
| __1 | Résultats des analyses microbiologiques et physicochimiques (pH et acidité) du Jus-lait fermenté | 26 |
| __2 | Viscosité dynamique du jus- lait fermenté..... | 27 |
| __3 | Résultats des analyses microbiologiques et physicochimiques du Jus-lait non fermenté..... | 28 |
| __4 | Conductivité électrique, EST et MG..... | 29 |
| II. | Deuxième essai | 30 |
| __1 | Dénombrement de la FTAM du concentré de Jus | 30 |
| __2 | Dénombrement de la FTAM du Jus-lait sans ferment | 30 |
| __3 | Résultats microbiologiques et physicochimiques du Jus-lait fermenté | 30 |
| __4 | Viscosité dynamique et degré Brix du jus- lait fermenté 24 h | 31 |
| __5 | Résultats des analyses microbiologiques et physicochimiques du Jus-lait non fermenté..... | 32 |
| __6 | Viscosité dynamique et degré Brix du jus sans ferment | 33 |
| __7 | Conductivité électrique, EST et MG..... | 34 |
| III. | Aspect général du produit | 34 |
| | CONCLUSION & PERSPECTIVES | 37 |
| | ANNEXES | |
| | BIBLIOGRAPHIE | |

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Les boissons à base de lait ont largement dominé le marché des aliments fonctionnels au cours des dernières décennies (Magno et *al.*, 2019). Les aliments fonctionnels sont ceux qui, outre les nutriments traditionnels (glucides, protéines, lipides, minéraux et vitamines), apportent également des avantages nutritionnels et physiologiques au consommateur (Pereira et *al.*, 2018). L'intérêt croissant des consommateurs pour l'utilisation des aliments pour améliorer leur santé et leur bien-être a motivé les chercheurs et l'industrie alimentaire à développer de nouveaux produits fonctionnels, tels que les produits probiotiques (Maciel et *al.*, 2020).

Les boissons à base de lait contenant divers ingrédients bioactifs occupent une position exceptionnelle le marché, par conséquent, plusieurs industries alimentaires et chercheurs s'efforcent d'introduire de nouvelles formulations de boissons à base de lait auprès des consommateurs (Magno et *al.*, 2019). On retrouve notamment les boissons lactées acidifiées qui désignent généralement une grande catégorie de produits laitiers tels que le lait contenant du jus de fruit, les boissons lactées directement acidifiées et les boissons au yogourt (Gua et *al.*, 2021). Ces boissons sont fabriquées par acidification directe ou fermentation du lait avec des bactéries lactiques, suivie d'une homogénéisation et d'un traitement thermique final pour prolonger la durée de conservation (Liu et *al.*, 2020). Les boissons lactées acidifiées sont composées d'eau, de matières grasses, de lactose, de minéraux importants et de mélanges de protéines. La stabilité des protéines dans des conditions acides est l'un des facteurs les plus importants dans le développement des boissons lactées acidifiées (Tian et *al.*, 2021).

Les produits laitiers constituent la matrice privilégiée pour le développement des boissons lactées fermentées probiotiques (Molero et *al.*, 2018 ; Andrade et *al.*, 2019) et les souches les plus couramment utilisées sont celles qui appartiennent aux genres *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* et *Lacticaseibacillus* (Kandyliis et *al.*, 2016 ; Zheng et *al.*, 2020).

Toutefois, l'industrie moderne de la fermentation alimentaire et des boissons est hautement compétitive et innovante et est toujours en cours de mise à niveau et de raffinement technologique pour l'amélioration de la qualité et le développement de nouveaux produits à partir de diverses sources alimentaires (Panda et *al.*, 2018). Le marché des produits à base de jus est l'un des marchés les plus innovants et compétitifs dans les secteurs de l'alimentation et des boissons. Actuellement, la part maximale de la demande mondiale d'extraits de fruits est satisfaite par le jus d'orange (38 %), tandis que la demande restante est satisfaite par le jus de pomme (36 %), le jus de raisin (14 %), le jus d'ananas (5 %), le jus de tomate (1%) et d'autres

INTRODUCTION

jus de fruits (6 %) (Islam et *al.*, 2020). Ainsi, la production de boissons jus d'orange-lait fermenté peut être une alternative au marché laitier (Martins et *al.*, 2021).

Dans cette optique et perspective on s'est intéressé au développement d'un nouveau produit, une boisson lactée probiotique au jus d'orange au niveau de la SARL SOUMMAM (Akbou, W. Bejaia). La souche probiotique utilisée est une souche de *Lacticaseibacillus paracasei*. L'objectif final est d'avoir un produit probiotique, homogène et stable.

Le présent document est divisé en deux parties. En premier lieu, une synthèse bibliographique traitant de généralités relatives aux probiotiques et aux boissons lactées ; puis en second lieu, une partie pratique qui débutera par la présentation de l'organisme d'accueil suivie de la section matériel et méthodes, détaillant les différentes étapes de mise au point d'un jus-lait fermenté ou non fermenté, et enfin la partie pratique se termine par l'interprétation et discussion des résultats obtenus. Le document sera achevé par une conclusion et des perspectives, suivies des annexes et de la liste bibliographique.

Synthèse
Bibliographique

1 Les jus de fruits

1.1 Définition du jus de fruits

Le jus de fruits est une boisson issue de l'extraction ou du pressage du liquide naturel contenu dans les fruits et légumes. S'il est une source de sucres libres, il contient également des micronutriments et des bioactifs végétaux (Braesco et *al.*, 2013). Les directives de l'Union Européenne (UE) de 2012 définissent le jus aux fruit comme suit : « Le produit fermentescible mais non fermenté obtenu à partir des parties comestibles de fruits sains et mûrs, frais ou conservés par réfrigération ou congélation, d'une espèce ou de plusieurs espèces en mélange, possédant la couleur, l'arôme et le goût caractéristiques du jus des fruits dont il provient » (Journal officiel de l'UE, 2012).

Après le 28 octobre 2013, à l'échelle européenne, les sucres ajoutés dans les jus de fruits et dans les jus de fruits à base de concentré sont strictement interdits (Journal officiel de l'UE, 2012), autrement dit la teneur en sucre de jus aux fruits ne peut pas être modifiée, elle est représentative de la teneur en sucre du fruit intact (Braesco et *al.*, 2013). Elle ne doit être modifiée que par mélange avec des jus de la même espèce de fruit (Mihalev et *al.*, 2018).

1.2 Types de jus de fruits

La directive sur les jus de fruits fixe des exigences de composition pour six produits, à savoir : les jus de fruits ; jus de fruits à base de concentré ; jus de fruits concentrés ; jus de fruits extrait à l'eau ; jus de fruits déshydratés/en poudre ; nectar de fruits (Mihalev et *al.*, 2018).

1.2.1 Jus de fruits à base de concentré

Il est obtenu par pression des fruits, pasteurisé puis concentré par évaporation de l'eau. À l'embouteillage, le produit est reconstitué avec la même quantité d'eau que celle extraite lors de la concentration. Cette concentration a pour but de faciliter le stockage ainsi que le transport et améliore l'impact environnemental du produit (Braesco et *al.*, 2013).

1.2.2 Jus de fruits concentré

C'est le produit obtenu à partir de jus de fruits d'une ou de plusieurs espèces de fruits par élimination physique (évaporation sous vide) d'une proportion spécifique de la teneur en eau (Mihalev et *al.*, 2018). Les arômes, les pulpes et les cellules obtenus par des moyens

physiques appropriés à partir de fruits de la même espèce peuvent être restitués au jus de fruits concentré (Journal officiel de l'UE, 2012).

1.2.3 Jus de fruits extrait à l'eau

C'est le jus obtenu par diffusion dans l'eau soit de fruits entiers pulpeux (pas assez juteux) dont le jus ne peut pas être extrait par des procédés mécaniques ou bien de fruits entiers déshydratés comme le pruneau (Mihalev et *al.*, 2018).

1.2.4 Jus de fruit déshydraté/en poudre

C'est le produit obtenu à partir de jus de fruits ou de jus de fruits concentrés par élimination physique (différentes techniques de séchage, par exemple séchage par atomisation) de la quasi-totalité de l'eau contenue. Ce produit est souvent qualifié de « poudre de fruits » et doit être distingué de la « farine de fruits » obtenue par mouture de fruits secs (Mihalev et *al.*, 2018).

1.2.5 Nectar de fruits

C'est le produit obtenu en ajoutant de l'eau à des jus de fruits, de la purée de fruits ou à un mélange de ces produits, qu'ils soient à base de concentré ou non et avec ou sans addition de sucre et/ou d'édulcorants. La teneur en fruits minimale à respecter varie entre 25 et 50 %, en fonction de la variété du fruit (Braesco et *al.*, 2013).

1.3 Composition chimique du jus aux fruits

Il n'y a pas beaucoup de différence entre les fruits et les jus de fruits dans la composition chimique. Les jus de fruits contiennent des glucides, des vitamines hydrosolubles, des minéraux (Potassium, Calcium et Magnésium), des acides organiques, des acides aminés, des fibres et des polyphénols comme les anthocyanes colorés, les composés aromatiques, les caroténoïdes et d'autres substances bioactives (Bhardwaj et *al.*, 2014).

Les jus de fruits sont connus pour contenir une quantité considérable d'acides organiques. Les jus de citron et d'orange contiennent de l'acide citrique et de l'acide ascorbique (Bhardwaj et *al.*, 2014).

Les compositions chimiques en principaux constituants de jus de fruits et du jus d'orange sont données dans les tableaux I et II.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Tableau I : Composition chimique abrégée jus de fruits, pur jus (teneur moyenne) (Table de composition nutritionnelle des aliments Ciqual, 2020).

| Constituant | Teneur moyenne |
|---|----------------|
| Energie, Règlement UE N° 1169/2011 (kJ/100 g) | 199 |
| Energie, Règlement UE N° 1169/2011 (kcal/100 g) | 46,9 |
| Protéines, N x 6.25 (g/100 g) | 0,51 |
| Glucides (g/100 g) | 9,32 |
| Lipides (g/100 g) | 0,14 |
| Sucres (g/100 g) | 8,94 |
| AG saturés (g/100 g) | 0,044 |
| Sel chlorure de sodium (g/100 g) | 0,012 |

La composition détaillée du jus de fruits pur jus est donnée en **Annexe I**.

Tableau II : Composition d'un jus d'orange à base de concentré (Table de composition nutritionnelle des aliments Ciqual, 2020).

| Constituant | Teneur moyenne | Min | Max |
|---|----------------|---------|-------|
| Energie, Règlement UE N° 1169/2011 (kJ/100 g) | 194 | - | - |
| Energie, Règlement UE N° 1169/2011 (kcal/100 g) | 45,6 | - | - |
| Protéines, N x 6.25 (g/100 g) | 0,63 | 0,15 | 1 |
| Glucides (g/100 g) | 9,59 | 8 | 12,9 |
| Lipides (g/100 g) | 0,13 | 0,03 | 0,5 |
| Sucres (g/100 g) | 9,59 | 7,5 | 12,4 |
| AG saturés (g/100 g) | 0,034 | 0 | 0,1 |
| Sel chlorure de sodium (g/100 g) | 0,0084 | 0,00025 | 0,075 |

Min. : Minimum ; Max. : Maximum

La composition détaillée d'un jus d'orange à base de concentré est donnée en **Annexe II**.

1.4 Intérêt nutritionnel et fonctionnel du jus de fruits

Les jus de fruits ont atteint un statut important dans le menu quotidien des personnes appartenant à différents âges, classes, groupes et zones en raison de leurs qualités nutritionnelles, fonctionnelles et thérapeutiques exceptionnelles (Bhardwaj et *al.*, 2014). L'intérêt nutritionnel des jus de fruits réside dans le fait qu'ils soient :

- Riches en diverses sources de nutriments vitaux, notamment des vitamines comme A, B, C et B9 ou les folates (Braesco et *al.*, 2013).
- Une excellente source de minéraux comme le Fer, le Cuivre, le Potassium, l'iode, le Zinc, le Sélénium, le Soufre, le Manganèse, le Bore, le Molybdène et le Magnésium. Les minéraux sont présents sous forme d'électrolytes, ils sont donc facilement absorbables par le corps humain (Bhardwaj et *al.*, 2014).
- Une bonne source de fibres alimentaires et de phytonutriments qui contribuent même à la prévention des maladies (exemple : effets antidiabétiques) et offrent des bienfaits pour la santé (Rajauria et *al.*, 2018). Le jus d'orange contient plus de 170 substances phytochimiques différentes, dont plus de 60 flavonoïdes, dont beaucoup se sont avérés avoir des effets antioxydants ainsi que des activités anti-inflammatoire et anti-tumorale (Bhardwaj et *al.*, 2014).
- Riches en flavonoïdes et en polyphénols qui sont les phytonutriments les plus importants qui ont la capacité d'augmenter leur potentiel antioxydant, d'affecter le métabolisme des lipides et l'absorption du cholestérol (Bhardwaj et *al.*, 2014).
- Contributeurs de manière significative aux apports en bêta-carotène : un peu plus de 6 % des apports chez les enfants et les adolescents (Braesco et *al.*, 2013).

1.5 Jus de fruits fermenté

Le jus de fruits fermenté est une boisson généralement obtenue par fermentation contrôlée de fruits (Shet et *al.*, 2017). Cette boisson fait partie des aliments fermentés fonctionnels, il s'agit de jus de fruits extrait ayant été transformé généralement par des bactéries lactiques (Plessas, 2021) ou des levures (Shet et *al.*, 2017). Le but de la fermentation lactique des jus de fruits est principalement l'amélioration de la durée de vie (conservation), des propriétés nutritionnelles et des propriétés sensorielles du produit final (Plessas, 2021).

Tout fruit avec une bonne proportion de sucre peut être utilisé dans la production de jus de fruit fermenté et le type de jus de fruit fermenté à produire dicte le fruit et la souche à impliquer. Les conservateurs utilisés dans la fabrication de jus de fruits fermentés comprennent le dioxyde de soufre, le sorbate de potassium, l'acide sorbique et les métabisulfites (Shet et *al.*, 2017).

Des exemples de jus de fruits fermentés avec diverses souches de bactéries lactiques dans des cultures simples ou mixtes avec leurs effets respectifs (Plessas, 2021) sont donnés en

Annexe III.

2 Boisson lactée

2.1 Définition d'une boisson lactée

Selon la révision 2021 du *Codex Alimentarius* sur la norme générale pour les additifs alimentaires, le terme boisson lactée inclut tous les produits laitiers liquides nature ou aromatisés à base de lait écrémé, partiellement écrémé, à faible teneur en matières grasses ou entier, à l'exclusion des produits fermentés nature et des produits laitiers emprésurés. Comme exemple, nous avons le chocolat chaud, les boissons maltées au chocolat, le yogourt à boire aromatisé, les boissons aux ferments lactiques et le *lassi* (*Codex Alimentarius*, 2021).

Selon Guneser et *al.* (2019), les boissons à base de lait peuvent être classées en deux groupes principaux :

- Le lait non fermenté et les dérivés du lait : le lait aromatisé, les laits enrichis en composés bioactifs (stérols, huiles de poisson, fibres, etc.), les vitamines et les minéraux, et un mélange de lait/lactosérum et de jus de fruits.
- Les produits laitiers fermentés : le kéfir, le koumiss, le yakult, le babeurre et les laits fermentés avec probiotiques.

2.2 Composition chimique d'une boisson lactée

Les boissons lactées étant diverses et variées, on ne peut donner une composition chimique exacte. La table de composition nutritionnelle des aliments Ciqual de 2020 (tableau III) donne une moyenne sur les constituants des boissons lactées, avec une valeur maximale et minimale pour certains.

2.3 Intérêt nutritionnel et fonctionnel d'une boisson lactée

D'après Guneser et *al.* (2019), les boissons lactées ont un grand apport nutritionnel et fonctionnel, tels que :

- Un apport calorique plutôt modéré et une faible teneur en gras.
- Les phytostérols ont un effet hypocholestérolémiant qui réduit l'absorption du cholestérol par l'intestin et peut réduire le risque de maladie cardiaque.
- Une source riche en antioxydants, en vitamine B, C, D, en minéraux et en acides aminés essentiels.
- Une teneur en vitamine C conséquente (tel que le koumiss, les boissons à base d'orange et de citron)
- Teneur en lactose est inférieure à celle du lait (effets bénéfiques pour les personnes intolérantes au lactose).

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

- Une meilleure saveur pour les boissons à base de lait (chocolat, cacao).
- Leurs sucres naturels contribuent à la croissance des probiotiques.
- Source de facteurs de croissance analogues à l'insuline, facteurs de croissance épidermique, un effet antimicrobien à large spectre, un effet anti-inflammatoire, un agent antioxydant, un effet renforçant le système immunitaire réduisant les impacts allergéniques et antigéniques, et la diminution de la tension artérielle.

Tableau III : Composition détaillée : Boisson lactée, lait fermenté ou yaourt à boire, aromatisé, sucré, au *L. casei* (Table de composition nutritionnelle des aliments Ciqual, 2020).

| Constituant | Teneur moyenne | Min | Max |
|--|----------------|-------|------|
| Protéines, N x facteur de Jones (g/100 g) | 2,81 | 2,55 | 3,37 |
| Protéines, N x 6.25 (g/100 g) | 2,75 | 2,5 | 3,3 |
| Glucides (g/100 g) | 12,7 | 10 | 15,9 |
| Lipides (g/100 g) | 1,52 | 1,5 | 1,7 |
| Sucres (g/100 g) | 12,5 | 10 | 15,8 |
| Fibres alimentaires (g/100 g) | 0,033 | 0,02 | 0,2 |
| Polyols totaux (g/100 g) | 0 | - | - |
| Cendres (g/100 g) | 0,22 | - | - |
| Alcool (g/100 g) | 0 | - | - |
| Acides gras saturés (g/100 g) | 1,05 | 1 | 1,1 |
| Chlorure de sodium (g/100 g) | 0,1 | 0,093 | 0,13 |
| Calcium (mg/100 g) | 120 | - | - |
| Sodium (mg/100 g) | 40,5 | 37 | 50 |
| Vitamine D (µg/100 g) | 0,81 | 0,75 | 1,2 |
| Vitamine B6 (mg/100 g) | 0,21 | - | - |

Min. : Minimum. Max. : Maximum.

2.4 Boisson lactée fermentée

Il s'agit d'une boisson à base de lait qui subit une fermentation lactique par des bactéries lactiques (Marsh *et al.* 2014) ou par fermentation alcoolique dans certains cas tel que le Koumis (Yuliarti *et al.*, 2019). La fermentation lactique induit la production d'acide lactique, l'acidification du milieu permet entre autre d'éliminer les microorganismes pathogène permettant ainsi de prolonger la conservation de la boisson (Marsh *et al.*, 2014). Parmi les boissons lactées connues, on trouve celles qui ont des propriétés probiotiques et thérapeutiques, tel que le yakult, le lait bifidus et le lait-acidophilus (Hati *et al.*, 2019).

3 Le lait-jus

3.1 Définition du lait-jus

Le lait-jus ou un jus au lait est une boisson lactée acide comprenant deux phases principales, la phase lait neutre (pH : 6,6–6,7) et la phase jus de fruits acide (pH : $3,2 \pm 0,1$) où un hydrocolloïde est ajouté comme stabilisant comme la pectine ou la carboxyméthylcellulose (CMC) afin d'éviter la floculation des protéines du lait et la séparation macroscopique subséquente du lactosérum (Abedi *et al.*, 2014). Parmi les jus au lait connu en Algérie on trouve Olé (fabriqué par la laiterie Soummam) et Danao (fabriqué par la laiterie Danone).

Les types et concentrations d'hydrocolloïdes ajoutés aux boissons lactées acides ou aux boissons protéinées directement acidifiées sont donnés en **Annexe IV**.

3.2 Lait-jus fermenté

Il s'agit d'une boisson lactée acide, un mélange de jus et de lait, auquel on a ajouté un ferment, pour induire une fermentation lactique dans le but d'augmenter la durée de conservation. Généralement on utilise des bactéries lactiques probiotiques pour induire un effet de santé (Kandyliis, 2016).

4 Boissons probiotiques

4.1 Définition d'un probiotique

Selon les organisations FAO et OMS, le terme « probiotique » est défini comme « des microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont ingérés en quantité suffisante, exercent des effets bénéfiques sur la santé au-delà de la nutrition générale inhérente ». Cela signifie que, pour exercer des effets bénéfiques, les micro-organismes doivent être vivants et disponibles en grand nombre, généralement plus de 10^7 cellules par gramme de produits au moment de la consommation (Kandylis et *al.*, 2016).

4.2 Définition d'une boisson probiotique

Il s'agit de boissons auxquelles on a ajouté des microorganismes viables dans un but fonctionnel et de santé, notamment la régulation du microbiote intestinal de l'hôte après consommation, et peuvent être capables de prévenir plusieurs maladies (Maciel et *al.*, 2020). Elles sont généralement divisées en deux groupes, les boissons probiotiques laitières et les boissons probiotiques non laitières (Kandylis, 2016).

4.3 Exemples de probiotiques

Les probiotiques les plus couramment utilisés sont des bactéries lactiques qui appartiennent aux genres *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* et *Lacticaseibacillus* (Kandylis et *al.*, 2016 ; Zheng et *al.*, 2020). Parmi les souches utilisées, on trouve : *L. acidophilus*, *L. crispatus*, *L. amylovorus*, *L. gallinarum*, *L. gasseri*, *L. johnsonii*, *L. helveticus*, *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *L. salivarius* ssp. *salivarius*, *L. casei*, *L. paracasei* ssp. *paracasei*, *L. paracasei* ssp. *tolerans*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *L. fermentum*, et *L. reuteri* (Maciel et *al.*, 2020)

4.4 Avantages d'une boisson probiotique sur la santé

Les probiotiques ont plusieurs effets bénéfiques sur la santé, entre autres (Istrati et *al.*, 2019) :

- ✓ Amélioration et maintien de l'équilibre du microbiote intestinal ;
- ✓ Prévention et traitement de maladies et de troubles de santé tels que l'intolérance au lactose, le cholestérol sérique, l'hypertension artérielle, le syndrome du côlon irritable, la maladie de Crohn, les ulcères peptiques, la diarrhée associée aux antibiotiques et le cancer ;
- ✓ Stimulation du système immunitaire.

Partie Pratique

*Présentation de
l'organisme d'accueil*

Ce travail est effectué au niveau de la laiterie Soummam (Akbou, W. Bejaia). Le stage pratique a duré 61 jours, allant du 27 Mars jusqu'au 26 Mai 2022.

1 Situation géographique

La Laiterie Soummam a été fondée par M. HAMITOUCHE Lounis en 1993 à Akbou (W. Bejaia, Algérie). Depuis sa création, la société a connu un développement continu. Le véritable tournant se produit en 2000, lorsque la société déménage vers un nouveau site et décide d'investir dans des équipements modernes répondant aux normes internationales en matière de conception, d'hygiène et de productivité.

2 Activité de l'entreprise

La laiterie Soummam produit et commercialise du lait UHT (nature et aromatisé), des yaourts (en pots et en bouteilles), des fromages frais (nature et aromatisé), des spécialités laitières et autres desserts lactés. Fin 2018, elle s'est lancée dans la production et la commercialisation de spécialités fromagères fondues et préparations fromagères. Elle a atteint sur ces deux dernières gammes, un nombre de 17 références, entre portions, barres et minis barres, la dernière marque lancée sur le même segment est nommée « Top Souma ».

Ses dernières nouveautés, en termes de références produits sont : Soumy grenadine, mini barre Dialna goût Edam, plus la nouvelle gamme culinaire relative à la crème légère à 12 % de matière grasse et la sauce béchamel.

3 Gammes de produit

La laiterie Soummam dispose de plusieurs gammes de produits qui culminent plus de 183 références, lesquelles se déclinent en une grande variété d'arômes, de fruits, d'emballages (pots, boîtes, bouteilles, briques UHT), et de conditionnements divers (30 g-1 Kg ; 125 mL-1L ...).

4 Positionnement sur le marché Algérien

La laiterie Soummam assure une commercialisation de près de 1800 Tonnes/jour, et dispose d'une capacité de production annuelle de plus de 1 200 000 Tonnes/an, répartie sur deux sites de production, lesquels abritent 51 lignes de production, ce qui lui a permis d'être leader incontesté dans son domaine d'activité avec une part de marché de plus de 48 %.

5 Réseau de distribution, moyens logistiques et humains

- Emploie 2 000 salariés permanents.
- Commercialise sa production à travers deux réseaux de distribution :

- ✓ **Le réseau national**, qui est composé de plus de 80 distributeurs importants, conventionnés, et distribuant exclusivement les produits Soummam, 400 petits et moyens distributeurs indépendants, dont la majorité des distributeurs commercialisent exclusivement la gamme Soummam et attribution de plus de 1200 camions frigorifiques et 110 chambres froides au profit de ses clients potentiels.
- ✓ **Le réseau international**, qui assure l'exportation vers : la Libye, le Qatar, la Mauritanie et Oman.

6 Collecte de lait

Pour maintenir la qualité de ses produits, et s'inscrire dans le programme de développement économique qui vise à réduire les importations de lait en poudre, la Laiterie Soummam se positionne dès 2009, comme l'un des premiers initiateurs d'un programme d'accompagnement et de développement de la filière laitière Algérienne. Lequel se résume comme suit :

- Distribution de plus de 15 000 vaches laitières au profit des éleveurs partenaires. Quelques 5 700 éleveurs, répartis sur 35 wilayas qui livrent quotidiennement leurs productions à la laiterie. A ce jour, 45 centres de collecte régionaux sont opérationnels et 38 camions citernes isothermes font la collecte de plus de 500 000 litres de lait frais par jour.
- Distribution d'environ 2500 refroidisseurs de différentes capacités (250 litres jusqu'à 10 000 litres) au profit des éleveurs partenaires. Plus de 250 camionnettes de collecte équipées de citernes isothermes octroyées aux collecteurs partenaires. Plus de 2 500 machines à traire et 1000 seaux à lait distribués au profit des éleveurs partenaires.
- Aide à l'octroi de fourrage vert et ensilé « enrubannage vesce avoine, sorgho et maïs », des produits d'hygiène de la traite et le lait d'allaitement.
- Création de 07 fermes pilotes au niveau des wilayas de M'Sila, Constantine, Batna et Oum El Bouagui, ainsi que la création d'une unité de fabrication d'aliments de bétails à Bordj Bou Arreridj.
- Création d'une pépinière de génisses, d'une capacité d'accueil de 1200 têtes à Djelfa.

Ce programme a permis à la laiterie Soummam de collecter du lait frais de qualité pour pouvoir ensuite assurer la production d'une partie de ses gammes. A long terme, il sera vecteur de vitalité, et favorisera l'essor de l'élevage et des cultures agricoles en Algérie.

Matériel &

Méthodes

Dans le but de développer une boisson lactée fermentée et non fermentée, deux différents essais ont été réalisés. Pour le premier essai, un mélange de jus d'orange à base de concentré avec du lait UHT partiellement écrémé a été utilisé. Tandis que pour le deuxième essai, un mélange de jus d'orange à base de concentré avec du lait entier a été utilisé. Une souche probiotique de *Lacticaseibacillus paracasei spp. paracasei* a été utilisée comme ferment. Un dénombrement de la flore lactique suivie des analyses physicochimiques ont été effectué après chaque préparation.

I. Premier essai

1 Etape de préparation

1.1 Préparation du Jus d'orange

Du jus d'orange à base de concentré, sans conservateur et pasteurisé est utilisé. Le jus est reparti dans 30 flacons : 15 flacons de 35 mL de jus/flacon + 15 flacons de 40 mL de jus/flacon (figure 1).

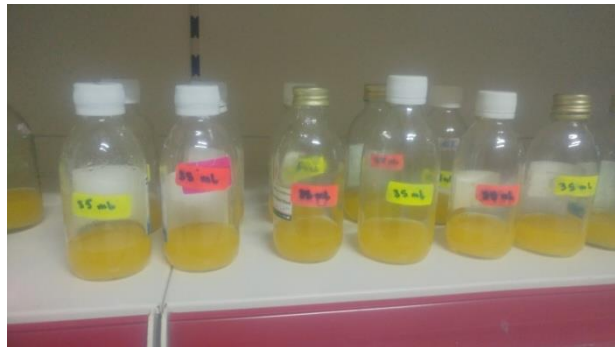


Figure 1 : Jus d'orange à base de concentré sans conservateur et pasteurisé.

1.2 Préparation du ferment

Une souche de *Lacticaseibacillus paracasei* a été cultivée à une concentration de 10^7 UFC/mL dans du bouillon MRS, puis remise en suspension dans du jus d'orange pasteurisé. (5ml/flacon).

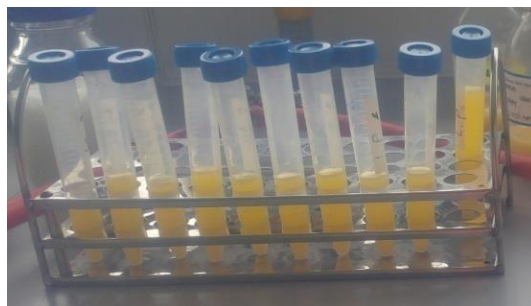


Figure 2 : Suspensions de la souche de *Lacticaseibacillus paracasei* dans du jus d'orange pasteurisé

1.3 Standardisation du Lait

La standardisation du lait s'est effectuée au niveau du R&D. Une brique de lait Soummam UHT partiellement écrémé de 1 L a été utilisée. En effet, à l'aide d'une balance électronique et d'un bécher, 497,5 g de lait ont été pesés auxquels 2,5 g du stabilisant CMC ont été ajoutés, pour empêcher la précipitation des protéines du lait lors de la fermentation. Suite à cette préparation, une hydratation de 20 min a été effectuée dans un Thermomix afin de bien homogénéiser la solution et laisser assez de temps au stabilisant pour protéger les protéines du lait. Enfin, une pasteurisation, a été réalisée à 90°C / 02 min dans le Thermomix, afin de détruire la totalité des micro-organismes pathogènes non sporulés et réduire significativement la flore végétative. L'échantillon a ensuite été récupéré dans 2 flacons de 250 mL.

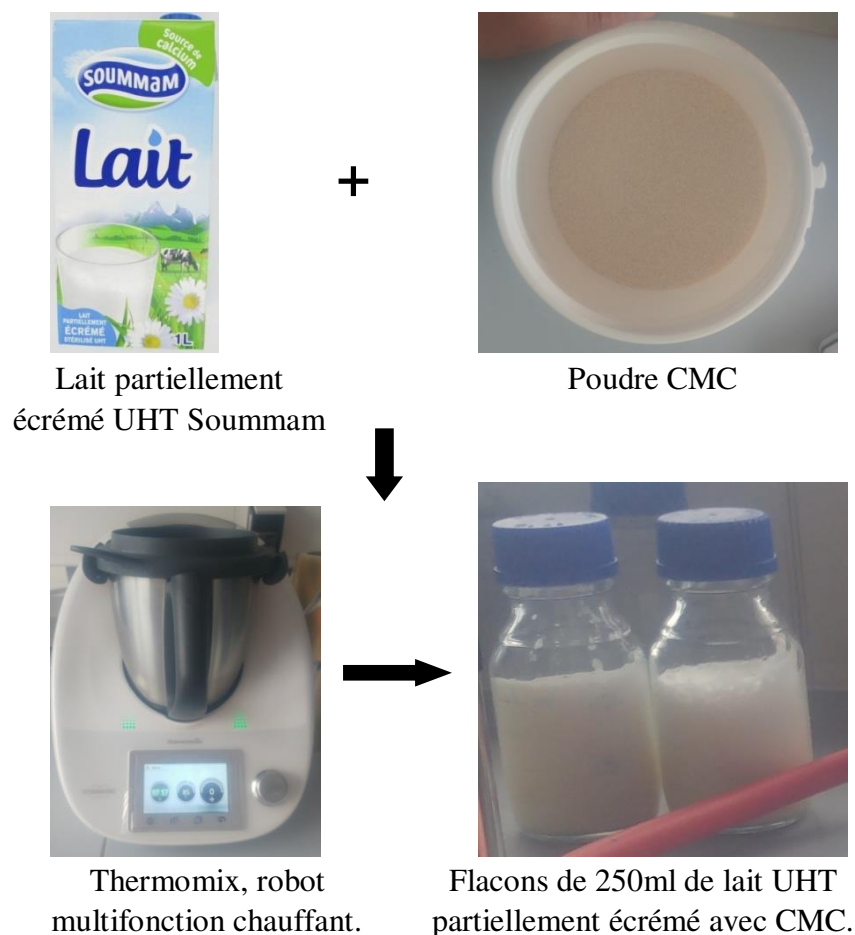


Figure 3 : Etapes de standardisation du lait

1.4 Mélange du Jus-Lait

Après avoir laissé le lait stabilisé refroidir jusqu'à 37-40°C et après avoir récupérer le jus de la chambre de conservation, un mélange des deux échantillons à été effectué à température ambiante sous conditions aseptiques dans le laboratoire de control microbiologique. Un volume de 10 mL de lait stabilisé a été déposé dans chacun des 30 flacons contenant le jus d'orange, suivie d'une agitation des flacons pour homogénéiser les solutions. Le total est comme suit : 15 flacons de 45 mL/flacon (35 mL jus + 10 mL lait) et 15 flacons de 50 mL/flacon (45 mL jus + 10 mL lait).

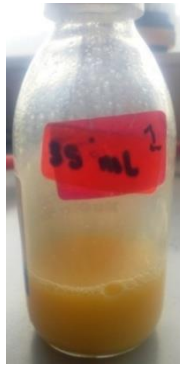


Figure 4 : Flacon d'un jus lacté

2 Etape de fermentation / conservation

2.1 Ensemencement

Les flacons de 45 mL de Jus-lait ont été inoculés avec 5 mL de la souche probiotique de *Lactocaseibacillus paracasei* pour chaque flacon sous conditions aseptiques. Avant chaque ensemencement, une homogénéisation de la souche contenue dans chaque tube a été réalisée avec un agitateur Vortex (**Annexe V**) (15 tubes).

2.2 Incubation / Conservation

Tout d'abord on a laissé un flacon Jus-lait avec ferment et un flacon témoin (sans ferment) sur paillasse pour l'analyse microbiologique et physicochimie à T0.

Par la suite, les 08 autres flacons de Jus-lait inoculés avec la souche et les 08 flacons témoins restants ont été incubés à 37°C, afin de réaliser un suivi microbiologique et physicochimique pendant 24 h aux intervalles de temps suivants (t) : 3 h, 6 h, 9 h, 12h, 15h, 18h, 21h, et 24 h.

Enfin, 06 flacons de Jus-lait inoculés avec la souche et 06 flacons témoins ont été conservés immédiatement à 6°C et des analyses microbiologiques et physicochimiques ont été réalisées à J+2, J+7, J+10, J+15, J+21 et J+30.

3 Control microbiologique du Jus-lait fermenté

Sous conditions d'asepsie, un dénombrement de la flore lactique sur gélose MRS (Annexe VI) a été effectué à t0 et toutes les 3 h, et ce, pendant 24 h.

D'abord, des dilutions décimales du Jus-lait fermenté et du Jus-lait témoin ont été réalisées dans 9 mL d'une solution de TSE (Tryptone sel eau) stérile. Ensuite, un ensemencement en masse (2 boîtes de Petri/dilution) pour chaque dilution (tableau IV) a été effectué, suivi d'une incubation à 37°C/72°C.

Tableau IV : Dilutions décimales utilisées lors de l'analyse microbiologique du jus-lait (Essai 1).

| Temps | Dilutions |
|----------|--|
| t0 : 00h | 10 ⁻⁴ , 10 ⁻⁵ , 10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁷ |
| t1 : 03h | 10 ⁻⁵ , 10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁷ |
| t2 : 06h | 10 ⁻⁵ , 10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁷ , 10 ⁻⁸ |
| t3 : 09h | 10 ⁻⁵ , 10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁷ , 10 ⁻⁸ |
| t4 : 12h | 10 ⁻⁵ , 10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁷ , 10 ⁻⁸ , 10 ⁻⁹ |
| t5 : 15h | 10 ⁻⁵ , 10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁷ , 10 ⁻⁸ , 10 ⁻⁹ |
| t6 : 18h | 10 ⁻⁵ , 10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁷ , 10 ⁻⁸ |
| t7 : 21h | 10 ⁻⁵ , 10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁷ , 10 ⁻⁸ |
| t8 : 24h | 10 ⁻⁴ , 10 ⁻⁵ , 10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁷ |

4 Analyse physicochimique du Jus-lait fermenté

L'analyse physicochimique a été effectuée dans le laboratoire de physicochimie après chaque analyse microbiologique. Les analyses qui ont été réalisées sont : la mesure du pH, titrage de l'acidité totale (acidité Dornic) et enfin la viscosité.

4.1 Mesure de pH

a) Définition : Selon IUPAC (Union internationale de chimie pure et appliquée) la quantité pH est définie en fonction de l'activité des ions hydrogène (H⁺) en solution :

$$\text{pH} = -\log[a(\text{H}^+)]$$

où a(H⁺) est l'activité de l'ion hydrogène en solution aqueuse, ceux-ci étant présent sous forme de H⁺(aq) ou H₃O⁺ (ion hydronium).

b) Etalonnage : Avant de mesurer le pH d'une solution à l'aide d'un pH-mètre il faut toujours procéder à un étalonnage, qui se traduit, selon IUPAC, par l'ensemble des opérations qui établissent, dans des conditions spécifiées, la relation entre les valeurs indiquées par l'instrument d'analyse et les valeurs connues correspondantes d'un analyte.

- c) **Mode opératoire** : Après étalonnage du pH-mètre à l'aide de deux solutions tampons, une solution à pH=7 neutre et une autre à pH=4 acide, on a mesuré la quantité de pH de chaque échantillon, et cela en immergeant les deux sondes de l'appareil, une sonde pH et une sonde de température, dans la solution à analyser. Une homogénéisation a été réalisée jusqu'à ce que le pH affiché sur l'appareil soit stable, et enfin lecture de la valeur affichée.
- d) **Principe** : La mesure du pH repose sur la mesure du changement de potentiel de tension électronique qui est lu entre une électrode de mesure et une électrode de référence toutes les deux combinées dans un seul corps.



Figure 5 : pH-mètre de paillasse utilisé lors de la manipulation, marque HANNA, modèle HI-2211.

4.2 Détermination de l'acidité Dornic (°D)

Un lait est caractérisé par son degré Dornic, un degré Dornic, 1 °D, correspond à 0,1g d'acide lactique par litre de lait.

L'acidité Dornic ou l'acidité titrable est le volume de solution de NaOH à 0,1 mol/L (soude 1/9 N) nécessaire pour neutraliser jusqu'à un pH de 8,30 une quantité de lait reconstitué correspondant à 10 g.

Un volume de 10 mL de la solution à analyser est déposé dans un bécher, puis l'électrode du pH-mètre a été plongée dans la solution et un titrage avec la soude N/9 jusqu'à ce que le pH atteigne 8,30 a été effectué. Enfin, la lecture de la chute de la burette graduée en mL a été lue et la valeur retenue a été multipliée par 10 (L'acidité en °D correspond à la chute de la burette en mL x 10).

4.3 Mesure de la viscosité

A l'aide d'un rhéomètre rotationnel Anton Paar RheoCompass (**Annexe VII**), la viscosité dynamique (mPa·s : megaPascal seconde) de l'échantillon à t1, après 3 h de fermentation et conservé à 6°C pendant 3 jours, ainsi que celle des témoins correspondants a été mesurée.

5 Control microbiologique du Jus-lait conservé (non fermenté)

Le mode opératoire s'est effectué comme suit :

Sous conditions stériles, un dénombrement de deux flores a été réalisé : La flore fongique dans la gélose YGC (**Annexe VIII**) et la flore lactique dans la gélose MRS.

Le mode opératoire s'est effectué comme suit :

- 1- Récupération de chaque échantillon de Jus-lait conservé et de son témoin dans la chambre de conservation, après 2, 7, 10, 15, 21 et 30 jours.
- 2- Préparation des dilutions avec le TSE sous conditions aseptiques.
- 3- Ensemencement en masse des dilutions retenues (tableau V) du Jus-lait inoculé avec la souche et son témoin dans de la gélose MRS pour le dénombrement de la flore lactique et dans la gélose YGC pour le dénombrement de la flore fongique.
- 4- Incubation à 37°C/ 72 h des géloses MRS et à 25°C/ 5jours des géloses YGC.

Tableau V : Dilutions effectuées pour le dénombrement de chaque flore sur un temps imparti (Essai 1).

| Flore | Temps | Dilution |
|----------------------|-------|--|
| Flore fongique (YGC) | J+2 | SM, 10 ⁻¹ , 10 ⁻² |
| Flore lactique (MRS) | | 10 ⁻⁵ , 10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁷ |
| Flore fongique (YGC) | J+7 | SM, 10 ⁻¹ , 10 ⁻² |
| Flore lactique (MRS) | | 10 ⁻⁵ , 10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁷ |
| Flore fongique (YGC) | J+10 | SM, 10 ⁻¹ , 10 ⁻² |
| Flore lactique (MRS) | | 10 ⁻⁵ , 10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁷ |
| Flore fongique (YGC) | J+15 | SM, 10 ⁻¹ , 10 ⁻² |
| Flore lactique (MRS) | | 10 ⁻⁴ , 10 ⁻⁵ , 10 ⁻⁶ |
| Flore fongique (YGC) | J+21 | SM, 10 ⁻¹ , 10 ⁻² |
| Flore lactique (MRS) | | 10 ⁻³ , 10 ⁻⁴ , 10 ⁻⁵ |
| Flore fongique (YGC) | J+30 | SM, 10 ⁻¹ , 10 ⁻² |
| Flore lactique (MRS) | | 10 ⁻³ , 10 ⁻⁴ , 10 ⁻⁵ |

SM. : Solution mère.

6 Analyse physicochimique du Jus-lait conservé (non fermenté)

L'analyse physicochimique a été effectuée après chaque analyse microbiologique, et cela correspond à la détermination de plusieurs paramètres : le pH, l'acidité Dornic, la conductivité et l'extrait sec total.

6.1 Mesure du pH

Même procédé utilisé pour le Lait-jus fermenté

6.2 Détermination de l'acidité Dornic

Même procédé utilisé pour le Lait-jus fermenté

6.3 Mesure de la conductivité électrique

- a) **Définition :** La conductivité électrique traduit la capacité d'une solution aqueuse à conduire le courant électrique. Cette notion est inversement proportionnelle à celle de résistivité électrique. L'unité de mesure communément utilisée est le Siemens (S/cm) exprimé souvent en micro siemens/cm ($\mu\text{s/cm}$).
- b) **Mesure :** La mesure est effectuée à l'aide d'un conductimètre (**Annexe IX**). La sonde de l'appareil a été plongée dans la solution, ensuite une homogénéisation est réalisée et enfin la valeur affichée est enregistrée (microsiemens/cm).
- c) **Principe :** Le principe de la conductivité d'une solution est la mesure de la capacité des ions à transporter le courant électrique. Ce passage du courant électrique s'effectue par la migration des ions dans un champ électrique par un courant alternatif.

6.4 Détermination de l'extrait sec total (EST)

- a) **Définition :** L'EST d'un produit représente la masse restante après évaporation totale de l'eau, autrement dit la matière sèche du produit.
- b) **Mode opératoire :** A l'aide d'un dessiccateur (**Annexe X**) ou analyseur d'humidité électronique, l'EST des échantillons, du jus-lait est déterminé en procédant comme suit :
- 1- Dépôt d'une coupelle en aluminium dans le dessiccateur et tare.
 - 2- Dépôt d'environ 4 g du produit sur la coupelle et étalement jusqu'à ce que le dessiccateur affiche que la quantité est suffisante pour que l'analyse puisse démarrer.
 - 3- Démarrage de l'analyse et attente de l'arrêt automatique (quand une perte de poids n'est plus détectable). Lecture de l'EST (Exprimé en % Massique).
➤ $\% \text{ Massique} = \text{masse de l'EST} / \text{masse totale} \times 100$
- c) **Principe :** Repose sur la pesée d'un échantillon lors de son séchage, et cela à l'aide d'un chauffage en céramique et la précision d'une balance d'analyse, l'échantillon est séché et pesé au même temps, à mesure que l'eau s'évapore, le poids diminue jusqu'à un certain moment où il devient fixe, ainsi il reste uniquement la matière sèche.

6.5 Détermination du taux de Matière Grasse (MG)

La méthode acido-butyrométrique ou «méthode de Gerber» a été utilisée, pour déterminer la teneur en matière grasse des échantillons de jus-lait.

a) Mode opératoire :

- 1- Dépôt dans un butyromètre à lait de 10 mL d'acide sulfurique H_2SO_4 à 1,82g/L (figure 6.A).
- 2- Ajout de 10 mL de la solution de jus-lait préalablement homogénéisée et d'1 mL d'alcool isoamylique $C_5H_{11}O$ (figure 6.B).
- 3- Fermeture du butyromètre, agitation énergétiqu, puis retournement 4/5 fois.
- 4- Centrifugation à 1200 tour/min pendant 10 min.
- 5- Lecture de la quantité de matière grasse suspendue dans le butyromètre (figure 6.C).

b) Principe : L'acide sulfurique détruit les constituants du produit autre que la matière grasse, ensuite l'ajout d'une petite quantité d'alcool isoamylique détruit les émulsions de la matière grasse par abaissement de la tension superficielle. Enfin, grâce à la force centrifuge, la matière grasse se sépare et monte au sommet du butyromètre.

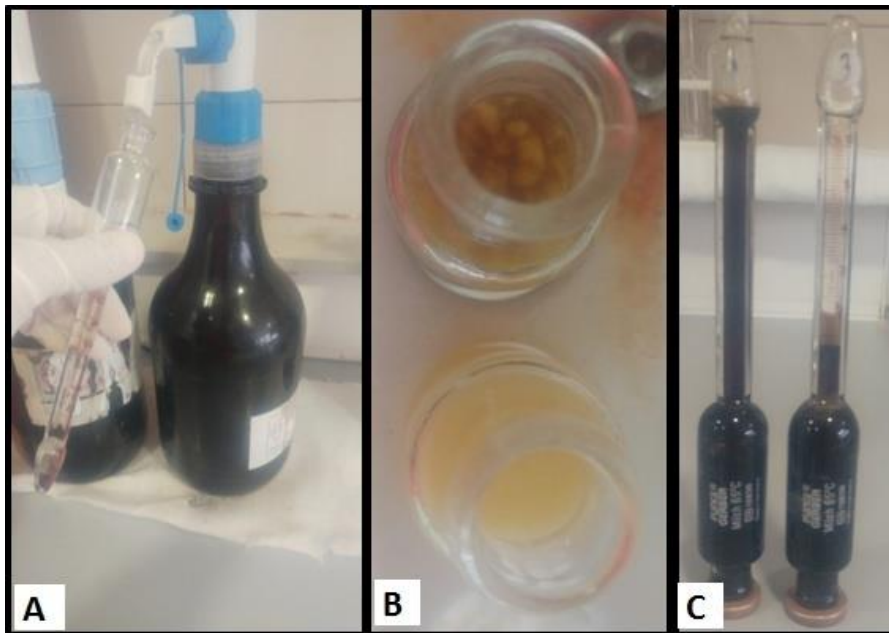


Figure 6 : Etapes de détermination de taux de matière grasse

II. Deuxième Essai

Lors de ce deuxième essai, de la poudre de lait (PDL) à 26 % au lieu d'un lait UHT partiellement écrémé a été utilisé, et les quantités des échantillons ont été augmentées à 30 flacons de 100 g/flacon, puisque le suivi du contrôle microbiologique et physicochimique se fera pour 02 échantillons au lieu d'un seul.

1 Dénombrement de la FTAM (PCA) du concentré de Jus

Suite à la réception du jus, un dénombrement de la FTAM sur gélose PCA a été effectué au niveau du laboratoire de microbiologie.

2 Etapes de préparation

Au niveau du laboratoire R&D, une deuxième préparation du Jus-lait a été élaborée avec les quantités suivantes :

- Lait 20 % : PDL 26% (entier) : 2,4 % + Eau : 17,1 % + Stabilisant CMC : 0,5 %.
- Jus : 80 %.

2.1 Standardisation du lait

Une préparation de 1,5 Kg de lait entier avec stabilisant a été effectuée comme suit :

1. Pesée de 1282,5g d'eau de process dans un bécher
2. Ajout de 180 g de PDL 26 %
3. Hydratation avec mixeur pendant 10 min
4. Ajout de 37,5 g de CMC
5. Hydratation avec mixeur pendant 10 min et repos pendant 15 min.



Figure 7 : Préparation du lait entier avec stabilisant CMC

2.2 Mélange Jus-lait

A l'aide d'une balance électronique, 02 préparations de jus-lait ont été effectuées, avec des quantités différentes de lait et de jus dans le but d'obtenir des échantillons à ensemencer et des échantillons témoins. D'abord, 600 g de PDL ont été pesés dans un bécher et 2400 g de jus ont été ajoutés, suivi d'une hydratation avec un mixeur de 10 min (échantillons témoins). En parallèle, 600 g de PDL ont été pesés, auxquels 2100 g de jus ont été ajoutés, suivi d'une hydratation pendant 10 min (échantillons à inoculer avec la souche).



Figure 8 : Mélange Jus-lait.

3 Etape de traitement

Pour chacun des mélanges préparés, une homogénéisation suivie d'une pasteurisation ont été effectuées. D'abord, la solution a été déposée dans le Thermomix pour augmenter sa température jusqu'à atteindre 75°C pour pouvoir effectuer une homogénéisation à 75°C/01 min avec un ULTRA-TURRAX (figure 9). Ensuite, la solution est déposée dans le Thermomix pour effectuer une pasteurisation à 95°C/ 02 min. Pour finir, 03 flacons stériles de 1000 mL (06 flacons pour les deux solutions) ont été remplis.



Figure 9 : Homogénéisation du Jus-lait avec un ULTRA-TURRAX

4 Etape de fermentation / conservation

La manipulation s'est effectuée au niveau du laboratoire de microbiologie dans des conditions aseptiques.

4.1 Dénombrement de la FTAM (jus-lait sans ferment)

Après avoir laissé les 06 flacons refroidir vers les 45°C, un dénombrement de la FTAM a été effectué dans les 2 échantillons de jus-lait (échantillons à inoculer avec la souche et échantillons témoins) suivi d'une incubation des boîtes de Pétri à 30°C/72h.

4.2 Ensemencement

D'abord, les deux préparations de Jus-lait (contenues dans 03 flacons chacune) ont été réparties dans 60 flacons stériles comme suit :

- Répartition de la préparation témoin dans 30 flacons, 100 g / flacon.
- Répartition de la préparation à inoculer avec la souche dans 30 flacons, 90 g / flacon.

Ensuite après avoir récupéré les 30 tubes de 10 mL de jus contenant la souche probiotique de *Lactobacillus paracasei*, un ensemencement a été effectué dans les 30 flacons destinés à l'inoculation (ensemencement de 10 mL/flacon).

4.3 Incubation / Conservation

Tout d'abord, 02 échantillons de Jus-lait inoculés avec la souche et 02 échantillons témoin ont été immédiatement analysés sur le plan microbiologique et physicochimique à t₀.

Ensuite, 18 échantillons de Jus-lait avec ferment et 18 échantillons témoins ont été incubés à 37°C, afin de réaliser un suivi microbiologique et physicochimique pendant 24 h aux intervalles de temps suivants (t) : 3 h, 6 h, 9 h, 12 h, 15 h, 18 h, 21h, et 24 h.

Enfin, 12 flacons de Jus-lait avec ferment et 12 flacons témoins ont été directement conservés à 6°C, pour effectuer par la suite un suivi pendant 30 jours. Les analyses ont été effectuées à J+2, J+7, J+10, J+15, J+21 et J+30.

5 Contrôle de la qualité microbiologique du Jus-lait fermenté

Sous conditions d'asepsie au niveau du laboratoire de microbiologie, un dénombrement de la flore lactique dans la gélose MRS (**Annexe XI**) à t0 et toutes les 3 h a été effectué pour le jus-lait fermenté. Les étapes sont les mêmes que celles décrites pour le premier essai.

Tableau VI : Dilutions utilisées pour le dénombrement de la flore lactique dans le jus-lait fermenté (Essai 2).

| Temps | Dilutions |
|----------|--|
| t0 : 00h | 10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁷ |
| t1 : 03h | 10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁷ |
| t2 : 06h | 10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁷ , 10 ⁻⁸ |
| t3 : 09h | 10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁷ , 10 ⁻⁸ |
| t4 : 14h | 10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁷ , 10 ⁻⁸ |
| t5 : 15h | 10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁷ , 10 ⁻⁸ |
| t6 : 18h | 10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁷ , 10 ⁻⁸ |
| t7 : 21h | 10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁷ , 10 ⁻⁸ |
| t8 : 24h | 10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁷ , 10 ⁻⁸ |

6 Analyse physicochimique du Jus-lait fermenté

L'analyse physicochimique a été effectuée dans le laboratoire de physicochimie après chaque analyse microbiologique. Les analyses qui ont été réalisées sont : la mesure du pH, titrage de l'acidité totale (acidité Dornic), mesure de la viscosité et du °Brix.

La viscosité et le °Brix ont été mesurés après 24 h d'incubation pour le jus-lait fermenté et après 7 jours de conservation pour le jus-lait conservé à 6°C.

7 Contrôle de la qualité microbiologique du Jus-lait non fermenté

Sous conditions d'asepsie, un dénombrement de deux flores : La flore fongique dans la gélose YGC et la flore lactique dans la gélose MRS, a été effectué. Le mode opératoire est le même que celui décrit pour le premier essai, et cela à J+5, J+10, J+15, J+21 et J+30.

Tableau VII : Dilutions utilisées pour le dénombrement des flores lactique et fongique dans le jus-lait non fermenté et conservé à 6°C (Essai 2).

| Flore | Durée | Dilution |
|----------------------|-------|-----------------------------------|
| Flore fongique (YGC) | J+5 | SM, 10^{-1} , 10^{-2} |
| Flore lactique (MRS) | | 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} |
| Flore fongique (YGC) | J+10 | SM, 10^{-1} , 10^{-2} |
| Flore lactique (MRS) | | 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} |
| Flore fongique (YGC) | J+15 | SM, 10^{-1} , 10^{-2} |
| Flore lactique (MRS) | | 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} |
| Flore fongique (YGC) | J+21 | SM, 10^{-1} , 10^{-2} |
| Flore lactique (MRS) | | 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} |
| Flore fongique (YGC) | J+30 | SM, 10^{-1} , 10^{-2} |
| Flore lactique (MRS) | | 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} |

SM. : Solution mère.

8 Analyse physicochimique du Jus-lait non fermenté

Les analyses qui ont été réalisées sont : la mesure du pH, titrage de l'acidité totale (acidité Dornic), mesure de la viscosité et du °Brix. La viscosité et le °Brix ont été mesurés dans le jus-lait non fermenté et conservé pendant 8 jours à 6°C.

*Résultats &
Discussion*

I. Premier Essai

1 Résultats des analyses microbiologiques et physicochimiques (pH et acidité) du Jus-lait fermenté

Les résultats des analyses microbiologiques et physicochimiques (pH et acidité) sont illustrés sur la figure 10 et rassemblés dans les tableaux V et VI (Annexe XII).

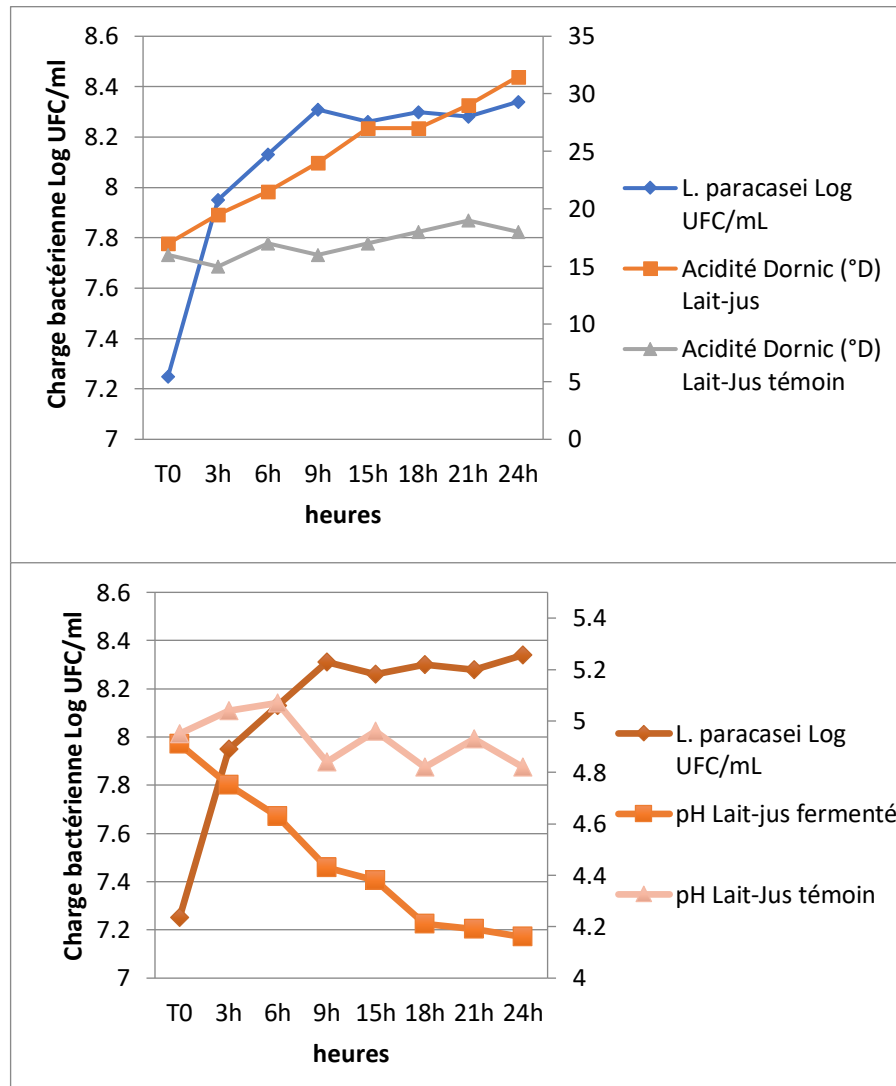


Figure 10 : Croissance de la souche de *Lacticaseibacillus paracasei* et son pouvoir acidifiant (pH et acidité Dornic) au cours de la fermentation du Jus-lait fermenté 24 h/37°C (Essai 1).

Les résultats obtenus nous montrent la croissance de la souche lactique au cours des 24h de fermentation à 37°C du mélange jus-lait. En effet, nous constatons une croissance exponentielle après 9 h d'incubation où la charge bactérienne a atteint $2,06 \cdot 10^8$ UFC/mL. Par la suite, le développement a été plus au moins stable durant les 15 heures qui ont suivies.

La croissance exponentielle de la souche de *Lactocaseibacillus paracasei* a été favorisée par la température de 37°C et la présence de sucres fermentescibles (glucose, fructose et lactose). En effet, la souche dégrade les sucres du produit, notamment le glucose et le fructose du jus (De la Fuente et *al.*, 2021) et le lactose du lait et les transforme en acide lactique par voie homofermentaire (Harlé, 2020). La phase stationnaire est synonyme d'une régression de la vitesse de croissance, qui s'explique par un épuisement du milieu de culture et un début d'autolyse des bactéries. Mais tant que la souche reste viable, son effet probiotique demeurera.

D'après l'étude de De la Fuente et *al.* (2021) sur la fermentation des boissons (mélange de jus d'orange et lait), ces dernières sont un bon milieu pour la croissance des bactéries lactiques probiotiques notamment de *Lactiplantibacillus plantarum*.

L'acidité Dornic du jus-lait fermenté augmente graduellement, ce qui pourrait s'expliquer par la quantité d'acide lactique produite au cours du processus de fermentation. Par comparaison au jus-lait témoin (non inoculé avec la souche lactique), l'acidité Dornic de ce dernier est restée stable avec une moyenne de 16,88°D. Une augmentation de l'acidité Dornic de 14,5°D a été enregistrée au terme de la période de fermentation (24 h), ce qui correspond à 1,45 g/L d'acide lactique.

Parallèlement à l'augmentation de l'acidité, une diminution du pH du jus-lait fermenté jusqu'à une valeur de 4,16 au bout des 24 h de fermentation a été notée. Cela s'explique par la production de l'acide lactique par la souche probiotique et sa dissociation, ce qui a procuré plusieurs protons, entraînant une diminution du pH du milieu qui devient plus acide.

2 Viscosité dynamique du jus- lait fermenté

La valeur de la viscosité dynamique de l'échantillon à t1 est présentée dans le tableau VIII.

Tableau VIII : Résultats de la détermination de la viscosité dynamique du jus-lait fermenté pendant 3 h et conservé 3 jours à 6°C.

| Température de mesure | Viscosité dynamique mPa-s |
|-----------------------|---------------------------|
| 37°C | 3,8 mPa-s |
| 20°C | 8,1 mPa-s |

La viscosité dynamique du jus-lait fermenté après 3 h de fermentation suivie de 3 jours de conservation à 6°C a été de 8,1 mPa-s en moyenne à 20°C et de 3,8 mPa-s 37°C. On remarque que plus la température augmente plus la viscosité diminue. Ces chiffres nous donnent plus au moins la viscosité finale du produit, qui va surement augmentée. Notant que d'après Anonyme 1 (2022) la viscosité du lait est de 2 à 10 mPa-s ; celle du jus de fruits est de 2 à 5 mPa-s et celle d'un lait fermenté (Yaourt) est de 150 mPa-s. La fermentation augmente la viscosité du lait, ce qui pourrait être lié aux métabolites produits par les ferments.

3 Résultats des analyses microbiologiques et physicochimiques du Jus-lait non fermenté

Les résultats des analyses microbiologiques et physicochimiques (pH et acidité) sont illustrés dans la figure 11 et rassemblés dans les tableaux VII et VIII (Annexe XIII).

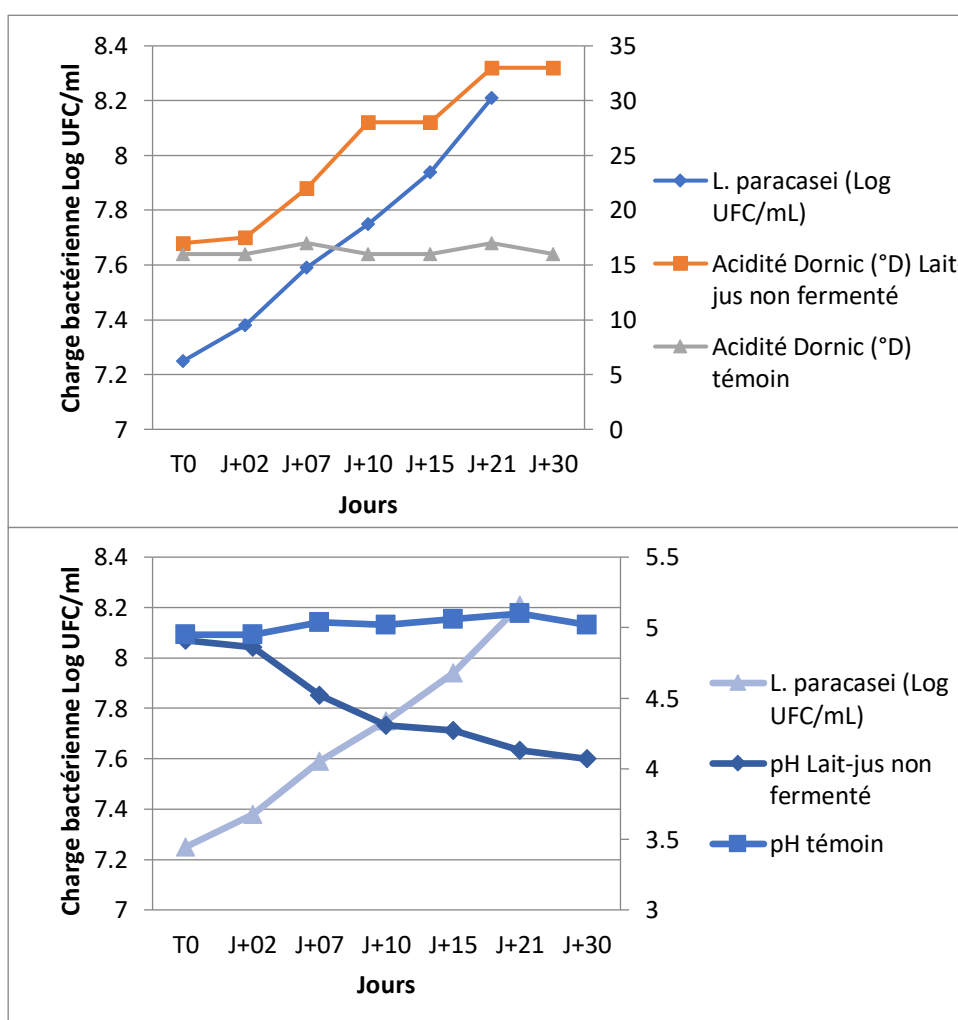


Figure 11 : Croissance de la souche de *Lacticaseibacillus paracasei* et son pouvoir acidifiant (pH et acidité Dornic) au cours de la conservation du Jus-lait non fermenté 30 jours à 6°C (Essai 1).

D'après les résultats obtenus au bout des 30 jours de conservation, une croissance bactérienne a été constatée mais extrêmement lente par rapport au jus-lait fermenté. Ceci serait la conséquence de la basse température appliquée. Au bout de 21 jours de conservation à 6°C, un taux de $1,63.10^7$ UFC/mL a été noté. En parallèle, une augmentation de l'acidité Dornic a été observée, passant de 17°D à 33°D au bout de 21 jours de conservation, une valeur restée stable au 30^{ème} jour. Soit une augmentation de 16°D au bout de 21 jours, qui se traduit par une production d'acide lactique conséquente de 1,6g/L. Concernant l'acidité Dornic du jus-lait témoin, elle est restée stable, avec le même taux que celui enregistré avec le jus-lait fermenté.

Par rapport au pH, on constate qu'au bout des 30 jours de conservation à 6°C, le jus-lait est devenu plus acide avec un delta pH de 0,84, quoique le pH final de 4,07 soit satisfaisant. Concernant le jus-lait témoin, son pH est resté stable comme son acidité Dornic.

4 Conductivité électrique, EST et MG

Les résultats de la détermination de la conductivité électrique, EST et MG sont rassemblés dans le tableau IX.

Tableau IX : Résultats de la mesure de la conductivité électrique, EST et MG du Jus-lait non fermenté et conservé à 6°C/30 jours (Essai 1).

| Analyses | Conductivité (micro-S/cm) | | EST (% Massique) | | MG | |
|-------------|------------------------------|--------|-----------------------|--------|-----------------------|--------|
| | Jus-lait non fermenté | témoin | Jus-lait non fermenté | témoin | Jus-lait non fermenté | Témoin |
| J+2 | 2660 | 2520 | 11,77 | 11,91 | 0,3 | 0,3 |
| J+7 | 2800 | 2610 | 12,18 | 12,11 | 0,3 | 0,3 |
| J+10 | 2900 | 2600 | 11,70 | 11,87 | 0,3 | 0,3 |
| J+15 | 2900 | 2600 | 11,68 | 12,03 | 0,3 | 0,3 |
| J+21 | 2960 | 2570 | 11,17 | 12,19 | 0,3 | 0,3 |
| J+30 | 2960 | 2640 | 11,71 | 11,94 | 0,3 | 0,3 |

La conductivité électrique a augmenté de 300 micro-S/cm en 28 jours de conservation, passant de 2660 après 2 jours de conservation à 2960 micro-S/cm au 30^{ème} jour. Cela s'explique par une augmentation du nombre d'ions, notamment les ions hydrogène H⁺ vue l'acidité du milieu. L'extrait sec total a été entre 11,17 % et 12,19 %. L'EST du jus-lait inoculé avec la souche est légèrement inférieur à celui de son témoin. Cela peut être expliqué

par la dégradation des sucres pour le jus lait conservé. Le taux de matière grasse n'a pas changé durant les 30 jours (0,3 %), ce qui est logique étant donné qu'on a utilisé un lait partiellement écrémé.

II. Deuxième essai

1 Dénombrement de la FTAM du concentré de Jus

Absence de la FTAM

2 Dénombrement de la FTAM du Jus-lait sans ferment

Absence de la FTAM

3 Résultats microbiologiques et physicochimiques du Jus-lait fermenté

Les résultats des analyses microbiologiques et physicochimiques (pH et acidité) sont illustrés dans la figure 12 et rassemblés dans les tableaux IX et X (Annexe XIV).

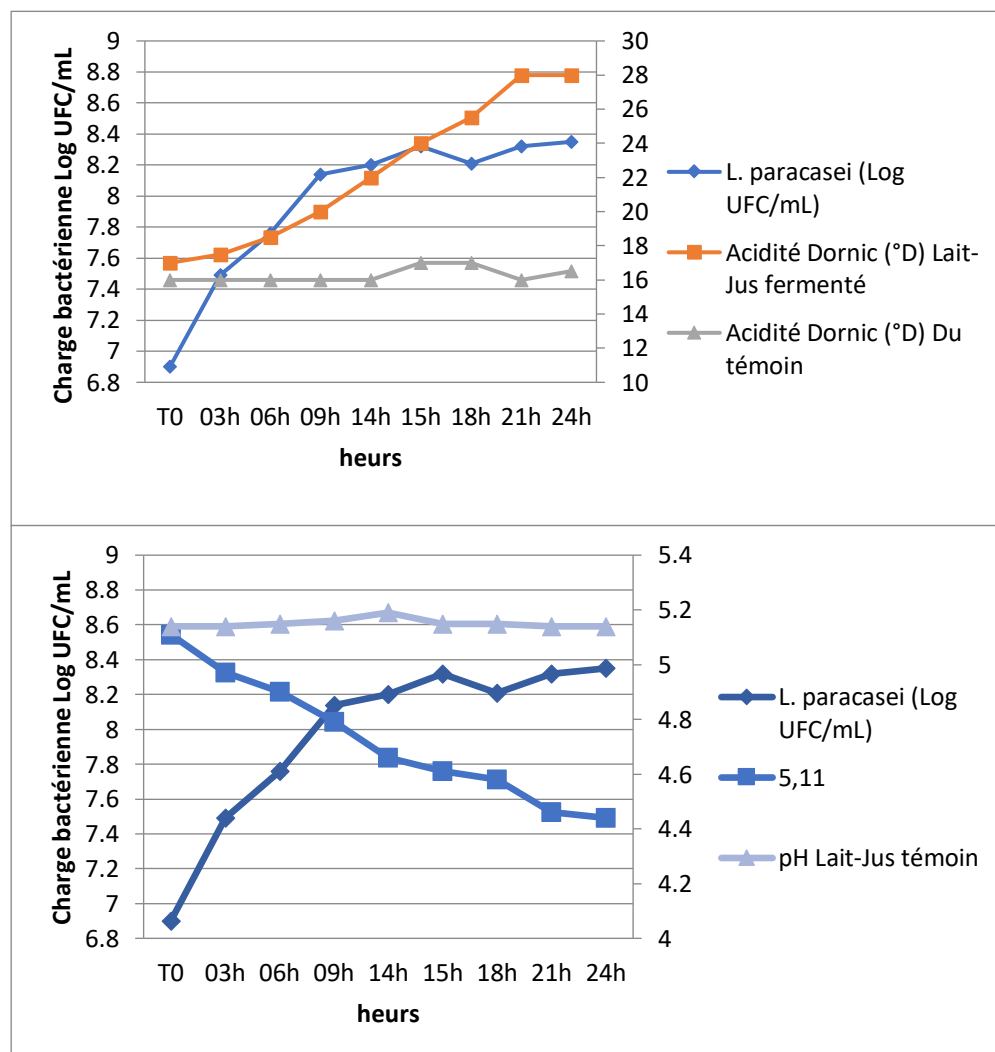


Figure 12 : Croissance de la souche de *Lacticaseibacillus paracasei* et son pouvoir acidifiant (pH et acidité Dornic) au cours de la fermentation du Jus-lait fermenté 24 h/37°C (Essai 2).

On remarque une bonne croissance de la souche lactique dans le jus-lait, avec une valeur de $1,6 \cdot 10^8$ UFC/mL au bout de 6 h de fermentation. Comme pour le premier essai, la croissance exponentielle de la souche est due à la température optimale qui est de 37°C et à la fermentation lactique (dégradation du glucose, fructose et du lactose).

Concernant l'acidité Dornic, une augmentation a été observée au bout de 21 h pour atteindre une valeur de 28°D et cette valeur reste stable au bout des 24 h de fermentation. Une augmentation de 11°D a été notée ce qui correspond à un taux de $1,1 \text{ g/L}$ d'acide lactique. Par comparaison au jus-lait témoin, l'acidité Dornic est restée stable durant toute la période de fermentation avec une moyenne de 16°D comme avec le premier essai. En parallèle, le pH du jus-lait fermenté a diminué jusqu'à 4,44. Un delta pH de 0,67 a pu être calculé au bout des 24 h de fermentation. Par contre, le pH du jus-lait témoin est resté stable à 5,15 en moyenne.

4 Viscosité dynamique et degré Brix du jus- lait fermenté 24 h

Les résultats de la détermination de la viscosité dynamique ainsi que du $^\circ\text{Brix}$ sont affichés dans le tableau X.

Tableau X : Résultats de la détermination de la viscosité dynamique et du $^\circ\text{Brix}$ de l'échantillon à t8 conservé 6 jours à 6°C .

| Analyse | Viscosité dynamique (Température 20°C) | $^\circ\text{Brix}$ (température ambiante) |
|--|--|---|
| Echantillon t8 (fermenté 24 h) et conservé pendant 7 jours à 6°C | 28,5 | 11,5 % |

La viscosité dynamique du jus-lait fermenté 24 h puis conservé une semaine à 6°C est en moyenne de $28,5 \text{ mPa}\cdot\text{s}$ à 20°C , ce qui est nettement supérieur au jus-lait fermenté pendant 3 h du premier essai qui est de $8,1 \text{ mPa}\cdot\text{s}$ en moyenne. Ce qui fait que la viscosité du produit évolue en fonction de la fermentation. Le $^\circ\text{Brix}$ du jus-lait fermenté 24 h a été de 11,5 %.

5 Résultats des analyses microbiologiques et physicochimiques du Jus-lait non fermenté

Les résultats des analyses microbiologiques et physicochimiques (pH et acidité) sont schématisés sur la figure 13 et donnés dans le tableau XI et XII (Annexe XV).

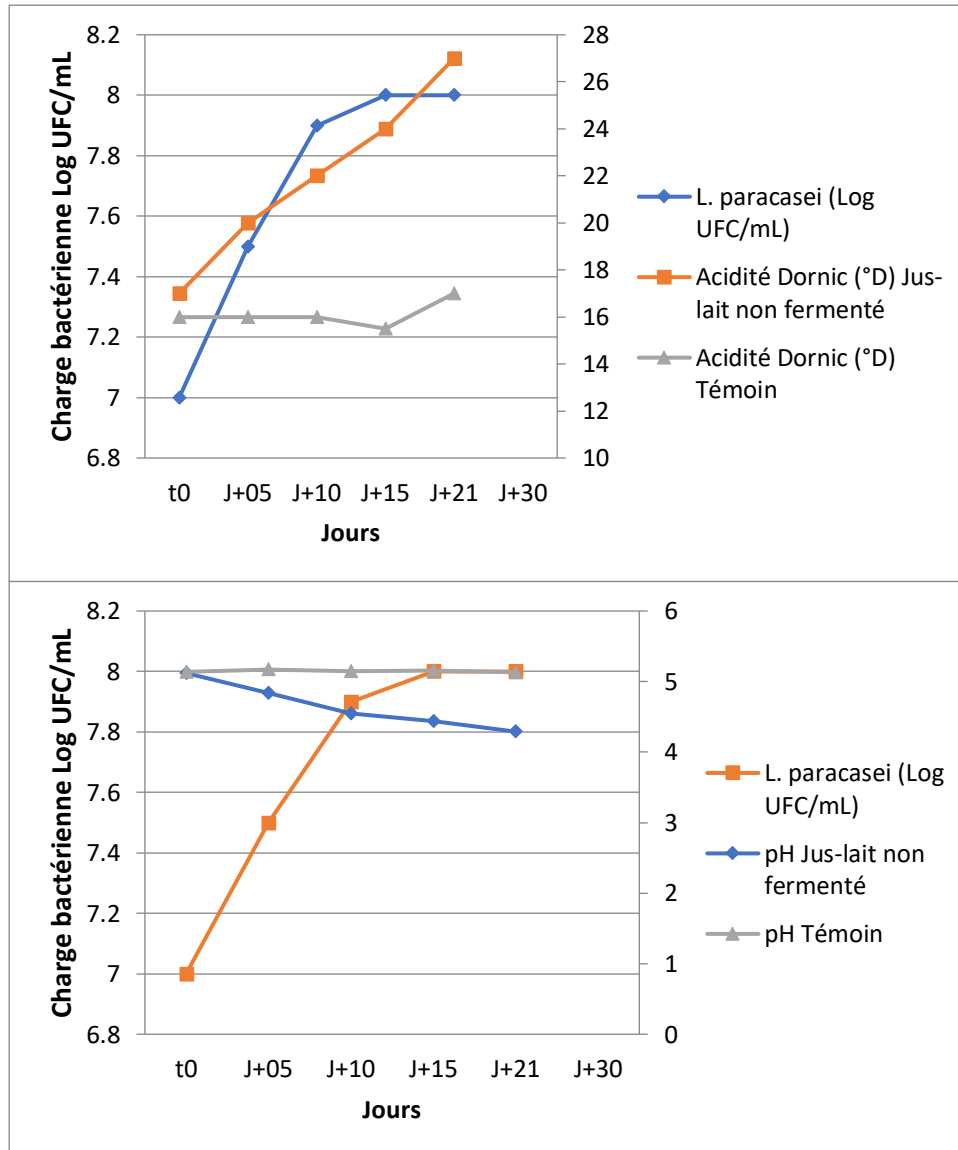


Figure 13 : Croissance de la souche de *Lacticaseibacillus paracasei* et son pouvoir acidifiant (pH et acidité Dornic) au cours de la conservation du Jus-lait non fermenté 30 jours à 6°C.

D'après les résultats obtenus et à l'instar du premier essai, au bout des 30 jours de conservation à 6°C, une croissance bactérienne a été constatée mais extrêmement lente par rapport au jus-lait fermenté. Ceci serait la conséquence de la basse température appliquée. Au bout de 21 jours de conservation à 6°C, un taux de 10⁸ UFC/mL a été noté. L'acidité Dornic a augmenté lentement pour atteindre au bout de 21 jours une valeur de 27°D, soit une augmentation de 10°D correspondant à une production de 1g/L d'acide lactique.

En parallèle à l'acidité Dornic, le pH a diminué en passant de 5,12 (t0) à 4,29 au bout de 21 jours. Un delta pH de 0,83a pu être calculé. Le pH du jus-lait témoin est resté stable avec en moyenne de 5,15. Ces résultats concordent avec le premier essai.

6 Viscosité dynamique et degré Brix du jus sans ferment

Les résultats de la détermination de la viscosité dynamique ainsi que du °Brix sont affichés dans le tableau XI.

Uniquement la viscosité dynamique du jus-lait sans ferment (témoin) conservé 7 jours à 6°C été déterminée. Une moyenne de 38,5mPa-s à 20°Ca été enregistrée, une valeur nettement supérieure à celle du jus-lait fermenté pendant 24 h qui était de 28,5 mPa-s en moyenne. Le °Brix du jus- lait sans ferment a été de 11,7 %, une valeur proche de celle notée au niveau du jus- lait fermenté 24 h (11,5 %).

Tableau XI : Résultats de l'analyse viscosité dynamique et degré Brix d'un échantillon sans ferment conservé 7 jours à 6°C

| Analyse | Viscosité dynamique (Température 20°C) | Degré Brix (température ambiante) |
|--|---|--------------------------------------|
| Echantillon sans ferment conservé 7 jours à 6°C | 38,95 | 11,7 % |

7 Conductivité électrique, EST et MG

Les résultats de la mesure de la conductivité électrique, EST et MG dans le tableau XII.

Tableau XII : Résultats de la mesure de la conductivité électrique, EST et MG du Jus-lait non fermenté et conserve à 6°C (Essai 2).

| Analyse | Conductivité (micro-S/cm) | | EST (%Massique) | | MG | |
|-----------------|------------------------------|--------|-----------------------|--------|-----------------------|--------|
| | Jus-lait non fermenté | Témoin | Jus-lait non fermenté | Témoin | Jus-lait non fermenté | Témoin |
| J+0 (t0) | / | / | / | / | / | / |
| J+5 | 3120 | 3030 | 12,40 | 12,38 | 0,3 | 0,3 |
| J+10 | 3100 | 3000 | 12,09 | 12,20 | 0,3 | 0,3 |
| J+15 | / | / | / | / | / | / |
| J+21 | / | / | / | / | / | / |
| J+30 | / | / | / | / | / | / |

/ : Non effectué

Au bout de 10 jours de conservation à 6°C, la conductivité du jus-lait non fermenté a atteint 3100 micro-S/cm tandis que son témoin a affiché une valeur de 3000 micro-S/cm. L'EST du jus-lait non fermenté a été de 12,09 % et celui du témoin a été de 12,20%. Le taux de matière grasse est resté stable soit 0,3 % étant donné l'utilisation d'un lait entier.

III. Aspect général du produit

Quelque soit la formule utilisée, le produit a présenté les caractéristiques suivantes :

- **Odeur** : que ce soit le jus-lait fermenté ou le jus-lait non fermenté et conservé à 6°C, leur odeur est caractéristique de l'orange et du lait.
- **Gout** : un gout acide pour le jus-lait fermenté et légèrement acide pour le jus-lait non fermenté et conservé à 6°C.
- **Aspect visuel** : A la fin de la préparation, un bon aspect, bien homogénéisé et stable a été obtenu. Mais après un certains temps, environs 1h - 2h, une séparation de phases (phase aqueuse et précipitât) pour les deux échantillons (jus-lait fermenté, non fermenté et témoins) a été observée (figure 14).

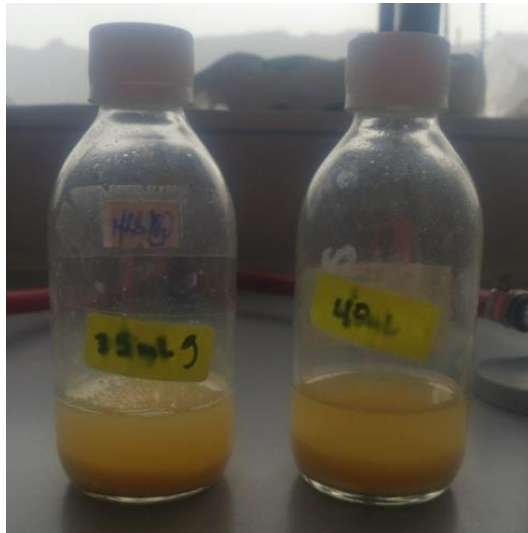


Figure 14 : Séparation des phases d'un échantillon de jus-lait.

Durant la mise au point de la boisson lactée, nous avons été confronté à un problème qui est l'aspect visuel du produit. En effet, une séparation de phases s'est produite. Le produit n'est pas stable que ce soit le jus-lait fermenté ou non fermenté.

Le problème est lié à la fixation de la CMC, qui n'a pas pu stabiliser efficacement la caséine du lait. Selon Wu et *al.* (2014), la stabilité des boissons lactées acidifiées induite par la CMC dépend de plusieurs paramètres, dont les propriétés moléculaires de la CMC et les conditions de traitement. En effet, elle se détériore lorsqu'une pression d'homogénéisation élevée est appliquée, de ce fait, la pression d'homogénéisation doit être < 30 MPa pour éviter de dégrader la CMC.

L'instabilité finale des produits laitiers acidifiés est étroitement liée à la dégradation de la CMC lors du stockage à faible pH < 3 ; or notre produit est homogénéisé avec une pression inférieure à 30 et le pH final a été supérieur à 3. D'après l'étude de Wu et *al.* (2013) sur la stabilisation des boissons acidifiées au lait entier par la CMC, il a été constaté que la présence de graisse entraînait des tailles de particules plus grandes, mais qu'elle ne perturbait pas l'adsorption de la CMC sur les micelles de caséine en dessous du pH 5,2. L'adsorption de CMC confère aux micelles de caséine des répulsions électrostatiques et stériques, indispensables à la stabilité des boissons lactées acidifiées.

Ainsi les boissons au lait entier acidifié peuvent être stabilisées par CMC, en effet à des concentrations de CMC $> 0,3$ %, presque aucune sédimentation ou crémage n'a pu être

observé, indiquant clairement que la CMC peut stabiliser le système laitier en présence d'une grande quantité de matières grasses comme dans le lait entier. Cela prouve que le problème ne vient pas du lait qu'on a utilisé qui est entier. Dans l'étude de Yuliarti et *al.* (2019), la stabilité et les propriétés physiques des laits écrémés et entiers acidifiés ont été transformés de façon marquée par la combinaison de la HMP (pectine à haute teneur en méthoxyle) et de la CMC. Leur étude a montré que l'ajout de HMP seul était capable de stabiliser les boissons à base de lait écrémé ou à base de lait entier, mais pas lorsque la CMC seule était utilisée et par conséquent la combinaison de la CMC et de la HMP est plus appropriée pour la stabilisation du lait avec une grande quantité de matières grasses. Cela va dans le sens de l'étude de Ntazinda et *al.* (2014) qui ont conclu que la combinaison de la CMC et des SSPS (polysaccharide soluble de soja) a amélioré la stabilité des boissons à base de lait écrémé acidifié par rapport à la CMC et au SSPS seuls. Une combinaison de la CMC et du SSPS dans le rapport de 1:3 (CMC-SSPS) a amélioré la stabilité en réduisant le rapport de sédimentation et la taille des particules. Selon leur conclusion, la stabilité des boissons au lait acidifié peut être influencée par le type ainsi que la concentration des stabilisants utilisés.

Les résultats de l'étude de Abedi et *al.* (2014) sur le lait-jus de framboise, une boisson laitière acide, arrivent à la même conclusion, les échantillons les mieux adaptés étaient ceux contenant les mélanges de pectine et de CMC qui étaient plus stables et plus visqueux que les échantillons contenant de la CMC pure. Karimi et *al.* (2016) affirment que les traitements contenant de la pectine ont montré une meilleure stabilité que ceux à la CMC durant le stockage.

D'après Guo et *al.* (2021), qui ont fait le point sur les stabilisateurs de polysaccharides explorés pour stabiliser les boissons lactées acidifiées sur la base des progrès de la recherche au cours de la dernière décennie, y compris la HMP, le SSPS et la CMC couramment utilisés ; divers facteurs affectent la stabilité de ces boissons, tels que la teneur en solides du lait, la concentration en polysaccharides, les conditions environnementales et les conditions de traitement et surtout les paramètres moléculaires des polysaccharides. Selon eux le mélange Jus de fruit et lait peut être stabilisé avec la HMP, la CMC, la HMP combiné avec CMC, la CMC combinée avec du Kappa-Carraghénane, la HMP/CMC/kappa- Carraghénane, la Pectine et la CMC combinées avec le HMP. Par conséquent, il est nécessaire d'évaluer la stabilité des boissons lactées acidifiées en présence de stabilisants composés et les interactions possibles entre eux, fournissant des conseils à la fois scientifiques et pratiques aux fabricants.

*CONCLUSION &
PERSPECTIVES*

CONCLUSION & PERSPECTIVES

À mesure que les consommateurs soient de plus en plus conscients, les boissons lactées fermentées deviennent de plus en plus populaires et tendent à être l'un des plus grands marchés d'aliments fonctionnels. Cette tendance est liée à l'amélioration des propriétés nutritionnelles (vitamines, minéraux, fibres et antioxydants), à leur meilleur goût, saveur et arôme, et à leurs bienfaits pour la santé.

Ce travail a permis la réalisation d'un nouveau produit, un lait-jus fermenté. Le but étant de combiner entre les propriétés nutritionnelles et fonctionnelles du jus de fruits et celles du lait et les effets bénéfiques d'une souche de *Lactocaseibacillus paracasei* probiotique.

Les résultats des analyses microbiologiques et physicochimiques de la boisson formulée (fermentée ou non) étaient très satisfaisants. Une croissance exponentielle de la souche lactique au cours de la fermentation du jus-lait a été constatée avec une stabilité dans sa charge durant la période d'incubation. Concernant le jus-lait conservé (non fermenté), une croissance lente a été remarquée tout au long de la période de conservation, au bout de 21 jours elle a atteint une charge moyenne de 10^8 UFC/mL. La quantité d'acide lactique produite au cours de la fermentation et de la conservation était très importante. En effet, au bout de 24h de fermentation, des valeurs de 31,5°D et de 28°D ont été obtenues. Concernant le jus lait non fermenté et conservé à 6°C, des valeurs de 33°D et 27°C ont été enregistrées au bout de 30 jours de conservation. Le pH du produit fini fermenté a abaissé jusqu'à 4,4-4,1. Les autres paramètres physicochimiques restent plus ou moins stables au cours de la conservation à 6°C.

La CMC utilisée n'a pas permis la stabilité des protéines du lait, ce qui a donné une séparation de phases du produit.

Ce travail reste préliminaire, et des perspectives sont proposées :

- Faire d'autres répétitions et une analyse statistique des résultats.
- Optimiser le mélange de jus d'orange et de lait car il se révèle être un substrat idéal pour la culture de la souche de *Lactiocaseibacillus paracasei*, car il contient déjà des nutriments bénéfiques tels que des minéraux, des vitamines, des fibres alimentaires et des antioxydants.

CONCLUSION & PERSPECTIVES

- Essayer plusieurs concentrations de la CMC et utiliser deux hydrocolloïdes ou plus comme la CMC et la SSPS ou la CMC et la HMP pour améliorer la stabilité en réduisant le rapport de sédimentation et la taille des particules avec une viscosité et un potentiel zêta améliorés par rapport à un seul stabilisant. Et cela permet l'obtention d'un effet synergique et réduits les coûts de fabrication.
- Approfondir les recherches sur les stabilisants à l'échelle moléculaire pour une compréhension de base de la relation structure-fonction qui indiquera une direction pour la conception des stabilisants polysaccharidiques avec les performances et la rentabilité souhaitées. Par exemple les mécanismes de stabilisation proviennent de la répulsion électrostatique et de la stabilisation stérique.
- Réaliser des boissons à base de lait entier, car la graisse aide dans l'adsorption du stabilisant sur les protéines du lait.
- Concevoir d'autres études pour la mise au point de boissons lactées fermentées en utilisant d'autres jus de fruits car la matrice alimentaire affecte le taux de survie microbienne ainsi que la qualité et l'acceptation du produit, les jus de fruits lactés fermentés conviennent à une utilisation en tant que supports probiotiques.

ANNEXES

Annexe I

Tableau I : Table de composition nutritionnelle des aliments ciqual, 2020 : composition chimique détaillée jus de fruits, pur jus (aliment moyen).

| Constituant | Teneur moyenne | Constituant | Teneur moyenne |
|--|----------------|--|----------------|
| Energie, Règlement UE N° 1169/2011 (kJ/100 g) | 199 | AG 14:0, myristique (g/100 g) | 0,00088 |
| Energie, Règlement UE N° 1169/2011 (kcal/100 g) | 46,9 | AG 16:0, palmitique (g/100 g) | 0,017 |
| Energie, N x facteur Jones, avec fibres (kJ/100 g) | 199 | AG 18:0, stéarique (g/100 g) | 0,0013 |
| Energie, N x facteur Jones, avec fibres (kcal/100 g) | 46,9 | AG 20:5 5c,8c,11c,14c,17c (n-3) EPA (g/100 g) | 0,00043 |
| Eau (g/100 g) | 88,4 | AG 22:6 4c,7c,10c,13c,16c,19c (n-3) DHA (g/100 g) | 0,00043 |
| Protéines, N x facteur de Jones (g/100 g) | 0,51 | Cholestérol (mg/100 g) | 0 |
| Protéines, N x 6.25 (g/100 g) | 0,51 | Sel chlorure de sodium (g/100 g) | 0,012 |
| Glucides (g/100 g) | 9,32 | Calcium (mg/100 g) | 3,93 |
| Lipides (g/100 g) | 0,14 | Cuivre (mg/100 g) | 0,029 |
| Sucres (g/100 g) | 8,94 | Fer (mg/100 g) | 0,12 |
| Fructose (g/100 g) | 3,06 | Iode (µg/100 g) | 1,66 |
| Galactose (g/100 g) | 0,0049 | Magnésium (mg/100 g) | 9,05 |
| Glucose (g/100 g) | 2,34 | Manganèse (mg/100 g) | 0,054 |
| Lactose (g/100 g) | 0,038 | Phosphore (mg/100 g) | 14,3 |
| Maltose (g/100 g) | 0,072 | Potassium (mg/100 g) | 154 |
| Saccharose (g/100 g) | 2,88 | Sodium (mg/100 g) | 5,26 |
| Amidon (g/100 g) | 0,015 | Zinc (mg/100 g) | 0,044 |
| Fibres alimentaires (g/100 g) | 0,27 | Rétinol (µg/100 g) | 0 |
| Polyols totaux (g/100 g) | 0,094 | Beta-Carotène (µg/100 g) | 29,2 |
| Cendres (g/100 g) | 0,38 | Vitamine D (µg/100 g) | 0,00013 |
| Alcool (g/100 g) | 0 | Vitamine E (mg/100 g) | 0,16 |

ANNEXES

| | | | |
|------------------------------|---------|---|-------|
| Acides organiques (g/100 g) | 1,27 | Vitamine K1 ($\mu\text{g}/100\text{ g}$) | 0,16 |
| AG saturés (g/100 g) | 0,044 | Vitamine C (mg/100 g) | 32,7 |
| AG monoinsaturés (g/100 g) | 0,013 | Vitamine B1 ou Thiamine (mg/100 g) | 0,059 |
| AG polyinsaturés (g/100 g) | 0,024 | Vitamine B2 ou Riboflavine (mg/100 g) | 0,018 |
| AG 4:0, butyrique (g/100 g) | 0,0005 | Vitamine B3 ou PP ou Niacine (mg/100 g) | 0,25 |
| AG 6:0, caproïque (g/100 g) | 0,00043 | Vitamine B5 ou Acide pantothénique (mg/100 g) | 0,18 |
| AG 8:0, caprylique (g/100 g) | 0,00043 | Vitamine B6 (mg/100 g) | 0,08 |
| AG 10:0, caprique (g/100 g) | 0,0024 | Vitamine B9 ou Folates totaux ($\mu\text{g}/100\text{ g}$) | 22,4 |
| AG 12:0, laurique (g/100 g) | 0,00055 | Vitamine B12 ($\mu\text{g}/100\text{ g}$) | 0 |

Annexe II

Tableau II : Table de composition nutritionnelle des aliments Ciqual, 2020 : Composition chimique détaillée d'un jus d'orange à base de concentré.

| Constituant | Teneur moyenne | Constituant | Teneur moyenne |
|--|----------------|---|----------------|
| Energie, Règlement UE N° 1169/2011 (kJ/100 g) | 194 | AG 18:1 9c (n-9), oléique (g/100 g) | 0,029 |
| Energie, Règlement UE N° 1169/2011 (kcal/100 g) | 45,6 | AG 18:2 9c,12c (n-6), linoléique (g/100 g) | 0,028 |
| Energie, N x facteur Jones, avec fibres (kJ/100 g) | 194 | AG 18:3 c9,c12,c15 (n-3), alpha-linolénique (g/100 g) | 0,0067 |
| Energie, N x facteur Jones, avec fibres (kcal/100 g) | 45,6 | AG 20:4 5c,8c,11c,14c (n-6), arachidonique (g/100 g) | 0 |
| Eau (g/100 g) | 89,7 | AG 20:5 5c,8c,11c,14c,17c (n-3) EPA (g/100 g) | < 0,000013 |
| Protéines, N x facteur de Jones (g/100 g) | 0,63 | AG 22:6 4c,7c,10c,13c,16c,19c (n-3) DHA (g/100 g) | < 0,000013 |
| Protéines, N x 6.25 (g/100 g) | 0,63 | Cholestérol (mg/100 g) | 0 |
| Glucides (g/100 g) | 9,59 | Sel chlorure de sodium (g/100 g) | 0,0084 |
| Lipides (g/100 g) | 0,13 | Calcium (mg/100 g) | 7,25 |
| Sucres (g/100 g) | 9,59 | Cuivre (mg/100 g) | 0,023 |
| Fructose (g/100 g) | 2,6 | Fer (mg/100 g) | 0,08 |
| Galactose (g/100 g) | 0 | Iode (µg/100 g) | 0,4 |
| Glucose (g/100 g) | 2,42 | Magnésium (mg/100 g) | 10,9 |
| Lactose (g/100 g) | < 0,2 | Manganèse (mg/100 g) | 0,02 |
| Maltose (g/100 g) | < 0,098 | Phosphore (mg/100 g) | 16,9 |
| Saccharose (g/100 g) | 3,17 | Potassium (mg/100 g) | 154 |
| Amidon (g/100 g) | 0 | Sélénium (µg/100 g) | < 10 |
| Fibres alimentaires (g/100 g) | 0,25 | AG 18:1 9c (n-9), oléique (g/100 g) | 0,029 |
| Polyols totaux (g/100 g) | 0 | AG 18:2 9c,12c (n-6), linoléique (g/100 g) | 0,028 |
| Cendres (g/100 g) | 0,5 | AG 18:3 c9,c12,c15 (n-3), alpha- | 0,0067 |

ANNEXES

| | | | |
|-------------------------------|---------|---|---------------|
| | | linoléique (g/100 g) | |
| Alcool (g/100 g) | 0 | AG 20:4 5c,8c,11c,14c (n-6), arachidonique (g/100 g) | 0 |
| Acides organiques (g/100 g) | 1 | AG 20:5 5c,8c,11c,14c,17c (n-3) EPA (g/100 g) | < 0,000013 |
| AG saturés (g/100 g) | 0,034 | AG 22:6 4c,7c,10c,13c,16c,19c (n-3) DHA (g/100 g) | < 0,000013 |
| AG monoinsaturés (g/100 g) | 0,03 | Cholestérol (mg/100 g) | 0 |
| AG polyinsaturés (g/100 g) | 0,035 | Sel chlorure de sodium (g/100 g) | 0,0084 |
| AG 4:0, butyrique (g/100 g) | 0 | Calcium (mg/100 g) | 7,25 |
| AG 6:0, caproïque (g/100 g) | 0 | Cuivre (mg/100 g) | 0,023 |
| AG 8:0, caprylique (g/100 g) | 0 | Fer (mg/100 g) | 0,08 |
| AG 10:0, caprique (g/100 g) | 0 | Iode (µg/100 g) | 0,4 |
| AG 12:0, laurique (g/100 g) | 0,00022 | Magnésium (mg/100 g) | 10,9 |
| AG 14:0, myristique (g/100 g) | 0,0011 | Manganèse (mg/100 g) | 0,02 |
| AG 16:0, palmitique (g/100 g) | 0,022 | Phosphore (mg/100 g) | 16,9 |
| AG 18:0, stéarique (g/100 g) | 0,0089 | Potassium (mg/100 g) | 154 |

Annexe III

Tableau III : Exemples de jus de fruits fermentés avec diverses souches LAB dans des cultures simples ou mixtes avec les effets respectifs (Plessas, 2021).

| Jus de fruits | Souches | Principaux effets positifs |
|--|---|---|
| Jus de mûre (Morus nigra) | <i>L. plantarum</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. paracasei</i> | Augmentation de l'activité anthocyanique, phénolique et antioxydante totale. |
| Jus de grenade (Punica granatumL.) | <i>L. plantarum</i> | <ul style="list-style-type: none"> • Augmentation de l'activité antimicrobienne et de la teneur en acides gras libres volatils. • Meilleures propriétés organoleptiques et composition des composés volatils. • Caractéristiques sensorielles améliorées. TPC (teneur en phénols totaux) et activité antioxydante. |
| Jus de grenade (Punica granatumL.) | <i>L. paracasei</i> | Caractéristiques sensorielles améliorées. TPC et activité antioxydante. |
| Jus de figue de Barbarie (Opuntia fcus-indica) | <i>L. plantarum</i> | Amélioration de la résistance à l'insuline. |
| Jus de pomme cajou (Anacardium occidentaleL.) | <i>B. bifidum</i> , <i>B. longum subsp. infantis</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. mesenteroides</i> , <i>L. johnsonii</i> | <ul style="list-style-type: none"> • Amélioration de l'activité antioxydante. • Modification du type et du contenu phénolique. • La présence d'oligosaccharides prébiotiques a amélioré la croissance de <i>L. johnsonii</i>. |

Annexe IV

Tableau IV : Les types et concentrations d'hydrocolloïdes ajoutés aux ADD ou DAPDs (boissons protéinées directement acidifiées) (Liu et al., 2020).

| No. | Code | Hydrocolloid | % w/w |
|-----|------------------|------------------|-----------|
| 1 | Pectin_low | Pectin | 0.20 |
| 2 | Pectin_high | Pectin | 0.40 |
| 3 | Pectin/Guar_low | Pectin/Guar gum* | 0.21/0.14 |
| 4 | Pectin/Guar_high | Pectin/Guar gum* | 0.33/0.22 |
| 5 | Pectin/LBG_low | Pectin/LBG* | 0.21/0.14 |
| 6 | Pectin/LBG_high | Pectin/LBG* | 0.33/0.22 |
| 7 | CMC A_low | CMC A | 0.65 |
| 8 | CMC A_high | CMC A | 0.85 |
| 9 | CMC B_low | CMC B | 0.45 |
| 10 | CMC B_high | CMC B | 0.65 |
| 11 | CMC/Gellan_low | CMC/Gellan gum* | 0.80 |
| 12 | CMC/Gellan_high | CMC/Gellan gum* | 1.00 |

Annexe V

Homogénéisation de la souche *L.paracasei* à l'aide d'un Vortex



Annexe VI

Etape de préparation de la gélose MRS

- Mélange de 68,2 g de poudre déshydraté MRS avec 1L d'eau distillé
- Agitation dans de l'eau bouteille pedant 10 minute.
- Autoclavage à 121°C/15min

Annexe VII

Rhéomètre Anton Paar RheoCompass.



Annexe VIII

Etapes de préparation de la gélose YGC

- Mélange de 40g de poudre déshydraté YGC avec 1L d'eau distillé
- Agitation dans de l'eau bouillante jusqu'à homogénéisation (environ 5minutes)
- Autoclavage à 121°C/15min

Annexe IV

Conductimètre portatif Cond 3210.



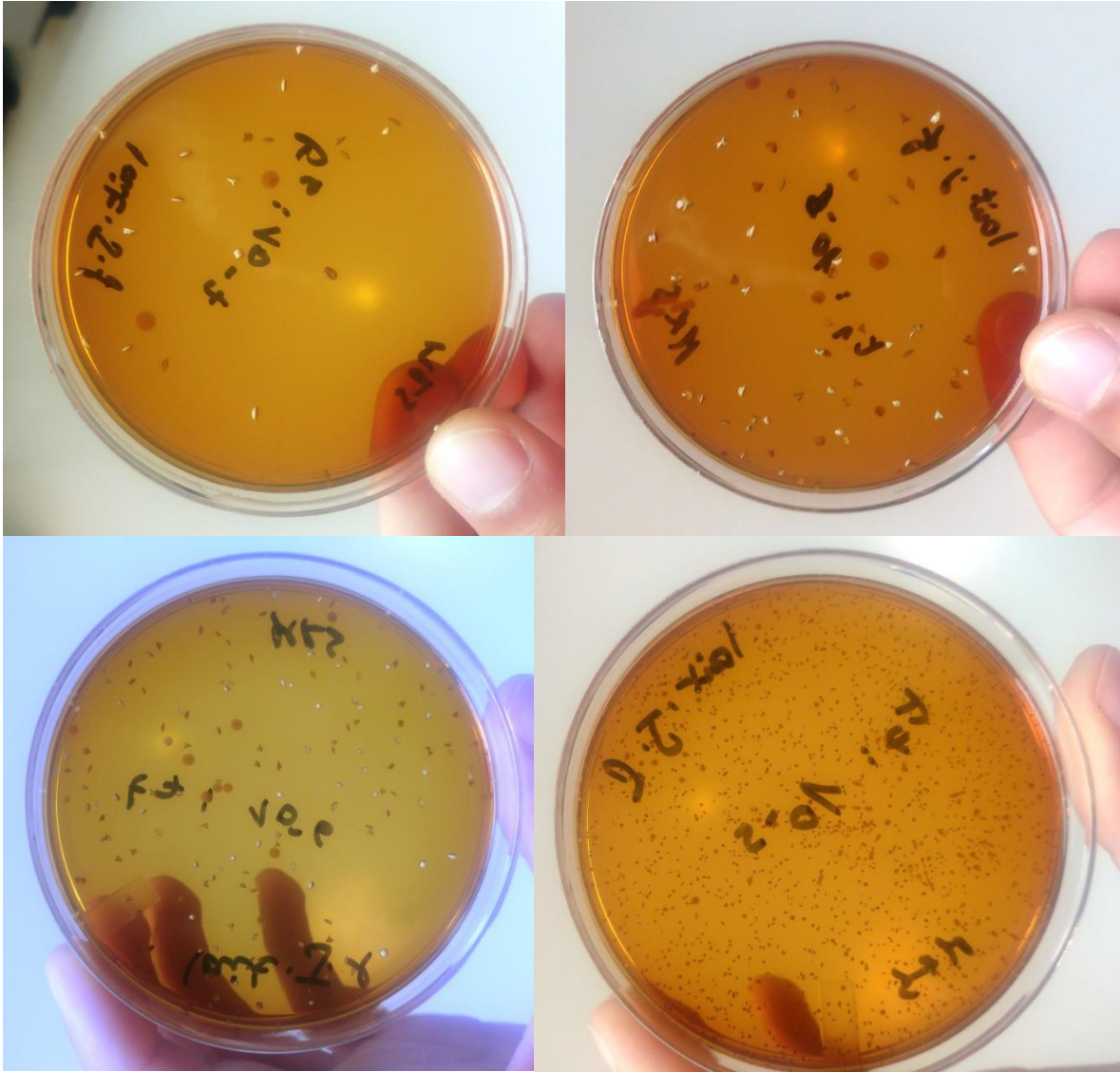
Annexe X

Dessiccateur Sartorius MA100C.



Annexe XI

Dénombrement de *Lactiseibacillus paracasei* ssp. *paracasei* sur Gélose MRS.



Annexe XII

Résultats du dénombrement de la flore lactique et des analyses physicochimiques (pH et acidité) du Jus-lait fermenté (Essai 1).

Tableau V : Résultats du dénombrement de la flore lactique du Jus-lait fermenté (Essai 1).

| Produit | Jus-lait fermenté (essai 1) UFC/mL |
|----------|------------------------------------|
| t0 : 00h | 1,77 x 10 ⁷ |
| t1 : 03h | 8,88 x 10 ⁷ |
| t2 : 06h | 1,34 x 10 ⁸ |
| t3 : 09h | 2,06 x 10 ⁸ |
| t4 : 15h | 1,84 x 10 ⁸ |
| t5 : 18h | 1,99 x 10 ⁸ |
| t6 : 21h | 1,92 x 10 ⁸ |
| t7 : 24h | 2,19 x 10 ⁸ |

Tableau VI : Résultats des analyses physicochimiques (pH et acidité) du Jus-lait fermenté (Essai 1).

| Analyse | pH | | Acidité Dornic (°D) | |
|----------|-------------------|-----------------|---------------------|-----------------|
| | Lait-Jus fermenté | Lait-Jus témoin | Lait-Jus fermenté | Lait-Jus témoin |
| t0 : 00h | 4,91 | 4,95 | 17 | 16 |
| t1 : 03h | 4,75 | 5,04 | 19,5 | 15 |
| t2 : 06h | 4,63 | 5,07 | 21,5 | 17 |
| t3 : 09h | 4,43 | 4,84 | 25 | 16 |
| t4 : 12h | 4,38 | 5,04 | 24 | 15 |
| t5 : 15h | 4,28 | 4,96 | 27 | 17 |
| t6 : 18h | 4,21 | 4,82 | 27 | 18 |
| t7 : 21h | 4,19 | 4,93 | 29 | 19 |
| t8 : 24h | 4,16 | 4,82 | 31,5 | 18 |

Annexe XIII

Résultats du dénombrement de la flore lactique et des analyses physicochimiques (pH et acidité) du Jus-lait non fermenté conservé à 6°C/ 30 jours (Essai 1).

Tableau VII : Résultats du dénombrement de la flore lactique du Jus-lait non fermenté conservé à 6°C/ 30 jours (Essai 1).

| Temps | Nombre de cellules (UFC/mL) |
|-------|-----------------------------|
| t0 | 1,77 x 10 ⁷ |
| t+02 | 2,4 x 10 ⁷ |
| t+07 | 3,9 x 10 ⁷ |
| t+10 | 5,6 x 10 ⁷ |
| t+15 | 8,75 x 10 ⁷ |
| t+21 | 1,625 x 10 ⁸ |
| t+30 | / |

/ : Non effectué

Tableau VIII : Résultats des analyses physicochimiques (pH et acidité) du Jus-lait non fermenté conservé à 6°C/ 30 jours (Essai 1).

| Analyses | pH | | Acidité Dornic (°D) | |
|----------|-----------------------|--------|-----------------------|--------|
| | Jus-lait non fermenté | Témoin | Jus-lait non fermenté | Témoin |
| J+2 | 4,86 | 4,95 | 17,5 | 16 |
| J+7 | 4,52 | 5,04 | 22 | 17 |
| J+10 | 4,31 | 5,02 | 28 | 16 |
| J+15 | 4,27 | 5,06 | 28 | 16 |
| J+21 | 4,13 | 5,10 | 33 | 17 |
| J+30 | 4,07 | 5,02 | 33 | 16 |

Annexe XIV

Résultats du dénombrement de la flore lactique et des analyses physicochimiques (pH et acidité) du Jus-lait fermenté (Essai 2).

Tableau IX : Résultats du dénombrement de la flore lactique du Jus-lait fermenté (Essai 2).

| Temps | Nombre de cellules (UFC/mL) |
|----------|-----------------------------|
| t0 : 00h | 8×10^6 |
| t1 : 03h | $3,08 \times 10^7$ |
| t2 : 06h | $5,77 \times 10^7$ |
| t3 : 09h | $1,32 \times 10^8$ |
| t4 : 14h | $1,37 \times 10^8$ |
| t5 : 15h | $1,64 \times 10^8$ |
| t6 : 18h | $1,63 \times 10^8$ |
| t7 : 21h | $2,13 \times 10^8$ |
| t8 : 24h | $2,33 \times 10^8$ |

Tableau X : Résultats des analyses physicochimiques (pH et acidité) du Jus-lait fermenté (Essai 2).

| Analyse | Ph | | Acidité Dornic (°D) | |
|----------|-------------------|-----------------|---------------------|-----------------|
| | Jus-lait fermenté | Jus-lait témoin | Jus-lait fermenté | Jus-lait témoin |
| t0 : 00h | 5,11 | 5,14 | 17 | 16 |
| t1 : 03h | 4,97 | 5,14 | 17,5 | 16 |
| t2 : 06h | 4,90 | 5,15 | 18,5 | 16 |
| t3 : 09h | 4,79 | 5,16 | 20 | 16 |
| t4 : 14h | 4,66 | 5,19 | 22 | 16 |
| t5 : 15h | 4,61 | 5,15 | 24 | 17 |
| t6 : 18h | 4,58 | 5,15 | 25,5 | 17 |
| t7 : 21h | 4,46 | 5,14 | 28 | 16 |
| t8 : 24h | 4,44 | 5,14 | 28 | 16,5 |

Annexe XV

Résultats du dénombrement de la flore lactique et des analyses physicochimiques du Jus-lait non fermenté (Essai 2).

Tableau XI : Résultats du dénombrement de la flore lactique du Jus-lait non fermenté (Essai 2).

| Temps | Moyenne (UFC/mL) |
|-----------------|------------------|
| J+0 (t0) | 10^7 |
| J+05 | 3.10^7 |
| J+10 | 8.10^7 |
| J+15 | $9,6 10^7$ |
| J+21 | 10^8 |
| J+30 | / |

/ : Non effectué

Tableau XII : Résultats des analyses physicochimiques du Jus-lait non fermenté (Essai 2).

| Analyse | pH | | Acidité Dornic (°D) | |
|-----------------|-----------------------|--------|-----------------------|--------|
| | Jus-lait non fermenté | Témoin | Jus-lait non fermenté | Témoin |
| J+0 (t0) | 5,12 | 5,14 | 17 | 16 |
| J+5 | 4,84 | 5,17 | 20 | 16 |
| J+10 | 4,55 | 5,15 | 22 | 16 |
| J+15 | 4,44 | 5,16 | 24 | 15,5 |
| J+21 | 4,29 | 5,13 | 27 | 17 |
| J+30 | / | / | / | / |

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

- Abedi F., Sani A. M., et Karazhiyan H. (2014).** Effect of some hydrocolloids blend on viscosity and sensory properties of raspberry juice-milk. *Journal of food science and technology*, 51(9), 2246-2250.
- Andrade M. R. D., Martins T. R., Rosenthal A., Hauck J. T., et Deliza R. (2019).** Fermented milk beverage: formulation and process. *Ciência Rural*, 49.
- Anonyme 1 :** <https://fut-inox.fr/plus-dinfos/infos-melangeurs/>
- Bhardwaj R. L., Nandal U., Pal A., et Jain S. (2014).** Bioactive compounds and medicinal properties of fruit juices. *Fruits*, 69(5), 391-412.
- Braesco V., Gauthier T., et Bellisle F. (2013).** Jus de fruits et nectars. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 48(5), 248-256.
- Codex alimentaris (2021).** Norme générale pour les additifs alimentaires. Disponible sur : <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/list-standards/fr/>
- De la Fuente B., Luz C., Puchol C., Meca G., et Barba F. J. (2021).** Evaluation of fermentation assisted by *Lactobacillus brevis* POM, and *Lactobacillus plantarum* (TR-7, TR-71, TR-14) on antioxidant compounds and organic acids of an orange juice-milk based beverage. *Food Chemistry*, 343, 128414.
- Guneser O., Hosoglu M. I., Guneser B. A., et Yuceer Y. K. (2019).** Engineering of milk-based beverages: Current status, developments, and consumer trends. In *Milk-based beverages* (pp. 1-37). Woodhead Publishing.
- Guo Y., Wei Y., Cai Z., Hou B., et Zhang H. (2021).** Stability of acidified milk drinks induced by various polysaccharide stabilizers: A review. *Food Hydrocolloids*, 118, 106814.
- Harlé O. (2020).** Identification des interactions positives entre bactéries lactiques en fermentation de jus de soja. Thèse de doctorat, AGROCAMPUS OUEST, Rennes, 187p.
- Hati S., Das S., et Mandal S. (2019).** Technological advancement of functional fermented dairy beverages. In *Engineering Tools in the Beverage Industry* (pp. 101-136). Woodhead Publishing.
- Islam M., Alam M. N., et van de Ven T. (2020).** Sustainable cellulose-based hydrogel for dewatering of orange juice. *Cellulose*, 27(13), 7637-7648.

- Istrati D. I., Pricop E. M., Profir A. G., et Vizireanu C. (2019).** Fermented functional beverages. *Functional Foods*.
- Journal officiel de l'UE (2012).** Directives. Disponible sur : <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/ALL/?uri=CELEX%3A32012L0012%20>
- Kandylis P., Pissaridi K., Bekatorou A., Kanellaki M., et Koutinas A. A. (2016).** Dairy and non-dairy probiotic beverages. *Current Opinion in Food Science*, 7, 58-63.
- Karimi N., Sani A. M., et Pourahmad R. (2016).** Influence of carboxy methyl cellulose (CMC) and pectin on rheological, physical stability and sensory properties of milk and concentrated jujuba mixture. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 10(2), 396-404.
- Liu J., Pedersen H. L., Knarreborg L., Ipsen R., et Bredie W. L. (2020).** Stabilization of directly acidified protein drinks by single and mixed hydrocolloids—combining particle size, rheology, tribology, and sensory data. *Food Science & Nutrition*, 8(12), 6433-6444.
- Maciel M. I. S., et de Souza M. M. B. (2020).** Prebiotics and Probiotics-Potential Benefits in Human Nutrition and Health. In *Prebiotics and Probiotics-Potential Benefits in Nutrition and Health*. IntechOpen.
- Magno M. B., Nadelman P., de Abreu Brandi T. C., Pithon M. M., Fonseca- Gonçalves A., da Cruz A. G., et Maia L. C. (2019).** The effect of dairy probiotic beverages on oral health. In *Milk-based beverages* (pp. 521-556). Woodhead Publishing.
- Marsh A. J., Hill C., Ross R. P., et Cotter P. D. (2014).** Fermented beverages with health-promoting potential: Past and future perspectives. *Trends in Food Science & Technology*, 38(2), 113-124.
- Martins C. P., Cavalcanti R. N., Cardozo T. S., Couto S. M., Guimarães J. T., Balthazar C. F., et Cruz A. G. (2021).** Effects of microwave heating on the chemical composition and bioactivity of orange juice-milk beverages. *Food Chemistry*, 345, 128746.
- Mihalev K., Dinkova R., Shikov V., et Mollov P. (2018).** Classification of fruit juices. In *Fruit Juices* (pp. 33-44). Academic Press.

- Molero M. S., et Briñez W. J. (2018).** Probiotics consumption increment through the use of whey-based fermented beverages. In *Probiotics-Current Knowledge and Future Prospects*. Intechopen.
- Ntazinda A., Cheserek M. J., Sheng L. X., Meng J., et Lu R. R. (2014).** Combination effect of sodium carboxymethyl cellulose and soybean soluble polysaccharides on stability of acidified skimmed milk drinks. *Dairy Science & Technology*, 94(3), 283-295.
- Panda S. K., et Shetty P. H. (Eds.). (2018).** *Innovations in technologies for fermented food and beverage industries*. Berlin: Springer.
- Pereira A. L. F., et Rodrigues S. (2018).** Turning fruit juice into probiotic beverages. In *Fruit juices* (pp. 279-287). Academic Press.
- Plessas S. (2021).** Advancements in the Use of Fermented Fruit Juices by Lactic Acid Bacteria as Functional Foods: Prospects and Challenges of *Lactiplantibacillus (Lpb.) plantarum* subsp. *plantarum* Application. *Fermentation*, 8(1), 6.
- Rajauria G., et Tiwari B. K. (2018).** Fruit juices: an overview. *Fruit Juices*, 3-13.
- Shet N. B., Sagar, S. D., et Bollamma M. N. (2017).** Production of fermented fruit juice and value addition by blending medicinal plants. *J Bacteriol Mycol Open Access*, 5(6), 395-397.
- Tian H., Zhao Q., He Z., Wang Z., Qin F., Zeng M., et Chen J. (2021).** Effects of Molecular Weight and Degree of Esterification of Soluble Soybean Polysaccharide on the Stability of Casein under Acidic Conditions. *Foods*, 10(3), 686.
- Wu J., Du B., Li J., et Zhang H. (2014).** Influence of homogenisation and the degradation of stabilizer on the stability of acidified milk drinks stabilized by carboxymethylcellulose. *LWT-Food Science and Technology*, 56(2), 370-376.
- Wu J., Liu J., Dai Q., et Zhang H. (2013).** The stabilisation of acidified whole milk drinks by carboxymethylcellulose. *International Dairy Journal*, 28(1), 40-42
- Yuliarti O., Mei K. H., Ting Z. K. X., et Yi K. Y. (2019).** Influence of combination carboxymethylcellulose and pectin on the stability of acidified milk drinks. *Food Hydrocolloids*, 89, 216-223.

Zheng J., Wittouck S., Salvetti E., Franz C. M., Harris H. M., Mattarelli P., et Lebeer S. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of Lactobacillaceae and Leuconostocaceae. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 70(4), 2782-2858.

RESUME

Le présent document met en avant le développement d'un nouveau produit, une boisson lactée fermentée. Deux différents essais ont été réalisés au cours d'un stage pratique effectué au niveau de la laiterie Soummam, Akbou (W. Bejaia, Algérie). Pour le premier essai, 80 % de jus d'orange à base de concentré et 20 % de lait UHT partiellement écrémé ont été mélangés, auquel par la suite une souche de *Lacticaseibacillus paracasei ssp. paracasei* a été inoculée. Pour le second essai, un lait entier a été utilisé. Le but de cette étude est de réussir à combiner entre les propriétés nutritionnelles et fonctionnelles du lait avec celles du jus d'orange, et d'incorporer une souche lactique pour induire une fermentation dans le but d'augmenter la durée de conservation et d'avoir un effet probiotique. Un contrôle microbiologique de la flore lactique et de la flore fongique suivie des analyses physicochimiques (notamment la mesure du pH et la détermination de l'acidité Dornic) ont été effectués pour les deux essais. Les échantillons du premier essai du jus-lait fermenté montrent une croissance exponentielle de la souche au bout de 9h de fermentation à 37°C où la charge bactérienne a atteint $2,06 \cdot 10^8$ UFC/mL ensuite le développement a été plus au moins stable. La durée de conservation à 6°C du jus-lait non fermenté du premier essai est de 30 jours. Pour les échantillons du second essai, on remarque une bonne croissance de la souche lactique dans le jus-lait, avec une valeur de $1,6 \cdot 10^8$ UFC/mL au bout de 6 h de fermentation. La durée de conservation pour le jus-lait non fermenté du second essai est de 21 jours minimum. La quantité d'acide lactique produit dans le premier essai et le second essai a été très significative. Le pH final du produit est entre 4,1 et 4,4. Au bout de quelques heures du mélange jus-lait, une séparation de phases a été remarquée, cela est dû à la non adsorption du stabilisant carboxyméthylcellulose (CMC) sur les micelles de caséine du lait.

Mots clés : Boisson lactée, probiotique, jus d'orange, *Lacticaseibacillus paracasei*.

ABSTRACT

This document highlights the development of a new product, a fermented milk drink. Two different trials were carried out during a practical course at the Soummam dairy, Akbou (W. Bejaia, Algeria). For the first trial, 80% orange juice concentrate and 20% UHT partly skimmed milk were mixed, to which a strain of *Lacticaseibacillus paracasei ssp. paracasei* was subsequently inoculated. For the second test, whole milk was used. The aim of this study is to combine the nutritional and functional properties of milk with those of orange juice, and to incorporate a lactic strain to induce a fermentation in order to increase the shelf life and to have a probiotic effect. A microbiological control of the lactic and fungal flora followed by physicochemical analyses (in particular the measurement of the pH and the determination of the Dornic acidity) were carried out for the two trials. The samples from the first trial for the fermented milk-juice show an exponential growth of the strain after 9 hours of fermentation at 37°C where the bacterial load reached $2.06 \cdot 10^8$ CFU/mL and then the growth was more or less stable. The shelf life of the unfermented milk-juice from the first trial was 30 days at 6°C. For the samples of the second test, a good growth of the lactic strain in the milk-juice was observed, with a value of $1.6 \cdot 10^8$ CFU/mL after 6 hours of fermentation. The shelf life for the unfermented milk juice from the second trial was at least 21 days. The amount of lactic acid produced in the first and second trials was very significant. The final pH of the product is between 4.1 and 4.4. After a few hours of the juice-milk mixture, a phase separation was noticed, which is due to the non-adsorption of the stabilizer carboxymethylcellulose (CMC) on the casein micelles of the milk.

Keywords : Dairy drink, probiotic, orange juice, *Lacticaseibacillus paracasei*