

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche scientifique**  
**Université Saad Dahleb Blida 1**



**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département des Sciences Alimentaires**  
**Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du Diplôme de**  
**Master en**  
**Spécialité : Nutrition et Diététique Humaine**  
**Filière: Sciences Alimentaires**  
**Domaine: Des Sciences de la nature et de la Vie**

## **Thème**

**Formulation d'un yaourt nature à base de Stévia**

### **Présenté par:**

**Amdegha Mounir et Hazourli Khaoula**

### **Devant le jury composé de :**

<b>Dr BOUGHERRA F.</b>	<b>MCB</b>	<b>Université Blida 1</b>	<b>Président</b>
<b>Dr KHALDOUN H.</b>	<b>MCA</b>	<b>Université Blida 1</b>	<b>Examinatrice</b>
<b>Dr DEFFAIRI D.</b>	<b>MCA</b>	<b>Université Blida 1</b>	<b>Promotrice</b>
<b>Dr KOUIDRI A.</b>	<b>MCA</b>	<b>Université Blida 1</b>	<b>Co promotrice</b>

**Année universitaire : 2022 - 2023**

## *Remerciements*

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude envers tous ceux qui ont contribué à notre parcours et à la réalisation de ce travail. Tout d'abord, nous remercions Dieu pour nous avoir accordé la santé, la persévérance et la détermination nécessaires pour mener à bien cette étude.

Nous souhaitons également exprimer notre gratitude envers notre promotrice, Dr. Deffairi Djamila Maitre de conférences A au Département Sciences Alimentaires, Faculté Sciences de la Nature et de la Vie ,Université Blida 1 , et notre Co-promotrice, Dr. Kouidri Amel Maitre de conférences A au Département Sciences Alimentaires ,Faculté Sciences de la Nature et de la Vie ,Université Blida 1 , pour leur soutien constant, leurs conseils précieux, leur expertise et leur accompagnement tout au long de ce processus de recherche.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à Dr. Bougherra Maitre de conférences B au Département Sciences Alimentaires, Faculté Sciences de la Nature et de la Vie, Université Blida 1 d'avoir généreusement accepté de présider le jury de soutenance. Nous tenons également à remercier sincèrement Dr. Khaldoune Maitre de conférences A au Département de Biologie, Faculté Sciences de la Nature et de la Vie, Université Blida 1 pour l'honneur qu'elle nous a fait en examinant ce travail.

Nous tenons également à remercier chaleureusement Mme Abrous Djamila, ingénieur dans l'industrie Colaital, ainsi que l'ensemble de l'industrie, pour leur collaboration et leur disponibilité. Leurs conseils éclairés et leurs informations nous ont permis de mieux appréhender les aspects pratiques de notre étude.

Un sincère remerciement est également adressé à Mme Saibi de l'Institut Pasteur, qui a apporté une aide précieuse et des connaissances approfondies dans le domaine des analyses microbiologiques.

Enfin, nous exprimons notre reconnaissance envers nos familles, nos proches, nos amis et tous ceux qui nous ont soutenus tout au long de cette aventure académique. Leur encouragement, leur soutien moral et leur compréhension ont été essentiels pour surmonter les obstacles et atteindre nos objectifs.

# *Dédicace*

À la mémoire de mes chers grands-parents que leur âme repose en paix, qui ont joué un rôle déterminant dans mon éducation depuis mon enfance. Vous avez été mes guides et mes inspirations, et je porte en moi les valeurs et l'amour que vous m'avez transmis. Votre influence reste gravée dans mon cœur et se reflète dans chaque ligne de ce mémoire. Je vous dédie cette réussite, en honneur à votre héritage précieux.

À ma mère bien-aimée, Askeur Lamia, tu es ma source d'inspiration et ma plus grande championne. Ton amour inconditionnel, ta bienveillance et ta détermination ont été les piliers de ma vie. Tu as sacrifié tant de choses pour me soutenir et me permettre d'atteindre mes rêves. Ce mémoire est dédié à toi, ma mère extraordinaire, pour tout ce que tu as fait et continues de faire pour moi. Je t'admire profondément et je suis infiniment reconnaissante d'avoir une mère aussi exceptionnelle à mes côtés.

À mon cher père, Hazourli Adnane, tu es mon meilleur soutien. Ton amour et tes enseignements ont été des piliers essentiels dans mon parcours. Je suis reconnaissante de pouvoir compter sur toi à chaque étape de ma vie, et ce mémoire est dédié à ton amour, à ta guidance et à ta fierté qui ont toujours été mes sources de force.

À ma sœur, Yasmine, tu es ma confidente et ma meilleure amie. Notre complicité est un trésor précieux, et je suis reconnaissante de t'avoir à mes côtés. Ta présence et ton soutien indéfectibles ont été un moteur essentiel dans mon parcours. Ce mémoire est dédié à notre lien inébranlable et à nos rêves partagés.

À mes tantes et oncle, vous avez joué des rôles importants dans ma vie, me prodiguant des conseils avisés et un amour inconditionnel. Votre présence bienveillante a été une source de réconfort et de soutien tout au long de mon parcours. Je vous rends hommage dans ce mémoire, reconnaissante de l'impact positif que vous avez eu sur ma vie.

Que ces mots résumés et empreints d'amour rendent hommage à ceux qui ont contribué à ma formation et à mon épanouissement, qu'ils soient toujours présents ou partis. Leur impact sur ma vie se reflète dans chaque page de ce mémoire.

À leur mémoire et à l'amour infini qu'ils ont semé en moi.

Avec tendresse,

*Khaoula*

# *Dédicace*

a ma très chère mère et a mon très cher père

Sans vous, je ne serais jamais là où je suis aujourd'hui. Votre amour, votre soutien et vos encouragements indéfectibles ont été les fondations solides sur lesquelles j'ai bâti mon parcours éducatif. Vous avez cru en moi lorsque je doutais de moi-même, vous avez été mes piliers dans les moments de doute et de découragement. Votre dévouement et votre confiance en moi ont été une source constante de motivation.

Ce mémoire est bien plus qu'un simple document académique. Il est le témoignage de votre amour inconditionnel et de votre sacrifice. Chaque ligne, chaque idée exprimée ici est le fruit de votre dévouement et de vos enseignements. Vous m'avez donné les outils nécessaires pour réussir et m'avez montré la valeur du travail acharné et de la persévérance.

A mes deux sœurs Racha et Rania

mes partenaires de vie et mes plus grandes alliées. Vous êtes mes piliers, mes complices et mes protectrices. Votre présence bienveillante et votre amour indéfectible ont illuminé mon parcours académique de mille feux.

Chacune d'entre vous a laissé une empreinte unique dans ma vie. Vos encouragements, vos conseils avisés et votre soutien inconditionnel ont été des fondements solides qui m'ont permis de progresser et de me dépasser. Vous m'avez montré que la famille est une source de force inépuisable.

À ma précieuse famille

ma source d'amour, de soutien et de bonheur. Vous êtes les piliers de ma vie, les fondations solides qui m'ont permis de grandir. Ce mémoire est dédié à notre unité et à notre lien indéfectible.

À mes amis,

mes compagnons de route dans cette aventure qu'est la vie. Votre amitié sincère, votre soutien indéfectible et votre présence joyeuse ont illuminé mon parcours jusqu'à ce jour. Ce mémoire est dédié à notre amitié, qui est une véritable source de bonheur et d'inspiration.

*Mounir*

### Résumé

Cette étude se concentre sur la formulation d'un yaourt nature à base de deux types de stévia : la stévia verte et la stévia blanche. Des analyses microbiologiques et chimiques ont été réalisées pour évaluer la sécurité et la composition de ces stévias, ainsi que des yaourts fabriqués à partir d'eux.

Les résultats microbiologiques ont montré des différences entre les deux stévias, mais les yaourts à base de stévia étaient exempts de germes indésirables. Les analyses chimiques ont révélé une composition similaire en stévioides dans les deux types de stévia, essentielle pour évaluer leur potentiel antioxydant. De plus, les yaourts étaient conformes aux normes réglementaires, et les évaluations sensorielles ont montré une préférence pour le yaourt à base de stévia blanche en termes de goût et de caractéristiques sensorielles.

En conclusion, cette étude offre des informations importantes sur la formulation de yaourts à base de stévia, en soulignant leurs avantages pour les diabétiques et l'importance croissante des édulcorants naturels dans l'industrie alimentaire.

**Mots clés :** Activité antioxydante, Stévia, Stévioides, Yaourt nature.

### Abstract

This study focuses on the formulation of a natural yogurt based on two types of stevia: green stevia and white stevia. Microbiological and chemical analyzes were carried out to evaluate the safety and composition of these stevias, as well as the yogurts made from them.

Microbiological results showed differences between the two stevias, but the stevia-based yogurts were free of unwanted germs. Chemical analyzes revealed a similar stevioside composition in both types of stevia, essential to assess their antioxidant potential. Additionally, the yogurts met regulatory standards, and sensory evaluations showed a preference for white stevia-based yogurt in terms of taste and sensory characteristics.

In conclusion, this study offers important insights into the formulation of stevia-based yogurts, highlighting their benefits for diabetics and the growing importance of natural sweeteners in the food industry.

**Keywords:** Antioxidant activity, Stevia, Steviosides, Natural yogurt.

## ملخص

تهدف الدراسة الحالية إلى صياغة زبادي طبيعي بناءً على الستيفيا الخضراء (الخام) والستيفيا البيضاء (المكررة). تم تركيز هذه الدراسة على تركيبة زبادي طبيعي يعتمد على نوعين من الستيفيا: الستيفيا الخضراء والستيفيا البيضاء. تم إجراء التحاليل الميكروبيولوجية والكيميائية لتقييم سلامة وتركيب هذه الستيفيا، وكذلك الزبادي المصنوع منها.

وأظهرت النتائج الميكروبيولوجية وجود اختلافات بين نوعي ستيفيا، لكن الزبادي الذي يحتوي على ستيفيا كان خاليًا من الجراثيم غير المرغوب فيها. كشفت التحليلات الكيميائية عن تركيبة ستيفيوسيد مماثلة في كلا النوعين من نبات ستيفيا، وهو أمر ضروري لتقييم إمكاناتها المضادة للأكسدة. بالإضافة إلى ذلك، استوفت الزبادي المعايير التنظيمية، وأظهرت التقييمات الحسية تفضيل الزبادي الأبيض المعتمد على ستيفيا من حيث الطعم والخصائص الحسية.

في الختام، تقدم هذه الدراسة رؤى مهمة حول تركيبة الزبادي المعتمد على ستيفيا، مع تسليط الضوء على فوائدها لمرضى السكر والأهمية المتزايدة للمحليات الطبيعية في صناعة المواد الغذائية. الكلمات المفتاحية: النشاط المضاد للأكسدة، ستيفيا، ستيفيوسيدات، الزبادي الطبيعي.

## Table des matières

Liste des Tableaux

Liste des Figures

**Introduction**.....1**Chapitre I: Synthèse bibliographique**

1. Lait.....	4
1.1. Définition du lait.....	4
1.2. Composition et valeurs nutritionnelles.....	4
1.2.1. Eau.....	4
1.2.2. Glucides.....	4
1.2.3. Matière grasse.....	4
1.2.4. Protéines.....	5
1.2.5. Lipides.....	5
1.3. Caractéristiques organoleptiques.....	6
1.3.1. Couleur.....	6
1.3.2. Odeur.....	6
1.3.3. Saveur.....	6
1.3.4. Viscosité.....	6
1.4. Propriétés physico-chimiques.....	7
1.4.1. Densité.....	7
1.4.2. Point de congélation.....	7
1.4.3. Point d'ébullition.....	8
1.4.4. Acidité.....	8
1.5. Différents types du lait.....	9
1.5.1. Différenciation selon la teneur en matière grasses.....	9
1.5.1.1. Lait entier.....	9
1.5.1.2. Lait partiellement écrémé.....	9
1.5.1.3. Lait écrémé.....	9
1.6. Microbiologie du lait.....	9
1.6.1. Flore originelle.....	9
1.6.1.1. Bactéries lactiques.....	10
1.6.2. Flores de contamination.....	10

1.6.2.1. Flores d'altérations.....	12
1.6.3. Flore pathogène.....	13
2. Yaourt.....	16
2.1. Histoire du yaourt.....	16
2.2. Définition du yaourt.....	17
2.3. Critères du yaourt.....	17
2.4. Types du yaourt.....	20
2.5. Bactéries lactiques du yaourt.....	21
2.5.1. Streptococcus thermophilus.....	21
2.5.2. Lactobacillus bulgaricus.....	22
2.5.3. Syntrophie entre les deux souches.....	22
2.6. Effets bénéfiques du yaourt sur la santé.....	23
2.7. Étapes de la fabrication du yaourt.....	24
3. Diabète.....	28
3.1. Définition.....	28
3.2. Épidémiologie du diabète.....	28
3.3. Classification.....	28
3.3.1. Diabète type 1.....	28
3.3.2. Diabète type 2.....	28
3.3.3. Différence entre diabète de type 1 et de type 2.....	29
3.4. Effets du yaourt grec sur les diabétiques.....	29
4. La Stévia Rébaudiana.....	30
4.1. Définition et origine.....	30
4.2. Propriétés de la Stévia.....	31
4.2.1. Pouvoir sucrant (PS).....	31
4.2.2. Activité anti-oxydante.....	31
4.2.3. Activité antimicrobienne.....	32
4.2.4. Données toxicologiques.....	32
4.2.5. Effet hypotenseur.....	32
4.2.6. Effet anti-tumoral et anti inflammatoire.....	33
4.2.7. Effet Hépatoprotecteur.....	33
4.2.8. Effet cariogène.....	33
4.2.9. Effet anti diabéto-gène.....	33
4.2.10. Effet néphroprotecteur.....	34



4.3. Utilisation de la Stevia dans le monde.....	34
4.4. Glycosides de stéviol.....	35
4.4.1. Caractéristiques.....	35
5. Les édulcorants.....	42
5.1. Définition.....	42
5.2. Edulcorants nutritifs.....	42
<b>Chapitre II : Matériel et Méthodes</b>	
1. Matériel.....	46
1.1. Matériel biologique .....	46
1.2. Matériel non biologique.....	47
2. Méthodes.....	47
2.1. Échantillonnage et prélèvement .....	47
2.2. Analyses microbiologiques .....	47
2.2.1. Préparation des dilutions.....	48
2.2.1.1. Préparation des dilutions décimales.....	48
2.2.2. Recherche et dénombrement des <i>Enterobacteriaceae</i> .....	49
2.2.3. Recherche des Salmonelles.....	50
2.2.4. Recherche et dénombrement de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	51
2.2.5. Analyses microbiologiques de Stévia.....	54
2.2.5.1. Technique d'ensemencement en masse.....	54
2.2.5.2. Filtration sur membrane.....	54
2.3. Analyses physico-chimiques.....	59
2.3.1 Lait cru.....	59
2.3.1.1 Détermination de la densité.....	59
2.3.1.2 Mesure du pH.....	59
2.3.1.3 Détermination de la matière grasse du lait.....	59
2.3.1.4 Détermination de l'acidité .....	60
2.3.1.5 Test d'antibiotiques.....	61
2.3.1.6 Détermination de l'extrait sec total du lait.....	61
2.3.1.7 Détermination de l'extrait sec dégraissé .....	61
2.4. Caractérisation physico-chimique du Stévia.....	62
2.4.1. Identification des stéviolosides par Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC).....	62

2.5. Yaourt.....63  
2.5.1. Différents essais de formulation du yaourt.....63

**Chapitre III : Résultats et discussion**

1. Résultats des analyses microbiologiques de Stévia par la technique d'ensemencement en masse.....66  
2. Résultats des analyses microbiologiques de Stévia par la technique de filtration sur membrane.....72  
3. Résultats des analyses microbiologiques de yaourt à base de Stévia blanche et Verte.....75  
4. Résultats de l'identification et du dosage des stévioides par Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC).....78  
5. Résultats des analyses physico-chimique de yaourt à base de Stévia blanche (raffinée) et Stévia Verte (brute).....82  
6. Résultats des analyses organoleptiques .....83  
**Conclusion**.....87

Références bibliographiques

Annexes

## Liste des Tableaux

<b>Tableau 1</b> : Composition lipidique du lait.....	5
<b>Tableau 2</b> : La composition moyenne du lait de vache.....	5
<b>Tableau 3</b> : Caractéristiques organoleptiques du lait.....	7
<b>Tableau 4</b> : Caractéristiques physico-chimiques du lait de vache.....	8
<b>Tableau 5</b> : Flore endogène (flore originelle) du lait cru.....	10
<b>Tableau 6</b> : Principales contaminations du lait et leurs origines.....	11
<b>Tableau 7</b> : Profil nutritionnel du yaourt pour 100 g de produit.....	18
<b>Tableau 8</b> : Normes microbiologiques du yaourt.....	19
<b>Tableau 9</b> : Descriptif yaourt étuvé en pots.....	26
<b>Tableau 10</b> : Caractéristiques des diabètes de type 1 et de type 2.....	29
<b>Tableau 11</b> : les différents composés de la stévia et leur pouvoir sucrant.....	31
<b>Tableau 12</b> : Liste des glycosides de stéviol connus chez Stevia Rebaudiana.....	37
<b>Tableau 13</b> : Matériel biologique utilisé au cours de cette étude.....	46
<b>Tableau 14</b> : Les méthodes de prélèvement de produits pour l'analyse microbiologique et l'analyse physico-chimique.....	47
<b>Tableau 15</b> : Analyses microbiologiques effectuées pour la production du yaourt étuvé.....	48
<b>Tableau 16</b> : Analyses microbiologiques effectuées pour les différents types de sucres, Journal Officielle de la République Algérienne N 39 du 02 Juillet 2017.....	54
<b>Tableau 17</b> : Microorganismes recherchés, volume filtré, milieu de culture utilisé et normes d'analyses.....	58
<b>Tableau 18</b> : Les différents essais de formulation du yaourt à base de Stévia (Verte) et Stévia blanche (raffinée).....	64
<b>Tableau 19</b> : Résultat de l'analyse microbiologique du Stévia blanche (raffinée).....	66
<b>Tableau 20</b> : Résultats de l'analyse microbiologique du Stévia verte.....	67
<b>Tableau 21</b> : Résultats de l'analyse microbiologique du Stévia verte (brute) et Stévia blanche (raffinée).....	72
<b>Tableau 22</b> : Résultats des analyses microbiologiques du yaourt a base de Stevia.....	75
<b>Tableau 23</b> : Les résultats d'analyse physico-chimique du yaourt avant maturation.....	82
<b>Tableau 24</b> : Les résultats d'analyse physico-chimique du yaourt après maturation.....	82
<b>Tableau 25</b> : Les résultats organoleptique de yaourt à base de stévia blanche et verte.....	83

## Liste des Figures

<b>Figure 1</b> : Les bactéries lactiques.....	10
<b>Figure 2</b> : Différents genres de moisissures.....	12
<b>Figure 3</b> : <i>Salmonella sp.</i> observée en microscopie électronique.....	13
<b>Figure 4</b> : <i>Staphylococcus aureus</i> observée en microscopie électronique.....	14
<b>Figure 5</b> : <i>Escherichia coli</i> observée en microscopie électronique.....	15
<b>Figure 6</b> : <i>Clostridium perfringens</i> observée en microscopie électronique.....	15
<b>Figure 7</b> : Publicité pour le yoghourt et kéfir Danone en 1919.....	16
<b>Figure 8</b> : Syntrophie entre <i>Streptococcus thermophilus</i> et <i>Lactobacillus bulgaricus</i> .....	23
<b>Figure 9</b> : Chaîne de production de yaourt ferme.....	24
<b>Figure 10</b> : Diagramme de fabrication yaourt étuvé en pot.....	25
<b>Figure 11</b> : Les feuilles de la “STEVIA”.....	30
<b>Figure 12</b> : (A) Noyau de stéviol et (B) Structure commune aux glycosides de stéviol.....	35
<b>Figure 13</b> : Les différents édulcorants.....	44
<b>Figure 14</b> : Schéma de la dilution décimale.....	49
<b>Figure 15</b> : Recherche et dénombrement des entérobactéries.....	50
<b>Figure 16</b> : Recherche et dénombrement des salmonelles.....	51
<b>Figure 17</b> : Recherche et dénombrement des <i>Staphylococcus aureus</i> .....	53
<b>Figure 18</b> : Yaourt nature à base de Stévia blanche (raffinée) et Stevia verte (brute).....	66
<b>Figure 19</b> : Résultat de l’analyse bactériologique des <i>Clostridium sulfito-réducteurs</i> de la stévia verte .....	69
<b>Figure 20</b> : Résultats d’analyse microbiologique des Levures et moisissures de la Stévia blanche (raffinée) .....	70
<b>Figure 21</b> : Résultats d’analyse microbiologique des Levures et moisissures de la Stévia verte.....	70
<b>Figure 22</b> : Résultats d’analyse microbiologique des <i>Clostridium sulfito-réducteurs</i> de la Stevia verte ( $10^{+1}$ ).....	70
<b>Figure 23</b> : Résultats d’analyse microbiologique des Germes acidifiants de la Stevia verte.....	71
<b>Figure 24</b> : Résultats d’analyse microbiologique des Germes acidifiants de la Stévia blanche (raffinée) .....	71
<b>Figure 25</b> : Résultats d’analyse microbiologique des Germes <i>totaux</i> de la Stévia blanche (raffinée) .....	73
<b>Figure 26</b> : Résultats d’analyse microbiologique des <i>Levures et Moisissures</i> de la Stévia blanche (raffinée).....	73

<b>Figure 27</b> : Résultats d'analyse microbiologique des <i>Germes acidifiants</i> de la Stévia blanche (raffinée).....	73
<b>Figure 28</b> : Résultats d'analyse microbiologique des <i>Levures et Moisissures</i> de la Stevia verte.....	74
<b>Figure 29</b> : Résultats d'analyse microbiologique des <i>Germes totaux</i> de la Stevia verte.....	74
<b>Figure 30</b> : Résultats d'analyse microbiologique des <i>Germes acidifiants</i> de la Stevia verte..	74
<b>Figure 31</b> : Résultats d'analyse microbiologique des <i>Staphylocoques</i> de la Stévia blanche (raffinée).....	76
<b>Figure 32</b> : Résultats d'analyse microbiologique des <i>Enterobacteries</i> de la Stévia blanche (raffinée) .....	76
<b>Figure 33</b> : Résultats d'analyse microbiologique des <i>Salmonelles</i> de la Stévia blanche (raffinée) .....	76
<b>Figure 34</b> : Résultats d'analyse microbiologique des <i>Enterobacteries</i> de la Stévia Verte....	77
<b>Figure 35</b> : Résultats d'analyse microbiologique des <i>Staphylocoques</i> de la Stévia Verte....	77
<b>Figure 36</b> : Résultats d'analyse microbiologique des <i>Salmonelles</i> de la Stévia Verte.....	77
<b>Figure 37</b> : chromatogramme de l'étalon Stévioside .....	78
<b>Figure 38</b> : chromatogramme de l'extrait de la Stévia verte .....	79
<b>Figure 39</b> : chromatogramme de l'extrait de la Stévia blanche (raffinée).....	81
<b>Figure 40</b> : Yaourt nature à base de Stévia blanche.....	84
<b>Figure 41</b> : Yaourt nature à base de Stévia verte.....	84
<b>Figure 42</b> : Résultats de dégustation du yaourt à base de Stevia verte et Stévia blanche.....	84
<b>Figure 43</b> : Les verreries .....	95
<b>Figure 44</b> : Le petit matériel.....	95
<b>Figure 45</b> : Le gros matériel.....	96

Liste des abréviations

- **ASAT** : aspartate aminotransférase
- **DA** : dulcoside A
- **DID** : Diabète insulino-dépendant
- **DT2** : Diabète de type 2
- **ESD** : extrait sec dégraissé
- **Fru** :  $\beta$ -fructose
- **GA** : Germes aérobies
- **GAC** : Germes acidifiants
- **GC** : Giolitti Cantoni
- **Glc** :  $\beta$ -glucose
- **HILIC** : Hydrophilic Liquid Interaction Chromatographic
- **HPLC** : chromatographie en phase liquide à haute performance
- **ICUMSA** : International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis
- **LM** : Levures et moisissures
- **MCL** : Mac Kleisky
- **PCA** : Plate Count Agar
- **PS** : Pouvoir sucrant
- **RA** : rébaudioside A
- **RC** : rébaudioside C
- **Rhm** :  $\alpha$ -rhamnose
- **RMN** : résonance magnétique nucléaire
- **SAB** : Sabouraud
- **SPE** : extraction en phase solide
- **SPIR** : spectroscopie proche infrarouge
- **ST** : stéviol
- **SV** : stéviol
- **SV Glyc** : les glycosides de stéviol
- **TSE** : Tryptone Sel Eau
- **UFC** : Unités Formant Colonies
- **VF** : Viande Foie
- **VRBG** : gélose Violet Red Bile Glucose
- **Xyl** :  $\beta$ -xylose

# **Introduction**

### Introduction

L'Algérie est un pays de tradition laitière dans lequel le lait et les produits laitiers occupent une place prépondérante dans la ration alimentaire des consommateurs. Comme tout aliment, le lait est utilisé de différentes façons aboutissant à la création : yaourt, crème fraîche, beurre, flan et autres produits qui garnissent les rayons de nos supermarchés **(Belaid, 2016)**.

Le lait constitue un aliment complet en raison de sa composition biochimique et de sa valeur nutritionnelle. Il représente un milieu favorable au développement des micro-organismes. Il contient des nutriments essentiels et est une source importante d'énergie alimentaire, de protéines de haute qualité et de matières grasses **(FAO, 2023)**.

Les produits laitiers s'imposent comme la meilleure source de calcium de notre alimentation, ils offrent aussi un apport en protéines de qualité, dont la valeur biologique est comparable à celle des protéines de la viande. Ils comportent de nombreuses vitamines et minéraux et certains d'entre eux comme le yaourt sont même dotés d'un pouvoir probiotique **(Salmeron *Et al.*, 2017)**.

Le yaourt est considéré comme l'allié indispensable pour une alimentation équilibrée, c'est même le préféré des produits laitiers **(Skryplonker *Et al.*, 2017)**. Selon le journal officiel de la république Algérienne (1998), le Yaourt est le produit laitier coagulé, obtenu par fermentation lactique grâce au développement des seules bactéries lactiques thermophiles spécifiques dites *Lactobacillus bulgaricus* et *streptococcus thermophilus*, à partir de lait et de produits laitiers tels que définis. **(JORA, 1998)**.

Le diabète est une maladie chronique qui se caractérise par une mauvaise utilisation du sucre par le corps et qui peut entraîner divers problèmes de santé. En raison de ces conséquences, les diabétiques doivent suivre un régime alimentaire strict et sain, ce qui signifie qu'ils doivent surveiller leur consommation de sucre et de glucides. De plus, il est important pour ces personnes de trouver des aliments qui peuvent offrir un apport nutritionnel important sans augmenter la glycémie. C'est là que le yaourt peut être utile pour les diabétiques **(Higéa, 2022)**.



Stévia rébaudiana Bertoni est une plante utilisée au Paraguay par les Indiens Guarani depuis plusieurs siècles pour sucrer leur boisson traditionnelle d'Amérique du Sud, le maté. Elle possède des molécules sucrantes qui sont des diterpènes glycosylés, ou glycosides de stéviol, dont les principaux sont le rébaudioside A et le stéviolside à très fort pouvoir sucrant.

Grâce à son pouvoir sucrant élevé, elle fait partie des nouveaux espoirs pour les populations des pays industrialisés dont l'alimentation est trop riche en glucides et en lipides. Cette suralimentation est la cause de deux pathologies importantes : le diabète et l'obésité.

Dans le but de réduire ces deux problèmes majeurs et croissants de notre société actuelle, les industries agroalimentaires tentent de développer des produits à teneur réduite en lipides et édulcorés par des molécules au goût sucré, molécules chimiques pour la plupart. Ce sont les édulcorants artificiels ou chimiques comme l'aspartame, l'acésulfame K, la saccharine ou encore le cyclamate. Malgré leur utilisation courante, ces produits sont soupçonnés d'avoir des effets néfastes sur la santé après plusieurs années de consommation. C'est une des raisons pour lesquelles la découverte de cet édulcorant naturel pourrait révolutionner le marché des édulcorants. Stévia rébaudiana pourrait-il être ce sucre naturel, sain et sans calorie que l'on attend ?

Ce présent travail s'inscrit dans le cadre d'une formulation d'un nouveau yaourt nature sucré à base de la Stévia, une analyse physico-chimique et microbiologique des produits tout au long de la chaîne de fabrication, visant à s'assurer de la bonne qualité hygiénique et le respect des normes physico-chimiques et microbiologique.

Afin de traiter ce sujet, nous avons divisé notre travail en parties :

- Nous commençons par une introduction.
- La première partie est consacrée à un rappel bibliographique sur le lait, le yaourt, la Stévia et le diabète.
- La deuxième partie (la partie expérimentale), nous avons présenté le matériel et méthodes utilisés pour la formulation du yaourt suivi des analyses physico-chimiques, microbiologiques et sensorielles.
- La troisième partie concerne les résultats expérimentaux obtenus et la discussion de ces résultats.
- Enfin, nous terminerons par une conclusion.

# **Chapitre I**

## **Synthèse bibliographique**

### Chapitre I: Synthèse bibliographique

#### 2. Lait

##### 1.1. Définition du lait

Le lait est une substance liquide blanchâtre produite par les glandes mammaires des mammifères femelles pour nourrir leurs jeunes. Le lait est constitué d'une émulsion de graisses, de protéines, de sucres et d'autres nutriments. Les différentes espèces de mammifères produisent des laits qui diffèrent en composition en fonction de leurs besoins nutritionnels spécifiques (**Vuillemard, 2018**). Le lait est une source très essentielle de  $Ca^{+2}$ , P de la riboflavine, la vitamine B12, et une grande majorité de protéine, sucre, lipides de qualité, sa richesse avec tous ces éléments nutritifs lui rend nécessaire en matière de nutrition humaine (**Tekinsen, 2007**).

##### 1.2. Composition et valeurs nutritionnelles

La composition du lait de vache peut varier en fonction de divers facteurs tels que la race, la période de lactation et la nutrition de la vache.

###### 1.2.1. L'eau

Elle forme une vraie solution avec les glucides, les minéraux, une solution colloïdale avec les protéines hydrophiles, une suspension colloïdale avec les micelles de caséines et une émulsion avec les matières grasses. Le lait de chèvre est constitué de 87% d'eau (**Amiot et al., 2002**).

###### 1.2.2. Les glucides

Le lactose est le glucide le plus important du lait, d'autres glucides peuvent provenir de l'hydrolyse du lactose (glucose, galactose). Certains glucides peuvent se combiner aux protéines, formant des glycoprotéines ou peuvent se trouver sous forme libre (**Amiot et al., 2002**).

###### 1.2.3. Matière grasse

La matière grasse est présente dans le lait sous forme de globules gras de diamètre de 0.1 à 10 $\mu$ m et est essentiellement constituée de triglycérides (98%). Elle représente à elle seule la moitié de l'apport énergétique du lait. Elle est constituée de 65% d'acides gras saturés et de 35% d'acides gras insaturés (**Ferlay et al., 2013**). Elle renferme selon le Journal Officiel de la République Algérienne, 1999 :

→ Une très grande variété d'acides gras (15 différentes variétés).

→ Une proportion élevée d'acides gras à chaînes courtes, assimilés plus rapidement que les acides gras à longues chaînes. Une teneur élevée en acide oléique (C18:1) et palmitique (C16:0).

→ Une teneur moyenne en acide stéarique (C18:0)

#### 1.2.4. Les protéines

L'analyse de la composition en acide aminé des protéines du lait de chèvre faite par le chercheur Mahé en 1996, a révélé que la concentration d'Acide glutamique est la plus élevée (209 mg /g). En revanche, celle de la cystéine est de (9mg/g) (Amiot et al., 2002). • Les caséines ont une teneur de 27 g/l ; elles se répartissent sous forme micellaire de phosphocaséinate de calcium et elles sont facilement dégradées par toutes les enzymes protéolytiques. • Les protéines solubles du lactosérum se répartissent entre: Les albumines, Les globulines et les enzymes (LUQUET , 1985).

#### 1.2.5. Les lipides

Les lipides du lait se composent principalement de triglycérides, de phospholipides et forment une émulsion (Chilliard, 1987). Le tableau 1 représente la composition lipidique du lait .

**Tableau 1 :** Composition lipidique du lait (GRAPPIN, *Et al.*, 1999)

Constituants	Proportions de lipides du lait %
Triglycérides	98
Phospholipides	01
Fraction insaponifiable	01

Le tableau 2 présente la composition moyenne du lait de vache

**Tableau 2:** La composition moyenne du lait de vache. (FAO., 2019)

Constituants	Teneur moyenne
Eau	87%
Protéines (principalement de la caséine et de la protéine de lactosérum)	3,4%
Matières grasses (principalement des triglycérides)	3,9%
glucides (principalement du lactose)	4,9%

En plus de ces macronutriments, le lait de vache contient également des vitamines et des minéraux essentiels tels que le calcium, la vitamine D, la vitamine B12 et le phosphore. Les valeurs nutritionnelles du lait de vache peuvent varier en fonction de la teneur en matières grasses et des autres nutriments présents (**FAVIER, 1985**)

Il convient de noter que le lait de vache peut également contenir des allergènes et des contaminants potentiels tels que les antibiotiques et les hormones de croissance, qui sont souvent utilisés dans l'industrie laitière. C'est pourquoi il est important de choisir des sources de lait de vache de haute qualité pour éviter ces risques pour la santé (**AFSSA, 2014**).

### **1.3. Caractéristiques organoleptiques**

**VIERLING (2003)** a rapporté que l'aspect, l'odeur, la saveur et la texture du lait ne peuvent être précisés qu'en comparaison avec un lait frais (Tableau 3).

#### **1.3.1. Couleur**

Le lait est de couleur blanc mat, qui est due en grande partie à la matière grasse et aux pigments de carotène ; (la vache transforme le B-carotène en vitamine A qui passe directement dans le lait (**FREDOT, 2005**).

#### **1.3.2. Odeur**

Le lait est caractérisé du fait de la matière grasse qu'il contient fixe des odeurs animales. Elles sont liées à l'ambiance de la traite, à l'alimentation (les fourrages à base d'ensilage favorisent la flore butyrique, le lait prend alors une forte odeur), à la conservation l'acidification du lait à l'aide de l'acide lactique lui donne une odeur aigrelette (**VIERLING, 2003**).

#### **1.3.3. Saveur**

Le goût agréable, douceâtre et peu sucré du lait dû à la présence du lactose. Lorsque le lactose est dégradé en acide lactique, il donne une acidité pour le lait. D'autre élément influant (la température, d'ébullition, la pasteurisation ...) donne au lait une saveur différente à celle du lait naturel. En plus, le colostrum et le lait issu des mamelles infectées ont un goût salé (**TRIA et NASIR, 2003**).

#### **1.3.4. Viscosité**

La viscosité du lait est une propriété complexe qui est particulièrement affectée par les particules colloïdes émulsifier et dissoutes. La teneur en graisse et en caséine possède l'influence la plus importante sur la viscosité du lait. La viscosité dépend également de paramètres technologiques (**RHEOTEST, 2010**).

La viscosité est une caractéristique importante de la qualité du lait, étant donné qu'une relation intime existe entre les propriétés rhéologiques et la perception de la qualité par le consommateur. Ainsi, un consommateur d'Europe centrale évalue de manière très positive le lait concentré à forte consistance (filandreux). Il associe la teneur élevée des composants du lait à la viscosité élevée (RHEOTEST, 2010).

**Tableau 3 :** Caractéristiques organoleptiques du lait (Veisseyre, 1975)

<b>Couleur</b>	Blanc-jaunâtre à blanc-mat (à cause de la réflexion lumière sur les micelles et caséine). Bleutée ou franchement jaunâtre (lait riche en lactoflavine).
<b>Odeur</b>	Peu accentuée, fonction de l'espèce et l'alimentation.
<b>Saveur</b>	Légèrement sucrée (le lactose à un faible pouvoir sucrant).
<b>Viscosité</b>	Deux fois plus visqueux que l'eau: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Plus visqueux chez les monogastriques que chez les polygastriques.</li> <li>- Plus visqueux au début de lactation (clostrum).</li> </ul>
<b>Propreté physique</b>	Le lait doit être propre c'est-à-dire ne doit pas contenir d'éléments figurés.

#### 1.4. Propriétés physico-chimiques

Les principales propriétés physico-chimiques utilisées dans l'industrie laitière sont la masse volumique et la densité, le point de congélation, le point d'ébullition et l'acidité, le pH (voir Tableau 4). (GHAOUES, 2011).

##### 1.4.1. Densité

La densité de lait d'une espèce donnée, n'est pas une valeur constante, elle varie d'une part, proportionnellement avec la concentration des éléments dissous et en suspension et d'autre part, avec la proportion de matière grasse. La densité de lait de vache est comprise entre 1028 et 1033 à une température de 20°C, à des températures différentes, il faut effectuer une correction. La densité est mesurée par le thermo-lactodensimètre (Alais, 1984).

##### 1.4.2. Point de congélation

Peut varier de -0,530°C à -0,575°C avec une moyenne de - 0,555°C. Un point de congélation inférieur à -0,530°C permet de soupçonner une addition d'eau au lait (Lebeuf et al., 2002).

### 1.4.3. Point d'ébullition

D'après (Amiot et al., 2002), on définit le point d'ébullition comme étant la température atteinte lorsque la pression de vapeur de la substance ou de la solution est égale à la pression appliquée. Ainsi comme pour le point de congélation, le point d'ébullition subit l'influence de la présence des solides solubilisés. Il est légèrement supérieur au point d'ébullition de l'eau, soit 100.5°C.

### 1.4.4. Acidité

Selon Jean et Dijon,(1993). L'acidité du lait résulte de l'acidité naturelle, due à la caséine, aux groupes phosphate, au dioxyde de carbone et aux acides organiques et de l'acidité développée, due à l'acide lactique formé dans la fermentation lactique. L'acidité titrable du lait est déterminée par dosage par une solution d'hydroxyde de sodium en présence de phénolphtaléine. Bien que l'acide lactique ne soit pas le seul acide présent, l'acidité titrable peut être exprimée en grammes d'acide lactique par litre de lait ou en degré Dornic (18°D).

### 1.4.5. pH

Le pH du lait varie d'une espèce à une autre, étant donné les différences de la composition chimique, notamment en caséine et en phosphate et aussi selon les conditions environnementales (Alais, 1984). Le pH du lait de vache est compris entre 6,5 et 6,7(Goursaud ,1985). Les valeurs du pH représentent l'état de fraîcheur du lait et plus particulièrement sa stabilité, du fait que c'est le pH qui influence la solubilité des protéines, c'est-à-dire, l'atteinte du point isoélectrique. Un lait ayant une acidité importante aura un pH < à 6,6 car l'acide lactique est fort pour se dissocier et abaisser le pH (Amiot et al., 2002).

**Tableau 4:** Caractéristiques physico-chimiques du lait de vache (Alais, 1984)

Caractéristiques	Valeurs
Densité à 20 °C	1,028 – 1,033
Densité de matière grasse	0,94 – 0,96
Acidité Dornic °D	15°D – 17°D
Point de congélation	- 0,52°C – - 0,55°C
Point d'ébullition	100,15°C – 100,17°C
pH à 20 °C	6,6 – 6,8

### 1.5. Différents types du lait

#### 1.5.1. Différenciation selon la teneur en matière grasses

Par le mélange du lait non écrémé et du lait écrémé, la laitière produit 3 types de laits standardisés dont les teneurs en matière grasse sont fixées par la loi :

##### 1.5.1.1. Lait entier

Il contient généralement 3,5 % de matière grasse. S'il n'est pas homogénéisé, les matières grasses remontent à la surface et forment une couche de crème. Cette couche de crème est absente dans le lait homogénéisé, car la matière grasse est en suspension dans le lait. Ce lait est enrichi de vitamine D (**Belhalili, 2014**).

##### 1.5.1.2. Lait partiellement écrémé

Il contient 1 ou 2 % de matière grasse. Il a presque la même valeur nutritive que le lait entier, à l'exception des matières grasses, ce qui entraîne une diminution de la valeur énergétique. Son goût est légèrement moins riche que celui du lait entier. On lui ajoute de la vitamine A pour compenser les pertes survenues avec le retrait des matières grasses. Il est également enrichi en vitamine D (**Gemrcn, 2009**).

**1.5.1.3. Lait écrémé:** Il contient au maximum 0,3 % de matière grasse. On y ajoute de la vitamine A pour compenser les pertes survenues avec le retrait des matières grasses. Il est également enrichi en vitamine D (**Gemrcn, 2009**).

### 1.6. Microbiologie du lait

Le lait est par sa composition, un aliment de choix, il contient des matières grasses, lactose, protéines, sels minéraux, des vitamines et de 87% d'eau. Son pH est de 6.7, il va être un substrat très favorable au développement des microorganismes (**GUIRAUD, 1998**).

#### 1.6.1. Flore originelle

Il s'agit essentiellement de germes saprophytes : microcoques, streptocoque lactique et lactobacilles (Tableau 5) (**Larpent, 1997**). D'autre microorganisme peut se trouver dans le lait lorsqu'il est issu d'un animal malade, ils sont généralement pathogènes et dangereux au point de vue sanitaire, Il peut s'agir d'agents de mammites (**GUIRAUD, 1998**).

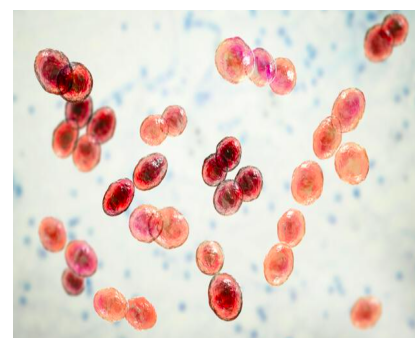
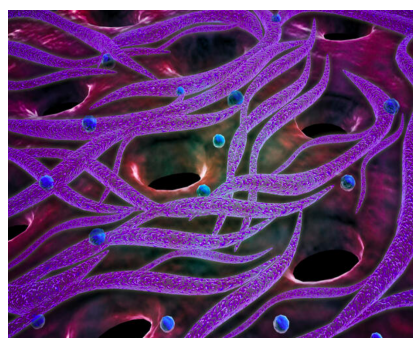


**Tableau 5:** Flore endogène (flore originelle) du lait cru (Lamontagne et al. 2002).

Micro-organismes	Pourcentage (%)
Micrococcus /Lactobacillus	30 à 90
Streptococcus ou Lactococcus	10 à 30
Gram négatif	< 10

### 1.6.1.1. Les bactéries lactiques

Les bactéries lactiques appartiennent à un groupe de bactéries bénéfiques, dont les vertus se ressemblent, et qui produisent de l'acide lactique comme produit final du processus de fermentation. Elles sont partout dans la nature, et se trouvent aussi dans le système digestif de l'homme. Si elles sont surtout connues pour le rôle qu'elles jouent dans la préparation des laitages fermentés, elles sont utilisées également dans le saumurage des légumes, la boulangerie, la fabrication du vin, le saurissage des poissons, des viandes et des salais ( figure 1)

(A): *Lactobacillus helveticus*(B): *Lactobacillus delbrueckii*(C): *Lactococcus lactis***Figure 1 :** Les bactéries lactiques

### 1.6.2 Flores de contamination

Cette flore se définit comme l'ensemble des microorganismes contaminant le lait, de la récolte jusqu'à la consommation (Tableau 6). Elle peut se composer d'une flore d'altération, qui causera des défauts sensoriels ou qui réduira la durée de conservation des produits, et d'une flore pathogène dangereuse du point de vue sanitaire (vignola, 2002).

Tableau 6 : Principales contaminations du lait et leurs origines (Faye et Loiseau, 2002).

Etapes	Dangers	Causes
<b>Ferme</b>	Contamination fécale: E. coli, Salmonella, Clostridium	Transmission par les mains du trayeur, contamination par l'animal lors de la traite par la queue et les éclaboussures quand le seau est laissé près des animaux
	Contamination par les germes de l'environnement : flore psychrotrophe (Listeria, Pseudomonas) et des Entérobactéries, levures et moisissures	Lait laissé à l'air libre durant la traite
	Multiplication des bactéries sur le matériel de traite	Nettoyage et désinfection inefficaces du matériel et/ou mauvais séchage
	Contamination par des bactéries pathogènes: Staphylococcus aureus, Streptococcus, Listeria, Mycobacterium tuberculosis, Mycobacterium bovis, Brucella, E. coli.	Animaux porteurs sains : Mycobacterium, Brucella Animaux atteints de mammites : Staphylococcus, E coli Homme : Staphylococcus, Streptococcus Environnement : Listeria
	Contamination par des résidus chimiques	Non respect du temps d'attente des spécialités vétérinaires
	Inhibition de la fermentation lactique : problèmes de transformation du lait	Collecte du lait des animaux traités par des antibiotiques
<b>Transports</b>	Accroissement des flores microbiennes Contamination par le matériel	Temps de transport trop long, à des températures trop élevées Nettoyage et désinfection inefficaces du matériel et/ou mauvais séchage
<b>Centre de collecte</b>	Contamination croisée	Contact mains lait lors des Prélèvements
	Contamination par des germes de l'environnement	Utilisation de l'eau contaminée pour le nettoyage du matériel
	Développement de flore psychrotrophe : synthèse d'enzymes protéolytiques thermostables	Température des tanks réfrigérés mal régulée et durée de stockage trop longue
	Développement de flore coliforme	Absence de réfrigération
	Lipolyse	Remplissage manuel des tanks
<b>Laiterie</b>	Contamination croisée	Absence ou mauvaise qualité de contrôle de la qualité des laits avant transformation
	Recontamination par des germes de l'environnement	Mauvaise hygiène du conditionnement
	Persistance des microorganismes	Absence de traitements thermiques, ou traitements mal réalisés : non-respect des couples temps/température

### 1.6.2.1. Les flores d'altérations

Seules quelques-unes des espèces présentes seront responsables de l'altération du produit. Elles sont d'abord sélectionnées en fonction des conditions physico-chimiques mises en jeu (nature de produit, pH, pression partielle en oxygène, température de stockage, etc.) (Bennefoy *Et al.*, 2002).

#### a) Bactéries de type coliforme :

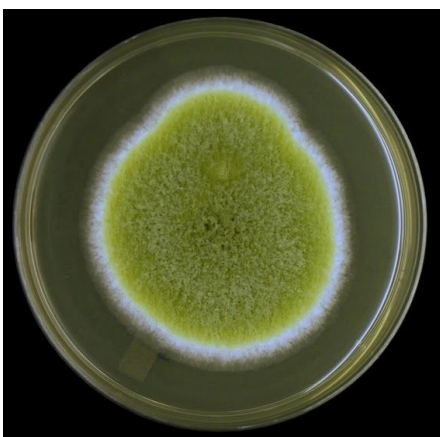
Les coliformes sont des bactéries Gram (-) non sporulées, aérobies ou anaérobies facultatifs. Des exemples ; genres *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella*. (Billon et Sauve, 2009).

#### b) Streptocoques fécaux, les Streptocoques lactiques et les Lactobacilles:

Les Streptocoques sont des témoins de contamination fécale. Ils entraînent très souvent une très forte protéolyse. Ils peuvent abondamment et rapidement acidifier le lait ce qui provoque la coagulation (Vignola, 2002).

#### c) Levures et moisissures

Elles se manifestent dans le fromage (peu dans le lait). Les levures sont des champignons microscopiques unicellulaires et sont souvent rondes à ovales, la division se fait par bourgeonnement, plus rarement par scissiparité. Les levures d'altération sont associées au domaine laitier. Ont cité que les moisissures sont des champignons microscopiques filamenteux, dix fois plus gros que les levures, il existe plusieurs genres de moisissures notamment les genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium*. (Meyer *Et al.*, 2004).



(A): *Aspergillus Flavus*



(B): *Penicillium*



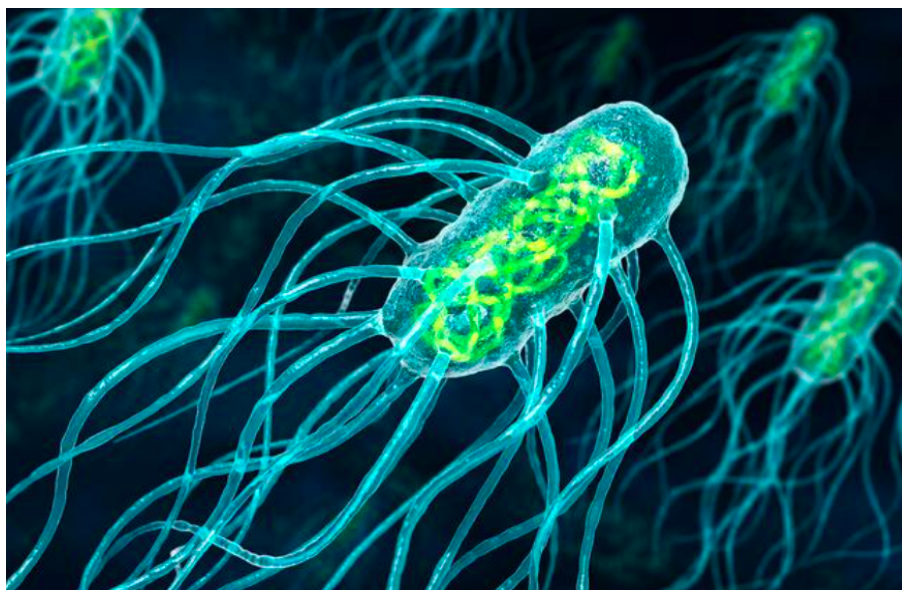
(C): *Fusarium*

Figure 2: Différents genres de moisissures

### 1.6.3. Flore pathogène

Elle fait partie de la flore contaminant le lait. Les bactéries pathogènes pour l'homme peuvent être présentes dans le lait cru, ou dans les produits laitiers qui en dérivent. Elles sont capables de provoquer des malaises chez les personnes qui en consomment (**Vignola, 2002**).

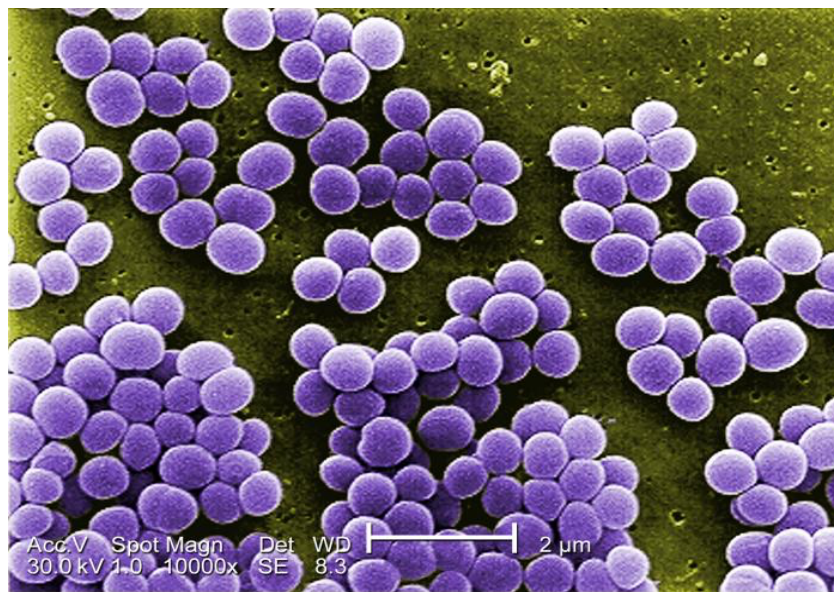
- a) **Coliformes totaux:** Les coliformes totaux sont utilisés depuis très longtemps comme indicateurs de la qualité microbienne parce qu'ils peuvent être indirectement associés à une pollution d'origine fécale. Ils sont définis comme étant des bactéries en forme de bâtonnet, aérobies ou anaérobies facultatives, possédant l'enzyme  $\beta$ -galactosidase permettant l'hydrolyse du lactose à 35°C pour produire des colonies rouges avec reflet métallique sur un milieu gélosé approprié. Des coliformes banals absorbés en quantité massive ( 1 million à 1 milliard de germes ) peuvent déclencher des troubles gastro-intestinaux (nausées, vomissements et diarrhée) habituellement de courte durée (**Archibald, 2000 ; Edberg *Et al.*, 2000**). Leur présence indique une faute hygiénique, relevant soit d'une mauvaise qualité du produit soit de la malle pureté du matériel de fabrication ou de conditionnement (**Larpen, 1997**).
- b) **Salmonella:** *sp. Salmonella* est une bactérie naturellement présente dans l'intestin des animaux (en particulier chez les volailles et les porcs), des oiseaux, des reptiles, de certains animaux de compagnie et de certaines personnes. Elle est également présente dans l'environnement et peut contaminer le lait à la production à la ferme (**Van Kessel *Et al.*, 2004**).



**Figure 3:** *Salmonella sp.* observée en microscopie électronique (**Prescott *Et al.*, 2010**).

- c) *Staphylococcus aureus*: se divisant selon plusieurs plans dans l'espace de façon à former des amas irréguliers qui poussent en amas. Cette bactérie non productrice de spores mais résistante, peut survivre longtemps sur des objets inanimés et secs, elle résiste aussi relativement bien à la chaleur (**Grosjean *Et al.*, 2011**).

Le pouvoir pathogène de certaines espèces de staphylocoques est dû à la production d'une entérotoxine, elle n'est détruite ni par la pasteurisation du lait, ni au cours de l'affinage des fromages. L'entérotoxine staphylococcique étant un métabolite secondaire, sa production nécessite une température minimale de 8-10°C (**El Atyqy, 2010**).



**Figure 4** : *Staphylococcus aureus* observée en microscopie électronique (**Grosjean *Et al.*, 2011**).

- d) *Escherichia coli*: Les *Escherichia coli* font partie de la famille des *Enterobacteriaceae*. Ce sont des bâtonnets mobiles au moyen de flagelles péritriches, Gram (-), anaérobies facultatifs, non sporulés. Ils sont capables de fermenter plusieurs sucres, mais leur fermentation du lactose avec production de gaz est caractéristique. Les glucuronidases sont également caractéristiques. Les *E. Coli* sont sérotypes en se basant sur leur 173 antigènes somatiques (O), 56 antigènes flagellaires (H), et 80 antigènes capsulaires (K). (**Feng, 2001; Eslava *Et al.*, 2003**).

La principale maladie qu'elles provoquent chez l'homme est la colite hémorragique. Outre la colite hémorragique, les EHEC peuvent causer de la diarrhée, le syndrome hémolytique et urémique (SHU) principalement chez le jeune enfant ou le micro-angiopathie thrombotique (MAT) chez l'adulte. (**Feng, 2001; Ray, 2001**).



**Figure 5:** *Escherichia coli* observée en microscopie électronique (prescott *Et al.*, 2010).

**e) Spores d'Anaérobies Sulfite Réducteurs**

Sont des bactéries anaérobies strictes, de forme bacille à Gram (+), catalase (-), mobiles, sporulés, appartenant à la famille des *Bacillacea*. Sa spore permet de résister à des conditions défavorables, en particulier la cuisson. Son caractère anaérobie strict limite sa croissance dans certains aliments mais la favorise pour d'autres: conserve, aliments cuits (à la cuisson réduit le taux d'oxygène).

Cependant, contrairement à *Clostridium*, elle tolère la présence de petites quantités d'oxygène. *C. perfringens* ou les germes anaérobies sulfite-réducteurs sont tolérés dans les aliments en nombre relativement faible (entre 1 et 100 par g ou ml) (Guiraud et Rosec, 2004).. La contamination du lait par ses spores provient principalement d'un transfert de matière solide, des poussières contenant du fumier et du sol. (Scheldeman *Et al.*, 2005; Vissers *Et al.*, 2006).



**Figure 6:** *Clostridium perfringens* observée en microscopie électronique (Kunkel, 2008).

### 2 Yaourt

#### 2.1. Histoire du yaourt

Le yaourt est un aliment très ancien, il est connu par l'humanité depuis des milliers d'années, mais il est apparu pour la première fois dans la littérature à l'environ du 8<sup>ème</sup> siècle (**Trachoo ,2002**). À cette époque, l'Homme savait et consommait les produits laitiers fermentés sans connaître le principal responsable de la transformation du lait ni la méthode exacte. Le processus s'est déroulé spontanément grâce aux bactéries lactiques hébergées dans les récipients de récolte du lait (**Dridier, 2009**). Cela s'est étendue jusqu'au milieu du 19<sup>ème</sup> siècle, quand Pasteur démystifie, finalement, le processus de « la fermentation » et sa relation avec les microorganismes, après une série d'études qu'il a effectué sur différents types de fermentation (**Bordenave, 2003**).

En 1904, Elie Metchnikoff, élève de Louis Pasteur, isole à partir du lait fermenté originaire de Bulgarie, les ferments spécifiques du yaourt « bacille bulgare » (*Lactobacillus bulgaricus*) et *Streptococcus thermophilus* (**Bourlioux ,2007**).

En 1919, Isaac Carasso commence, officiellement, à produire du yaourt à Barcelone selon des procédés industriels (**Pelletrier et al., 2007**).

La première production commerciale du yaourt en Europe a été entreprise par « Danone » en 1922 à Madrid en Espagne. Quelques décennies plus tard, et depuis les années 1950, des avancées dans la technologie de la fabrication et dans la compréhension de propriétés du yaourt sont atteintes et ouvrent la voie à la diffusion de son industrie. Le yaourt est devenu l'un des aliments les plus consommés au monde (**Shah, 2017**).



**Figure 7:** Publicité pour le yoghourt et kéfir Danone en 1919

### 2.2. Définition du yaourt

Le mot « yaourt », « yoghurt » ou encore « yogourt » est dérivé du terme turque «Yogurtmak» qui signifie épaissir, coaguler ou cailler (**Kaur et al., 2017**). Selon le **Codex Alimentarius de 1992**, le yaourt est défini comme un lait fermenté obtenu grâce à l'action de bactéries lactiques vivantes ajoutées en quantités substantielles dans un lait pasteurisé (concentré, partiellement écrémé, enrichi en extrait sec), et dans des conditions de température et d'environnement contrôlées (**Meydani et al., 2000**). Les bactéries employées sont représentées principalement par les deux souches thermophiles : *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*, toutefois, ces derniers peuvent être combinées avec d'autres espèces de bactéries lactiques afin d'améliorer la qualité marchande de yaourt (**Das et al., 2019**).

Le lait fermenté est réservé à des produits laitiers obtenus par fermentation du lait écrémé ou non, enrichis ou non en constituants du lait,ensemencés avec des microorganismes appartenant à l'espèce ou aux espèces caractéristiques de chaque produit. (**Bourlioux Et al., 2011**).

Le yaourt fournit une excellente source de nutriments essentiels, et il est devenu l'un des choix les plus répandus pour couvrir des déficiences alimentaires et pour résoudre plusieurs problèmes digestifs et renforcer le système immunitaire (**Bourlioux et al., 2011**).

### 2.3. Critères du yaourt

Généralement, les portions du yaourt commercialisées en Algérie ont une taille moyenne de 100g. Cependant, la taille d'une portion typique du yaourt est convenue d' environ 187.5ml / 170-175 g (**Fernandez et al.,2017**). Bien que cette taille puisse varier d'un pays à un autre, les portions partagent toutes un ensemble de caractéristiques communes.

#### a) Critères nutritionnels

A la base, le profil nutritionnel du yaourt a une composition similaire à celle du lait dont il est fabriqué (**Ayar et Gurlin, 2014**). Cependant, le processus de la fermentation ainsi que certains ingrédients qui peuvent être ajoutés (fruits, céréales.), augmentent la biodisponibilité des nutriments dans le yaourt et le rendent plus riche et plus bénéfique que le lait (**Fazilah et al., 2018**). Plusieurs études ont montré que la consommation du yaourt est associée à un meilleur profil nutritionnel, exemple de l'étude de **Wang et al (2013)**, de **Webb et al. (2014)**, et celle de **Panahi et al (2018)**. Le yaourt est principalement riche en protéines de haute qualité provenant du lait, 80% d'entre eux sont des caséines ( $\alpha$ -s1,  $\alpha$ -s2,  $\beta$ -caséine,  $\kappa$ -caséine) et 20% sont des protéines de lactosérum ( $\beta$ -lactoglobuline,  $\alpha$ -lactalbumine, lactoferrine, glycomacropéptides, immunoglobulines et enzymes ...) (**Fernandez et al.,2017**).



La teneur du yaourt en lipides est plus faible par rapport à celle de protéines et dépendante de type du yaourt. Plus de 95% de ces lipides sont des triglycérides saturés, mono insaturés ou polyinsaturés (Citta et al., 2017). En termes de glucides, le lactose constitue le sucre principal et peut couvrir jusqu'à 98 % des glucides d'un yaourt simple, mais souvent, d'autres édulcorants supplémentaires sont ajoutés : stabilisateurs, gomme de guar, dérivés de cellulose, carraghénane... (Fernandez et al.,2017). Le yaourt constitue aussi une excellente source de vitamines (vitamine B1, B2, B12, niacine...) et une source de valeur de plusieurs minéraux (calcium, magnésium, phosphore, zinc...) (Tableau 7) qui sont encore susceptibles d'être fortifiés au niveau industriel (Marette et Picard-Deland, 2014).

**Tableau 7 : Profil nutritionnel du yaourt pour 100g de produit (Weerathilake et al,2014)**

Composants	Yaourt au lait entier	Yaourt partiellement écrémé	Yaourt maigre	Yaourt liquide
Energie (Kcal)	79	56	54	62
Protéines (g)	5,7	4,8	5,4	3,1
Carbohydrates (g)	7,8	7,4	8,2	13,1
Matière grasse (g)	3,0	1,0	0,2	Trace
Vitamine B6(mg)	0,10	0,01	0,07	0,05
Vitamine B12 (mg)	0,2	0,3	0,2	0,2
Riboflavine (mg)	0,27	0,22	0,29	0,16
Potassium (mg)	280	228	247	130
Phosphore (mg)	170	143	151	81
Calcium (mg)	200	162	160	100

### b) Critères microbiologiques

Le yaourt est fabriqué par la fermentation spontanée ou induite par les bactéries lactiques (Fazilah et al., 2018). Suivant les normes internationales concernant le yaourt traditionnel, ce produit doit contenir un minimum de 10<sup>7</sup> UFC du ferment lactique par gramme (Savaiano et Hutkins, 2021) présentés principalement par *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*. Toutefois, d'autres espèces du genre *Lactobacillus* et *Bifidobacterium* peuvent être ajoutées pour avoir des propriétés probiotiques : Lb. Acidophilus, Lb. Casei, Lb. Lactis, Bf. Longum, Bf. Bifidus...etc (Nyanzi et al., 2021). Le yaourt peut avoir aussi d'autres microorganismes non souhaitables, parfois pathogènes (Tableau 8), provenant de l'environnement, ustensiles, additifs, emballage...etc. Ceci nécessite un contrôle microbiologique pour confirmer sa qualité microbiologique (Pal et al., 2015).

**Tableau 8 : Normes microbiologiques du yaourt (Pal et al, 2015)**

Germes	Normes (UFC/g)
Bactéries lactiques	< 10 <sup>7</sup>
Coliformes	< 10
Escherichia coli	< 1
Salmonella / Shigella	0
Listeria monocytogenes	0
Staphylococcus aureus	< 100

### c) Critères organoleptiques

Les critères organoleptiques et rhéologiques varient selon le type de yaourt. Elles dépendent principalement de processus de fermentation, de type de lait, des souches de cultures, des additifs et de conditions de stockage (Nagaoka,2019).

Les propriétés texturantes du yaourt comprennent la viscosité, la solidité et la synérèse. La viscosité peut être affectée par le traitement thermique et les stabilisateurs, mais elle est fondamentalement liée au taux des exopolysaccharides (EPS) produits par les microorganismes de culture (Trachoo, 2002 ; Sanlibaba et Çakmak, 2016).

Les goûts et les arômes des yaourts sont majoritairement dépendantes des composants volatiles résultants de l'activité des ferments lactiques : alcools, aldéhydes, cétones, acides, esters, lactones, pyrazines et aussi des additifs industriels qui ont fait objet de multitude formulation (Chen et al., 2017).

### 2.4. Types du yaourt

Les yaourts sont disponibles dans nos marchés sous différentes formes, textures, saveurs, goûts en relation directe avec leurs différentes compositions, afin de répondre aux besoins nutritionnels et gustatifs des consommateurs (Birolo et al., 2000). Ainsi les yaourts sont scindés en plusieurs catégories classées selon :

#### a) Souches de culture

- **Yaourt standard** : fabriqué uniquement par les deux souches principales de culture du yaourt « *St.thermophilus* » et «*Lb. Bulgaricus*» (Savaiano et Hutkins, 2021).
- **Yaourt « Bio » / « Probiotique »** : outre les deux souches de culture de départ, ce yaourt est supplémenté avec d'autres souches « vivantes » ou « probiotiques » capables d'exercer plusieurs effets bénéfiques au niveau de tube digestif. Les souches les plus répandus sont *Bifidobactérium* et *Lactobacillus acidophilus* (Nyanzi et al., 2021).

#### b) Texture

- **Yaourts fermes ou étuvés** : dont la fermentation a lieu en pots, et ce sont généralement des yaourts naturels et aromatisés
- **Yaourts brassés** : dont la fermentation a lieu en cuve avant le brassage et le conditionnement, c'est le cas des yaourts veloutés naturels ou aux fruits (Bourlioux et al., 2011)

La fabrication de ces deux types de yaourt peut être réalisée soit à partir de lait entier ou à partir du lait partiellement ou totalement écrémé (**Jeant et al., 2007**)

- **Yaourts liquides** : Un yaourt à boire est un lait fermenté brassé et commercialisé. Il a une faible viscosité et est souvent sucré et/ou aromatisé à l'aide de jus ou de purées de fruits. Il est plutôt consommé comme une boisson rafraîchissante que comme un aliment (**Béal et al., 2019**).
- c) **Teneur en matière grasse (FAO, 1995)**
- **Yaourt entier** : Ce type de yaourt contient un maximum de 3 à 3,5% de matière grasse dans 100 g de produit.
  - **Yaourt maigre** : Ce type renferme moins de 1% de matière grasse.
  - **Yaourt partiellement écrémé** : Contenant entre 1 à 3% de matière grasse, ou totalement écrémé : contenant environ 0.5 % de matière grasse ou moins.

#### d) **Saveur / goût de produit**

Généralement, l'ajout de la saveur au yaourt le rend plus précieux et plus souhaité par les consommateurs, ces saveurs peuvent être ajoutées avant ou après l'homogénéisation. Les yaourts sont soit : des yaourts sucrés, naturels, yaourts aux fruits, au miel, yaourts aromatisés par des arômes naturels ou de synthèse autorisée par la législation (**Kaur et al., 2017**).

### 2.5. Bactéries lactiques du yaourt

#### 2.5.1. *Streptococcus thermophilus*

Les *St. Thermophilus* sont des cocci à Gram positif, anaérobies facultatifs, qui se regroupent en paires ou en chaînes courtes (**Uriot et al., 2017**). Ces microorganismes thermophiles se développent généralement dans des températures variantes entre 37 et 40°C, toutefois, elles peuvent croître encore à 50°C et survivre au chauffage à 65°C (**FAO ,1995**).

Ces bactéries sont largement appliquées dans la production des laits fermentés, notamment le yaourt, ainsi que dans la production de certains fromages comme la mozzarella et l'emmental (**Gezginc et al., 2013**), leur principal rôle dans la fermentation du lait est l'utilisation du lactose pour la production de l'acide lactique tout en provoquant une réduction rapide du pH ce qui entraîne la coagulation des protéines (caséines) du lait (**Farag et al., 2021**). De plus, ces bactéries confèrent des propriétés essentielles à la qualité du yaourt, telles que la saveur, l'acidité, la viscosité et la capacité de rétention d'eau (**Linares et al., 2016**).

### 2.5.2. *Lactobacillus bulgaricus*

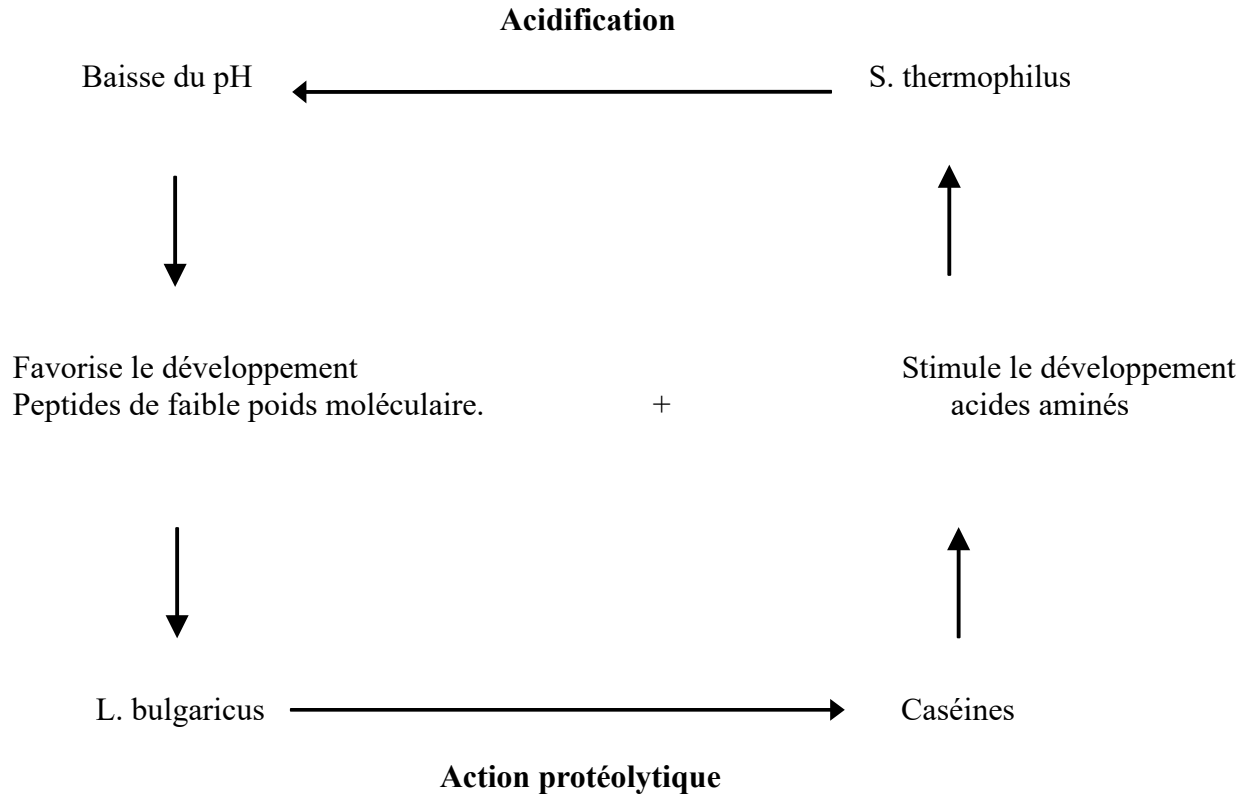
Du nom binominal *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*, il s'agit de la deuxième souche principale participant à la fabrication du yaourt. Elle se présente comme bacille à Gram positif, non mobile et non sporulée, tolérante aux pH acides (5,4 – 4,6), avec une composition en (G+C) comprise entre 33% à 54% (**Béal et Helinck., 2019; Tufail et al., 2011**). Cette souche est homofermentaire et transforme le glucose, le galactose et lactose en acide lactique de formes L(+) et D(-) jusqu'à 1,7% dans le lait. Elle est micro-aérophile et thermophile, elle se développe normalement entre 40 et 47° C. Outre sa fermentation des sucres du lait, elle joue également un rôle majeur dans l'amélioration de la texture et la réduction de synérèse du yaourt (**Jeantet et al., 2007 ; Trachoo, 2002**).

### 2.5.3. Syntrophie entre les deux souches

La syntrophie entre *St. thermophilus* et *Lb. Bulgaricuse* (**figure 2.2**), est l'un des facteurs clés qui déterminent le processus de la fermentation. Cette coopération est exploitée dans l'amélioration de l'acidité, la viscosité et l'arôme nécessaires pour obtenir un yaourt d'une bonne qualité (**Settachaimongkon, 2014**).

La production d'acide lactique s'avère beaucoup plus grande dans la culture mixte des deux souches bactériennes combinées que dans les cultures séparées de chacune des deux. En fait, elles se stimulent l'une et l'autre au cours de leur croissance associative (**Horiuchi et al., 2012**). *Lb. Bulgaricus*, à travers son activité protéolytique élevée, permet de fournir les peptides et les acides aminés libres nécessaires à la croissance de *St.thermophilus* (**Courtin et al., 2002**).

En retour, *St.thermophilus* stimule la croissance de *Lb. Bulgaricus* par la production des acides pyruvique, formique, folique et de dioxyde de carbone CO<sub>2</sub> (**Liu et al., 2016**). La production d'acide formique dépend de la souche, du milieu et de la température. De plus, l'acide lactique produit par *S. thermophilus* réduit le pH du lait à un niveau optimal au développement de *Lb bulgaricus* (**Arioli et al., 2017**).



**Figure 8 :** Syntrophie entre *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*

## 2.6. Effets bénéfiques du yaourt sur la santé

Le yaourt est un produit consommé dans le monde entier qui a des effets bénéfiques et des valeurs nutritives selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS) et l'Académie nationale de nutrition et de diététique (AND) aux États-Unis:

- 1. Source de protéines :** Le yaourt est une excellente source de protéines, qui sont essentielles pour la croissance, la réparation et le maintien des tissus corporels.
- 2. Riche en nutriments :** Le yaourt contient également des nutriments importants tels que le calcium, le magnésium, le potassium, le zinc et les vitamines B.
- 3. Favorise la santé digestive :** Le yaourt contient des bactéries probiotiques qui peuvent améliorer la santé digestive en aidant à réduire les symptômes du syndrome de l'intestin irritable, la diarrhée, la constipation et autres troubles gastro-intestinaux.
- 4. Renforce le système immunitaire :** Les probiotiques présents dans le yaourt peuvent également renforcer le système immunitaire en aidant à combattre les infections et les maladies.

**5. Aide à la perte de poids :** Le yaourt peut aider à la perte de poids en réduisant l'appétit et en augmentant la satiété, ce qui peut conduire à une consommation alimentaire plus faible globale.

**6. Améliore la santé osseuse :** Le yaourt est riche en calcium, un nutriment essentiel pour la santé osseuse. Une consommation régulière de yaourt peut aider à prévenir l'ostéoporose et les fractures.

Il est important de noter que les bienfaits pour la santé du yaourt peuvent varier en fonction du type de yaourt consommé et des ingrédients ajoutés, il est donc important de choisir des options saines et naturelles.

### 2.7. Étapes de la fabrication du yaourt

La fabrication du yaourt est un processus traditionnel de longue date qui a été transmis de générations en générations tout en améliorant sa technologie pour devenir une activité rationnelle et sophistiquée en combinant la science et le savoir-faire (Weerathilake et al, 2014). En général, la fabrication industrielle d'un yaourt commence par la réception du lait des producteurs, puis, ce lait est transporté, pesé et stocké dans des réservoirs refroidis pour qu'il passe ensuite par des phases de transformation standards (figure 9,10 ) et (Tableau 9) (Tsarouhasa et Arvanitoyannis, 2014)

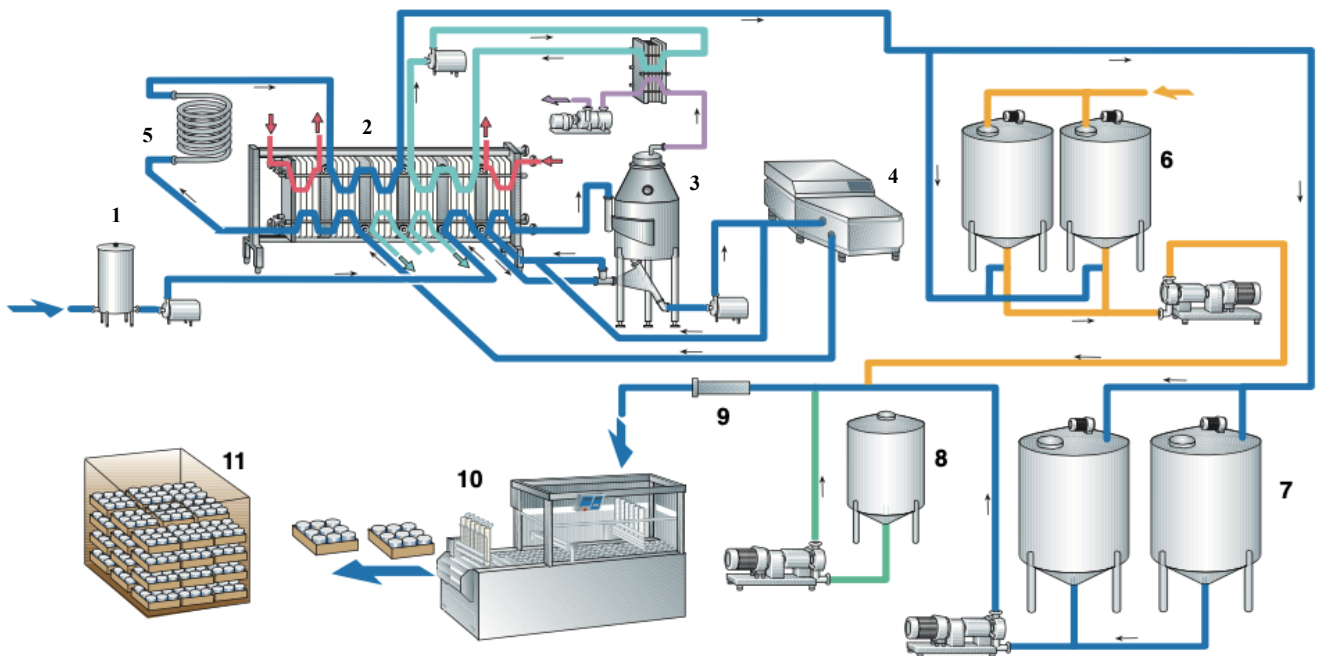


Figure 9 : Chaîne de production de yaourt ferme

- Lait/yaourt
- Refroidissement
- Chauffage
- Vapeur
- Levain
- Fruit/arôme

- 1: Cuve de compensation
- 2: Echangeur de chaleur à plaque
- 3: Evaporateur
- 4: Homogénéisateur
- 5: Tube de chambrage
- 6 : Cuve de levain en vrac
- 7 : Cuves d'incubation
- 8 : Fruits/arome
- 9 : Mélangeur
- 10 : Conditionnement
- 11 : Stockage

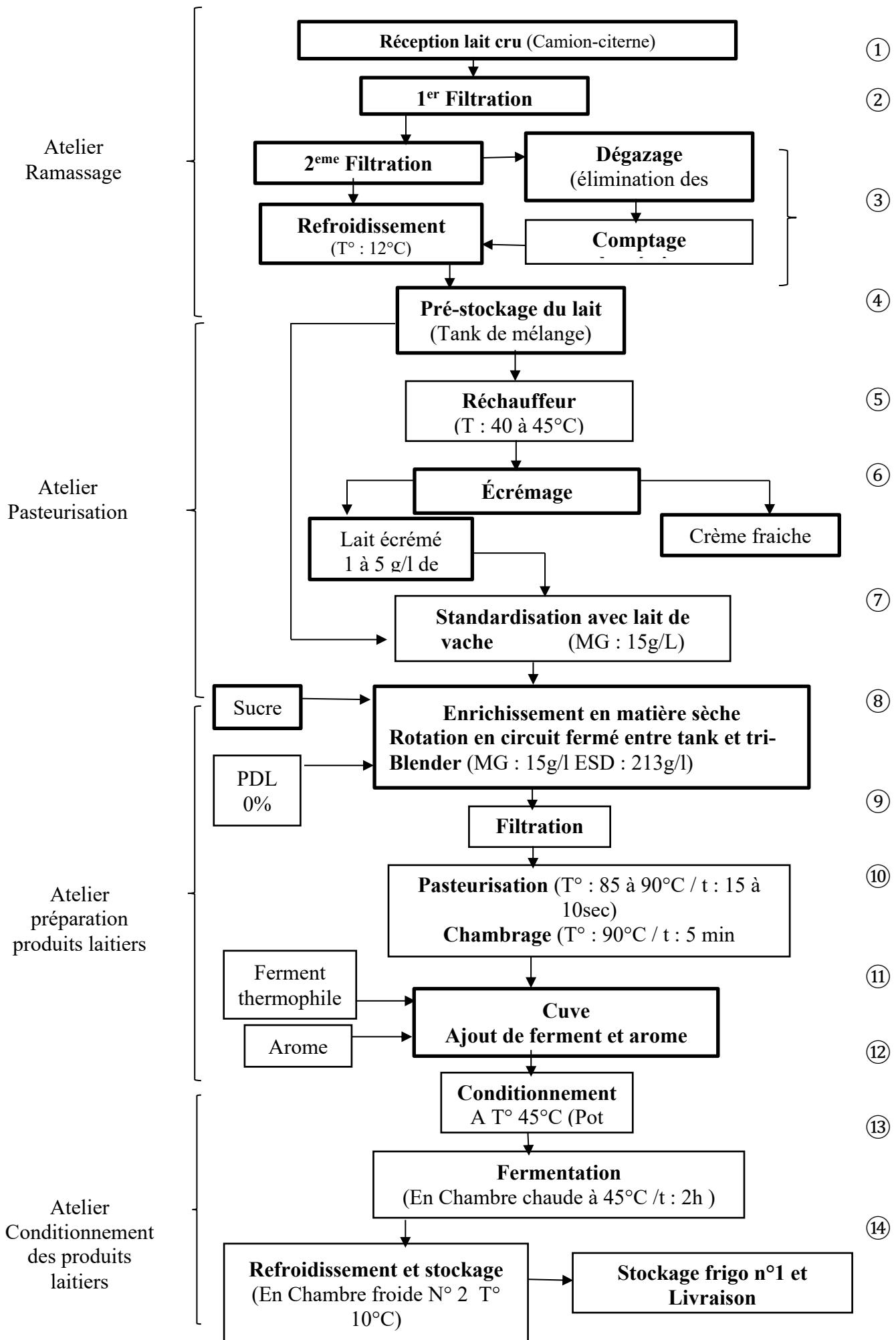


Figure 10 : Diagramme de fabrication yaourt étuvé en pot (COLAITAL, 2023)



Tableau 9 : Descriptif yaourt étuvé en pots.

Lieu	Étape	Processé
<b>Atelier ramassage</b>	Réception lait cru	La collecte du lait cru se fait par le biais des collecteurs privés, ainsi que par l'installation de centre de collecte appartenant à la laiterie COLAITAL. Le lait arrive à l'usine en vrac dans des camions citernes iso thermique.
	Filtration primaire du lait cru	Le lait cru subit une filtration grossière afin d'éliminer les différentes impuretés macroscopiques (les insectes,poils,foins,...Ets) qui peuvent se déposer sur les parois des équipements.
	Filtration aux niveaux de la station lait cru	le lait subit une seconde filtration pour éliminer les différentes impuretés restantes.
	Dégazage	Le lait s'achemine vers un dégazeur qui assure l'élimination des gaz dissout et les mauvaises odeurs (chaux,ail,oignon...)
	Comptage volumétrique	Le compteur volumétrique assure avec précision la mesure des quantités des laits réceptionnés.
	Refroidissement	Le lait est refroidi entre 10°C-13°C puis transféré directement vers les tanks de mélange N°07et N°08 pour un pré stockage
<b>Atelier pasteurisation</b>	Pré-stockage du lait	Le lait est pré- stocké dans des tanks à lait à température entre 10°C-13°C soit une température ralentissant son altération jusqu'à sa transformation
	Réchauffage	e lait est chauffé par passage à travers un échangeur réchauffeur jusqu'à une température de 35 à 40°C pour un meilleure rendement.
	Écrémage	Le lait chauffe est écrème dans une écrémeuse à une vitesse de 4000trs/mm qui permet une séparation de la crème en exerçant une accélération centrifuge. la crème qui est la partie le plus léger reste en surface( crème fraiche) cependant les composants les plus lourds du lait vont aux fonds de la cuve(lait écrème max 5g de MG).
	Standardisation	Le lait écrème est standardisée, ajustement de la teneur en MG 15 g/l avec du lait cru.
<b>Atelier préparation produits laitiers</b>	L'enrichissement	On rajoute de la poudre de lait à 0% de MG et le sucre (matière sèches) au lait standardisé (le lait du yaourt) dans le triblendre, le mélange se fait en circuit fermé rotatif entre le tank et le triblendre pendent 45mm La quantité maximale de sucre que l'on peut additionner dans les yaourts est de 12%. Au-dessus de cette norme il peut y avoir un effet inhibiteur de bactéries lactiques. Cette addition est faite avant la pasteurisation du lait du yaourt, ce qui permet d'une part de

		détruire le maximum de germes notamment les levures présentes dans le sucre et d'autres parts d'améliorer la consistance des yaourts par une bonne rétention du sérum lacté.
	Filtration	Le lait du yaourt standardise subit une filtration afin d'éliminer les différentes impuretés
	La pasteurisation	Le lait est chauffé dans un échangeur à plaques jusque 85°C à 90°C pendant 10 secondes afin d'éliminer les microorganismes présents dans le lait et indésirable pour l'homme
	Le chambrage	Le lait pasteurisé à 90C reste 5min à cette température dans le chambrage.Le chambrage a pour effet d'améliorer les conditions de fermentation des lactalbumines qui sont en partie scindées au stade peptides et acides aminés. Par ailleurs, cette action est bénéfique pour la consistance du produit et sa conservation.
	Le refroidissement	Le lait est refroidi 40°C 41°C par une eau glacée dans le tank (20001) à double paroi;et ce pour éviter son acidification.
	Ensemencement	Avant d'être ensemencé, le lait est réchauffé dans le réchauffeur et maintenu à une température de 45°C,température à laquelle les enzymes présents dans les ferments lactiques effectueront au mieux leur tâche.On procède à l'adjonction des arômes et les ferments lactiques thermophiles composés des deux souches bactériennes: Streptococcus thermophiles et Lactobacillus bulgaricus.
<b>Atelier Conditionnement des produits laitiers</b>	Conditionnement	Le yaourt étuvé est conditionné dans des pots de 350ml
	Étuvage	Fermentation dans la chambre chaude pendant 3 à 4 heures à une température comprise entre 42-45°C, jusqu'à l'obtention d'un Ph 4,8 et acidité de 70°D.
	Refroidissement et stockage	lorsque l'acidité est atteinte le seuil de 70 à 80°D Les pots des yaourts sont transférés vers la chambre froide N°02 à 08°C pour la commercialisation. L'action du froid freine la fermentation et l'acidification en inhibant le développement des bactéries lactiques.
	Stockage et livraison	Les pots des yaourts étuvés sont transférés vers la chambre froide N°01, conservés à température de 08°C jusqu'à livraison aux différents points de vente et détaillions dans des camions frigorifiques.

### 3. Diabète

#### 3.1. Définition

Le diabète est une maladie chronique qui survient lorsque le pancréas ne produit pas assez d'insuline ou lorsque l'organisme n'est pas capable d'utiliser efficacement l'insuline qu'il produit. Il en résulte une concentration accrue de glucose dans le sang (hyperglycémie) (OMS, 2016). Selon (OMS, 2016) il est défini par une glycémie à jeun  $>$  ou  $= 1,26\text{g/l}$  ou  $7\text{ mmol/l}$  et cela au moins à deux reprises, ou un taux d'HbA1c.égal ou supérieur à  $6,5\%$  à deux reprises.

#### 3.2. Epidémiologie du diabète

- **Dans le monde :** Selon un rapport de l'OMS de mars 2013, il y aurait 347 millions de personnes diabétiques dans le monde. La prévalence du diabète pourrait bien atteindre 10 % avec 552 millions de diabétiques en 2030 selon l'International Diabetes Federation (IDF), qui estime également que 183 millions de personnes ne sont pas diagnostiquées (Caroline-Alison, 2014).
- **En Algérie :** Le nombre des diabétiques en Algérie est passé d'un million de personnes en 1993, à plus de 2 500 000 en 2007, soit 10% de la population en 2010 (Dali-Sahî et al., 2012). En Algérie, le taux des malades diabétiques ne cesse d'augmenter. Il est estimé à environ 10% de la population (Ouhada, 2012).

#### 3.3. Classification

##### 3.3.1. Diabète type 1

Anciennement appelé « diabète insulino-dépendant » (DID) ou « diabète juvénile », se développe le plus souvent pendant l'enfance, à l'adolescence ou chez les jeunes adultes. Ce diabète peut être héréditaire. Il apparaît quand le pancréas n'est plus capable de produire une quantité suffisante d'insuline. Cela résulte de la destruction par le système immunitaire (système de défense de l'organisme) des cellules  $\beta$  du pancréas, responsable de la production de l'insuline. La diminution, puis l'absence de sécrétion de l'insuline aboutit progressivement et inexorablement à une élévation permanente de la glycémie.

##### 3.3.2. Diabète type 2

Le diabète de type 2 (DT2), anciennement appelé non insulino-dépendant, est un des diabètes le plus répandu dans le monde (Koceïr, 2009). Il représente 90 % des cas de diabète dans le monde. Il apparaît généralement chez les personnes de plus de 40 ans. Il se développe de façon silencieuse, évoluant en moyenne pendant sept à dix ans sans le moindre symptôme. La maladie est étroitement liée au surpoids, à l'obésité et à l'existence de diabète dans la famille (Bihan et al., 2012).

### 3.3.3. Différence entre diabète de type 1 et de type 2

Plusieurs caractéristiques nous permettent de distinguer le diabète de type 1 de celui de type 2, telle que la fréquence, l'âge, les causes, les signes révélateurs et autres qui sont regroupées dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 10** : Caractéristiques des diabètes de type 1 et de type 2.

Type de diabète	D.I.D (Type1)	D.N.I.D (Type 2)
<b>Fréquence</b>	15%	85%
<b>Age de début</b>	< 20 ans	> 35 ans
<b>Facteur héréditaire</b>	Faible	Fort
<b>Obésité</b>	Non	Oui
<b>Signes auto-immunes</b>	Oui	Non
<b>Insulino-sécrétion</b>	Nulle	Carence relative
<b>Insulino-résistance</b>	Non	Oui

**Source** : HAMMICHE A. : Essai d'évaluation des coûts de prise en charge du diabète Sucré en Algérie,

### 3.4. Effets du yaourt grec sur les diabétiques

Il existe des études qui suggèrent que le yaourt grec peut avoir des avantages pour la santé des diabétiques, tels que la réduction de la glycémie et de la résistance à l'insuline. Cependant, il est important de noter que ces résultats ne sont pas définitifs et que davantage de recherches sont nécessaires pour comprendre les effets spécifiques du yaourt grec sur le diabète.

### 4. La Stevia Rébaudiana

#### 4.1-Définition et origine

*Stévia rebaudiana Bertoni* est un petit arbuste vivace de la famille des Astéracées (Composées) qui est originaire d'Amérique du Sud, en particulier le Brésil et le Paraguay, où elle est connue comme « Stevia » ou « Feuille de miel » pour sa douceur puissante (Ferrazzano Et al.,2015). Ils l'appelaient la plante «kaa he-he», qui se traduit par «herbe douce», et l'utilisait comme édulcorant pour leur tisane vert mat. Dans l'indigène état elle pousse sur les bords des marais ou dans les prairies communautés sur les sols avec des plans d'eaux peu profonds (Yadavet., 2010). La Stevia est considérée comme une plante importante en raison de ses propriétés médicinales et ses composés actifs présents dans les feuilles appelées glycosides de stéviol qui sont des édulcorants à basses calories dont le pouvoir sucrant est d'environ 300 fois plus que le saccharose (Khalil Et al, 2014), pouvant être une source de glucides, protéines et de fibres brutes, minéraux et autres nutriments essentiels qui sont tous précieux pour la nutrition humaine (Gasmalla, 2016).

*Stevia rebaudiana Bertoni* est communément appelée stevia mais aussi :

**Français:** Herbe sucrée du Paraguay

**Anglais:** Stevia, honey grass, sweet plant, sweet herb, sugar leaf

**Indien:** Caà-éhê, Kaa-hée ou Kaa-héo

**Espagnol:** Yerba dulce



**Figure 11:** Les feuilles de la “STEVIA”

## 4.2 Propriétés de la Stévia

### 4.2.1 Pouvoir sucrant (PS)

Le PS est la valeur sucrante (ou édulcorante) d'un composé chimique par rapport à un autre. Il est déterminé, par rapport à une référence, en général une solution de saccharose (sucre de table), dont le pouvoir sucrant est égal à 1. La saveur sucrée des feuilles de Stévia est due à la présence, dans les tissus de la plante, des glycosides de stéviol. Ces composés possèdent en effet un pouvoir sucrant bien supérieur à celui du saccharose (**Wagner, 2012**), le Tableau 11 montre les différents composés de la Stévia et leur pouvoir sucrant.

**Tableau 11:** Les différents composés de la stévia et leur pouvoir sucrant (**Wegner, 2012**).

Composés	Pouvoir sucrant
Stévioside	150 - 250
Rébaudioside A	200 - 300
Rébaudioside B	150
Rébaudioside C (Dulcoside B)	30
Rébaudioside D	212
Rébaudioside E	174
Rébaudioside	114
Dulcoside A	30
Steviolbioside	90
Rébaudioside F	200

### 4.2.2 Activité anti-oxydante

Les feuilles de Stévia ont été comparées avec d'autres agents antioxydants commerciaux (butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT) et tertiary butyl hydroquinone (TBHQ), ses extraits ont de meilleures propriétés anti-oxydantes telles qu'anti-radicalaires et permettent une inhibition de la peroxydation lipidique celle-ci se trouvant impliqué dans la dégradation des tissus hépatique dans le diabète. L'étude montre que les agents causés lors de stress oxydatif qui sont produit pendant la peroxydation lipidique comme l'acide thiobarbiturique, les diènes conjugués, et les hydroperoxydes sont moins produits par le foie chez les rats ayant pris la poudre de Stevia ou dans les extraits de polyphénols (**Shivanna et al.,2013**).

Les feuilles de Stévia (et donc les glycosides de stéviol) augmentent le niveau d'antioxydants grâce à la présence de polyphénols dans ses feuilles. Les résultats sont significatifs : il y aurait donc une protection contre les effets oxydatifs induits par la streptozotocine dans le foie. Le stéviol est une source naturelle d'antioxydants. L'iso Stéviol, dérivé du stéviol atténue la génération des composés oxygénés réactifs (**Shivanna Et al., 2013**).

### 4.2.3. Activité antimicrobienne

L'extrait par eau chaude de *Stévia rébaudiana Bertoni* aurait un effet bactéricide spécifique contre des *Escherichia coli* entéro hémorragiques vis-à-vis d'autres bactéries pathogènes d'origine alimentaire (**Tomita-toshio et al., 1997**). L'extrait n'est actif qu'en milieu acide et n'a d'action ni sur les bifidobactéries (*Bifidobacterium longum adolescentis*) ni sur les lactobacilles (*Lactobacillus acidophilus casei*).

### 4.2.4. Données toxicologiques

Des évaluations de toxicités aiguës et chroniques après ingestion de stéviol ont été reportées chez la souris, le rat et le hamster. La prise de stéviol aussi haute que 15 g/kg ne produit pas de toxicité aiguë selon plusieurs études (**Zhang, Q et al, 2017**). L'administration orale de stéviol est létale avec une DL50 selon (**Toskulkao, 1977**) de 5 à 20 g/kg. Cette variation étant dû à la spécificité de l'espèce, le hamster étant plus susceptible d'avoir une toxicité que le rat et la souris. Le stéviol et l'iso stéviol purifiés ne semblent pas avoir de toxicité aiguë par voie orale.

### 4.2.5. Effet hypotenseur

L'effet hypotenseur du stéviol consiste à bloquer l'entrée d'ions  $Ca^{2+}$  dans les cellules musculaires lisses vasculaires, ce qui favorise la vasodilatation et réduit la résistance périphérique totale ainsi que le volume de liquide extracellulaire résultant d'une diurèse et d'une natriurèse accrues (**Bugaj Et al, 2013**). L'effet hypotenseur du stéviol a été observé dans une étude de (**Chan Et al., 2000**) menée avec la participation de 106 femmes âgées de 28 à 75 ans souffrant d'hypertension (pression artérielle diastolique de 95 à 100 mm Hg), à qui on a administré 0,25 g de stéviol trois fois par jour. En conséquence, la tension artérielle systolique et diastolique de ces femmes a déjà diminué après 7 jours de 14 et 14,3 mm Hg. Les auteurs (**Chan Et al., 2000**) ont déclaré que l'administration de stéviols pourrait constituer

un traitement alternatif ou un traitement d'appoint dans l'hypertension artérielle. Ils ont également observé que l'administration orale de stévioides ne modifiait ni les valeurs de ITMC ni les paramètres biochimiques dans le sang. Outre la normalisation de la pression artérielle, l'effet de la poudre de feuilles entières de stevia sur la régulation de la fréquence cardiaque a également été signalé (**Shivanna Et al, 2013**).

### **4.2.6. Effet anti-tumoral et anti inflammatoire**

Le mélange de quatre dérivés du stéviol (stévioides, Rébaudiosides A et C, Dulcoside A) a montré une forte activité inhibitrice vis-à-vis d'une inflammation induite, chez la souris, et par ailleurs, le mélange a aussi inhibé la formation des tumeurs cutanées induites (**Tomita- toshio Et al., 1997**). Il a aussi été démontré que le Rébaudioside A une activité similaire à l'hydrocortisone (**Salvador-Reyes,2014**).

### **4.2.7. Effet Hépto-protecteur**

On observe dans une étude des aspartate aminotransférase (ASAT) élevées chez les rats traités par la streptozotocine en le comparant aux groupes de contrôles. Si l'on ajoute des extraits de Stevia on diminue l'activité enzymatique du foie à un taux de 45 et 38 % et de 13 et 6% respectivement par rapport aux groupes diabétiques. Il est important de noter que l'ASAT est diminuée dans les groupes comportant seulement l'extrait de Stevia (**Shivanna Et al., 2013**).

### **4.2.8. Effet cariogène**

Les sucres de diterpènes glycosylés ne sont pas libérés dans la cavité buccale, le stévioides n'est donc pas cariogène. Le stévioides est un antibactérien pour Streptococcus mutans et il permet de limiter sa production d'acide lui donnant des propriétés pour la lutte et la prévention des caries (**Berry Et al,1981 ;Salvador-Reyes,2014**).

### **4.2.9. Effet anti diabétogène**

Concernant le diabète de type I, il a été démontré à travers les études que les extraits de la Stevia augmentent l'insulinémie et améliorent le nombre de cellules des îlots de Langerhans ainsi que la sécrétion d'insuline chez le rat diabétique traité. En revanche, ils ont la capacité d'améliorer la tolérance au glucose et d'augmenter la sensibilité des cellules à l'insuline dans le cas du diabète de type II (**Leverrier, 2014**).



### 4.2.10. Effet néphroprotecteur

Des études prouvent que la streptozotocine baisse le Débit de Filtration Glomérulaire (DFG) qui peut être amélioré de 7 à 9% si l'on fait une pré-administration de la Stevia. L'élargissement du rein induit par la streptozotocine peut être contré par une réduction significative de la masse du rein grâce à une supplémentation par la Stevia (**Shivanna, 2013**).

### 4.3. Utilisation de la Stevia dans le monde

Les Japonais ont été les premiers à cultiver la Stévia à grande échelle depuis les années 1950. Ils l'utilisent maintenant de façon régulière. En plus des pays de l'Amérique latine (Paraguay, Brésil, Argentine, Uruguay) et de l'Amérique Centrale, elle est actuellement cultivée dans d'autres pays (Allemagne, Angleterre, Australie, Canada, Chine, Corée, Géorgie, Inde, Israël, Japon, Malaisie, République Tchèque, Russie, Suède, Thaïlande, USA) en tant que culture expérimentale ou commerciale (**Penne Et al. 2004**).

Actuellement les principaux pays pour le marché selon les régions sont:

**Amérique du Nord:** États-Unis, Canada, Mexique

**Amérique du Sud:** Brésil, Venezuela, Argentine, Équateur, Pérou, Colombie, Costa Rica

Europe: Royaume-Uni, Allemagne, Italie, France, Pays-Bas, Belgique, Espagne et Danemark.

**APAC:** Chine, Japon, Australie, Corée du Sud, Inde, Taiwan, Malaisie, Hong Kong

**Moyen-Orient et Afrique:** Israël, Afrique du Sud, Arabie Saoudite (**OCDE/FAO 2017-2022**).

*Stévia Rébaudiana* n'est pas traitée chimiquement et présente également plusieurs avantages. Elle ne contient pas de glucides et de calories, ce qui est la principale raison de l'utilisation accrue de la stévia. Le marché de Stévia était évalué à 476,46 millions de dollars en 2017 et devrait atteindre 781,61 millions de dollars en 2023 avec un TAC prévu de 8,6%. La Chine a été le plus grand producteur de stevia, suivie des États-Unis. En termes de consommation, L'APAC est le plus gros consommateur de stevia, suivi de la région nord-américaine (**OCDE/FAO 2017-2022**).

De grandes entreprises comme Coca-Cola joue de plus en plus sur les avantages prêtés à la plante dans son état naturel, et même sur les connaissances traditionnelles des Guaranis, Pepsi Next a même utilisé l'expression Stevia Leaf Extract (extrait de feuille de stévia).

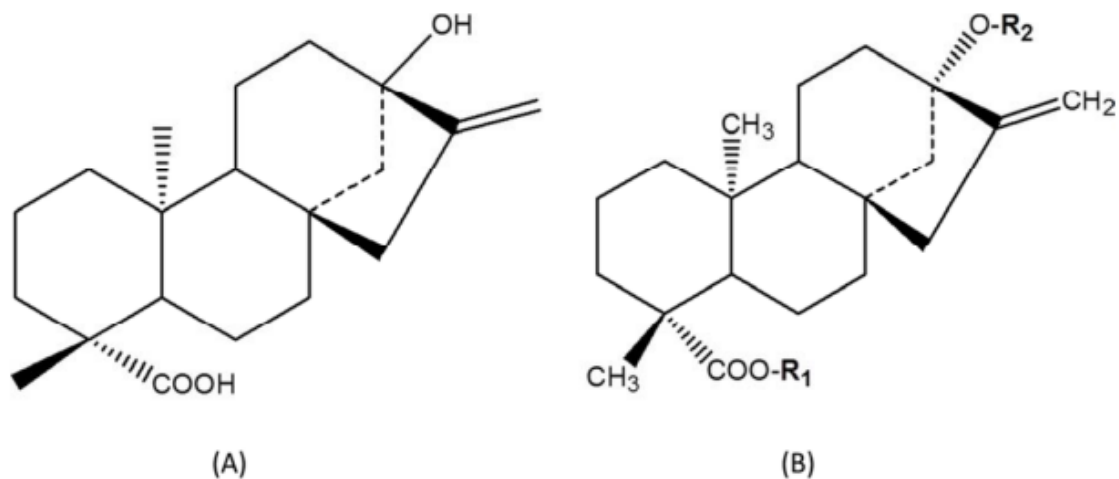
Les nouvelles boissons font l'objet de promotions assorties de slogans mentionnant des arômes naturels, des édulcorants issus de sources naturelles, des extraits provenant d'une source naturelle ou un produit naturellement édulcoré. (**Coca-Cola GB, 2014; PepsiCo CA, 2014**).

#### 4.4. Les glycosides de stéviol

##### 4.4.1. Caractéristiques

###### a) Structure chimique

Stévia rebaudiana a été le sujet de nombreuses études phytochimiques, qui ont permis l'identification de nombreuses molécules. La plupart des études a eu pour objet les isoprénoïdes, et plus spécifiquement les glycosides de stéviol (SV Gly). Les SVgly sont des glycosides diterpènes ent-kaurène tétracycliques organisés autour d'un noyau de stéviol (SV) (Figure 12). Ils diffèrent les uns des autres essentiellement par le nombre d'unités de sucre liées au SV, allant généralement d'un à quatre, mais pouvant aller jusqu'à sept. Les unités de sucre sont essentiellement du  $\beta$ -glucose (Glc) et, dans une moindre mesure, du  $\alpha$ -rhamnose (Rhm), du  $\beta$ -xylose (Xyl) et du  $\beta$ -fructose (Fru).



**Figure 12:** (A) Noyau de stéviol et (B) Structure commune aux glycosides de stéviol.

Les radicaux R1 et R2 de chacun des glycosides de stéviol sont décrits dans le Tableau 12.

Jusqu'au début des années 2000, neuf SVgly avaient été identifiés chez *Stévia rebaudiana* : le stéviolside (ST) (Bridel et Lavieille, 1931), les rébaudioside A et B (Kohda et al., 1976), C (Sakamoto et al., 1977), D et E (Sakamoto et al., 1977b), F (Starratt et al., 2002), le dulcoside A (Kobayashi et al., 1977) et le stéviolbioside (Kohda et al., 1976). La composition en SVgly dans les feuilles de *S. rebaudiana* varie selon le génotype, mais la composition la plus communément retrouvée, dans les populations sauvages, est la suivante (en pourcentage de masse sèche des feuilles): 5-10% ST, 2-5% RA, 1% RC, 0,5% DA, 0,2% rébaudiosides D, E et F, et 0,1% stéviolbioside (Ceunen et Geuns, 2013). Ces dernières années, de nombreux SVgly ont été détectés en petite quantité dans les feuilles de *Stévia rebaudiana*, sur des

cultivars d'origine différentes. On recense à l'heure actuelle plus de trente SVglys (Tableau 12) (Ceunen et Geuns, 2013). Les propriétés organoleptiques des SVglys les plus récemment identifiés n'ont pas encore été établies.

**Tableau 12:** Liste des glycosides de stéviol connus chez *Stevia Rebaudiana*.

Famille <sup>a</sup>	Nom	R1	R2	Formule	Reference <sup>c</sup>
	Stéviol	H	H	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O <sub>3</sub>	Minne et al. (2004)
	Stéviolmono-side	H	Glcβ1-	C <sub>26</sub> H <sub>40</sub> O <sub>8</sub>	Ohta et al. (2010)
	stéviol-19-O-β-D-glucoside	Glcβ1-	H	C <sub>26</sub> H <sub>40</sub> O <sub>8</sub>	Gardana et al. (2010)
	Rubusoside	Glcβ1	Glcβ1-	C <sub>32</sub> H <sub>50</sub> O <sub>13</sub>	Ohta et al. (2010)
rebaudioside A family [Glc β(1-2)[±Glc β(1-3)]Glc β1-]	Stéviolbioside	H	Glcβ (1-2) Glcβ1-	C <sub>32</sub> H <sub>50</sub> O <sub>13</sub>	Kohda et al. (1976)
	Stévioside	Glcβ1-	Glcβ (1-2) Glcβ1-	C <sub>38</sub> H <sub>60</sub> O <sub>18</sub>	Bridel et Lavieille (1931)
	-	Glcβ (1-2) Glcβ1-	Glcβ1-	C <sub>38</sub> H <sub>60</sub> O <sub>18</sub>	Wu et al. (2012)
	rébaudioside E	Glcβ (1-2) Glcβ1-	Glcβ (1-2) Glcβ1-	C <sub>44</sub> H <sub>70</sub> O <sub>23</sub>	Sakamoto et al. (1977b)
	rébaudioside B	H	Glcβ (1-2) [Glcβ (1-3)]Glcβ1-	C <sub>38</sub> H <sub>60</sub> O <sub>18</sub>	Kohda et al. (1976)
	rébaudioside A	Glcβ1-	Glcβ (1-2) [Glcβ (1-3)]Glcβ1-	C <sub>44</sub> H <sub>70</sub> O <sub>23</sub>	Kohda et al. (1976)
	rébaudioside D	Glcβ (1-2) Glcβ1-	Glcβ (1-2) [Glcβ (1-3)]Glcβ1-	C <sub>50</sub> H <sub>80</sub> O <sub>28</sub>	Sakamoto et al. (1977b)
	rébaudioside I	Glcβ (1-3) Glcβ1-	Glcβ (1-2) [Glcβ(1-3)]Glcβ1-	C <sub>50</sub> H <sub>80</sub> O <sub>28</sub>	Ohta et al. (2010)
	rébaudioside M	Glcβ (1-2) [Glcβ(1-3)]Glcβ1-	Glcβ (1-2) [Glcβ(1-3)]Glcβ1-	C <sub>56</sub> H <sub>90</sub> O <sub>33</sub>	Ohta et al. (2010)
	-	Glcβ1-	Glcβ (1-6) [Glcβ(1-2)]Glcβ1-	C <sub>44</sub> H <sub>70</sub> O <sub>23</sub>	Chaturvedula et Prakash (2011)
	rébaudioside L	Glcβ1-	Glcβ (1-6) Glcβ(1-2)[Glcβ(1-3)]Glcβ1-	C <sub>50</sub> H <sub>80</sub> O <sub>28</sub>	Ohta et al. (2010)

rebaudioside C family [Rha $\alpha$ (1-2)[ $\pm$ Glc $\beta$ (1-3)]Glc $\beta$ 1-]	dulcoside A	Glc $\beta$ 1-	Rha $\alpha$ (1-2) Glc $\beta$ 1-	C <sub>38</sub> H <sub>60</sub> O <sub>17</sub>	Kobayashi et al. (1977)
	dulcoside B	H	Rha $\alpha$ (1-2) [Glc $\beta$ (1-3)]Glc $\beta$ 1-	C <sub>38</sub> H <sub>60</sub> O <sub>17</sub>	Ohta et al. (2010)
	rébaudioside C	Glc $\beta$ 1-	Rha $\alpha$ (1-2) [Glc $\beta$ (1-3)]Glc $\beta$ 1-	C <sub>44</sub> H <sub>70</sub> O <sub>22</sub>	Sakamoto et al. (1977a)
	rébaudioside H	Glc $\beta$ 1-	Glc $\beta$ (1-3) Rha $\alpha$ (1-2)[Glc $\beta$ (1-3)]Glc $\beta$ 1-	C <sub>50</sub> H <sub>80</sub> O <sub>27</sub>	Ohta et al. (2010)
	rébaudioside K	Glc $\beta$ (1-2)Glc $\beta$ 1-	Rha $\alpha$ (1-2) [Glc $\beta$ (1-3)]Glc $\beta$ 1-	C <sub>50</sub> H <sub>80</sub> O <sub>27</sub>	Ohta et al. (2010)
	rébaudioside J	Rha $\alpha$ (1-2)Glc $\beta$ 1-	Glc $\beta$ (1-2) [Glc $\beta$ (1-3)]Glc $\beta$ 1-	C <sub>50</sub> H <sub>80</sub> O <sub>27</sub>	Ohta et al. (2010)
	rébaudioside N	Rha $\alpha$ (1-2) [Glc $\beta$ (1-3)]Glc $\beta$ 1-	Glc $\beta$ (1-2) [Glc $\beta$ (1-3)]Glc $\beta$ 1-	C <sub>56</sub> H <sub>90</sub> O <sub>32</sub>	Ohta et al. (2010)
	Rébaudioside O	Glc $\beta$ (1-3) Rha $\alpha$ (1-2)[Glc $\beta$ (1-3)]Glc $\beta$ 1-	Glc $\beta$ (1-2) [Glc $\beta$ (1-3)]Glc $\beta$ 1-	C <sub>62</sub> H <sub>100</sub> O <sub>37</sub>	Ohta et al. (2010)
Famille [Glc $\beta$ (1-3) Glc $\beta$ 1- ]	rébaudioside G	Glc $\beta$ 1-	Glc $\beta$ (1-3)Glc $\beta$ 1-	C <sub>38</sub> H <sub>60</sub> O <sub>18</sub>	Ohta et al. (2010)
rebaudioside F family [Xyl $\beta$ -]	-	Glc $\beta$ 1-	Xyl $\beta$ (1-2)Glc $\beta$ 1-	C <sub>37</sub> H <sub>58</sub> O <sub>17</sub>	Chaturvedula et Prakash (2011)
	rébaudioside F	Glc $\beta$ 1-	Xyl $\beta$ (1-2) [Glc $\beta$ (1-3)]Glc $\beta$ 1-	C <sub>43</sub> H <sub>68</sub> O <sub>22</sub>	Starratt et al. (2002)
	-	Glc $\beta$ 1-	Glc $\beta$ (1-2) [Xyl $\beta$ (1-3)]Glc $\beta$ 1-	C <sub>43</sub> H <sub>68</sub> O <sub>22</sub>	Chaturvedula et Prakash (2011)
	-	Xyl $\beta$ (1-6)Glc $\beta$ 1-	Glc $\beta$ (1-2)Glc $\beta$ 1-	C <sub>43</sub> H <sub>68</sub> O <sub>22</sub>	Chaturvedula et al. (2011)
[Fru $\beta$ -] family	-	Glc $\beta$ 1-	Glc $\beta$ (1-2) [Fru $\beta$ (1-3)]Glc $\beta$ 1-	C <sub>44</sub> H <sub>70</sub> O <sub>23</sub>	Chaturvedula et al. (2011)

[Glc $\alpha$ -] family	-	Glc $\alpha$ (1-2) Glc $\alpha$ (1-4)[Glc $\beta$ 1-	Glc $\beta$ (1-2)Glc $\beta$ 1-	C <sub>50</sub> H <sub>80</sub> O <sub>28</sub>	Chaturvedula et al. (2011)
	-	Glc $\beta$ 1-	Glc $\beta$ (1-3) Glc $\beta$ (1-2)[Glc $\beta$ (1-3)]Glc $\beta$ 1-	C <sub>50</sub> H <sub>80</sub> O <sub>28</sub>	Chaturvedula et al. (2011)
	-	Glc $\beta$ 1-	Glc $\beta$ (1-4) Glc $\beta$ (1-3)[Glc $\beta$ (1-2)]Glc $\beta$ 1	C <sub>50</sub> H <sub>80</sub> O <sub>28</sub>	Chaturvedula et al. (2011)
[6-deoxyGlc $\beta$ -] family	-	Glc $\beta$ 1-	6-deoxyGlc $\beta$ (1-2)Glc $\beta$ 1-	C <sub>38</sub> H <sub>60</sub> O <sub>17</sub>	Chaturvedula et al. (2011)
	-	Glc $\beta$ 1-	6-deoxyGlc $\beta$ (1-2)[Glc $\beta$ (1-3)]Glc $\beta$ 1-	C <sub>44</sub> H <sub>70</sub> O <sub>22</sub>	Chaturvedula et al. (2011)
	-	6-deoxyGlc $\beta$ 1-	Glc $\beta$ (1-2)[Glc $\beta$ (1-3)]Glc $\beta$ 1-	C <sub>44</sub> H <sub>70</sub> O <sub>22</sub>	Venkata Sai Prakash (2011)

**a** : les glycosides de stéviol sont regroupés en famille, comme dans Ohta et al. (2010) et Ceunen et Geuns (2013) ; **b** : les pouvoirs sucrants sont cités dans Kinghorn (2002) et Geuns (2010), où le pouvoir sucrant du saccharose est égal à 1 ; **c** : les références correspondent au premier rapport sur la détection in vivo des glycosides de stéviol et leur caractérisation, d'après Ceunen et Geuns (2013).

### b) Caractéristiques organoleptiques

Une amertume (goût métallique/liquoreux) est souvent associée aux extraits purifiés de *S. rebaudiana* (Tanaka, 1997). Il est difficile de savoir si cette amertume est due à la présence d'un ou plusieurs composés présents dans l'extrait, ou est inhérente à la structure moléculaire des SVglys. Certains auteurs arguent en faveur d'une amertume due à la présence de composés volatiles non décelés lors de l'extraction des SVglys. Des phénols, des sesquiterpènes et des alcaloïdes ont été identifiés comme les principaux produits sécrétés par les trichomes glandulaires, tant sur les feuilles que sur les inflorescences. Les sesquiterpènes non-oxygénés et les monoterpènes non-oxygénés ont été identifiés comme les principaux composants de la fraction la plus volatile et comme les principaux responsables du goût des feuilles et des fleurs, quand les terpènes oxygénés joueraient probablement un rôle mineur (Cornara et al., 2001).

Parmi ces produits, deux sesquiterpènes, le spathulénol et le carophyllène, ont été isolés (Cornara et al., 2001). Ils ont été décrits comme contribuant de manière décisive à l'arrière-goût des SVglys (Tsanava et al., 1991). Plus récemment, un nouvel alcaloïde indolizidinique a été identifié chez *Stévia rebaudiana*, la stéviamine (Michalik et al., 2010). Aucune étude n'a encore rapporté l'effet des alcaloïdes indolizidiniques sur le goût perçu par les humains, mais il est suggéré qu'ils puissent avoir un effet sur le goût sucré des SVglys (Michalik et al., 2010). Les alcaloïdes indolizidiniques étant difficiles à détecter par les dispositifs analytiques les plus communément utilisés et ayant une solubilité similaire à celle des SVglys, ils pourraient être présents dans les extraits de *Stévia rebaudiana* utilisés comme agents sucrants (Michalik et al., 2010). D'autres études ont testé l'hypothèse d'une relation entre la structure chimique et le goût des SVglys (Dubois et Stephenson, 1985 ; Jookan et al., 2013).

L'amertume des SVglys pourrait être liée au caractère hydrophile de la molécule, une augmentation de la polarité des SVglys entraînant une diminution de leur goût amer (Dubois et Stephenson, 1985). Selon l'étude de Jookan et al. (2013), la présence d'un  $\beta$ -glucose au niveau du groupement carboxyl du stéviol (position C19) serait de faible importance pour les caractéristiques organoleptiques des SVglys. Le nombre d'unités de sucre attachées au groupement hydroxyl du stéviol (position C13) pourrait, en revanche, influencer sur les caractéristiques organoleptiques des SVglys, les composés les moins amers ayant un nombre plus élevé d'unités de sucre. Par ailleurs, la nature des unités de sucre ( $\beta$ -glucose,  $\alpha$ -rhamnose ou  $\beta$ -xylose) n'est pas apparue déterminante lors de l'évaluation de l'amertume des SVglys (Jookan et al., 2013). Néanmoins, les échantillons utilisés dans cette étude étaient des

mélanges de SVglys aux compositions différentes et les effets de synergie entre les différents SVglys n'ont pu être mesurés (**Jooken et al., 2013**).

Il reste difficile à ce jour d'identifier les caractéristiques organoleptiques propres à chaque SVglys. La limite majeure vient de la difficulté à séparer les SVglys à partir d'extraits bruts à un rendement et à un degré de pureté suffisamment élevés afin d'effectuer des analyses sensorielles individuelles pour chaque SVglys.

### c ) Extraction et dosage des glycosides de stéviol

La plupart des protocoles d'extraction des SVglys proposent l'eau comme solvant d'extraction. Des procédés d'extraction à partir de chloroforme, méthanol ou extraction par fluide supercritique ont également été décrits. Différents procédés de purification peuvent ensuite être mis en œuvre, tels que l'extraction en phase solide (SPE) (**Woelwer-Rieck et al., 2010**).

Les SVglys peuvent être aussi purifiés par recristallisation, parfois couplée à de la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) (**Ceunen et Geuns, 2013**). Après la découverte du RA en 1975, de nombreuses méthodes analytiques ont été développées pour le dosage des SVglys : la chromatographie, l'électrophorèse, la méthode enzymatique et la spectroscopie proche infrarouge (SPIR) (**Brandle et al., 1998**).

Aujourd'hui, la méthode la plus communément utilisée pour le dosage des glycosides est la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) (**Brandle et al., 1998 ; Woelwer-Rieck, 2012**). De nombreux protocoles existent, proposant l'utilisation de différentes colonnes : les colonnes en phase inverse (C18) ou en phase amine (NH<sub>2</sub>) comptent parmi les premières utilisées. Plus récemment, les colonnes HILIC (Hydrophilic Liquid Interaction Chromatographic) ont été utilisées pour le dosage des SVglys (**Woelwer-Rieck, 2012**).

L'HPLC est une méthode coûteuse, qui nécessite une longue préparation des échantillons. La mise en œuvre des programmes de sélection serait considérablement facilitée par le développement d'une méthode rapide et précise qui permettrait un criblage des plantes à grande échelle et à faible coût. Deux méthodes ont été étudiées en alternative à l'HPLC : la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN) quantitative et la spectroscopie proche infrarouge (SPIR). La méthode RMN propose un temps d'analyse quatre fois plus rapide que l'HPLC et ne nécessite pas de standards de référence (**Pieri et al., 2011**). Quatre



SVglys ont pu être dosés par RMN : le ST, le RA, le RB et le RC (Pieri et al., 2011). Les SVglys mineurs n'ont néanmoins pas pu être détectés, compte-tenu de leur faible teneur, alors qu'ils ont été détectés par HPLC (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 2010).

La SPIR est une méthode couramment utilisée pour déterminer la teneur en métabolites secondaires dans les plantes (Hearn et Subedi, 2009 ; Montes et al., 2013 ; Pissard et al., 2013). Selon l'étude de Hearn et Subedi (2009), les trois SVglys majeurs (ST, RA et RC) ont pu être estimés avec cette méthode. Dans l'étude de Yu et al. (2011), un modèle a pu être établi pour estimer les teneurs en RA et ST dans les feuilles *Stévia rebaudiana*. La SPIR est un outil de mesure rapide et non destructif. Il est généralement utilisé sur feuilles séchées (et broyées). Des appareils portatifs existent aussi, permettant de faire des mesures en direct sur les plantes. Un tel dispositif permettrait de réaliser un screening rapide des plantes en vue d'un travail de sélection. Cet outil pourrait également être utilisé par l'aval de la filière, pour le tri des lots de feuilles récoltées par exemple.

### 5. Les édulcorants

#### 5.1. Définition

Les édulcorants sont des additifs alimentaires qui jouent le rôle d'une alternative au sucre de table (ou saccharose) utilisés pour procurer une saveur sucrée aux denrées. Ils se doivent d'être stables, inertes et non toxiques. Ils désignent une substance autre que le sucre, d'origine naturelle ou synthétique. Leur pouvoir sucrant se définit par rapport à celui du saccharose qui est de 30 g/L à 20°C et ayant un pouvoir sucrant de 1 (Marchand, 2009 ; Parent-Massin, 2011).

Les caractéristiques idéales d'un édulcorant (EFSA, 2014) seraient de:

- Posséder une saveur sucrée sans arrière-goût
- Remplir les mêmes fonctions que le sucre qu'il substitue tout en ayant une charge
  - calorique le plus bas possible
- Être chimiquement stable et inerte physiologiquement
- Être non toxique
- Apporter les mêmes goûts et apparences au produit fini que les produits traditionnels

pour être adopté plus facilement par le consommateur Ils sont répartis en 2 groupes:

### 5.2. Les édulcorants nutritifs

de charge ou de masse qui ont un pouvoir sucrant limité équivalent à 1,5 fois supérieure à celui du sucre, voire inférieure. Il s'agit de sucres comme le saccharose, le fructose, le galactose ou l'isoglucose qui sont des denrées alimentaires et des polyols (les plus connus étant le sorbitol, le xylitol, le mannitol, l'isomalt, le maltitol, le lactitol), ces derniers étant des additifs alimentaires (**Parent-Massin, 2011; Amouyal et al, 2012**).

**les édulcorants intenses** : ont la capacité d'être non nutritifs. Ils ont un pouvoir sucrant très élevé d'environ 300 fois plus par rapport au saccharose et ils possèdent une charge pondérale infime, voire nulle dans la denrée alimentaire ce qui les placent dans la catégorie des additifs alimentaires (**Marchand, 2009**). Les différents édulcorants existants peuvent être classés comme suit ( figure 13) :

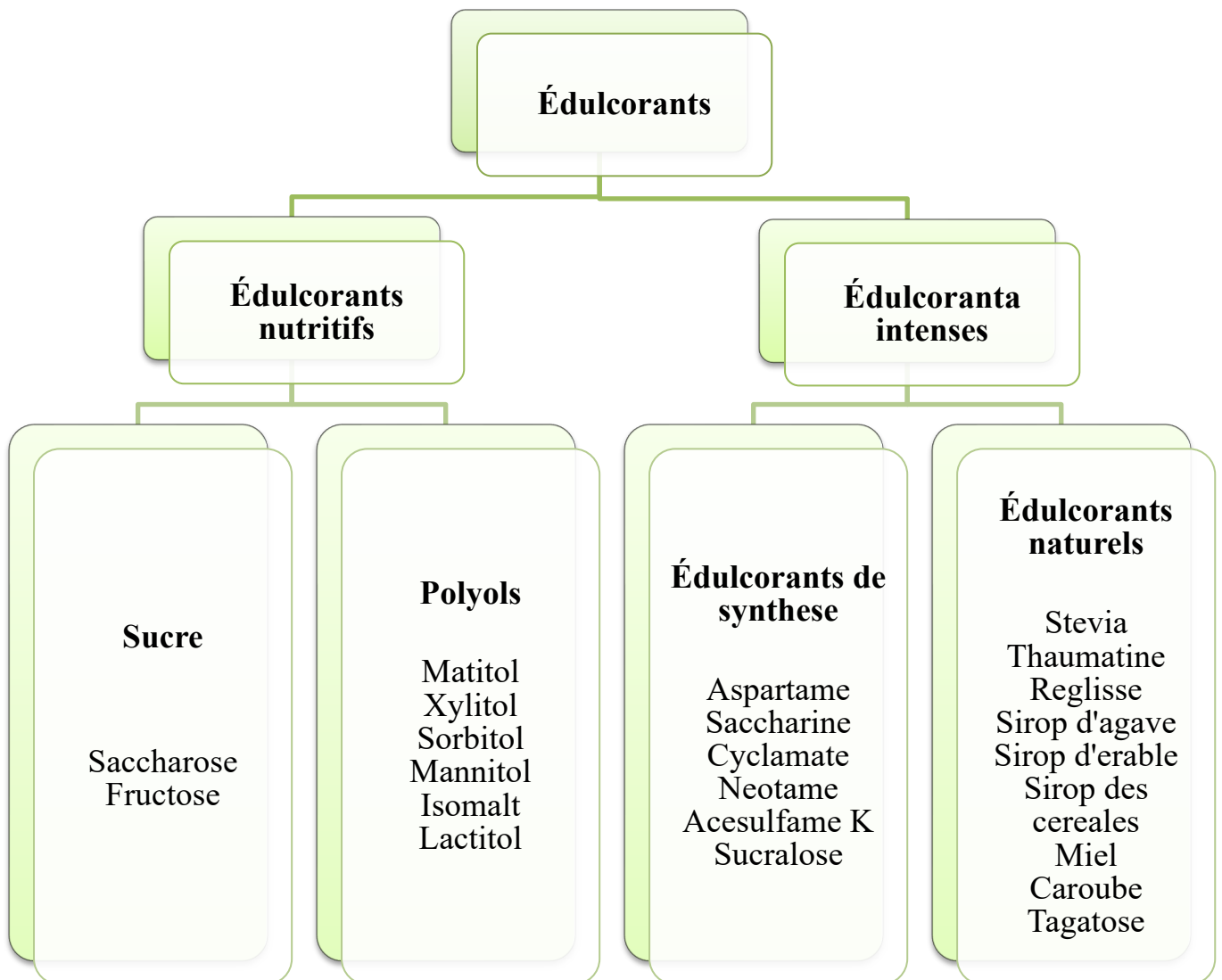


Figure 13 : Les différents édulcorants (Amouyal, 2012)

- *Stevia rebaudiana* entre parfaitement dans la définition des édulcorants intenses à l'exception du fait qu'elle est d'origine naturelle (Parent-Massin, 2011).

# **Chapitre II**

## **Matériel et Méthodes**

**Chapitre II : Matériel et Méthodes**

L'objectif de notre travail est la formulation d'un yaourt nature à la Stévia verte (brute) et la Stévia blanche (raffinée) et l'évaluation de sa qualité physico-chimique et microbiologique. Notre étude a été réalisée au niveau de l'unité COLAITAL de Birkhadem, durant la période Mars - Mai de l'année 2023.





La partie microbiologique et physico-chimique du yaourt a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie et physico-chimique de l'industrie. Par ailleurs, la partie microbiologique de la Stévia a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie alimentaire de l'institut pasteur d'Algérie a Dely Ibrahim, durant la période Juin - Juillet de l'année 2023. Enfin, la partie physico-chimique de la Stévia a été réalisée au niveau du laboratoire de la recherche scientifique de la DGSN.

**1. Matériel**

**1.1. Matériel biologique**

Le matériel biologique que nous avons utilisé dans la fabrication de notre produit est représenté dans le tableau 13.

**Tableau 13 :** Matériel biologique utilisé au cours de cette étude.

Matières premières	<p><b>3 litres du lait partiellement écrémé 15% MG</b></p> <p>La collecte du lait cru se fait par le biais des collecteurs privés, ainsi que par l'installation de centre de collecte appartenant à la laiterie COLAITAL. Le lait arrive à l'usine en vrac dans des camions citernes iso thermique.</p>	
	<p><b>Ferments lactiques thermophiles</b></p> <p>Composés des deux souches bactériennes : <i>Streptococcus thermophiles</i> et <i>Lactobacillus bulgaricus</i>.</p> <p>conserver dans un congélateur</p> <p>1 packet = 25g</p>	
	<p><b>My Stevia :</b> Stévia blanche (raffinée)</p> <p><b>Tazmert:</b> Stévia verte (brute)</p>	
Produit fini	<p><b>Yaourt étuvé nature à base de stévia verte (brute) et Stévia blanche (raffinée)</b></p> <p>Conservés à température de 08°C</p>	

## 1.2. Matériel non biologique

L'appareillage, la verrerie, les réactifs et les milieux de cultures utilisés sont présentés en Annexes.

## 2. Méthodes

Les analyses microbiologiques et physico-chimiques sont effectuées sur les matières premières et sur les produits finis.

### 2.1. Échantillonnage et prélèvement

L'échantillonnage est une opération primordiale nécessaire pour obtenir des échantillons représentatifs avant toute analyse (tableau 14).

**Tableau 14** : Les méthodes de prélèvement de produits pour l'analyse microbiologique et l'analyse physico-chimique.

		Lieu de prélèvement	Technique de prélèvement
<b>Matières premières</b>	Lait cru	Le prélèvement est effectué directement à partir du robinet des citernes de collecte	En flambant la vanne de sortie, laisser couler le lait pendant une à deux secondes avant de faire le prélèvement, déboucher un flacon de 250ml stérile à proximité de la flamme et remplir aux deux tiers de sa capacité. Mentionner le nom du collecteur, la date et l'heure de prélèvement sur le flacon.
<b>Produit fini</b>	Yaourt étuvé	Sortie chambre chaude (étuve)	Le prélèvement est effectué directement par la prise du produit fini. Faire le nettoyage de la surface extérieure du pot qui contient 100g de produit. Ensuite, ouvrir le pot aseptiquement. Mélanger avec soin le contenu du pot de yaourt à l'aide d'une spatule stérile.

### 2.2. Analyses microbiologiques

Le contrôle microbiologique permet de garantir la sécurité des aliments. Il s'applique à la chaîne alimentaire depuis la production primaire jusqu'à la production finale. Les analyses microbiologiques portent essentiellement sur la détection et le dénombrement des germes dans le produit fini (Multan *Et* Davenas, 1994).

Les analyses microbiologiques effectuées pour la production du yaourt étuvé selon le Journal Officielle de la République Algérienne N 39 du 02 Juillet 2017 sont consignées dans le tableau 15.

**Tableau 15:** Analyses microbiologiques effectuées pour la production du yaourt étuvé

Catégories des denrées alimentaires	Micro-organismes/ métabolites	Plan d'échantillonnage		Limites microbiologiques (ufc (1)/g ou ufc/ml)	
		n	c	m	M
Yaourts ou yoghourts et desserts lactés	<i>Enterobacteriaceae</i>	5	2	10	10 <sup>2</sup>
	<i>Staphylocoques à coagulase</i> +	5	2	10	10 <sup>2</sup>
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	

**n** : nombre d'unités constituant l'échantillon ;

**m** : seuil au-dessous duquel le produit est considéré comme étant de qualité satisfaisante.

Tous les résultats égaux ou inférieurs à ce critère sont considérés comme satisfaisants ;

**M** : seuil limite d'acceptabilité au-delà duquel les résultats ne sont plus considérés comme étant satisfaisants, sans pour autant que le produit soit considéré comme toxique:

M = 10 m lors du dénombrement effectué en milieu solide,

M = 1 = 30 m lors du dénombrement effectué en milieu liquide;

**c** : nombre d'unités de l'échantillon donnant des valeurs situées entre “m” et “M”.

### 2.2.1. Préparation des dilutions

**Préparation de la solution mère :** Une quantité de 25 g du produit à analyser est prélevée puis introduite dans un flacon stérile à fond plat contenant 225 ml de diluant Tryptone Sel Eau (TSE) le contenu est ensuite homogénéisé manuellement. Cette suspension constitue alors la solution mère (ISO 6887-1: 1999).

**2.2.1.1. Préparation des dilutions décimales :** Une quantité de 1 ml du produit à analyser (solution mère) est prélevé à l'aide d'une pipette en verre graduée et stérile, puis elle est introduite dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9 ml de diluant Tryptone Sel (TSE), cette dilution constitue alors la dilution au (10<sup>-1</sup>), cette dernière est mélangée

soigneusement. La dilution  $10^{-1}$  est introduite aseptiquement à l'aide d'une pipette graduée stérile dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9 ml du même diluant (TSE) en mélangeant soigneusement par la suite, cette dilution est alors au  $10^{-2}$ , les dilutions peuvent être poussée jusqu'à une dilution de  $10^{-7}$  (Figure 14) .

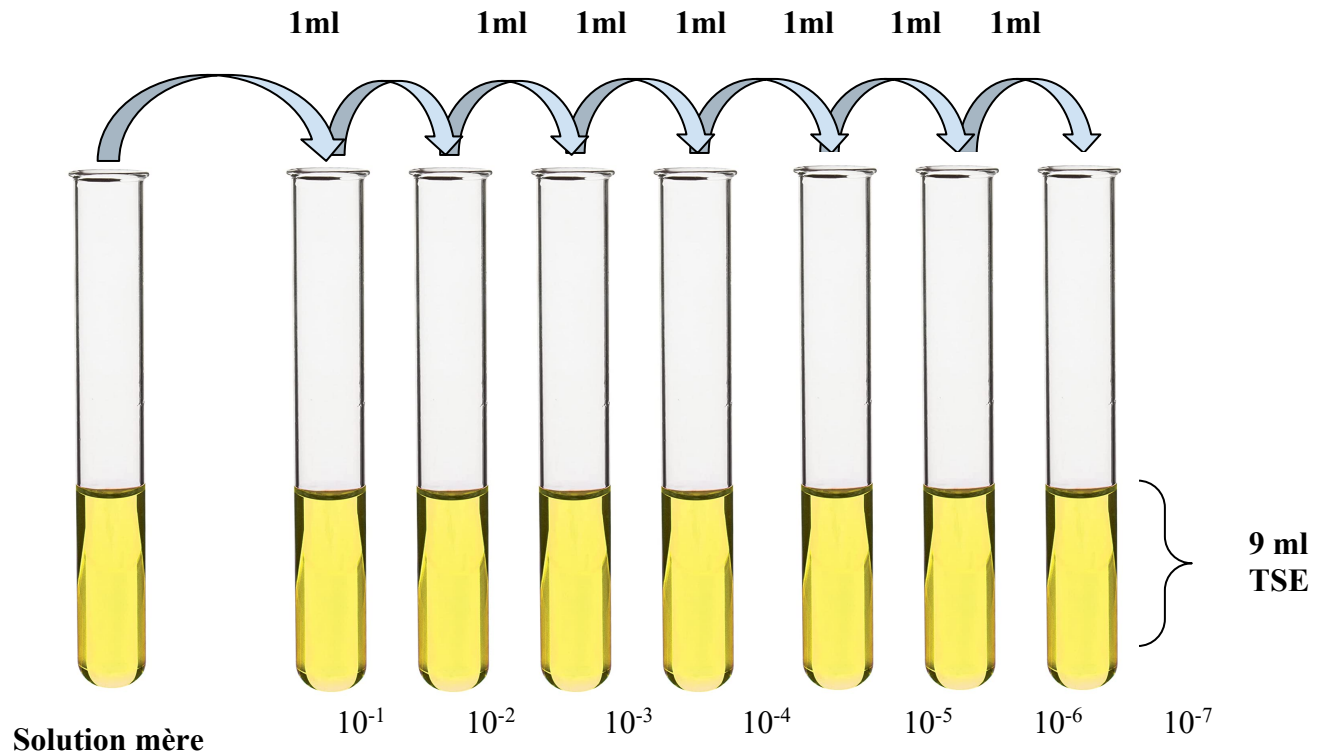


Figure 14: Schéma de la dilution décimale

### 2.2.2. Recherche et dénombrement des *Enterobacteriaceae*

La famille des entérobactéries (*Enterobacteriaceae*) regroupe de nombreuses espèces dont la plupart sont des hôtes commensaux de l'intestin. Elles sont très répandues dans la nature en raison de la contamination de l'environnement par l'intermédiaire des matières fécales animales et des eaux d'égout (Guiraud, 2012).

La recherche consiste à effectuer un ensemencement en masse sur gélose Violet Red Bile Glucose (VRBG). (Figure 15) (Guiraud, 2012).



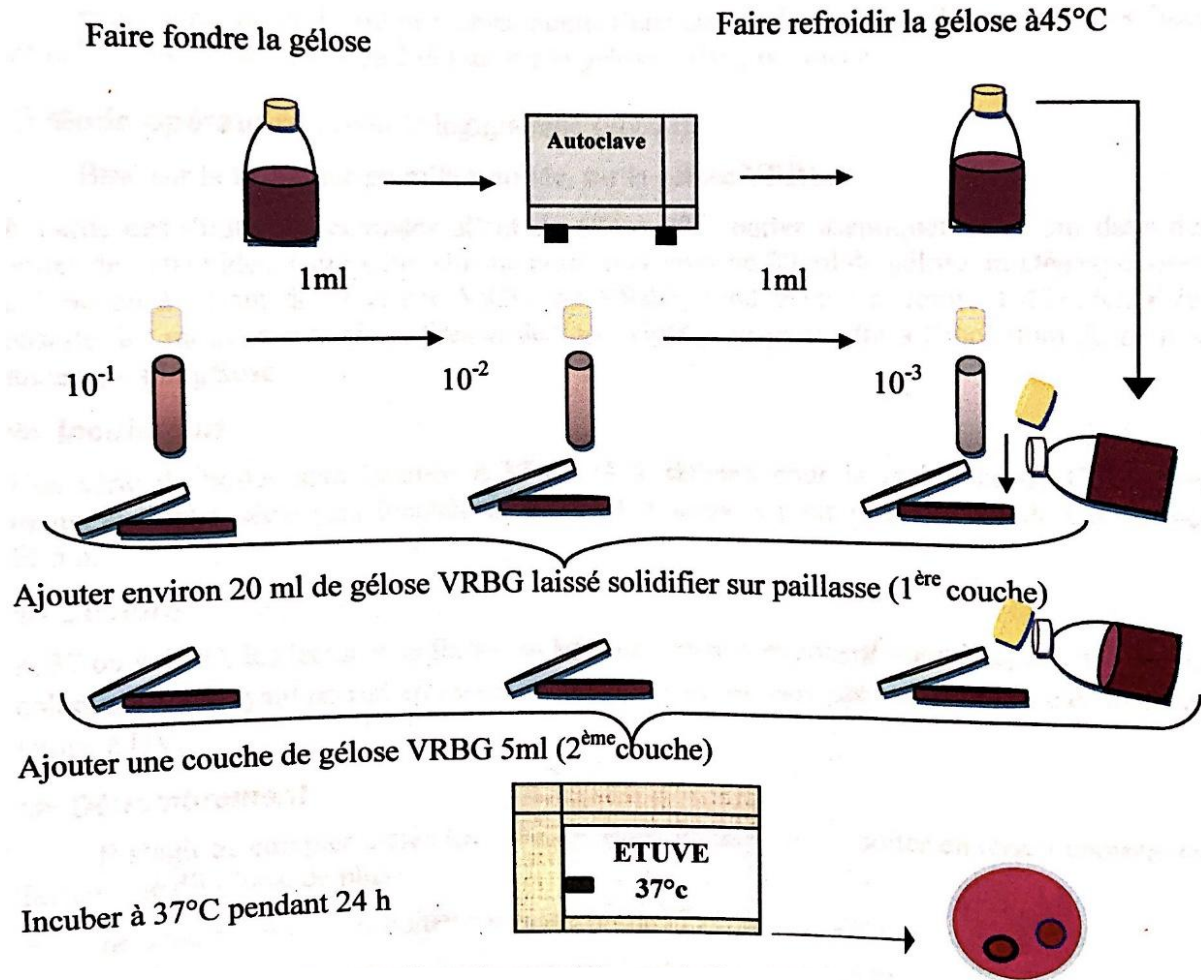


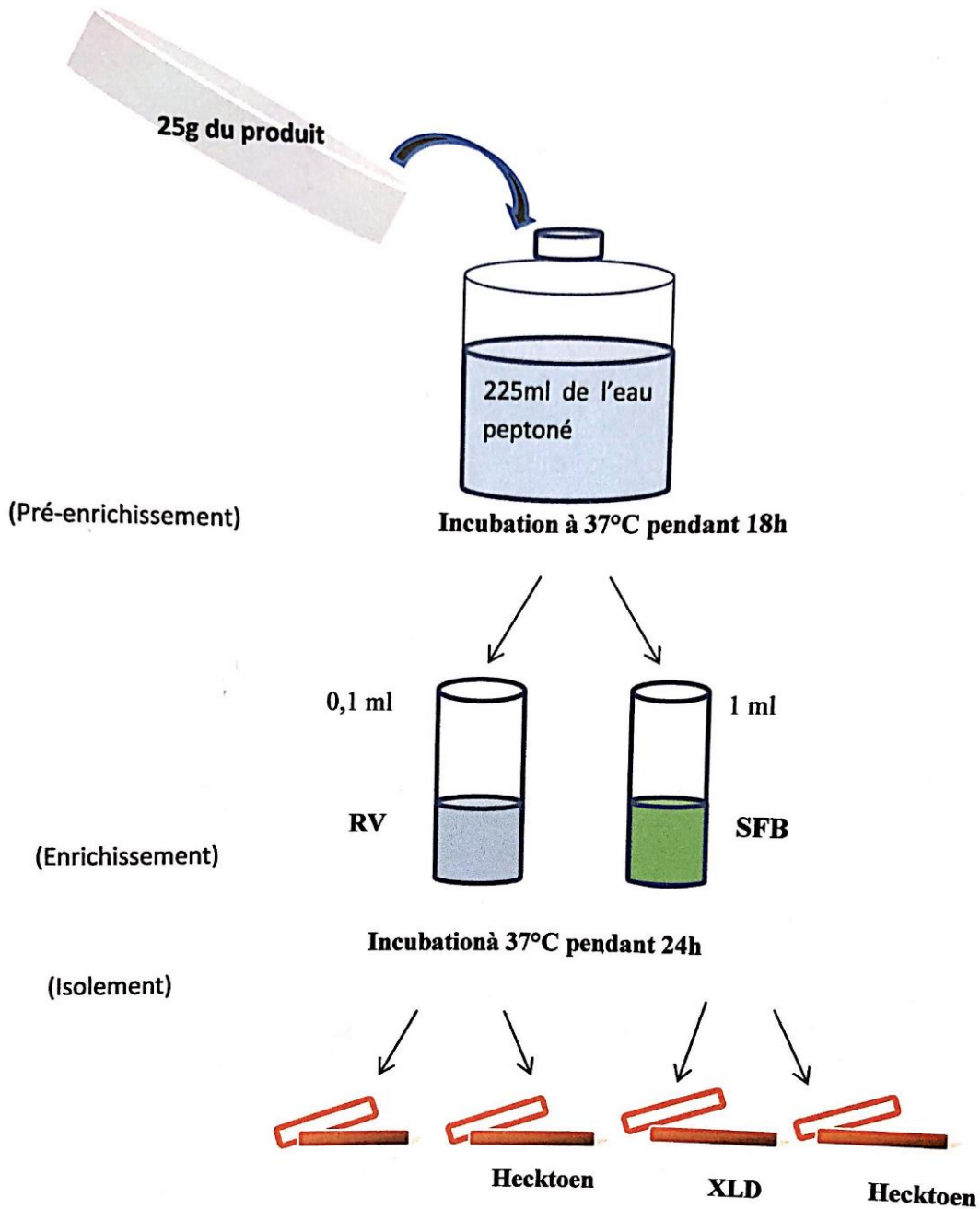
Figure 15: Recherche et dénombrement des entérobactéries.

Les colonies caractéristiques apparaissent de couleur rouge et de forme lenticulaire.

### 2.2.3. Recherche des Salmonelles

Les Salmonelles sont le principal agent de toxi-infection alimentaire collective. Ce sont des bactéries parasites intestinales des vertèbres, agents de salmonelloses (Dromigny, 2011).

Un processus de recherche correspondant à un pré-enrichissement voire un enrichissement, est suivi d'un isolement sur milieu gélosé sélectif (ISO 6579-1:2017) (Figure 16).



**Incubation à 37°C pendant 24h**

**Figure 16:** Recherche et dénombrement des salmonelles.

#### 2.2.4. Recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus*

Cette bactérie appartient à la famille des *Staphylococcaceae*, elle se présente sous forme de Cocci à Gram (+), *Staphylococcus aureus* est une espèce pathogène produit des entérotoxines thermostables responsables de toxi-infections alimentaires (Guiraud,2003).

La recherche repose sur l'emploi de deux milieux de culture : Le milieu de culture Giolitti Cantoni (GC) comme milieu d'enrichissement et le milieu Chapman comme milieu d'isolement ou Baird-Parker (**Guiraud, 2003**).

### ➤ L'enrichissement

Le flacon contenant le milieu de Giolitti Cantoni est ouvert aseptiquement et 15 ml d'une solution de tellurite de potassium est ajouté.

À partir des dilutions décimales, 1 ml par dilution sont portés dans un tube à vis stérile puis une quantité d'environ 15 ml du milieu d'enrichissement Giolitti Cantoni est ajoutée. Les tubes sont incubés à 37°C pendant 24 heures.

- Si le résultat est positif (noircissement des tubes), un isolement sur milieu Chapman est nécessaire.

### ➤ L'isolement

Le milieu Chapman est préalablement fondu, coulé en boîtes de Petri et laissez bien sécher.

En faisant des stries à l'aide d'une pipette pasteur à partir des tubes positifs, la boîte de Petri est incubée à 37°C pendant 24 heures.

Après l'incubation les colonies suspectes sont repérées à savoir les colonies, lisses, brillantes, pigmentées en jaune (**Guiraud, 2003**) (**Figure 17**).

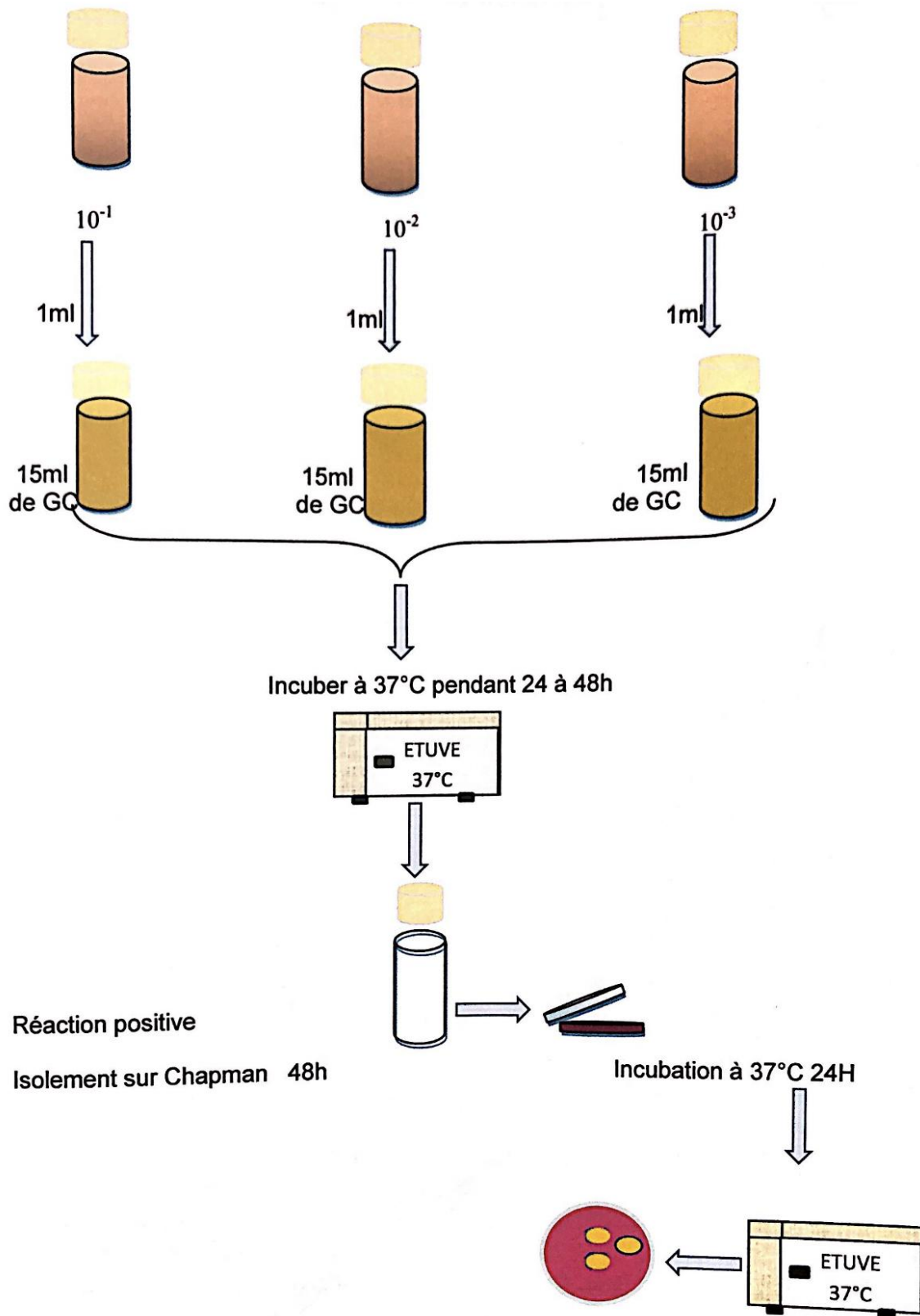


Figure 17 : Recherche et dénombrement des *Staphylococcus aureus*

### 2.2.5. Analyses microbiologiques de Stévia

La Stévia doit avoir une bonne qualité bactériologique. Elle ne doit comporter qu'une minime quantité de bactéries (Germes aérobies, Germes acidifiants, Anaérobies sulfite-réducteurs), levures et moisissures

Les analyses microbiologiques sont effectuées au niveau de laboratoire de microbiologie de l'Institut Pasteur Algérie. Pour assurer la conformité du lot, ces analyses sont opérées selon les méthodes d'analyse ICUMSA et ISO15213 (Tableau 16) selon le Journal Officielle de la République Algérienne N 39 du 02 Juillet 2017 .

**Tableau 16:** Analyses microbiologiques effectuées pour les différents types de sucres, Journal Officielle de la République Algérienne N 39 du 02 Juillet 2017.

Catégories des denrées alimentaires	Microorganismes/ métabolites	Plan d'échantillonnage		Limites microbiologiques (ufc (1)/g ou ufc/ml)	
		n	c	m	M
Sucres	Germes aérobies a 30°C	5	2	20	2.10 <sup>2</sup>
	Anaérobies sulfite-réducteurs	5	2	1	10
	Levures et moisissures	5	2	1	10
	Germes acidifiants	5	2	5	50

**n** = nombre d'unités dont se compose l'échantillon ; **m** = seuil limite en dessous duquel tous les résultats sont considérés comme satisfaisants ; **M** = seuil limite d'acceptabilité au-delà duquel les résultats ne sont plus considérés comme satisfaisants ; **c** = nombre d'unités d'échantillonnage donnant des valeurs comprises entre m et M.

#### 2.2.5.1. Technique d'ensemencement en masse

##### Principe

Un ensemencement en masse est le plus souvent réalisé afin de dénombrer des microorganismes. Un volume de 1 ml d'inoculum est dispersé dans le fond d'une boîte de Pétri, et le milieu de culture est ensuite coulé par-dessus. Les microorganismes se développent dans la masse du milieu gélosé, on obtient donc des Unités Formant Colonies (U.F.C.) (**Proc. 27th Session ICUMSA, 2010, 168**).

Le calcul du nombre N de micro-organismes par gramme de produit est obtenu à l'aide de

l'équation suivante : 
$$\frac{\sum c}{(n_1 + 0.1n_2) \times d} \text{ UFC / g}$$

$\sum C$ : somme des colonies comptées sur les boîtes retenues

d : taux de dilution correspondant à la première dilution

n1 : nombre des boîtes de Pétri comptées pour la première dilution

n2 : nombre des boîtes de Pétri comptées

### Préparation des échantillons

25g de chaque échantillon de Stévia blanche (raffinée) et de Stévia vert (brute) ont été prélevés et dilués dans 225ml de l'eau peptonée. Cette étape permet d'obtenir des échantillons représentatifs pour les tests ultérieurs.

### Préparation des dilutions décimales

Les deux échantillons dilués ont été soumis à des dilutions décimales (**Figure14**), ce qui signifie qu'une quantité spécifique de chaque échantillon a été mélangée avec un volume spécifique d'eau peptonée. Les dilutions décimales permettent de réduire la concentration initiale des échantillons et de faciliter le dénombrement des colonies.

#### a. Recherche et dénombrement des levures et moisissures

##### Les levures

On appelle levure les champignons microscopiques de type unicellulaire, hétérotrophes, qui selon les espèces, ont un métabolisme exclusivement oxydatif ou mixte (oxydatif et fermentaire) elles sont en général acidophiles et mésophiles, et se multiplient à des pH 3 et 7,5 et à des températures optimales voisines de 25-28 °C (**GUIRAAUD, 2003**). Selon **MEYER (2006)** les levures se multiplient à l'intérieur du produit et provoquent la fermentation d'alcool ou d'acide dans les solutions sucrées.

##### Les moisissures

Les moisissures sont omniprésentes dans la nature, les plus répandus sont le penicillium et aspergillus. Elles sont aérobies strictes et exemptes de chlorophylle. Elles sont hétérotrophes et peu exigeantes, la majorité des espèces se développe dans des zones de pH assez large (entre 3 et 8) et des températures optimales de l'ordre de 20 à 25 °C (**FLORENT, 1993**).

Selon **MEYER (2006)** les moisissures, qui se développent à la surface des aliments en présence de l'oxygène, comme une sorte de mousse répartie en taches veloutées ou en poches déliquescente.

Les étapes de recherche et de dénombrement des levures et des moisissures sont :

**Ensemencement des échantillons :** Pour chaque dilution, 1 ml a été prélevé et transféré sur des boîtes de Petri contenant de l'agar de Sabouraud. L'agar de Sabouraud est un milieu de culture spécifique pour les levures et les moisissures, qui fournit les nutriments nécessaires à leur croissance.

**Ensemencement par étalage :** L'ensemencement des échantillons a été réalisé en utilisant la technique d'ensemencement par étalage. Cela implique l'utilisation d'une baguette d'ensemencement pour répartir uniformément l'échantillon sur la surface de l'agar de Sabouraud dans les boîtes de Petri.

**Incubation :** Les boîtes de Petri ont été placées dans une étagère à une température ambiante de 25 °C pour favoriser la croissance des levures et des moisissures. L'incubation permet aux colonies de se développer et de devenir visibles.

### **b. Recherche et dénombrement des germes totaux**

#### **- Les germes totaux**

La flore totale est constituée d'un ensemble de microorganismes variés correspondant à des germes banaux de contamination. Ces germes n'agissent pas sur l'aliment.

Ces micro-organismes se développent bien sur milieu ordinaire. On a les germes saprophytes, qui se développent à 22 °C au bout de 48 heures, et les germes dits pathogènes qui se multiplient à 37 °C au bout de 24 heures. Le nombre de germes totaux pourront donner une indication de l'état de fraîcheur ou de décomposition (altération) du produit (**GUIRAUD et ROSEC ,2004**).

La recherche de la flore mésophile totale est effectuée sur gélose Plate Count Agar (PCA):

**Ensemencement des échantillons :** Pour chaque dilution, 1 ml a été prélevé et transféré sur des boîtes de Petri, ensuite on a ajouté le milieu de culture PCA, et puis on a homogénéisé les boîtes et laisser se solidifier.

**Incubation :** Les boîtes de Petri ont été placées dans une étuve de 55 °C pour favoriser la croissance des germes totaux. L'incubation permet aux colonies de se développer et de devenir visibles.

### **C. Recherche et dénombrement des germes acidifiants**

**Ensemencement des échantillons :** Pour chaque dilution, 1 ml a été prélevé et transféré sur des boîtes de Petri, ensuite on a ajouté le milieu de culture MCL (Mac Kleisky), et puis on a homogénéisé les boîtes et laisser se solidifier.

**Incubation :** Les boîtes de Petri ont été placées dans une étuve de 44 °C pour favoriser la croissance des germes. L'incubation permet aux colonies de se développer et de devenir visibles.

### **D. Recherche et dénombrement des *Clostridium sulfito- réducteurs***

Ce sont des bacilles Gram +, anaérobies strictes, catalase (-), sporulés, mobiles, ils sont en général mésophiles et supportent des variations assez importantes de pH et de température.

Les *Clostridium sulfito-réducteurs* sont dénombrés sur le milieu de culture Viande Foie (VF) agar en tube pour favoriser les conditions d'anaérobiose selon le protocole suivant :

8 tubes stériles ont été préparés initialement. Ensuite, 1 ml de la solution mère de Stévia verte (brute) a été ajouté dans 2 tubes consécutifs, de même pour la Stévia blanche (raffinée). Ensuite, 1 ml de Stévia verte (brute) et Stévia blanche (raffinée) diluée à  $10^{-1}$  a été ajouté dans 4 tubes consécutifs (2 pour la stévia cristallisée (raffinée) et 2 pour la stévia vert (brute)). Les 8 tubes ont été placés dans un bain-marie pendant 10 minutes. Ensuite, un choc thermique a été réalisé pour arrêter l'activité des bactéries. En effet, les tubes ont été remplis avec du VF. Enfin, les tubes ont été incubés dans une étuve à 37°C pendant 48 heures.

Et pour approfondir notre recherche, nous avons utilisé la méthode d'analyse microbienne de filtration sur membrane, qui est plus fiable que la dernière.

#### **2.2.5.2. Filtration sur membrane**

##### **Principe**

Les bactéries présentes dans l'échantillon à analyser sont retenues sur un filtre à travers des membranes stériles dont les pores sont inférieurs à la taille des bactéries. Le filtre qui a retenu les bactéries, est ensuite déposé sur un milieu de culture approprié où les bactéries puisent les éléments nécessaires à sa croissance et se développent. Après incubation, les UFC (unités formants colonies) sont comptées pour évaluer la qualité microbiologique de sucre. Selon le milieu de culture où est déposé le filtre, on met en évidence la présence de différents types de microorganismes ( **tableau 17**).



Le calcul du nombre N de micro-organismes par 10 g de produit est obtenu à l'aide de

l'équation suivante : 
$$N = \frac{\sum c}{n} \text{ UFC / 10 g}$$

$\sum C$ : somme des colonies comptées sur les boîtes retenues

n : nombre des boîtes de Pétri comptée

**Tableau 17** : Microorganismes recherchés, volume filtré, milieu de culture utilisé et normes d'analyses.

Microorganisme Recherchés	Volume d'eau filtré	Milieu de culture	Incubation	Normes UFC/10g	Méthode d'essai
Levures et moisissures (LM)	100	SAB	30 °C / 48h	200	ICUMSA.GS2/3-41 : 2011
Germes aérobies (GA)	100	PCA	25 °C / 72h	10	ICUMSA.GS2/3-47 : 1998
Germes acidifiants (GAC)	100	MCL	30°C / 48h	50	ICUMSA.GS2/3-45 : 2002
Clostridium sulfito-Réducteurs	10	VF	30°C / 48h	10	ISO 15213

PCA : Plate Count Agar ; SAB: Sabouraud ; MCL: Mac Kleisky ; VF: Viande Foie.

### Préparation de la solution mère

En travaillant dans des conditions aseptiques, peser 40g du Stévia blanche (raffinée) dans un flacon stérile préalablement taré, ajouter de l'eau distillée stérile jusqu'à atteindre les 400g (360ml d'eau distillée), agiter avec soin pour Stévia blanche (raffinée).

**NB** : La même chose pour la Stévia verte (brute).

### But

La technique d'analyse par filtration sur membrane a pour le but de concentrer les micro-organismes présents dans un grand volume de liquide.

### Mode opératoire pour la recherche des germes totaux (milieu PCA), acidifiants (milieu MCL), Levures et Moisissures (milieu SAB) et les Clostridium sulfito-Réducteurs

- Déposer délicatement à la pince désinfectée à l'éthanol, le filtre quadrillage du filtre vers le haut et bien centrée sur la plaque-support ;
- Dans des conditions aseptiques, filtrer 100 ml d'échantillon à analyser à travers une membrane ( $\Phi = 0,45\mu\text{m}$ ) qui retient les microorganismes présentes dans l'échantillon ;
- A l'aide d'une pince stérile, déposer les membranes à la surface des milieux préparés spécifiques pour chaque germe (SAB pour les LM, PCA pour les GA, MLC pour les

GAC) en veillant à ne pas former de bulle d'air entre la membrane et le milieu.

La membrane doit être déposée face contaminée (quadrillée) vers le haut ;

- Incubation des boîtes à des températures et à des temps spécifiques pour chaque germe (30°C /72h pour LM, 30°C/48h pour les GA, 44°C/48h pour les GAC).
- Le dénombrement des bactéries sulfito-réductrices est effectué sur le milieu de culture

Viande Foie (VF) agar en tube pour favoriser les conditions d'anaérobioses selon le protocole suivant :

Ensemencer aseptiquement environ 10 ml de l'échantillon à analyser en profondeur des tubes stériles. Introduire dans les tubes contenant la suspension le milieu de culture Vf en surfusion ( $\pm 45^{\circ}\text{C}$ ). Homogénéiser les tubes et laisser se solidifier. Créer l'anaérobiose par l'ajout d'une couche fine de gélose Viande Foie (VF);

- Incuber les boîtes et les tubes à des températures et à des temps spécifiques pour chaque germe (tableau 17).

### 2.3. Analyses physico-chimiques

#### 2.3.1 Lait cru

Pour pouvoir collecter le lait amené par les éleveurs, il faut effectuer des analyses physico-chimiques pour accepter ou refuser le lait.

##### 2.3.1.1 Détermination de la densité

Il faut remplir l'éprouvette de lait de manière que le lait déborde légèrement, plonger le thermo-lactodensimètre et laisser stabiliser, prendre la température du lait dans l'éprouvette et noter la densité lue. On corrige la densité par rapport à la température à savoir:

Si:  $T^{\circ}\text{lue} < 20^{\circ}\text{D} = \text{D lue} - 0.2 (20 - T^{\circ}\text{lue})$

Si:  $T^{\circ}\text{lue} > 20^{\circ}\text{D} = \text{D lue} + 0.2(T^{\circ}\text{lue} - 20)$

0.2 est le coefficient de correction

##### 2.3.1.2 Mesure du pH

Le pH par définition est la mesure de l'activité des ions  $\text{H}^+$  contenus dans une solution. La mesure du pH, renseigne sur l'acidité du lait. Ce dernier est considéré frais si son pH est compris entre 6,4 et 6,8.

### 2.3.1.3 Détermination de la matière grasse du lait

Le principe de cette méthode est basé sur la dissolution de la matière grasse à doser par l'acide sulfurique. Sous l'influence d'une force centrifuge et grâce à l'adjonction d'une faible quantité d'alcool isoamylique, la matière grasse se sépare en couche claire dont les graduations du butyromètre révèlent le taux **(ISO 488:2008)**.

Un volume de 10 ml d'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) est introduit dans le butyromètre de GERBER puis à l'aide d'une pipette 11 ml de l'échantillon sont ajoutés en s'écoulant à travers les parois pour éviter le mélange prématuré du lait avec l'acide, en ajoutant 1 ml d'alcool isoamylique par la suite. Le butyromètre est fermé à l'aide

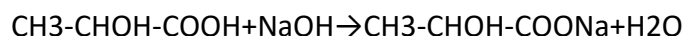


d'un bouchon puis mélanger jusqu'à la dissolution totale du mélange. À la fin, il sera centrifugé pendant 5 minutes à 1200 tours/min.

Le résultat est exprimé en g/l et la lecture se fait directement sur le butyromètre.

### 2.3.1.4 Détermination de l'acidité

Elle est basée sur le titrage de l'acide lactique par la soude (NaOH) 1/9N en présence de la phénolphthaléine (1%), comme indicateur coloré, qui indique la limite de la neutralisation par changement de couleur (rose pâle), selon la réaction suivante:



Cette acidité est exprimée en degré Dornic (°D) où: 1°D représente 0,1 g d'acide lactique dans un litre de lait **(AFNOR, 1986)**.

Un volume de 10 ml de l'échantillon est préparé dans un bêcher de 100 ml, ensuite 0,3 ml de solution de phénolphthaléine à 1% est ajouté. La solution est titrée avec la soude (NaOH) 1/9 jusqu'au virage de couleur vers le rose qui doit persister pendant une dizaine de secondes.

Expression des résultats :

-L'acidité est exprimée en degré Dornic (°D) et donnée par la formule suivante :

$$A = V \times 10$$

V: volume en ml de solution d'hydroxyde de sodium (soude Dornic).

### 2.3.1.5 Test d'antibiotiques

La recherche d'antibiotiques se fait par un appareil «beta star 25 » avec l'utilisation des bandelettes de 8 à 9 cm. Ce test permet de détecter la présence ou l'absence d'antibiotiques dans le lait cru.



-L'appareil est allumé. Les tubes Eppendorfs sont placés à leur place, une quantité de 100 ml de lait cru prélevé avec la micropipette est ajoutée à l'intérieur de ces tubes. Pour une incubation de 3 min.

Expression des résultats:

- Le test est positif s'il y a l'apparition d'un seul trait.
- Le test est négatif s'il y a l'apparition de deux traits.

### 2.3.1.6 Détermination de l'extrait sec total du lait

L'extrait sec est la masse restante après une dessiccation complète basée sur l'évaporation de l'eau d'un certain volume donné du lait.



Du papier buvard est posé dans une capsule bien séché et peser. Ensuite, 10 ml de lait sont ajoutés puis mis dans la capsule ainsi dans une micro-onde pendant 10 mn. A la fin la capsule ressortit de micro-onde est à nouveau pesée.

$$\frac{M_0 - M}{E} \times 1000$$

Mo: Poids de la capsule vide; M:Poids de la capsule après la dessiccation; E:Prise d'échantillon Le résultat est exprimé en g/l (ALAIS, 1984)

### 2.3.1.7 Détermination de l'extrait sec dégraissé

La matière sèche dégraissée est obtenue par différence entre la matière sèche totale et la matière grasse. Les laits normaux contiennent habituellement de 90 à 95 g de matière sèche non grasse (ALAIS, 1984).

$$ESD=EST-MG$$

ESD: extrait sec dégraissé.

EST: extrait sec total.

MG: matière grasse.

## 2.4. Caractérisation physico-chimique du Stévia

### 2.4.1. Identification des stévioides par Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC)

#### Principe

C'est une méthode séparative qui permet l'identification et le dosage des différents composés d'un mélange.

Le principe est basé sur les différences d'affinité des composés du mélange avec la phase stationnaire et la phase mobile (Kazakevich et Mc Nair, 1996).

Le chromatogramme traduit la variation du soluté dans l'éluant en fonction du temps.

- Pour confirmer les constatations déjà faites en utilisant la spectroscopie infrarouge, nous avons utilisé la Chromatographie liquide à haute performance, nous avons comparé les temps de rétentions des composés élues dans le Chromatogramme de l'extrait à ceux des différents étalons.

L'extrait méthanoïque purifié et concentré est analysé par HPLC, le protocole sera le suivant:

#### ➤ Phase mobile

Tampon phosphate de sodium monobasique ( $\text{NaH}_2\text{PO}_2$ ) a 0,01 M ajuste à pH 2,7 par l'acide phosphorique / Acetonitrile grade HPLC (68/32) (V/V)

#### ➤ Solution standard

Étalon stévioides dans le méthanol grade HPLC

#### Solution échantillon

Extrait méthanoïque purifié et concentré.

#### Conditions chromatographiques

Colonne: C18 (25cm x 4,6mm, 5  $\mu\text{m}$ )

Longueur d'onde: 210 nm

Débit: 1 ml/ml.

### 2.5. Yaourt

Les mêmes protocoles utilisés pour les analyses physico-chimiques du lait sont adoptés pour déterminer : l'extrait sec totale, le pH, l'acidité titrable, et la teneur en matière grasse du yaourt .

Selon le Journal Officiel De La République Algérienne N° 74:

Les paramètres du yaourt sont:

- Avant maturation:
  - Acidité: 14-18°D
  - Densité: 1045
  - Matière grasse: 15 g/l
  - ESD: 82 g/l Min
- Après maturation:
  - Acidité: 70°D
  - pH: 4.6/4.5

#### 2.5.1 Différents essais de formulation du yaourt

- **La préparation du yaourt**

La préparation du yaourt a été réalisée au niveau de l'unité COLAITAL, en respectant le diagramme de fabrication d'un yaourt nature étuvé (Figure 10), aucun additif ou arôme ont été ajoutés à la préparation. Pour la préparation du yaourt, (Tableau 18) un litre de lait de vache partiellement écrémé 15% MG sera mélangé et homogénéisé. Une quantité de 1,5 g de Stévia dans un litre de lait sera ajoutée. Ensuite, on a passé à la pasteurisation, dans une casserole, on a mis du lait partiellement écrémé, jusqu'à 85°C pendant 10s, puis on a refroidi le lait jusqu'à 45°C, afin d'ajouter les ferments lactiques thermophiles. A la fin du mélange, on a rempli les pots stériles. Puis, on a transformé les pots dans une étuve de 45°C pour la fermentation pendant 2h30. Enfin, après la fermentation et les analyses physico-chimiques après la maturation (acidité, pH), on a mis les pots dans un réfrigérateur à 8°C.

**Tableau 18:** Les différents essais de formulation du yaourt à base de Stévia verte (brute) et Stévia blanche (raffinée) .

Essais	Quantité	Ingrédients
1 <sup>er</sup> essai	3 pots	(Pour 1 g de Stévia par 1 Litre de lait) 0,33 litre de lait partiellement écrémé, 0,33 g de Stévia blanche (raffinée), 0,33 g de ferments lactiques thermophiles.
	3 pots	(Pour 1,5 g de Stévia par 1 Litre de lait) 0,33 litre de lait partiellement écrémé, 0,5 g de Stévia blanche (raffinée), 0,33 g de ferments lactiques thermophiles.
	3 pots	(Pour 2 g de Stévia par 1 Litre de lait) 0,33 litre de lait partiellement écrémé, 0,66 g de Stévia blanche (raffinée), 0,33 g de ferments lactiques thermophiles.
2 <sup>eme</sup> essai	9 pots	1 litre de lait partiellement écrémé, 1,5 g de Stévia blanche (raffinée), 1 g de ferments lactiques thermophiles.
3 <sup>eme</sup> essai	5 pots	½ litre de lait partiellement écrémé, 0,75 g de Stévia blanche (raffinée) , 0,5 g de ferments lactiques thermophiles.
	5 pots	½ litre de lait partiellement écrémé, 0,75 g de Stévia verte (brute), 0,5 g de ferments lactiques thermophiles.

# **Chapitre III**

## **Résultats et discussion**



**Chapitre III : Résultats et discussion**

Nous avons étudié la qualité microbiologique de notre yaourt nature à base de Stévia fabriqué au sein de l'unité Colaital de Birkhadem ( Figure 18) ; un yaourt de bonne qualité doit satisfaire certains nombres de critères particulièrement en matière de normes microbiologiques.



**Figure 18 :** Yaourt nature à base de Stévia blanche (raffinée) et Stevia verte (brute)

**1. Résultats des analyses microbiologiques de Stévia par la technique d’ensemencement en masse**

**a. Stévia blanche (raffinée)**

Les résultats de l’analyse microbiologique du Stévia blanche (raffinée) sont présents dans le tableau 19.

**Tableau 19 :** Résultat de l’analyse microbiologique du Stévia blanche (raffinée)

Germes recherchés	Résultats		(JORA, 2017)
	10 <sup>+1</sup>	10 <sup>-1</sup>	
<i>Germes aerobies</i>	Absence	Absence	2.10 <sup>2</sup> UFC/ml
<i>Levures</i>	+10	/	10 UFC/ml
<i>Moisisures</i>	15	/	10 UFC/ml
<i>Clostridium sulfito-reducteurs</i>	Absence	Absence	10 UFC/ml
<i>Germes acidifiants</i>	Absence	Absence	50 UFC/ml

Dans notre étude, nous avons réalisé des dilutions du Stévia blanche (raffinée) ( $10^{+1}$  et  $10^{-1}$ ) pour évaluer la présence de différents germes. Les résultats ont montré une absence de germes aérobies et germes acidifiants (Figure 24) dans les deux dilutions, ce qui indique l'absence de ces microorganismes spécifiques.

Nous avons également trouvé une concentration de +10 UFC/ml de levures dans la solution mère, ce qui signifie la présence de 10 unités formant colonies (UFC) de levures par millilitre. Les levures sont des microorganismes unicellulaires couramment présents dans les aliments.

En ce qui concerne les moisissures, nous avons observé une concentration de 15 UFC/ml dans la solution mère du Stévia blanche (raffinée) (Figure 20). Les moisissures sont des champignons multicellulaires qui se développent dans des conditions favorables et certaines espèces peuvent produire des toxines potentiellement dangereuses.

En revanche, les *Clostridium sulfito-réducteurs* étaient absents dans les deux dilutions. Ces bactéries ont la capacité de réduire les sulfites en sulfures et leur présence peut être préoccupante en termes de sécurité alimentaire.

#### b. Stévia verte (brute)

Les résultats de l'analyse microbiologique du Stévia verte (brute) sont représentés dans le tableau 20.

**Tableau 20** : Résultats de l'analyse microbiologique du Stévia verte (brute)

Germes recherchés	Résultats		(JORA, 2017)
	$10^{+1}$	$10^{-1}$	
<i>Germes totaux</i>	Absence	Absence	$2 \cdot 10^2$ UFC/ml
<i>Levures</i>	0	/	10 UFC/ml
<i>Moisissures</i>	20	/	10 UFC/ml
<i>Clostridium sulfito-réducteurs</i>	30	0	10 UFC/ml
<i>Germes acidifiants</i>	Absence	Absence	50 UFC/ml

Dans notre étude, nous avons effectué deux types de dilution, soit  $10^{+1}$  (solution mère) et  $10^{-1}$  afin d'analyser la présence de différents germes. Nous avons observé une absence de germes aérobies et germes acidifiants (figure 23) dans les deux dilutions, ce qui suggère que la Stévia verte (brute) ne contient pas ces microorganismes spécifiques.

En ce qui concerne les levures, nous avons obtenu un résultat de 0 UFC/ml dans la solution mère. Cela indique une absence totale de levures dans cette solution. Les levures sont des microorganismes unicellulaires couramment présents dans les aliments, et l'absence de levures dans le Stévia verte est un bon signe en termes de qualité microbiologique.

Nous avons également relevé une concentration de 20 UFC/ml de moisissures dans la solution mère du Stévia verte (Figure 21). Les moisissures sont des champignons multicellulaires qui peuvent se développer dans des conditions favorables, telles que l'humidité et la chaleur. Bien que la présence de moisissures ne soit pas idéale, la concentration de 20 UFC/ml peut être considérée comme relativement faible et pourrait être prise en compte lors de l'évaluation de la qualité du Stévia verte (brute).

En ce qui concerne les *Clostridium sulfito-réducteurs*, nous avons constaté une concentration de 30 UFC/ml dans la solution mère (Figure 22), tandis que la deuxième dilution a montré leur absence. Les *Clostridium sulfito-réducteurs* sont un groupe de bactéries qui peuvent être associées à des problèmes de sécurité alimentaire. La présence de ces bactéries à une concentration de 30 UFC/ml dans la solution mère du Stevia verte nécessite une attention particulière. Donc on a fait un analyse bactériologique dans Laboratoire des Bactéries Anaérobies et Botulisme de l'Institut Pasteur, et ils ont détecté la présence de *Clostridium septicum* (Figure 19)

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de la Santé  
Route du petit Staouéli- Dely Ibrahim- Alger  
Institut Pasteur d'Algérie  
N° de Tél : 023.36.75.04/023.36.75.39  
Poste : 155  
Laboratoire des Bactéries Anaérobies et du Botulisme  
RESULTAT D'ANALYSE

Numéro 123/2023

Origine de la Souche : Sucre Stevia  
Numéro Externe : STV (v+1)  
Demandeur : Bactériologie Alimentaire I.P.A  
Prélèvement : Souche à identifier  
Prélèvement fait le : 27/06/2023

Reçu le : 27/06/2023

---

RESULTAT

---

Présence de *Clostridium septicum*

Commentaire/Interprétation

Alger le 06/07/2023  
Le chef de laboratoire  
Institut Pasteur d'Algérie  
Dr. BOUCHAÏH Djehida  
Pharmacien Microbiologiste  
Compétence : Laboratoire des  
Bactéries Anaérobies et du Botulisme

Figure 19 : Résultat de l'analyse bactériologique des *Clostridium sulfito-réducteurs* de la stévia verte



**Figure 20:** Résultats d'analyse microbiologique des Levures et moisissures de la Stévia blanche



**Figure 21:** Résultats d'analyse microbiologique des Levures et moisissures de la Stévia verte



**Figure 22:** Résultats d'analyse microbiologique des Clostridium sulfite-réducteurs de la Stevia verte ( $10^{+1}$ )



Figure 23: Résultats d'analyse microbiologique des Germes acidifiants de la Stevia verte (brute)



Figure 24: Résultats d'analyse microbiologique des Germes acidifiants de la Stévia blanche (raffinée)

## 2. Résultats des analyses microbiologiques de Stévia par la technique de filtration sur membrane

Les résultats de l'analyse microbiologique du Stévia verte (brute) sont représentés dans le tableau 21.

**Tableau 21** : Résultats de l'analyse microbiologique du Stévia verte (brute) et Stévia blanche (raffinée)

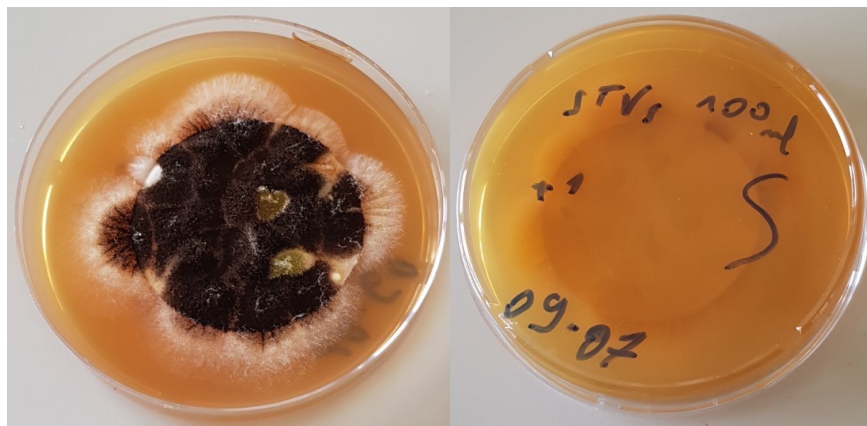
Germes recherchés	Résultats
<i>Germes totaux</i>	Présence
<i>Levures et Moisissures</i>	Présence
<i>Germes acidifiants</i>	Présence

Les résultats des analyses microbiologiques de la stevia verte et de la Stévia blanche (raffinée) par la technique de filtration par membrane ont révélé que toutes les bactéries recherchées étaient présentes, que ce soient les germes totaux (Figure 29,33), les germes acidifiants (Figure 31,34), les levures et les moisissures (Figure 30,32). Cette constatation soulève des préoccupations quant à la sécurité microbiologique des échantillons de stevia étudiés.

La présence de germes totaux indique une contamination générale par des micro-organismes présents dans l'environnement. Les germes acidifiants sont des bactéries qui peuvent produire des acides et contribuer à l'acidification des produits alimentaires. Leur présence peut être un indicateur de la détérioration ou de la fermentation des échantillons. Les levures et les moisissures, quant à elles, sont des micro-organismes fongiques qui peuvent provoquer des altérations visuelles, gustatives et odorantes des produits alimentaires.



**Figure 25 :** Résultats d'analyse microbiologique des *Germes totaux* de la Stevia blanche (raffinée)



**Figure 26 :** Résultats d'analyse microbiologique des *Levures et Moisissures* de la Stevia blanche (raffinée)

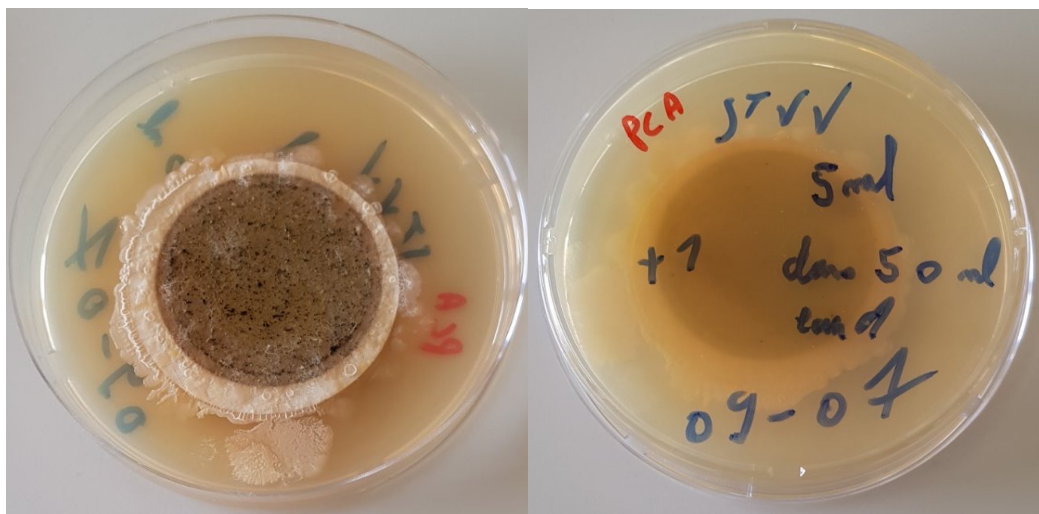


**Figure 27 :** Résultats d'analyse microbiologique des *Germes acidifiants* de la Stevia blanche (raffinée)

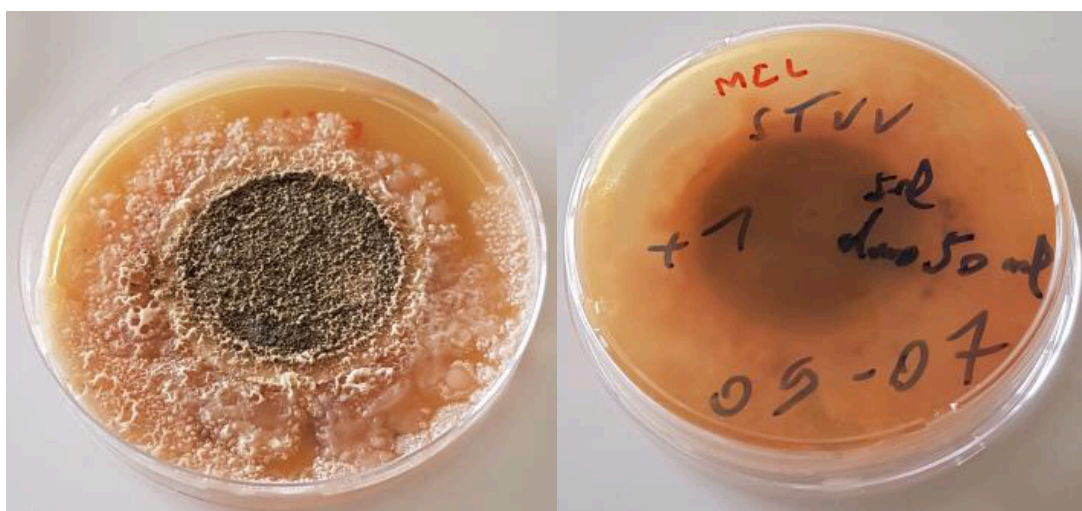




**Figure 28** : Résultats d'analyse microbiologique des *Levures et Moisissures* de la Stevia verte (brute)



**Figure 29** : Résultats d'analyse microbiologique des *Germes totaux* de la Stevia verte (brute)



**Figure 30** : Résultats d'analyse microbiologique des *Germes acidifiants* de la Stevia verte (brute)

### 3. Résultats des analyses microbiologiques de yaourt à base de Stévia blanche et Verte

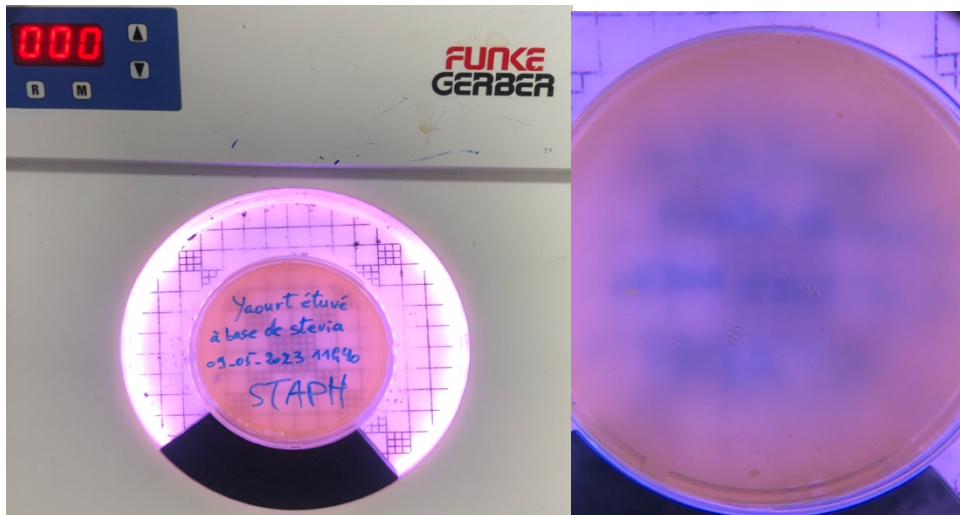
Les résultats de l'analyse microbiologique du yaourt sont représentés dans le tableau 22.

**Tableau 22** : Résultats des analyses microbiologiques du yaourt à base de stévia.

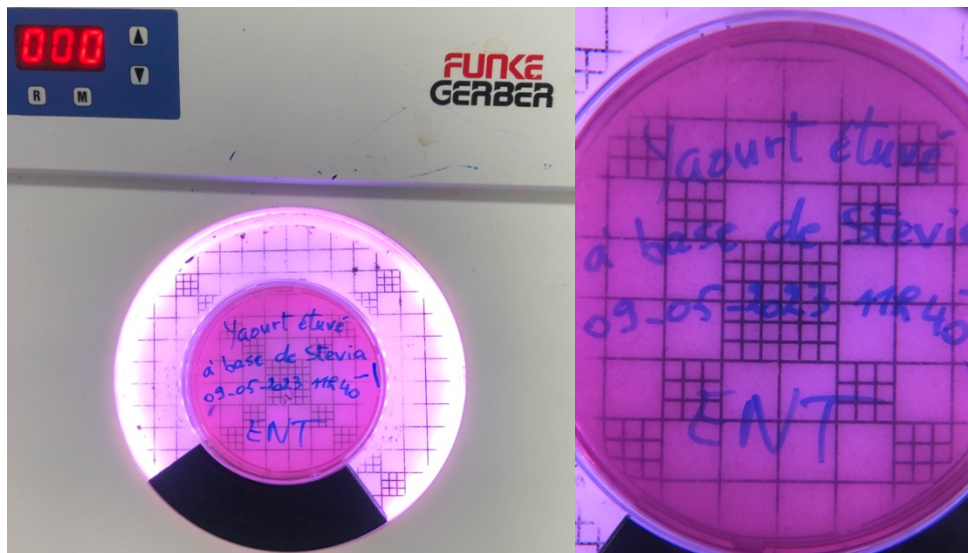
Germes recherchés	Résultats			(JORA, 2017)
	1 <sup>er</sup> essai	2 <sup>ème</sup> essai	3 <sup>ème</sup> essai	
<i>Enterobacteriaceae</i>	Absence	Absence	Absence	100 UFC/ml
<i>Staphylocoques</i>	Absence	Absence	Absence	100 UFC/ml
<i>Salmonelles</i>	Absence	Absence	Absence	Absence dans 25g

On note une absence des *Staphylocoques* (Figure 31,35) ; d'*Enterobacteries* (Figure 32,34) ; et des *Salmonelles* (Figure 33,36), la qualité microbiologique du yaourt fabriqué est conforme aux normes mentionnées par le **JORA (2017)**.

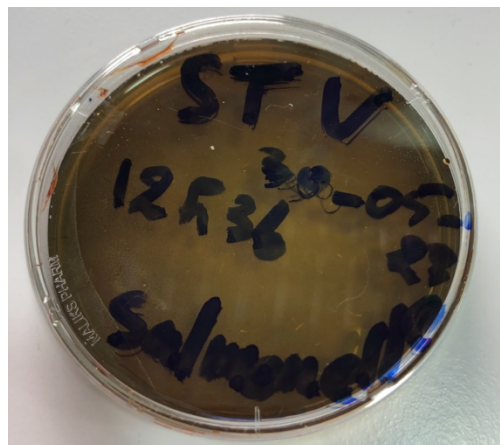
Aucun résultat positif de présence de *Salmonelles*, *Staphylocoque*, et d'*Enterobacteriaceae* n'a été observé tout au long de la chaîne de production pour l'ensemble des échantillons fabriqués; la recherche de ces bactéries s'effectue par l'évaluation de la qualité sanitaire des produits alimentaires, plus particulièrement les produits laitiers, la présence de ces derniers peut provoquer des intoxications alimentaires (**Vingola, 2002**). Selon **Poueme (2006)**, les *Salmonelles* ne résistent pas au pH situé entre 4.6 et 4.8, les *Staphylococcus aureus* sont inhibés par un pH acide (**Guirand, 2003**) dans le cas de yaourt ils peuvent être éliminés lors de la fermentation.



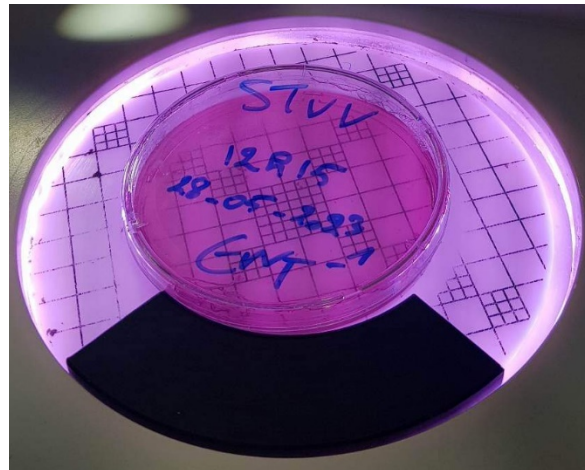
**Figure 31:** Résultats d'analyse microbiologique des *Staphylocoques* de yaourt à base de la Stévia blanche (raffinée)



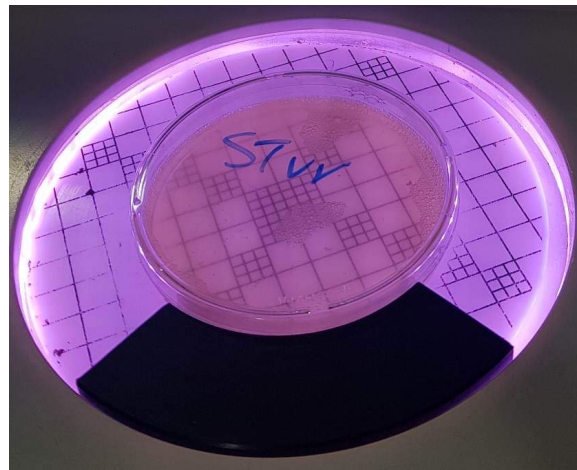
**Figure 32:** Résultats d'analyse microbiologique des *Enterobacterias* de yaourt à base de la Stévia blanche (raffinée)



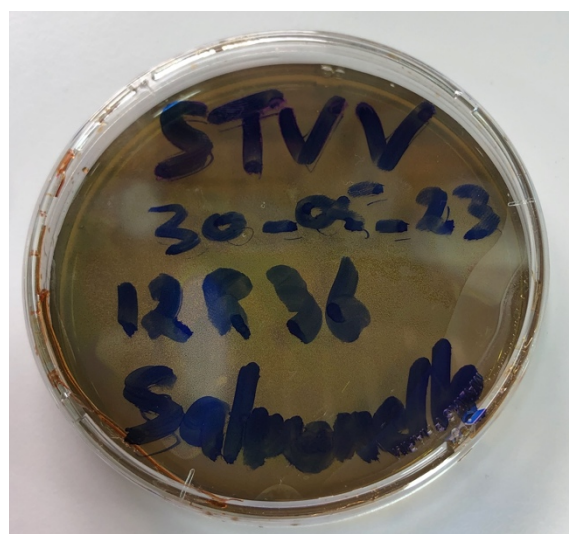
**Figure 33:** Résultats d'analyse microbiologique des *Salmonelles* de yaourt à base de la Stévia blanche (raffinée)



**Figure 34:** Résultats d'analyse microbiologique des *Enterobacterias* de yaourt à base de Stévia Verte (brute)



**Figure 35:** Résultats d'analyse microbiologique des *Staphylococques* de yaourt à base de Stévia Verte (brute)



**Figure 36:** Résultats d'analyse microbiologique des *Salmonelles* de yaourt à base de Stévia Verte (brute)

On peut dire que l'efficacité des techniques de pasteurisation et de nettoyage, ainsi qu'une bonne qualité microbiologique de matières premières et d'une préparation dans des bonnes conditions hygiéniques offrent une meilleure qualité microbiologique à notre yaourt.

#### 4. Résultats de l'identification et du dosage des stévioides par Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC)

Les résultats de l'analyse d'HPLC de l'étalon stévioides sont représentés par la figure 40

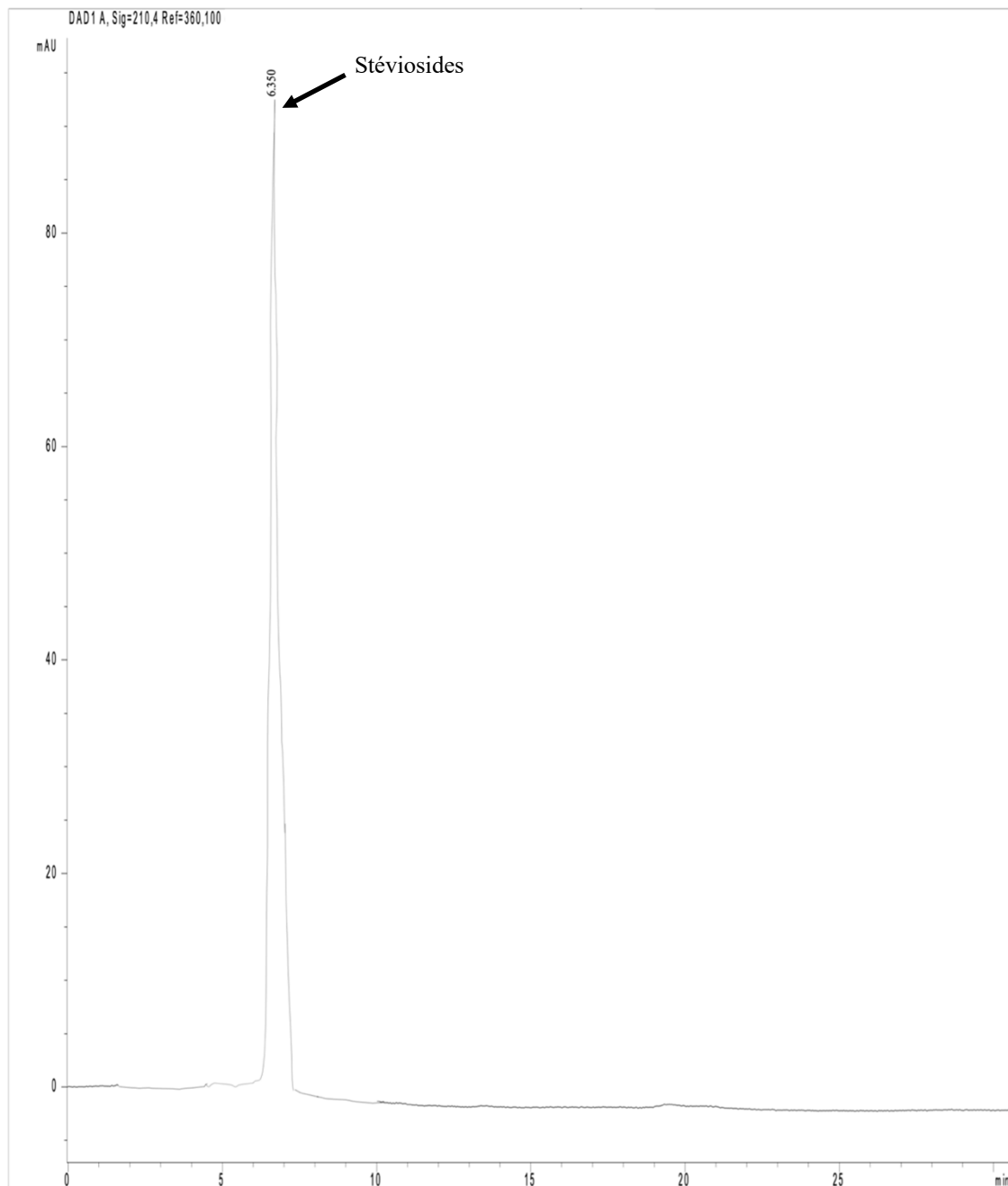


Figure 37: chromatogramme de l'étalon Stévioides

Les résultats de l'analyse d'HPLC de la Stevia verte sont représentés par la figure 41

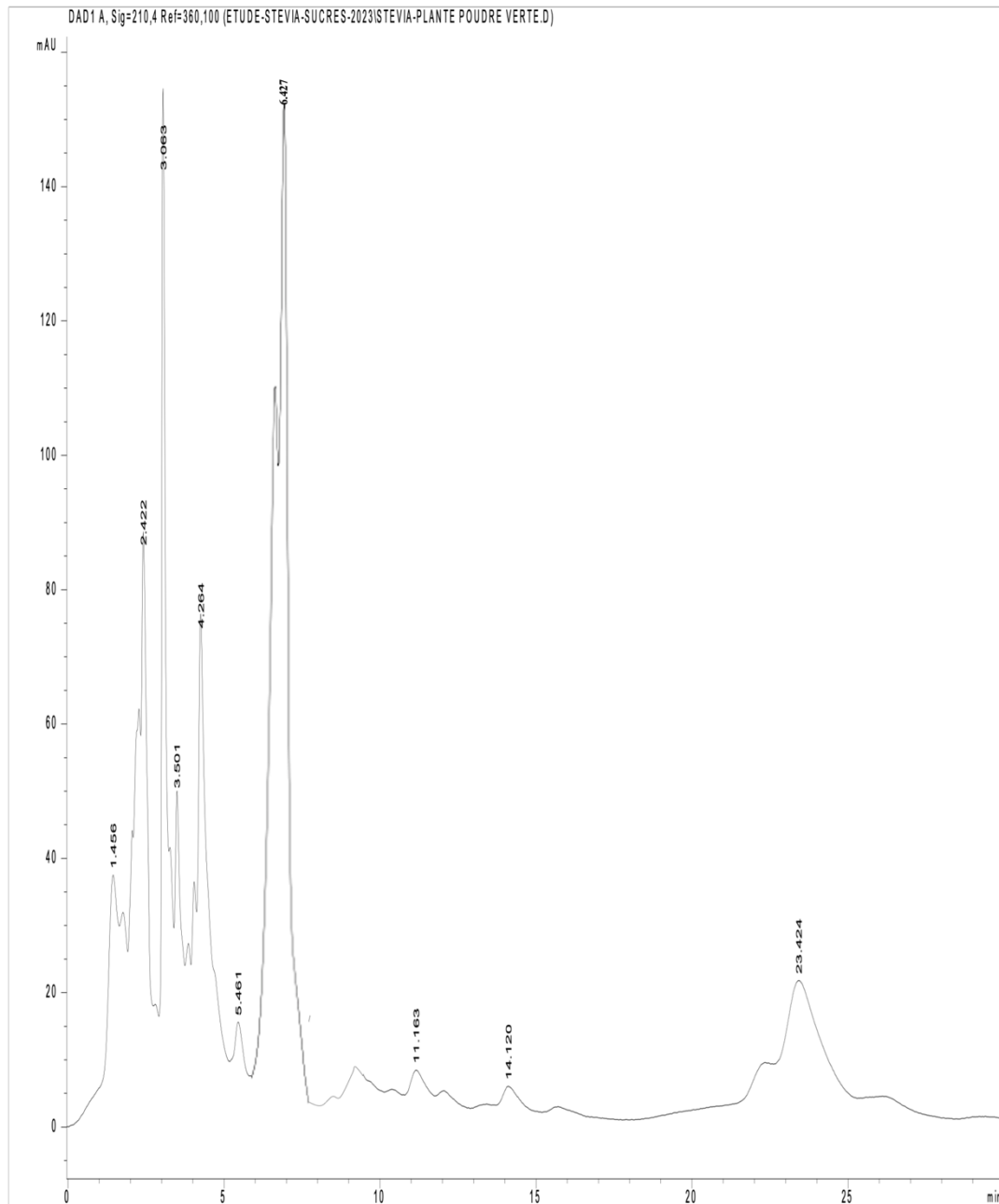


Figure 38: chromatogramme de l'extrait de la Stévia verte

Le chromatogramme relatif à l'extrait de la Stévia verte montre un pic majoritaire à 6.427 min correspondant au stéviol glycoside constituant plus de 60% de la totalité de l'échantillon.

Selon des études réalisées par Asrul Afandi et *al.* (2013), Inmake et *al.* (2010), Ena Gupta et *al.* (2013), à l'état naturel, les feuilles de *Stévia rebaudiana bertonii* contiennent entre 5 et 10 % (w/w) de stéviol glycosides, selon les conditions climatiques, la saison, l'amélioration des conditions culturales, la sélection variétale, permettent aujourd'hui de disposer de cultures dont les feuilles ont des teneurs en stéviols glycosides supérieures à 20% (w/w). Les proportions des quatre principaux stéviols glycosides sont les suivantes :

- Stevioside (5-10%)
- Rebaudioside A (2-4%)
- Rebaudioside C (1-2%)
- Dulcoside A (0,5-1%)

Les résultats de l'analyse d'HPLC de la Stévia blanche (raffinée) sont représentés par la figure 42 :



**Figure 39** : chromatogramme de l'extrait de la Stévia blanche (raffinée)

Le chromatogramme relatif à l'extrait de la Stévia blanche (raffinée) montre un pic majeur à 6.245 minutes correspondant au stevioside, ainsi que d'autres pics plus petits dans le chromatogramme. sachant que dans l'emballage de la stévia cristallisée il est mentionné qu'elle possède 1% de glycosides de stéviol. Donc, on peut donc dire qu'il contient principalement des Stévioides.

Une correspondance remarquable entre les deux chromatogrammes est observée à 6.426 minutes dans le chromatogramme de l'extrait de stévia verte et à 6.245 minutes dans le chromatogramme de la Stévia blanche (raffinée), ce qui correspond aux Stevioides. Cette similitude marquée au niveau des temps de rétention entre les deux



échantillons suggère que les Stévioides sont présents de manière significative dans les deux types de stevia. Cela indique une similarité dans la composition chimique des deux échantillons, ce qui peut être crucial pour évaluer leur activité antioxydante et leurs propriétés édulcorantes.

**5. Résultats des analyses physico-chimique de yaourt à base de Stévia blanche (raffinée) et Stévia Verte (brute)**

Les résultats des analyses physico-chimiques du yaourt produit avant maturation et après maturation sont mentionnés dans les tableaux respectivement 22, 23

**Tableau 23 :** Les résultats des analyses physico-chimique du yaourt avant maturation

Les paramètres physico-chimiques	Acidité	Densité	ESD	MG
<b>Les normes selon JORA</b>	14 – 18 °D	1028 - 1045	Min 82 g/l	15 g/l
<b>1<sup>er</sup> essai</b>	17	1040	109,1	15
<b>2<sup>ème</sup> essai</b>	15	1045	111,2	13
<b>3<sup>ème</sup> essai</b>	13	1029,4	86,5	16

En comparant les résultats de nos essais avec les normes imposées par **AFNOR (1986)** ; le mélange (lait + poudre de lait) est conforme à la réglementation.

**Tableau 24 :** Les résultats d’analyse physico-chimique du yaourt après maturation

Les paramètres physico-chimiques	pH	Acidité
<b>Les normes selon JORA Après maturation</b>	4.5 – 4.8	70 °D
<b>1<sup>er</sup> essai</b>	4.75	75
<b>2<sup>ème</sup> essai</b>	4,82	89
<b>3<sup>ème</sup> essai Stévia blanche (raffinée)</b>	4,76	75
<b>3<sup>ème</sup> essai Stevia Verte (brute)</b>	4,86	76

Après la maturation de yaourt une mesure de l’activité acidifiante montre des résultats conformes aux normes AFNOR (1986), elle est suivie périodiquement par la mesure du pH et l’acide titrable. Le pH et l’acidité influencent fortement la viabilité et les caractéristiques métaboliques de bactéries probiotiques (**Meybodi Et al., 2020**). Dans

le yaourt, l'acide lactique résultant de la fermentation ce qui diminue le pH (Bourlioux *Et al.*, 2011).

Parmi les consommateurs de yaourt nature, environ deux tiers y ajoutent des agents sucrants, principalement présentes sous forme de sucre en poudre (67%), de confiture ou de miel (21%), ou d'édulcorants (9%). C'est pour cela d'un yaourt sucré naturellement à base de stévia qui est sans apport calorique et ayant des bienfaits sur le corps (cite dans chapitre 1) est bénéfique et plus adéquat puisque l'ajout d'agent sucrant augmente ainsi la palatabilité et l'appréciation du yaourt et serait donc en faveur d'une consommation plus régulière de ce produit (Sait-Eve *et al.*, 2017).

## 6. Résultats des analyses organoleptiques

Les résultats des analyses organoleptiques du yaourt à base des deux types de stévia ( Figures 37,38) sont résumés dans le tableau 24

**Tableau 25:** Les résultats organoleptique de yaourt à base de stévia blanche et verte.

	Stevia blanche	Stevia Verte
Couleur	Blanchâtre	Blanchâtre avec des pépites vert
Odeur	agréable	agréable
Saveur	douce	douce

### a. Fiche de dégustation

Une fiche de dégustation a été effectuée pour notre produit pour un groupe de dégustateurs (20 personnes) à différents âges. Un questionnaire est établi regroupant des questions sur : le goût, l'arôme, la texture, et la couleur (voir annexe 3).



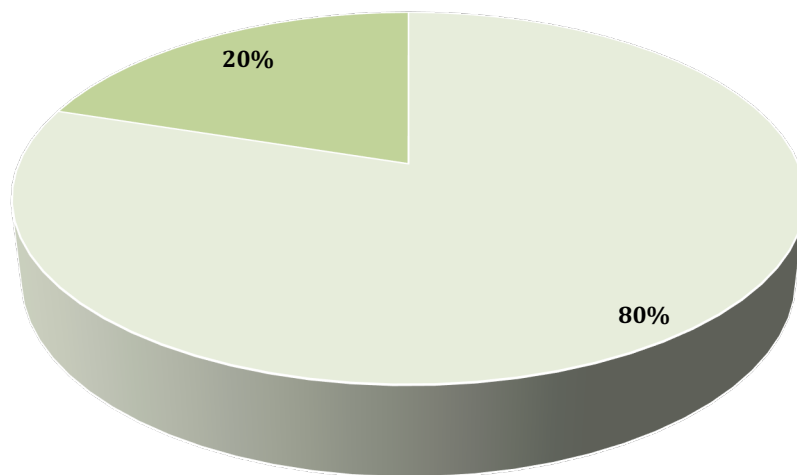
**Figure 40:** Yaourt nature à base de Stévia blanche



**Figure 41:** Yaourt nature à base de Stévia verte

Les résultats de dégustation sont affichés dans le diagramme de la figure 39 :

■ Yaourt à base de Stevia verte    ■ Yaourt à base de Stevia blanche



**Figure 42 :** Résultats de dégustation du yaourt à base de Stevia verte et Stévia blanche

Les résultats de dégustation des yaourts à base de stévia verte et de stévia blanche ont révélé des préférences marquées parmi les dégustateurs. Sur l'ensemble des participants, 20% ont voté en faveur du yaourt à base de stévia verte, tandis que 80% ont exprimé leur préférence pour le yaourt à base de stévia blanche.

Cette différence significative dans les résultats suggère que le yaourt à base de stévia blanche a été largement apprécié en termes de goût et de caractéristiques sensorielles par rapport au yaourt à base de stévia verte. Il convient de noter que les dégustateurs ont exprimé une réticence vis-à-vis des pépites vertes présentes dans le yaourt à base de stévia verte, ce qui a probablement influencé leur préférence pour le yaourt à base de stévia blanche.

Ces résultats indiquent que le choix de la forme cristallisée de la stévia pour la formulation du yaourt a été judicieux, permettant d'obtenir un produit plus apprécié sur le plan gustatif. Cela confirme également l'acceptabilité potentielle du yaourt à base de stévia blanche sur le marché, en répondant aux préférences des consommateurs et en offrant une alternative naturelle et édulcorée pour les personnes souffrant de diabète ou recherchant des options plus saines.

Cependant, il convient de noter que les préférences gustatives peuvent varier d'un individu à l'autre, et il est donc essentiel de continuer à évaluer et à adapter les formulations en fonction des réactions des consommateurs, afin de répondre aux exigences du marché et de maximiser la satisfaction des consommateurs.

# **Conclusion**

## Conclusion

En conclusion, il est clair que la stevia est une véritable révolution dans la production des édulcorants, notamment dans l'industrie des produits laitiers. Cette plante d'origine naturelle a conquis l'industrie alimentaire en offrant une alternative saine et naturelle au sucre traditionnel et aux édulcorants artificiels, et cela s'étend également à la fabrication du yaourt nature.

Les résultats des analyses microbiologiques de la stevia blanche, réalisées par la technique d'ensemencement en masse, révèlent la présence de levures et de moisissures, tandis que les autres germes recherchés sont absents. En comparaison, la stévia verte présente des moisissures et la présence de *Clostridium sulfito-réducteurs*. Une analyse bactériologique supplémentaire met en évidence la présence de *Clostridium septicum*, mais les autres germes recherchés sont absents. L'utilisation de la technique de filtration par membrane pour les deux types de stevia démontre la présence de tous les germes recherchés, indiquant que le produit n'est pas conforme. Cependant, les analyses microbiologiques des yaourts à base de stevia verte et blanche révèlent une absence totale des germes recherchés, ce qui confirme la salubrité et la conformité de ces produits. Par ailleurs, les résultats des analyses physico-chimiques, basées sur l'identification des steviosides par Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC), montrent une présence significative de steviosides dans les deux types de stevia, indiquant une similarité dans leur composition chimique. Cela est crucial pour évaluer leur activité antioxydante. De plus, les analyses physico-chimiques des yaourts avant et après maturation sont conformes à la réglementation. Enfin, les analyses organoleptiques révèlent que le yaourt à base de stevia blanche est apprécié en termes de goût et de caractéristiques sensorielles par rapport au yaourt à base de stevia verte.

La fabrication du yaourt nature à base de stévia offre de nombreux avantages. Tout d'abord, il permet aux consommateurs de profiter du goût sucré sans les effets négatifs du sucre, tels que les problèmes de santé associés à la consommation excessive de sucre. De plus, la stevia ne provoque pas de fluctuations de la glycémie, ce qui en fait une option idéale pour les personnes souffrant de diabète ou qui cherchent à contrôler leur taux de sucre dans le sang. De plus, l'utilisation de la stevia dans la fabrication du yaourt nature contribue à réduire la teneur en calories du produit final, ce qui répond aux préoccupations croissantes concernant l'obésité et la santé.

En outre, tandis que nous avons exploré les avantages actuels de la fabrication du yaourt nature à base de stevia, il existe également plusieurs perspectives passionnantes pour l'avenir de cette innovation. Tout d'abord, nous envisageons d'étendre notre recherche pour comprendre davantage les propriétés antioxydantes de la stevia et son impact sur la santé à long terme. Cela pourrait inclure des études cliniques approfondies pour évaluer son potentiel en tant qu'agent antioxydant puissant.

De plus, nous prévoyons de poursuivre nos efforts dans le développement de nouvelles variétés de stevia qui pourraient être encore plus adaptées à la production de yaourts et d'autres produits laitiers. Cette recherche pourrait conduire à des améliorations significatives dans les caractéristiques sensorielles et nutritionnelles des produits finaux.

Enfin, nous sommes également intéressés par l'exploration de partenariats avec d'autres industries alimentaires pour étendre l'utilisation de la stevia à d'autres produits, tels que les desserts, les boissons et les produits de boulangerie. Cela contribuerait à promouvoir davantage l'adoption de la stevia comme édulcorant naturel et sain.

En résumé, la fabrication du yaourt nature à base de stevia présente un potentiel prometteur pour l'industrie alimentaire et la santé des consommateurs. Les perspectives de recherche et de développement dans ce domaine ouvrent la voie à de nouvelles découvertes et à des produits encore plus innovants qui répondront aux besoins croissants d'une société axée sur la santé et le bien-être.

# **Références bibliographiques**



**Références bibliographiques**

- AFSSA: Agence française de sécurité sanitaire des aliments, 2014
- Ahmad, N., Fazal, H., Bilal Haider Abbasi, Anwar, S., Mubarak Ali Khan, Basir, A., Humaira Inayat, Roshan Zameer, Shahid Akbar Khalil and Kiran Yasmin Khan (2011). DPPH-scavenging antioxidant potential in regenerated tissues of *Stevia rebaudiana*, *Citrus sinensis* and *Saccharum officinarum*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(14), pp.3293–3297.
- Ayar A, Gürlin E. Production and Sensory, Textural, Physicochemical Properties of Flavored Spreadable Yogurt. *Life Sci J* 2014;11(4):58-65]. (ISSN:1097-8135).
- Biomedical central Public Health: Prevalence of type 2 diabetes mellitus among Algerian population aged 35–74 years: results of the Algerian national survey on chronic non-communicable diseases risk factors.
- Cahiers de Nutrition et de Diététique, Volume 46, Issue 1, Supplement 1, March 2011, Pages H27-H34
- Ceunen S, Geuns JM. Steviol glycosides: chemical diversity, metabolism, and function. *J Nat Prod.* 2013 Jun 28;76(6):1201-28. doi: 10.1021/np400203b. Epub 2013 May 28. PMID: 23713723.
- CHATSUDTHIPONG, V. et MUANPRASAT, C. Stevioside and related compounds: Therapeutic Benefits Beyond Sweetness. 2009. 121, 41-54.
- EFSA: European Food Safety Authority. Sweeteners. 2014.
- FAO: Food and agriculture organization, 2022.
- GUIRAUD J-P., 1998. Microbiologie alimentaire. DUNOD, Paris ISBN 2 10 003666 1.
- Gasmalla, M., Yang, R., Amadou, I. and Hua, X. (2014). Nutritional Composition of *Stevia rebaudiana* Bertoni Leaf: Effect of Drying Method. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 13(1), p.61.
- GEUNS, J.M.C., AUGUSTIJNS, P., MOLES, R. et al. Metabolism of stevioside in pigs and intestinal absorption characteristics of stevioside, rebaudioside A and steviol. *Food and chemical toxicology.* 2003. 41, 1599-1607.

- Higéa - Sucres de fruits à indice glycémique bas. (2023). Le yaourt pour les diabétiques : Découvrir les bienfaits du sucre des fruits.
- Journal officiel de la république algérienne n=39, 2 juillet 2017
- Joint Fao/Who Codex Alimentarius Commission (2001). Codex alimentarius. Rome: Food And Agriculture Organization Of The United Nations World Health Organization.
- Lapointe-Vignola, C. and de, F. (2002). Science et technologie du lait. Presses inter Polytechnique.
- LARPENT Jean-Paul Microbiologie alimentaire Techniques de laboratoire, 1997.
- Marette, A. and Picard-Deland, E. (2014). Yogurt consumption and impact on health: focus on children and cardiometabolic risk. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 99(5), pp.1243S1247S.
- M. Bridel and R. Lavielle, “The Sweet Principle of Kaahe-e (Stevia rebaudiana),” *Pharmaceutical Chemistry Journal*, Vol. 14, 1931, pp. 99-154.
- Memoire fin d’etude par Morin Cécile: LE POINT SUR LES EDULCORANTS A BASE DE STEVIA Sous la direction de Mme Derbré Séverine. Université d’agers, France.
- Memoire fin d’études, Evaluation de la qualité d’un yaourt étuvé aromatisé produit au sein de la laiterie RAMDY, Université de Bouira. (2017-2018)
- Mémoire fin d’études: Etude du profil nutritionnel et métabolique chez les patients diabétiques de la région de Blida. Université de Blida1. (2017-2018)
- MELIS, M.S., ROCHA, S.T. et AUGUSTO, A. Steviol effect, a glycoside of *Stevia rebaudiana*, on glucose clearances in rats. *Brazilian Journal of Biology*. 2009. 69, 371-374. Nagaoka, S. (2019). Yogurt Production. *Methods in Molecular Biology* (Clifton, N.J.), 1887(30506248), pp.45–54.
- Savaiano, D.A. and Hutkins, R.W. (2020). Yogurt, cultured fermented milk, and health: a systematic review. *Nutrition Reviews*, 79(5), pp.599–614.
- Sciences Direct: Effect of Greek yogurt consumption on glycemic control in diabetic patients: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials.
- Settachaimongkon, S., Nout, M.J.R., Antunes Fernandes, E.C., van Hooijdonk, T.C.M., Zwietering, M.H., Smid, E.J. and van Valenberg, H.J.F. (2014). The

- impact of selected strains of probiotic bacteria on metabolite formation in set yoghurt. *International Dairy Journal*, 38(1), pp.1–10.
- Shen, G. Campbell biology (edited by Lisa Urry, Michael Cain, Steven Wasserman, Peter Minorsky and Jane Reece). *J of Biol Res-Thessaloniki* 27, 19 (2020).
  - TOSKULKAO, C., SUTHEERAWATANANON, M., WANICHANON, C. et al. Effects of stevioside and steviol on intestinal glucose absorption in hamsters. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*. 1995. 41, 105-113.
  - Vuilleumard .J.C.,1986.Microbiologie des aliments.Evolution de l'activité protéolytique des bactéries lactiques. Tec et Doc. Lavoisier.Paris .3 : 1-65
  - Willey, J.M., Sherwood, L., Woolverton, C.J. and Prescott, L.M. (2011). *Prescott's Microbiology*. New York, N.Y.: Mcgraw-Hill.
  - Waterdrop® FR. (n.d.). Stevia : 5 avantages à connaître.
  - Wölwer-Rieck U. The leaves of *Stevia rebaudiana* (Bertoni), their constituents and the analyses thereof: a review. *J Agric Food Chem*. 2012 Feb 1;60(4):886-95. doi: 10.1021/jf2044907. Epub 2012 Jan 24. PMID: 22250765.
  - Y. Ghafir and Daube, G. (2007). le point sur les méthodes de surveillance de la contamination microbienne des denrées alimentaires d'origine animale. *Annales De Medecine Veterinaire*, 151.
  - Ye, F., Yang, R., Xiao, H., Shen, Q., Zhao, W. and Zhang, W. (2013). Modification of stevioside using transglucosylation activity of *Bacillus amyloliquefaciens*  $\alpha$ -amylase to reduce its bitter aftertaste. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 51(2), pp.524–530. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.12.005>.
  - YAMAMOTO, N.S., KELMER BRACHT, A.M., ISHII, E.L. et al. Effect of steviol and its structural analogues on glucose production and oxygen uptake in rat renal tubules. *Experientia*. 1985. 41, 55-57.

# **Annexes**

## Annexe 1

### 1. Préparation des milieux de cultures et leur formules de base

#### - Bouillon TSE (Tryptone Sel Eau)

Tryptone .....	1g
Chlorure de sodium.....	8,5g

pH=7

#### - Gélose VRBG (Cristal violet et rouge neutre)

Peptone pepsique de viand.....	7g
Pancréatique de gélatine .....	7g
Extrait auto-lytique de levure .....	3g
Glucose .....	10g
Sels biliaires .....	1,5g
Chlorure de sodium.....	5g
Rouge neutre.....	0,030g
Cristal violet.....	0,002g
Agar agar.....	13g

pH=7,4

#### - Bouillon SFB (bouillon d'enrichissement au Sélénite de sodium et à la cystéine)

Peptone trypsine de caséine .....	5g
Cystéine.....	0,01g
Lactose.....	4g
Phosphore de sodium.....	10g
Sélénite de sodium.....	4g
Eau distillée.....	1000ml

pH=7

#### - Milieu GC (Giolitti Cantonili)

Peptone de caséine.....	10g
Extrait de levure.....	5g
Extrait de viande.....	5g
Chlorure de lithium.....	5g
Mannitol.....	10g
Chlorure de sodium.....	5g

Glycine.....1,2g

Pyruvate de sodium.....3g

pH=6,9

- **Gélose Héктоen**

Protéose-Peptide.....12,0g

Extrait de levure.....3,0g

Désoxycholate de sodium.....9,0g

Lactose.....12,0g

Saccharose.....12,0g

Salicine.....2,0g

Bleu de bromothymol.....65mg

Fuchsine acide.....100mg

Thiosulfate de sodium.....5,0g

Citrate ferrique ammoniacal.....11,5g

Chlorure de sodium.....5,0g

Agar.....15,0g

Eau distillée.....1L

pH = 7,5

- **Gélose Chapman**

Peptide.....10g

Extrait de viande de bœuf.....1g

Chlorure de sodium.....75g

Mannitol.....10g

Rouge de phénol.....0,25g

Agar.....15g

pH=7,5

- **Gélose VF (Viande Foie)**

Peptide viande-foie.....30g

Glucose.....2,0g

Amidon soluble.....2,0g

Sulfite de sodium.....2,5g

Citrate ferrique ammoniacal.....0,5g

Agar agar.....11g

pH= 7,6

- **Gélose PCA (Plate Count Agar)**

Tryptone.....	5g
Extrait de levure.....	2,5g
Glucose.....	1g
Agar agar bacteriologique.....	12g
pH=7	

- **MCL (Mac Kleisky)**

Tryptone.....	16g
Extrait de levure.....	8g
Phosphate bi potassique.....	1,5g
glucose.....	80g
pH=7	

- **Gélose OGA (Oxytétracycline-Glucose-Agar)**

Extrait autolytique de levure.....	5,0g
Glucose.....	20,0g
Oxytétracycline.....	0,1g
Agar agar.....	15,0g
pH=6,6	

## Annexe 2

### 2. Les différents types de matériels de laboratoire

Le matériel habituel du laboratoire (matériel de stérilisation, matériel d'incubation, la verrerie et les instruments de prises d'essai) utilisé dans ce travail



Pipettes graduée



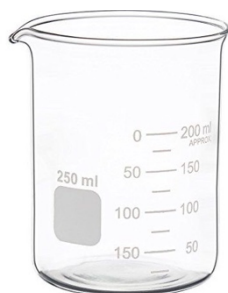
Pipettes pasteur



Éprouvette graduée



Flacon en verre



Bécher



Boîtes pétri



Portoir et Tube à essai

Figure 43 : Les verreries



Bec bunsen



Balance électrique



Vortex

Figure 44 : Le petit matériel





Plaque chauffante



Bain marie



pH mètre



Dessiccateur et coupelle en alluminium



Centrifugeuse électrique



Autoclave



Étuve 30°C



Étuve 37°C



Étuve 44°C

Figure 45 : Le gros matériel

# Annexe 3

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche scientifique  
Université Saad Dahleb Blida 1

## Fiche de dégustation du yaourt

Nom : .....

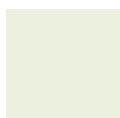
Date: .....

*Yaourt nature à base de Stevia blanche*

*Yaourt nature à base de Stevia vertel*

<i>Goût</i>	<i>Amer</i>	<i>Sucré</i>	<i>acidulé</i>	<i>Amer</i>	<i>Sucré</i>	<i>Acidulé</i>
<i>Texture</i>	<i>Lisse</i>	<i>Crémeuse</i>	<i>Granuleuse</i>	<i>Lisse</i>	<i>Crémeuse</i>	<i>Granuleuse</i>
<i>Niveau de sucre</i>	<i>Faiblement Sucré</i>	<i>Modérément Sucré</i>	<i>Très sucré</i>	<i>Faiblement Sucré</i>	<i>Modérément Sucré</i>	<i>Très Sucré</i>
<i>Apparence</i>	<i>Blanc Brillant</i>	<i>Blanc cassé</i>	<i>Légèrement jaunâtre</i>	<i>Blanc Brillant</i>	<i>Blanc cassé</i>	<i>Légèrement jaunâtre</i>

**Lequel préférez-vous?**



/



