

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université SAAD DAHLAB BLIDA
Faculté Des Sciences Agro-Vétérinaires
Département des sciences agronomiques

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Science de la Nature et
de la Vie

Filière: Sciences Alimentaires

Spécialité : Nutrition et contrôle des aliments

Formulation et caractérisation d'un yaourt diététique enrichi en pollen

Présenté par : M^{me} HARITI Khadidja

Devant le jury composé de :

Président : MEGATLIS.M.C.B USDB

Promotrice : ACHEHEB H.M.C.BUSDB

Examineurs : BOUSBIA N.M.C.B USDB

IDRES A. M.A.A USDB

Année universitaire : 2012/2013

Remerciements

Je remercie notre créateur Allah, Grand et Miséricordieux, Le tout Puissant pour la volonté et la santé qu'il m'a données pour mener ce modeste travail à terme.

Je commence par exprimer ma profonde reconnaissance et mes vifs remerciements à Mme ACHEHEB H. (maître de conférences à l'université SAAD DAHLAB de Blida) qui m'a honorée en acceptant de diriger ce travail, pour ses encouragements, ses conseils, sa disponibilité ainsi que pour sa confiance qu'elle m'a accordée. J'ai été satisfaite de votre qualité exceptionnelle de bonne enseignante. Merci de m'avoir guidée avec patience; je ne peux que sincèrement vous exprimer mon respect et ma gratitude.

J'exprime ma reconnaissance à Mr MEGATLI S. (Maître de conférences à l'université SAAD DAHLAB de Blida) pour l'honneur et le plaisir qu'il me fait en acceptant la présidence du jury de ma thèse, qu'il trouve ici toutes mes expressions respectueuses.

Je remercie également Mr BOUSBIA N. (Maître de conférences à l'université SAAD DAHLAB de Blida) et Mme IDRESA. (maître assistant à l'université SAAD DAHLAB de Blida) qui me font l'honneur d'être les examinateurs de ce mémoire, et aussi pour l'ensemble de leur excellent enseignement au cours de mes études.

Un très grand merci, à l'ensemble du personnel du laboratoire de physicochimie et de microbiologie de l'unité de trèfle, en particulier Mr SADEK Aniss pour sa gentillesse et qui par la grande aide technique qu'il m'a apportée a contribué au bon déroulement de mes expériences et Mr BENSAID Zakir pour l'aide et les conseils qu'il m'a apportés durant la réalisation de ce travail. Je tiens également à remercier Ali, BARBET k., RABHI k., Soumia, Mohamed et Adel, qui par leur aide technique ou leur simple présence amicale, ont contribué au bon déroulement de cette thèse.

J'exprime ma grande reconnaissance à Mr KEBAILI A. responsable du laboratoire d'analyse de la qualité (PILAB) et son assistante YASMINA pour leur accueil, pour l'aide qu'ils m'ont apportée et leur grande générosité.

Quelques participants des séances d'analyses sensorielles soient remerciés pour leur disponibilité et leur application.

Je souhaite exprimer mes profonds remerciements à mes parents pour leur soutien moral et matériel, indispensables pour le bon déroulement de mes études. Sans leur aide, je ne serais pas ce que je suis aujourd'hui. Je leur en serai infiniment reconnaissante.

Je remercie également le reste de ma famille mais en particulier mes oncles : Amar, Abd salam, Abd el wahab et Abd nour pour leur soutien et pour l'attention qu'ils m'ont apportée tout au long de mes études. Merci d'avoir toujours été là pour moi.

J'exprime mes salutations à mes amies qui font un peu hors sujet dans l'élaboration de cette thèse mais qui m'ont tant apporté durant ces études. Merci à vous : Fatima, Houda, Hayet, Meriem, Imane, Amina et tous les autres pour tous ces moments de franche rigolade et de bonne humeur.

Merci à tous ceux qui m'ont apporté, à tous ceux que j'oublie.

Dédicace

Je dédie ce travail à tous ceux que j'aime et que j'estime en particulier :

- ✿ A mes parents qui m'ont toujours soutenue avec beaucoup d'amour.
- ✿ A mes sœurs Djahida et Nacéra pour leur amour et leur patience.
- ✿ A mes frères Yazid, Ayoub et Aymen pour leur soutien.
- ✿ A la mémoire de mes très chers grands parents.
- ✿ A mes cousins et cousines, mes tantes et mes oncles.
- ✿ A toutes mes amies.
- ✿ A tous ceux qui me sont chers, là où ils pourraient se trouver.



Khadija

PDF Create! 4 Trial
www.nuance.com

Résumé

Notre étude a porté sur l'enrichissement du yaourt en pollen d'abeille. Vu que le taux d'enrichissement dépend des besoins nutritionnels des consommateurs, on a fait deux formulations à raison de 5 et 10 g de pollen par 1 Litre de produit et un yaourt seul représente le témoin.

Une approche intégrée microbiologique, physico-chimique et organoleptique a été mise en œuvre pour étudier la caractérisation du yaourt diététique à base de pollen.

Les résultats des analyses physico-chimiques montrent une augmentation progressive de l'acidité allant de 75°D jusqu'à 85°D pour le yaourt témoin et de 82°D jusqu'à 92°D pour le yaourt enrichi en pollen à raison de 5 g/L et de 78°D jusqu'à 107°D pour le yaourt enrichi en pollen à raison de 10 g/L, comme elles montrent une diminution progressive du pH des produits finis au cours de stockage allant de 4,55 jusqu'à 4,20 pour le yaourt témoin, de 4,30 jusqu'à 4,02 pour le yaourt enrichi à raison de 5 g/L et de 4,47 jusqu'à 4,08 pour le yaourt enrichi à raison de 10 g/L ; le pH est inversement proportionnel à l'acidité.

Le taux de l'extrait sec du produit témoin passe de 23,91 % à 23,70 % après 28 jours de stockage, celui de l'essai 1 passe de 24,57 % à 22,75 % et pour l'essai 2, il passe de 25,88 % à 24,82 %. La teneur en matière grasse des trois produits est supérieure à 3,00% et reste stable durant la période de stockage.

Les résultats des analyses microbiologiques des matières premières et des produits finis montrent une absence totale des germes pathogènes et d'altération, ce qui confirme l'utilisation d'une matière première de bonne qualité hygiénique et le respect des conditions de fabrication et de stockage ainsi qu'une bonne manipulation lors du travail.

Un test de dégustation a été également effectué. Cette évaluation a révélé que le yaourt enrichi en pollen à raison de 5g/L est le plus apprécié par les dégustateurs.

Mots clés : enrichissement, pollen, yaourt, besoins nutritionnels, analyses.

Abstract

Our study focused on the enrichment of yogurt with bee pollen. Since the degree of enrichment depends on the nutritional needs of consumers, we made two enhancements 5 and 10 g of pollen per 1 liter of product and yogurt as witness.

Microbiological, physicochemical and sensory integrated approach has been implemented to study the characterization of dietary yogurt pollen.

The results of physico-chemical analyzes show a progressive increase in acidity from 75 °D to 85 °D for the control yogurt and 82 °D to 112 °D for pollen-enriched yogurt at 5 g/L and 78 °D up to 107 °D pollen yogurt enriched with 10 g / L and a progressive decrease in pH of the finished product during storage from 4.55 to 4.2 for the control yogurt, 4.50 to 4.02 for the enriched yogurt at 5 g / L and 4.47 to 4.08 for the enriched yogurt at 10 g / L and the pH is inversely proportional to acidity.

The rate of dry matter of the control product passes from 23.97% to 23.97% after 28 days of storage, the test 1 it goes from 24.57% to 22.73% and for the test 2 it goes from 25.88% to 24.82%. The fat content of the three products is greater than 3.0% and remained stable during the storage period.

The results of microbiological analyzes of raw materials and finished products show a complete absence of germs pathogens and spoilage which confirms the use of a raw material of good hygienic quality and the respect of conditions of manufacture and storage and a good handling when working.

A taste test was also performed. This evaluation found that yogurt enriched pollen because of 5g/L is most appreciated by the taster.

Key words: enrichment, pollen, yogurt, nutritional needs, analysis.

ركزت دراستنا على إثراء الزبادي محبوب لقااح النحل. بما اندرجة التخصيب تعتمد على الاحتياجات الغذائية للمستهلكين عملنا تركيبتين 5 و 10 غرام من حبوب اللقااح لكل 1 لتر من المنتج و زبادي خاليمثل الشاهد.

نهج ميكروبيولوجي، فيزيائي وحسي متكامل اعتمد لدراسة الخواص الغذائية للزبادي الصحي المخصب بحبوب اللقااح.

نتائج التحاليل الفيزيوكيميائية تظهر زيادة تدريجية في الحموضة من 75 درجة درنيك الى 85 درجة درنيك بالنسبة للزبادي الشاهد، و من 82 درجة درنيك الى 112 درجة درنيك بالنسبة للزبادي المخصب بحبوب اللقااح بنسبة 5غ/ل ومن 73 درجة درنيك الى 107 درجة درنيك بالنسبة للزبادي المخصب بحبوب اللقااح بنسبة 10غ/ل، كما تظهر انخفاض تدريجي في درجة حموضة المنتجات النهائية أثناء الحفظ من 4.55 الى 4.20 بالنسبة للزبادي الشاهد، تنتقل من 4.3 الى 4.02 بالنسبة للزبادي المخصب بنسبة 5غ/ل و من 4.47 الى 4.08 بالنسبة للزبادي المخصب بنسبة 10غ/ل، درجة الحموضة بالنسبة للزبادي المخصب بنسبة 10غ/ل، درجة الحموضة بالنسبة للزبادي المخصب بنسبة 5غ/ل مع الحموضة.

نسبة المادة الجافة للمنتج الشاهد تمر من 23.97 % الى 23.70 % بعد مرور 28 يوم من الحفظ، بالنسبة للاختبار 1 تمر من 24.57 % الى 22.73 % بالنسبة للاختبار 2 تمر من 25.88 % الى 24.82 % محتوى المنتجات الثلاثة منالدهون أكبر من 3.00 % ظلت مستقرة طوال فترة الحفظ.

نتائج التحاليل الميكروبيولوجية للمواد الاولية والمنتجات النهائية تظهر غياب تام للجراثيم المسببة للأمراض و التلف، مما يؤكد استخدام مواد اولية ذات جودة، احترام ظروف التصنيع والحفظ وكذا حسن القيام بالعمل.

وقد أجري أيضا اختبار المذاق. وجد هذا التقييم أنالزبادي المخصب بحبوب اللقااح بنسبة 5غ/ل هو الاكثر تقديرا من طرف المتذوقين.

الكلمات الجوهرية: تخصيب، لقاح النحل، زبادي،
الاحتياجات الغذائية، التحاليل.

PDF Create! 4 Trial
www.nuance.com

TABLE DES MATIERES

PDF Creator! 4 Trial
www.nuance.com

TABLE DES MATIERES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

LISTE DES ABRÉVIATIONS

RESUME

Introduction.....1

Etude bibliographique

Chapitre I :Généralités sur le lait

I.1. Définition du lait.....5

I.2. Composition du lait.....5

I.3. Caractères physico-chimiques du lait.....9

I.4. Caractéristiques microbiologiques de lait.....9

Chapitre II :Le yaourt

II.1. Définition.....12

II.2. Les différents types de yaourt.....12

II.3. Composition et valeur nutritionnelle du yaourt.....13

II.4. Intérêts nutritionnels et thérapeutiques du yaourt.....16

II.5. Technologie de fabrication du yaourt.....18

II.6. Accidents de fabrication.....22

Chapitre III :Le pollen

III.1. Historique du pollen..... 24

III.2. Définition.....24

III.3. La production du pollen.....25

III.4. Importance du pollen dans l'alimentation des abeilles.....25

III.5. La récolte du pollen par les abeilles.....25

III.6. Composition chimique.....26

III.7. Propriétés physiques et organoleptiques du pollen.....28

III.8. Propriétés thérapeutiques.....	29
III.9. La récolte du pollen.....	32
III.10. Traitement et conservation du pollen.....	32
III.11. Présentation du pollen.....	33
III.12. Mode d'emploi.....	34

Étude expérimentale

Chapitre IV : Matériel et méthodes

I. Lieu de travail.....	37
II. Matériel et méthodes.....	37
II.1. Matériel.....	37
II.2. Méthodes.....	37
II.2.1. Méthodes d'échantillonnage.....	37
II.2.2. Méthodes d'analyses.....	38
II.2.2.1. Analyse physico-chimique.....	38
II.2.2.2. Analyses microbiologiques.....	46
II.2.2.3. Fabrication de yaourt stérilisé enrichi en pollen.....	56
II.2.2.4. Analyse sensorielle.....	59
II.2.2.5. Analyse statistique.....	60

Chapitre V : Résultats et discussion

I. Analyses physico-chimiques.....	62
I.1. Matière première.....	62
I.2. Produit finis.....	64
II. Analyses microbiologiques.....	70
II.1. Matières premières.....	70
II.2. Produits finis.....	72
III. Évaluation sensorielle.....	75
Conclusion.....	82

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

PDF Create! 4 Trial
www.nuance.com

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Composition globale du lait de vache	5
Figure 2 : Structure d'un globule de matière grasse.....	7
Figure 3 : Représentation schématique des interactions qui se produisent entre <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> , leur environnement et les composés caractéristiques du yaourt.....	15
Figure 4 : Schéma de fabrication des yaourts.....	21
Figure 5 : Butineuse portant des pelotes de pollen.....	26
Figure 6 : Composition générale du pollen.....	26
Figure 7 : La diversité des grains de pollen.....	29
Figure 8 : Tiroir à pollen prêt à être récolté.....	32
Figure 9 : Diagramme général de fabrication du yaourt étuvé enrichi en pollen selon la laiterie Trèfle de Blida.....	58
Figure 10 : Variation du pH en fonction des produits finis.....	65
Figure 11 : Variation de l'acidité titrable en fonction des produits finis	66
Figure 12 : Variation de la matière sèche en fonction des produits finis.....	66
Figure 13 : Variation de la matière grasse en fonction des produits finis.....	67
Figure 14 : Evolution du pH.....	68
Figure 15 : Evolution de l'acidité titrable.....	68
Figure 16 : Evolution de la matière sèche.....	69
Figure 17 : Evolution de la matière grasse.....	70
Figure 18 : Les différentes formulations de yaourt étuvé enrichi en pollen (originales).....	75
Figure 19 : Profil sensoriel de l'essai 1(enfants).....	76
Figure 20 : Profil sensoriel de l'essai 2(enfants).....	76
Figure 21 : Profil sensoriel de l'essai 1 (femmes).....	77
Figure 22 : Profil sensoriel de l'essai 2(femmes).....	77

Figure 23 : Profil sensoriel de l'essai 1(hommes).....	78
Figure 24 : Profil sensoriel de l'essai 2 (hommes).....	78
Figure 25 : Profil sensoriel de l'essai 1(ensemble de dégustateurs).....	79
Figure 26 : Profil sensoriel de l'essai 2(ensemble de dégustateurs).....	79
Figure 27 :Comparaison des profils sensoriels des yaourts enrichis.....	80
Figure 28 : Butyromètres (originale, 2013).	
Figure 29 : Dessiccateur (originale, 2013).	
Figure 30 : pH mètre (originale, 2013).	
Figure31 : Balance à précision (originale, 2013).	
Figure 32 : Bec bensen (originale, 2013).	
Figure 33 :Boites de Pétri (originale, 2013).	
Figure 34 : Bain-marie (originale, 2013).	
Figure 35 :Centrifugeuse (originale, 2013).	
Figure 36 :Etuve d'incubation (originale, 2013).	

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 :Composition lipidique moyenne du lait de vache.....	6
Tableau 2 : Les dérivés azotés du lait.....	7
Tableau 3 :Teneur moyenne des principales vitamines du lait.....	8
Tableau 4 :Composition du lait en minéraux.....	8
Tableau 5 :Caractéristiques physico-chimiques du lait de vache.....	9
Tableau 6 : Principaux caractères des souches ensemencées.....	13
Tableau 7 : La composition moyenne de différents types de yaourt.....	16
Tableau 8 : La composition du pollen et les besoins nutritionnels.....	28
Tableau 9 : Analyses physico-chimiques des matières premières.....	38
Tableau 10 : Analyses microbiologiques des matières premières et des produits finis.....	47
Tableau 11 :Composition des yaourts enrichis en pollen à différentes doses.....	57
Tableau 12 : Analyses physico-chimiques de la poudre de lait.....	62
Tableau 13 : Analyses physico-chimiques du sucre.....	62
Tableau 14 : Analyses physico-chimiques de l'eau de process.....	63
Tableau 15 : Analyses physico-chimiques du pollen.....	63
Tableau 16 : Analyses microbiologiques de l'eau de process.....	73
Tableau 17 : Analyse microbiologique de poudre de lait.....	73
Tableau 18 : Analyses microbiologiques du sucre.....	74
Tableau 19 : Analyses microbiologiques du pollen.....	74
Tableau 20 : Analyses microbiologiques du yaourt témoin.....	75
Tableau 21 : Analyses microbiologiques de l'essai 1.....	75
Tableau 22 : Analyses microbiologiques de l'essai 2.....	75
Tableau 23 : Analyses microbiologiques du yaourt témoin au cours du stockage.....	74
Tableau 24 : Analyses microbiologiques de l'essai 1au cours du stockage.....	74
Tableau 25 : Analyses microbiologiques de l'essai 2 au cours du stockage.....	75

Tableau 26 : Valeurs des pH des produits finis (annexe 8)

Tableau 27 : Valeurs des acidités titrables des produits finis(annexe 8)

Tableau 28 : Valeurs de l'extrait sec des produits finis(annexe 8)

Tableau 29 : Valeurs de la matière grasse des produits finis(annexe 8)

Tableau 30 : La variation du pH au cours de stockage(annexe 9)

Tableau 31 : La variation de l'acidité titrable au cours de stockage (°D)(annexe 9)

Tableau 32 : La variation de la teneur en matière sèche au cours de stockage (%) (annexe 9)

Tableau 33 : La variation de la teneur en matière grasse au cours du stockage (%) (annexe 9)

Tableau 34 : L'évaluation organoleptique de l'essai 1 (enfants)(annexe 10)

Tableau 35 : L'évaluation organoleptique de l'essai 2 (enfants)(annexe 10)

Tableau 36 : L'évaluation organoleptique de l'essai 1 (femmes)(annexe 10)

Tableau 37 : L'évaluation organoleptique de l'essai 2 (femmes)(annexe 10)

Tableau 38 : L'évaluation organoleptique de l'essai 1 (hommes)(annexe 10)

Tableau 39 : L'évaluation organoleptique de l'essai 2 (hommes)(annexe 10)

Tableau 40 : L'évaluation organoleptique de l'essai 1 (ensemble du panel)(annexe 10)

Tableau 41 : L'évaluation organoleptique de l'essai 2 (ensemble du panel)

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

PDF Create! 4 Trial
www.nuance.com

Références bibliographiques

- 1. ABONEOBIO L., (2008),** « Ces pollen qui nous soignent ». Disponible sur : <http://www.aboneobio.com/blog/post/2008/10/22/694-ces-pollens-qui-nous-soignent-une-riche-riche-nutritionnelle-exceptionnelle> . Consulté le : 13/12/2012.
- 2. ADOLFSSON O., MEYDANI N.S. and RUSSELL R.M., (2004),**« Yogurt and gutfunction », Am J Clin Nutr;80:245–56, American Society for Clinical Nutrition, pp. 246-256.
- 3. AFNOR, (1986),** « contrôle de la qualité des produits laitiers »(Ed. AFNOR-ITSV (3^{ème} édition), Paris, 325 p.
- 4. ALAIS C., LINDEN G. et MICLO L., (2003),**« Biochimie alimentaire », Ed. Dunod (5^{ème} édition),Paris, 250 p.
- 5. ALAUX C., DANTECC., LE CONTE Y. and FARINELLO H., (2011),** « Nulrigenomics in honeybees : digital gene expression analysis of pollen'snutriliveeffects on healthy and varroa-parasitizedbees »,BioMedCentralGenomics 12, pp.496-509.
- 6. AMELLAL R., (1995),** « La filière lait en Algérie : entre l'objectif de la sécurité alimentaire et la réalité de ladépendance »In : ALAYA M., (1995), « Les agricultures maghrébines à l'aube de l'an 2000 », Montpellier : CIEFAM, p. 229-238 (Options Méditerranéennes : Série B. Etudes et Recherche. n.14).
- 7. ANONYME, (1992),** « Conférence : I te nationale sur la Nutrition (CIN). Les grands enjeux des stratégies nutritionnelles », Rome.
- 8. ANONYME, (1995),** « Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine », Rome, 271p.
- 9. ANONYME, (2000),** « Code Alimentarius : Lait et produits laitiers », Volume 12, 2^{ème} édition, Rome, 15 p.
- 10. ANONYME, (2000),** « Fourth report on the world nutrition situation. Nutrition through outthelife cycle », Geneva ; in collaboration with IFPRI.
- 11. ANONYME, (2009),**« Lait et produits laitiers », France, 47 p. Document téléchargeable sur le site : http://www.minefe.gouv.fr/directions_services/daj/guide/gpem/table.html Consulté le : 19/11/2012.
- 12. ANONYME, (2010),** « Dossier pédagogique : Secrets d'abeilles, une histoire d'Ailes et de Miels », CCSTI La Turbine, 39 p.
- 13. ANONYME, (2012),** « Les produits de la ruche autres que le miel : Pollen et Propolis », Ecole d'Apiculture des Ruchers du Sud Luxembourg, 16 p.

14. ANONYME, (2012), « Une image de la diversité des grains de pollen ». Disponible sur : <http://acces.ens-lyon.fr/acces/terre/paleo/paleobiomes/comprendre/images-1/pollens.jpg>. Consulté le : 02/03/2013.
15. ANONYME, (2013), « Terroir à pollen près à être récolté ». Disponible sur : <http://www.kidouppollen.fr/img/pollen-abeilles.jpg> . Consulté le : 27/05/2013.
16. AUPINEL P., GENISSEL A., GOMOND S.; TASEI J.N. and PONCET J., (2001), « Collection of spring pollens by Bombus terrestris queens: Assessment of attractiveness and nutritive value of pollen diets », *Acta Horticulturae* (No.561): 101-105.
17. AVRIL J.L., DABERNAT H., DENIS F. et MONTEIL H., (2000), « Bactériologie clinique », Ed. Ellipses-Marketing (3^{ème} édition), Paris, 602 p.
18. BALLOT-FLURIN C., (2009), « Les bienfaits de l'apithérapie », Ed. Eyrolles, 158 p.
19. BEAL C. et SODINI I., (2003), « Fabrication des yaourts et des laits fermentés », *Technique de l'ingénieur*, F-Article F6315.
20. BERGER J., DAVIDSSON L. and THUY P., (2006), « Regular consumption of NaFeEDTA fortified fish sauce improved iron status and reduced anemia prevalence in anemic Vietnamese women », *Am J Clin Nutr*; 78:284-90.
21. BLANC M., (2010), « Propriétés et usage médical des produits de la ruche », Thèse de doctorat, Université de Limoges, Faculté de Médecine et de Pharmacie, France, 142 p.
22. BLANCHARD C., DOMERL G., et LAMBERT G., (2006), « Remèdes de la ruche », Ed. Alpen, France, 94 p.
23. BOGDANOV S., GLEMAUD G., IFF D., KANZIG A., SEILER K., STOCKLI H. and ZURCHER K. (2004), « Swiss Food Manual: Pollen *Bienenprodukte* », BAG : Swiss Federal Office for Public Health.
24. BONNAFFE P., BARBANÇON J-M., CLEMENT H., REEB C. et VAISSIERE B., (2006), « Le traité rustica de l'apiculture », Ed. Rustica, Paris, pp. 122-152.
25. BONNEFOY C., GUILLET F., LEYRAL G. et VERNE-BOURDAIS E., (2002), « Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaires », Ed. Doin; CRDP d'Aquitaine, France, 248 p.
26. BONNEMAIRE J., LERANGER C. et MONTEL M-C., (2005), « Les Fermentations au service des produits de terroir », INRA, Paris, 284 p.
27. BONTOUX J., (1993), « Introduction à l'étude des eaux douces, eaux naturelles, eaux usées, eaux de boi: Qualité et santé », Ed. Cebedoc (2^{ème} édition), 169 p.
28. BOOT W.J., LEVEN L.V., MUTSAERS M., SEGEREN P. et VELTHUIS H., (2005), « L'apiculture dans les zones tropicales », Ed. Fondation Agromisa (6^{ème} édition), Wageningen (Pays-Bas), 93 p.

29. **BOURGEOIS C.M., (1988)**, «microbiologie alimentaire », Ed. Tec et Doc ; Lavoisier, Paris, 756 p.
30. **BOURGEOIS C.M. et LARPENT J.P., (1996)**, « Microbiologie alimentaire, aliments fermentés et fermentation alimentaire », Tome 2, Ed. Tec et Doc., Lavoisier, Paris, 568 p.
31. **BOURGEOIS C.M. et LEVAUX J.Y., (1980)**, « Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agroalimentaire », volume 3, Ed. Tec et doc, Paris, 247 p.
32. **BOURGEOIS C.M. et LEVAUX J.Y., (1991)**,« Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agroalimentaires », Volume 3, Ed. Apria, pp. 152-165.
33. **BOURGEOIS C.M., MESCLE J.F. et ZUCCA J., (1996)**. « Microbiologie alimentaire », Volume 2, Ed. Tec et Doc ; Lavoisier (2^{ème} édition), 523 p.
34. **BOURLIOUX P., BRAESCO V. et MATER D.G.M., (2011)**,« Yaourts et autres laits fermentés, Cahiers de nutrition et de diététique », Volume 46, pp. 307-314.
35. **BRIBOSIA A., MARTIN C., PIRSON P. et TADINC A., (2003)**,« Chimie 6^e - Manuel: Sciences générales (6 pér. /sem.) », Ed. BOECK, Bruxelles, 267 p.
36. **BROWN R., CALCAIAANU G., CALLIAS A. Ph. D., CONTRERAS E., M.D., CONWAY L., COZMA F., ESSEN L.E., GROTJ L. W.O., HAYES L.J., HERNUSS P., IOYRISH P., JOHNSON N., KORCHEMAY R., LEADER G., LIEBOLD G., SCHMIDT H.W. and SOLIMAN A., (1994)** « Supplement to The Art of Getting Well ; Bee Pollen: The Perfect Food », AKA The Arthritis Trust of America ®, Townsend, WA 98368-6541, p. 878.
37. **BUCHMANN S.L., CANE J.J. and FOULSTON T., (2000)**, « What governs protein content of pollen: pollinator preference, pollen-pistil interactions, or phylogeny ? », Ecological Monographs 70, pp. 617-643.
38. **CANE J., FOULSTON T., (2000)**, « Pollen nutritional content and digestibility for animals », Plant Systematics and Evolution 222, pp.187-209.
39. **CHAUVAI M.P. et PIERRE J., (2005)**, « L'importance du pollen pour l'abeille domestique : le pollen et ses composants – incidence sur le comportement et la physiologie » Bull. Tech. Apic. (32), pp. 11-17.
40. **CORRIEU, (2008)**,« Bactéries lactiques de la génétique aux ferments », Ed.Lavoisier, Paris, p849.
41. **COUSIN N., (2009)**,« Les trésors de la ruche », Ed. Rustica, Paris, 143 p.
42. **DACOSTA, (2000)**,« La bio-protection des aliments », Ed. Tec et Doc, pp. 1-30.
43. **DE BOK F.A.M., HUGENHOLTZ J., SIEUWERTS S. and VAN HYLCKAMA VLIEG J.E.T., (2008)**,« Unraveling Microbial Interactions in Food Fermentations:

from Classical to Genomics Approaches », *Appl. Environ. Microbiol.*, 74(16):4997. DOI : 10.1128/AEM.00113-08., American Society for Microbiology, p. 4997-5007.

44. **DEBRY G., (2001)**, « Lait, nutrition et santé », Ed. Tec et Doc, Lavoisier, 566 p.
45. **DE ROISSART H. et LUQUET F.M., (1994)**, « Bactéries lactiques : aspects fondamentaux et technologiques », Volume 2, Ed. Loriga, 614 p.
46. **DE WIT H.C.D., (1992)**, « Histoire du développement de la biologie », Volume 3, Ed. Pudoc, Wageningen (Pays-Bas), 641 p.
47. **DIBOS C., (2010)**, « Interactions plante - pollinisateur : caractérisation de la qualité du pollen de deux cucurbitacées durant son ontogénèse, sa présentation et son transport sur le corps de l'abeille domestique », Thèse Doctorat, Université d'Avignon et du pays de Vaucluse, France, 191 p.
48. **DONADIEU Y., (1984)**, « Les Produits de la ruche: thérapeutiques, naturelles », Ed. Source de vie, paris, 61 p.
49. **DOUMANDJI A., (2007)**, « Effet de l'association de *Bifidobacterium bifidum* avec *Streptococcus thermophilus* sur l'activité antagoniste envers *Escherichia coli* entéro-pathogène », Sciences and Technologie, pp. 65-70.
50. **ELIAS L.G., JEFFERY L.E., WATTS B.M. et YEMMAKI G.L., (1991)**, « Méthodes de base pour l'évaluation sensorielle des aliments », Ed. CRCI, Ottawa ; Ontario (Canada), 145 p.
51. **ELIST J., (2006)**, « Effects of pollen extract preparation Prostat/Poltit on lower urinary tract symptoms in patients with chronic nonbacterial prostatitis/chronic pelvic pain syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled study ». *Urology*, 67(1):60-3.
52. **ELMER H. MARTH H. and WILLIAM T., (1984)**, « Survival of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* » in « commercial and experimental yoghurt », *Journal of food production*, pp. 781-786.
53. **FREDOT F., (2005)**, « Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique », Ed. Tec et Doc, Lavoisier: 10-14, 397 p.
54. **GOÛT J., (2008)**, « 250 réponses aux questions d'un ami des abeilles », La compagnie des éditions de Lesse (Belgique), 217 p.
55. **GUIRAUD J.P., (1998)**, « Microbiologie alimentaire », Tome 2, Ed. Dunod, Paris, 652 p.
56. **GUIRAUD J.P., (2003)**, « Microbiologie alimentaire : Industries agroalimentaires Technique et ingénierie », Tome 2, Ed. Dunod, Paris, 651 p.
57. **HARVEY A.G. and SHANNON E. M., (2004)**, « Dietary Proteins in the Regulation of Food Intake and Body Weight in Humans », *The Journal of Nutrition*, 134 : 974 S-979S.

- 58. HEDMAN C., REIN E. and WINTHER K., (2005),** « Femal, a herbalremedy made from pollen extracts, reduces hot flashes and improvesquality of life in menopausalwomen: arandomized, placebo-controlled, parallelstudy,Climacteric », 162-70.
- 59. HERBERT E.W.J., (1992),** « Honeybee nutrition ». In GRAHAM J.E.,« The hive and the honeybee », Dadant and Sons Inc. ; Hamilton, Illinois, pp. 197-223.
- 60. HERBERT E.W.J and MILLER-IHLI N. J., (1987),** « Seasonal variation of sevenminerals in honeybeecollected pollen ». American Bee Journal 127, pp. 367-369.
- 61. HUMAN H. and NICOLSON S.W., (2006),** « Nutritional content of fresh, be-collected and stored pollen of Aloegreatheadii var. davyana''Asphodelaceael'' ». Department of Zoology and Entomology, University of Pretoria, Lynnwood Road, South Africa, Phytochemistry 67, pp. 1486-1492.
- 62. JEANTET R., (2002),**« Les produits laitiers », Ed. Tec et Doc, Lavoisier, 776 p.
- 63. JEANTET R.,CROGUNNEC T., SCHUCK P. et BRULE G., (2007),**« Science des aliments : Technologie des produits alimentaires », Volume 5, Ed. Tec et Doc, Londres-Paris-New York, 449 p.
- 64. JEANTET R., CROGUENNEC T., MAHAUT M., SCHUCK P. et BRULE G., (2008),**« Les produits laitiers », Ed. Tec et Doc, Lavoisier (2^{ème} édition), Paris, 181 p.
- 65. LAUZE, (2002),** « Guide pratique de gestion... d'un établissement public local », Volume 2, 87 p.
- 66. LEFRANÇOIS P. et RURY F. (2009),** « Pollen », Révision scientifique coordonnée par la société canadienne de recherche sur les PSN. Disponible sur : http://www.passeportsante.net/fr/Solutions/NutritionSupplements/Fiche.aspx?doc=pollen_ps
Consulté le : 25/01/2013.
- 67. LENOIR I., SCHMIDT J.L. et TOURNEUR C., (1994),**« Fonction et choix des bactéries lactiques laitières ; in DE ROISSART H. et LUQUET F.M., « bactéries lactiques », Volume 2, Ed. Lavoisier, Paris, 37-46.
- 68. LEROUX G. et VIERLING E., (2007),**« Microbiologie et toxicologie des aliments : hygiène et sécurité alimentaire », Ed. Doin (4^{ème} édition), Bordeaux : CRDP d'Aquitaine, 290 p.
- 69. LUHOVYY B.L., Ph.D., AKHAVAN T., MSc, and HARVEY A.G., (2007),**« WheyProteins in the Regulation of Food Intake and Satiety », The Journal of the American College of Nutrition, 26 (6) : 704S-712S.
- 70. LUQUET F.M., (1985),**« Lait et produits laitiers (vache, brebis, chèvre) transformation et technologie », Ed. Tec et Doc, Lavoisier, Paris, 633 p.
- 71. LUQUET F.M. et CORRIEU G., (2005),**« Bactéries lactiques et probiotiques », Ed. Tec et Doc, Lavoisier, 77 p.

72. MAHAUT M., JEAUT R., BRULE G. et SCHUCK P., (2000), « Les produits industriels laitiers », Ed. Tec et doc, Lavoisier, Paris, 178 p.
73. MAIR N.S., SHARPE M. E. and SNEATH P.H.A., (1986), « Bergey's manual of determinative bacteriology », Volume 2, Lippincott Williams and Wilkins company, USA, 23p.
74. MARTIN-PREVEL Y., (2009), « Malnutrition dans le monde : un mal aux multiples facettes », Ed. Mission Agrobiosciences, France, 8 p.
75. MATHIEU J., (1998), « Initiation à la physico-chimie du lait », Guides technologiques des IAA, Ed. Tec et Doc ; Lavoisier, Paris, 220 p.
76. PAYETTE S. et ROCHEFORT L., (2001), « Ecologie des tourbières du Québec-Labrador », Ed. Les Presses de l'Université Laval, Québec, 625 p.
77. POUGHEON S., (2001), « Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière », Ecole Nationale Vétérinaire Toulouse (France) , 102 p.
78. POINTURIER H., (2003), « La gestion des matières dans l'industrie laitière », Ed. Tec et Doc, France, 388 p.
79. RAVAZZY G., (2007), « Abeille et apiculture », Ed. De Vecchi S.A., Paris, 159 p.
80. RIGHI M., (2006), « Microorganismes en action : le yaourt », PISTES, FSE, Université Laval.
81. RORTAIS A., ARNOLD G., HALM M.P. and TOUFFET-BRIENS F., (2005), « Modes of honey bee exposure to systemic insecticides: estimated amounts of contaminated pollen and nectar consumed by different categories of bees », *Apidology* 36, 71-83.
82. ROUPAUT H. et LEFRANCOE., (2005), « Alimentation théorique », Ed. Doin, France, 263 p.
83. SABLONNIERE B., (2001), « Technologie alimentaire », Ed. Ellipses, 189 p.
84. SANDER M., (2001), « Lactic acid bacteria and human health », *Dairy and Food Cul. Tec. USA.* 73, pp. 361-364.
85. TETART G., (2004), « Diététique naturelle et santé parfaite : Les produits apicoles », XVIIème congrès de l'AISLF, CR 17 "Sociologie et anthropologie de l'alimentation".
86. VIERLING E., (2008), « Aliments et boissons », Ed. Doin (3^{ème} édition), France, 277 p.
87. VIGNOLA C.L., (2002), « Science et technologie de lait : transformation du lait », École Polytechnique de Montréal (Canada), 603 p.

ANNEXES

PDF Create! 4 Trial
www.nuance.com

Annexe 1 :Présentation de l'unité « Trèfle »

Trèfle est une entreprise unipersonnelle à responsabilité limitée, créée en 1983. Trèfle s'est lancé dans la production du yaourt brassé avec une capacité de 3500 pots /heures.

En 1990, acquisition d'une nouvelle conditionneuse de capacité 6500 pots /heure, en utilisant le même process .Puis, la même année, acquisition d'une chaine de fromagerie (pâte molle et pâte pressée).

Après une période de stagnation due à la situation économique et sociale en Algérie, trèfle a acquis en Avril 1998 sa première ligne de conditionnement en yaourt étuvé, de capacité de production 12500 pots /heures. Au mois de Septembre à la même année, acquisition d'une deuxième ligne de conditionnement en crème dessert et yaourt aux fruits.

En 2000, acquisition d'une troisième ligne de conditionnement en yaourt étuvé, de capacité 12500 pots/heure. C'est en 2001 qu'il y a lancement du nouveau complexe avec transfert des équipements initiaux et acquisition d'une quatrième ligne de production en yaourt étuvé, de capacité 40.000 pots /heure, le tout alimenté par un atelier moderne de process APV, entièrement automatisé, portant la capacité totale de production à 77.500 pots /heure.

En 2002, renforcement de l'unité par deux nouvelles ligne de conditionnement, pour la production du yaourt brassé etdes fromages frais ainsi qu'une ligne SIDEL pour les produits frais et UHT en bouteilles avec une capacité de 25.000 bouteilles/jour.

Puis en décembre 2003, acquisition d'une septième ligne de conditionnement de capacité 40.000 pots/heure en yaourt étuvé et crème dessert.

L'entreprise Trèfle n'a cessé de se développer pour répondre à la demande, en lançant en septembre 2004, l'acquisition d'une nouvelle unité de conditionnement en bouteilles PET, de produits frais, de capacité 22.000 bouteilles/heure.

Ainsi, Trèfle une entreprise en pleine expansion travaillant avec un système de management de la capacité ISO 9001-2001 et a connu un développement fulgurant notamment depuis la création de l'actuel complexe. Ce développement est venu répondre à la demande exprimé par le marché en produits laitiers, demande qui résulte de la tendance observée chez le consommateur algérien, à introduire le produit laitier comme dessert, quelque fois en substitution aux fruits. Il faut signaler, en outre que ce développement n'a été rendu possible que grâce à la politique adopté par le pays en matière d'encouragement de l'investissement.

Situation géographique :

L'unité Trèfle est située dans la zone industrielle, cité 1 Ben Boulaide_ Blida.

Annexe 2 : Matériel utilisé au laboratoire de l'unité Trèfle

❖ Equipement

- Etuves d'incubation à 37°C, 25°C et 45°C
- Bain-marie
- Balance à précision
- Four Pasteur
- Autoclave
- Centrifugeuse GERBER à 1500 tr/mn fixe
- pH mètre
- Bec bensen
- Dessiccateur
- Plaque chauffante
- Thermomètre
- Réfrigérateur

❖ Verreries et autres matériels

- Becher, éprouvette
- Flacons et tubes à essai stériles
- Erlen Meyer
- Pipettes graduées
- Boîte de Pétri
- Fiole, putoirs
- Pipettes Pasteur
- Butyromètre
- Spatule
- Coupelles
- Pincés
- Casseroles et passoire

❖ **Milieux de culture**

- Gélose PCA
- Gélose VRBL (Milieu lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre)
- Gélose VF (Viande-Foie)
- Gélose de Sabouraud
- Gélose Chapman
- Gélose Hektoen
- Milieu TSE (Tryptone-Sel-Eau)
- EPT (Eau-Peptonée-Tamponnée)
- Milieu Giolitti Cantonii

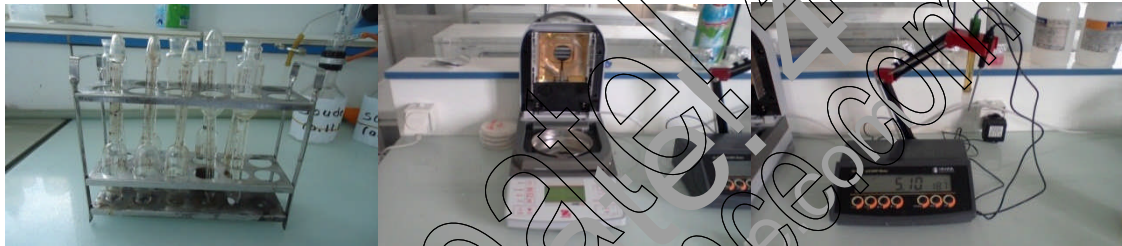


Figure 28: Butyromètres **Figure 29: Desiccateur** **Figure 30: pH mètre**




Figure 31 : Balance à précision **Figure 32: Bec bensen** **Figure 33 : Boîtes de Pétri**



Figure 34 : Bain-marie **Figure 35 : Centrifugeuse** **Figure 36 :Etuve d'incubation**

(Photos originales, 2013)

Annexe 3 : Fiche de dégustation de l'unité « Trèfle »

	IM 7.3.F FICHES DE DEGUSTATION	Révision 2 <hr/> Date : 02/01/2010 <hr/> Page 1/1
---	---	--

Nom :

Date de dégustation :

Prénom :

Référence :

Fonction :

Type de produit	N° De réf	Aromatisation					Texture			Goût	Couleur	Odeur	Autre commentaires
		Arôme	Caractéristique	Note de tête	Note de cœur	Note de fond	Aspect	Viscosité	Monthfeel (aspect en bouche)				

NB : Evaluation de 1-4 (1- très bon ; 2- bon ; 3- moyen ; 4- médiocre)

Annexe 4 :

a) Table de MAC-GRADY

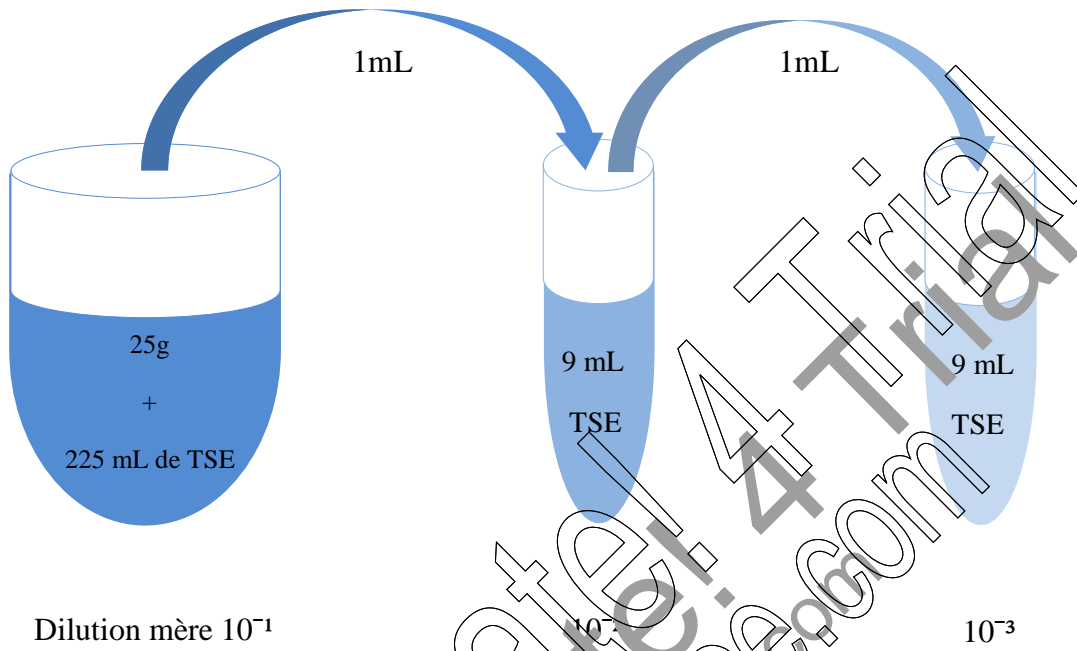
Nombre caractéristique	Nombre de micro-organismes
000	0,0
001	0,3
010	0,3
011	0,6
020	0,6
100	0,4
101	0,7
102	1,1
110	0,7
111	1,1
120	1,1
121	1,5
130	1,6
200	0,9
201	1,4
202	2,0
210	1,5
211	2,0
212	3,0
220	2,0
221	3,0
222	3,5
223	4,0
230	3,0
231	3,5
232	4,0
300	2,5
301	4,0
302	6,5
310	4,5
311	7,5
312	11,5
313	16,0
320	9,5
321	15,0
322	20,0
323	30,0
330	25,0
331	45,0
332	110,0
333	140,0

b) Table de NPP

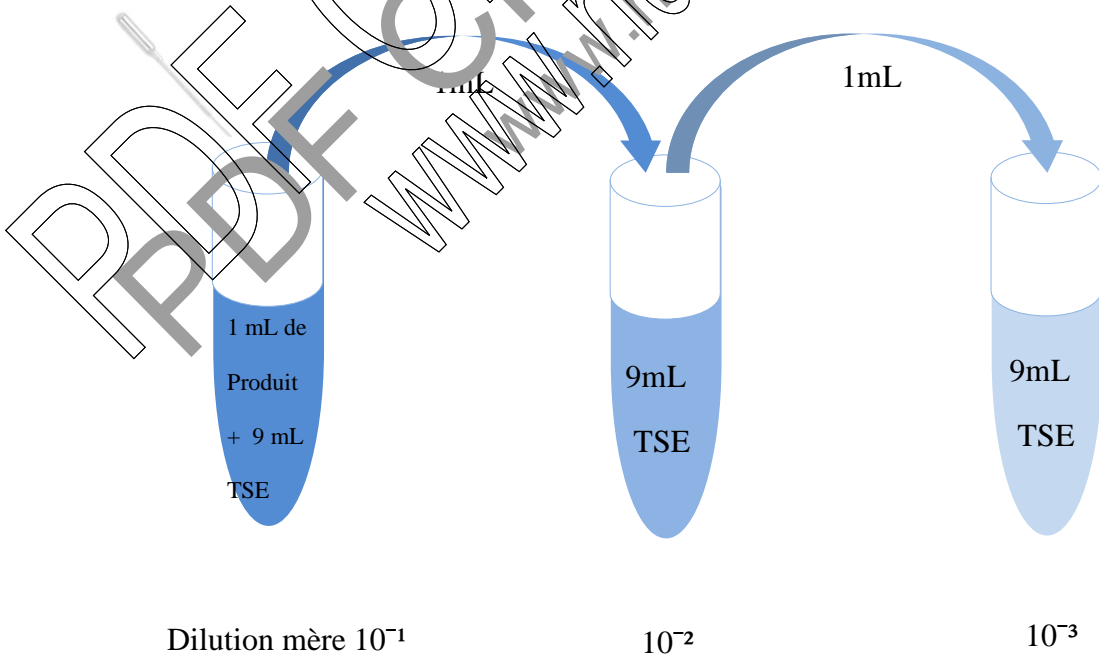
1*50 mL	5*10mL	5*1mL	Nombre caractéristique	Limite d'inférieur	supérieur
0	0	0	<1		
0	0	1	1	<0.5	4
0	0	2	2	<0.5	6
0	1	0	1	<0.5	4
0	1	1	2	<0.5	6
0	1	2	3	<0.5	8
0	2	0	2	<0.5	6
0	2	1	3	<0.5	8
0	2	2	4	<0.5	11
0	3	0	3	<0.5	8
0	3	1	5	<0.5	13
0	4	0	5	<0.5	13
1	0	0	1	<0.5	4
1	0	1	3	<0.5	8
1	0	2	4	<0.5	11
1	0	3	6	<0.5	15
1	1	0	3	<0.5	8
1	1	1	5	<0.5	13
1	1	2	7	<0.5	17
1	1	3	9	<0.5	21
1	2	0	1	<0.5	13
1	2	1	7	1	17
1	2	2	10	3	23
1	2	3	12	3	28
1	3	0	8	2	19
1	3	1	11	3	26
1	3	2	14	4	34
1	3	3	18	5	53
1	4	4	21	6	66
1	4	1	13	4	31
1	4	1	17	5	47
1	4	2	22	7	59
1	4	3	28	9	85
1	4	4	35	12	10
1	4	5	43	15	120
1	5	0	24	8	75
1	5	1	35	12	1
1	5	2	54	18	140
1	5	3	92	27	220
1	5	4	160	39	450
1	5	5	240		

Annexe 5 : Préparation des dilutions décimales

a) Cas des produits solides



b) Cas des produits liquides



Annexe 6 : Bulletin d'analyse physico-chimique du pollen



136 Rue Zabana Benboulaïd 09000 Blida. Tél/Fax 025369296

Autorisé par décision du ministre du commerce n° 078/06

Analyse Physico-chimique

Informations générales

Client	HARITI Khadidja	Produit	POLLENS
Adresse	Blida	Catégorie	POLLENS
Echantillon reçu le	09.04.2013	Date de péremption	-
Analyse effectuée le	10.04.2013		

Résultat de la recherche

Examens préliminaires

Paramètres	Résultats
Etiquetage/emballage	Non étiqueté.
Aspect et couleur	Mélange de grains de couleur jaune et orange.
Odeur et saveur	Caractéristique du produit exempt d'odeurs et de saveurs étrangères.

Analyses physico-chimiques

Paramètres	Résultat	Référence méthodes
PH à 20°C	4.86	NA751
Acidité (%)	1.60	NA 273
Protéines (%)	2.55	NA 672
Matière grasse (%)	6.70	ISO 1241
Taux de cellulose (%)	1.00	NA 717

Blida le 29.04.2013



La qualité est autrefois certifiée, elle est aujourd'hui mesurée et assurée.

LISTE DES ABREVIATIONS

Abs : Absence

ACC : Administrative Committee on Coordination

ASR : Anaérobies Sulfite Réducteur

AFNOR : Association Française de Normalisation

°C : degré Celsius

°D : degré Dornic

DEA : Disponibilités Energétiques Alimentaires

DM : Dilution Mère

EDTA : Acide Ethylène Diamine Tétracétique

EN : Equivalent niacine

EPT : Eau Peptonée Tamponnée

EST : Extrait Sec Total

ET : Equivalent-tocophérol

°F : Degré Français

FAO : Food and Agriculture Organization

g : gramme

GC : Giolitti Cantorini

h : heure

ISO : International Organization for Standardization

j : jour

JORA : Journal Officiel de la République Algérienne

Kcal : Kilocalories

Kg : Kilogramme

µm : micro micromètre

MG : Matière Grasse

mg : milligramme

mL : millilitre

mn : minute

N : Normalité

NB : Noté Bien

NPP : Nombre le Plus Probable

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ONG : Organisation Non Gouvernementale

PCA : Plate Count Agar

PED : Pays En Développement

pH : potentiel d'hydrogène

s : seconde

SCN : Subcommittee on Nutrition

SFB : bouillon d'enrichissement au sélénite de sodium et à la cystéine

T : Temps

T° : Température

TA : Titre Alcalin

TAC : Titre Alcalimétrique Complet

TH : Taux d'humidité

tr : tour

TSE : Tryptone-Sel-Fau

UFC : Unité Faisant Colonie

UHT : Ultra Haute Température

V : Volume

VF : Viande - Foie

VRBL : Violet Red Bile Agar with Lactose

Etude bibliographique

PDF Creator! 4 Trial
www.nuance.com

Chapitre I : Généralités sur le lait

Chapitre II : Yaouu

Chapitre II Le pollen

Etude expérimentale

PDF Create! 4 Trial
www.nuance.com

Chapitre IV : Matériel et méthodes

Chapitre V : Résultats et discussion

Conclusion

PDF Create! 4 Trial
www.nuance.com

Introduction

PDF Create! 4 Trial
www.nuance.com

Annexe 7 : Tableaux de l'analyse de la variance pour tous les paramètres physico-chimiques

Analyse de variance du pH

a) Après production (j0) :

	SCE	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	ET	CV
VAR TOTALE	0,07	5	0,01				
VAR FACTEUR 1 "DOSE"	0,07	2	0,03	163	0,0007		
VAR RESIDUELLE 1 "DOSE"	0	3	0			0,01	0,30%

b) Au cours du stockage :

	SCE	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	ET	CV
VAR .TOTALE	0,66	29	0,02				
VAR. FACTEUR 1 "TEMPS"	0,39	4	0,1	125,15			
VAR. FACTEUR 2 "DOSE"	0,24	2	0,12	154,1	0		
VAR. INTER F1.2 "TEMPS ET DOSE"	0,02	8	0	3,48	0,0181		
VAR .RESIDUELLE 1	0,01	15	0			0,03	0,70%

Analyse de variance d'acidité titrable

a) Après production (j0) :

	SCE	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	ET	CV
VAR TOTALE	145,33	5	29,07				
VAR FACTEUR 1 "DOSE"	49,33	2	24,67	0,77	0,5382		
VAR RESIDUELLE 1 "DOSE"	96	3	32			5,66	7,20%

b) Au cours du stockage :

	SCE	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	ET	CV
VAR .TOTALE	511,17	29	176,46				
VAR. FACTEUR 1 "TEMPS"	2164,8	4	541,2	8,13	0,0011		
VAR. FACTEUR 2 "DOSE"	1672,27	2	836,13	12,57	0,0007		
VAR. INTER F1.2 "TEMPS ET DOSE"	282,4	8	35,3	0,53	0,8165		
VAR .RESIDUELLE 1	908	15	66,53			8,16	9,20%

Analyse de variance de l'extrait sec

a) Après production (j0) :

	SCE	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	ET	CV
VAR TOTALE	4,58	5	0,92				
VAR FACTEUR 1 "DOSE"	3,82	2	1,91	7,48	0,0683		
VAR RESIDUELLE 1 "DOSE"	0,76	3	0,25			0,5	2,00%

b) Au cours du stockage :

	SCE	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	ET	CV
VAR .TOTALE	33,85	29	1,17				
VAR. FACTEUR 1 "TEMPS"	3,49	4	0,87	1,09	0,3967		
VAR. FACTEUR 2 "DOSE"	16,59	2	8,29	10,39	0,0015		
VAR. INTER F1.2 "TEMPS ET DOSE"	1,8	8	0,22	0,28	0,9615		
VAR .RESIDUELLE 1	11,98	15	0,8			0,89	3,70%

Analyse de variance de la matière grasse

a) Après production (j0) :

	SCE	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	ET	CV
VAR TOTALE	6,15	5	1,03				
VAR FACTEUR 1 "DOSE"	1,65	2	0,83	0,55	0,6268		
VAR RESIDUELLE 1 "DOSE"	4,5	3	1,5			1,22	34,70%

b) Au cours du stockage :

	SCE	DDL	CARRES MOYENS	TEST F	PROBA	ET	CV
VAR .TOTALE	2,82	29	0,1				
VAR. FACTEUR 1 "TEMPS"	0,05	4	0,01	4,2	0,017		
VAR. FACTEUR 2 "DOSE"	2,69	2	1,35	508,4	0		
VAR. INTER F1.2 "TEMPS ET DOSE"	0,04	8	0,01	2	0,1174		
VAR .RESIDUELLE 1	0,04	15	0			0,05	1,40%

Annexe 8 : Résultats des analyses physico-chimiques des produits finis après production (j0)

Tableau 26 : Valeurs des pH des produits finis

Produit fini Paramètre	Témoin	Essai 1	Essai 2	Norme Algérienne (JORA N°35, 1998)
pH	4,55 ± 0,01	4,30 ± 0,01	4,47 ± 0,01	4,1-4,7

Tableau 27 : Valeurs des acidités titrables des produits finis

Produit fini Paramètre	Témoin	Essai 1	Essai 2	Norme Algérienne (JORA N°35, 1998)
Acidité titrable (°D)	75,00 ± 5,66	82,00 ± 5,66	78,00 ± 5,66	75-105

Tableau 28 : Valeurs de l'extrait sec des produits finis

Produit fini Paramètre	Témoin	Essai 1	Essai 2	Norme Algérienne (JORA N°35, 1998)
Extrait sec (%)	23,97 ± 0,27	24,57 ± 0,82	25,88 ± 0,14	22-25

Tableau 29 : Valeurs de la matière grasse des produits finis

Produit fini Paramètre	Témoin	Essai 1	Essai 2	Norme Algérienne (JORA N°35, 1998)
Teneur en MG (%)	3,30 ± 0,00	3,80 ± 0,00	4,00 ± 0,00	3-4

Annexe 9 : Suivi des paramètres physico-chimiques au cours du stockage

Tableau 30 : La variation du pH au cours du stockage

Temps (j) Produit fini	T0	T7	T14	T21	T28
Témoin	4,55 ± 0,01	4,39 ± 0,02	4,36 ± 0,01	4,30 ± 0,03	4,20 ± 0,00
Essai 1	4,30 ± 0,01	4,16 ± 0,01	4,13 ± 0,00	4,07 ± 0,02	4,02 ± 0,04
Essai 2	4,47 ± 0,01	4,40 ± 0,02	4,26 ± 0,00	4,17 ± 0,00	4,08 ± 0,01

Tableau 31 : La variation de l'acidité titrable au cours du stockage (°D)

Temps (j) Produit fini	T0	T7	T14	T21	T28
Témoin	75,00 ± 5,66	77,00 ± 1,00	80,00 ± 2,00	82,00 ± 3,00	85,00 ± 5,00
Essai 1	82,00 ± 5,66	90,00 ± 7,00	97,00 ± 6,00	105,00 ± 7,00	112,00 ± 5,00
Essai 2	78,00 ± 5,66	81,00 ± 11,00	92,00 ± 5,00	97,00 ± 5,00	107,00 ± 7,00

Tableau 32 : La variation de la teneur en matière sèche au cours du stockage (%)

Temps (j) Produit fini	T0	T7	T14	T21	T28
Témoin	23,97 ± 0,27	23,87 ± 0,26	23,82 ± 0,72	23,80 ± 0,24	23,70 ± 0,28
Essai 1	24,57 ± 0,82	24,55 ± 0,23	23,41 ± 0,27	23,21 ± 0,06	22,73 ± 0,78
Essai 2	25,88 ± 0,14	25,57 ± 1,32	25,44 ± 0,32	25,24 ± 0,72	24,82 ± 0,07

Tableau 33 : La variation de la teneur en matière grasse au cours du stockage (%)

Temps (j) Produit fini	T0	T7	T14	T21	T28
Témoin	3,30 ± 0,00	3,30 ± 0,00	3,30 ± 0,00	3,20 ± 0,00	3,20 ± 0,00
Essai 1	3,80 ± 0,00	3,80 ± 0,00	3,80 ± 0,00	3,80 ± 0,00	3,80 ± 0,00
Essai 2	4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00	3,80 ± 0,00

Annexe 10 : Tableaux des évaluations sensorielles

Tableau 34 : L'évaluation organoleptique de l'essai 1 (Enfants)

	1	2	3	4
Texture	80%	10%	10%	0%
Goût	80%	20%	0%	0%
Couleur	90%	0%	0%	10%
Odeur	80%	10%	0%	10%

Tableau 35 : L'évaluation organoleptique de l'essai 2 (Enfants)

	1	2	3	4
Texture	50%	40%	10%	0%
Goût	90%	10%	0%	0%
Couleur	70%	30%	0%	0%
Odeur	40%	20%	30%	10%

Tableau 36 : L'évaluation organoleptique de l'essai 1 (Femmes)

	1	2	3	4
Texture	60%	30%	10%	0%
Goût	40%	40%	20%	0%
Couleur	40%	40%	20%	0%
Odeur	40%	20%	40%	0%

Tableau 37 : L'évaluation organoleptique de l'essai 2 (Femmes)

	1	2	3	4
Texture	50%	60%	10%	0%
Goût	10%	70%	20%	0%
Couleur	20%	60%	20%	0%
Odeur	30%	50%	20%	0%

Tableau 38 : L'évaluation organoleptique de l'essai 1 (Hommes)

	1	2	3	4
Texture	20%	60%	20%	0%
Goût	20%	60%	20%	0%
Couleur	20%	60%	20%	0%
Odeur	20%	40%	30%	10%

Tableau 39 : L'évaluation organoleptique de l'essai 2 (Hommes)

	1	2	3	4
Texture	0%	80%	0%	20%
Goût	10%	40%	40%	10%
Couleur	10%	50%	40%	0%
Odeur	10%	30%	40%	20%

Tableau 40 : L'évaluation organoleptique de l'essai 1 (Ensemble du panel)

	Très bon	Bon	Moyen	Médiocre
Texture	53,33%	33,33%	13,33%	0%
Goût	46,66%	40%	13,33%	0%
Couleur	50%	33,33%	13,33%	3,33%
Odeur	46,66%	23,33	23,33%	6,66%

Tableau 41 : L'évaluation organoleptique de l'essai 2 (Ensemble du panel)

	Très bon	Bon	Moyen	Médiocre
Texture	26,66%	60%	6,66%	3,6 %
Goût	36,66%	40%	20%	3,33%
Couleur	33,33%	46,66%	20%	0%
Odeur	26,66%	33,33%	30%	10%

Introduction

Dans les pays en développement (PED), les carences en micronutriments représentent un problème de santé publique aux conséquences physiologiques et économiques non négligeables (ANONYME, 1992). Les principales carences identifiées concernent les carences en iode, fer et vitamine A, mais d'autres carences comme la carence en zinc, vitamine B12, riboflavine et acide folique coexistent probablement même si leur existence et importance n'ont pas encore été bien étudiées (ANONYME, 2000).

Ces carences en micronutriments forment ce que l'on a appelé la « faim cachée », celle qui a longtemps été négligée. Et pourtant! Cette « faim cachée » concerne environ 3 milliards d'individus, qui souffrent donc d'une malnutrition par carence dont les conséquences sont peut-être moins visibles, moins criantes que la faim, mais pas moins importantes (MARTIN-PREVEL, 2009).

Les programmes à mettre en œuvre pour contrôler les carences en micronutriments doivent intégrer différentes approches comme la supplémentation et les approches alimentaires telles que la diversification alimentaire et l'enrichissement d'aliments (BERGER *et al.*, 2003).

Cette forte demande de Bien - Être, mêlée à toutes ces carences, a conduit à la création d'un nouveau marché : celui des alicaments. Ils consistent en des aliments sains, couvrant les besoins nutritifs, et apportant au corps la prévention des certaines maladies. Ils ont donc, au-delà de leur premier rôle qui est de nourrir, des vertus pour la santé.

Selon TETART (2004), L'alimentation « naturelle » suppose le renforcement des forces de vie, a fortiori de la fécondité. Une illustration en est donnée à travers les produits de la ruche (miel, propolis, gelée royale, pollen) : nutriments qualifiés de « naturels » par excellence, ils sont recommandés pour leurs qualités énergétiques pures. Cela ne va pas sans une orientation idéologique où la vision ethnocentrée d'une harmonie homme-nature conduit à la définition d'une santé idéale, biologique et psychique.

Le pollen d'abeille est un sous-produit de l'apiculture, caractérisé par une richesse nutritionnelle exceptionnelle, une cuillère à soupe chaque matin équivaut à 1 à 5 kilos de fruits et légumes en teneurs dans certains micros-nutriments. Les pollens contiennent des ferments lactiques, des glucides, des protéines et des acides aminés, des micros-nutriments, des vitamines (B, C et E), des minéraux, des polyphénols, des antioxydants,... bref un concentré de dynamisme au quotidien! (ABONEOBIO, 2008).

En Algérie, le lait occupe une place importante dans la ration alimentaire de chacun, quel que soit son revenu. Afin de combler le déficit en protéines d'origine animale, les populations à faibles revenus recourent généralement à la consommation de lait parce que, d'une part, en tant que produit très riche en nutriments, le lait peut suppléer à d'autres produits coûteux tels que la viande par exemple et, d'autre part, il est subventionné par l'Etat.

Dans beaucoup de cas, les produits laitiers constituent également un substitut aux fruits de saison pour certaines catégories de ménage, en raison des prix généralement très élevés de ces derniers (AMELLAL, 1995).

Introduction

C'est dans cette perspective que notre intérêt a porté sur l'incorporation du pollen d'abeille qui est une substance nutritionnelle très riche dans un produit à forte consommation « le yaourt ».

Notre travail sera donc réparti en cinq chapitres, initié par une recherche bibliographique où nous apportons dans le premier chapitre des généralités sur le lait. Dans Le deuxième chapitre nous élucidons le yaourt avec leur technologie de fabrication et dans le dernier chapitre de la partie bibliographique nous exposons le pollen. La partie pratique est subdivisée en deux chapitres, dans le premier (4^{ème} chapitre) nous présentons le matériel et les méthodes utilisés pour la réalisation de ce travail à savoir :

- Un contrôle physico-chimique et microbiologique de la matière première (poudre de lait, sucre, eau de process et le pollen).
- Formulation de yaourt à base de pollen.
- Suivi de la stabilité des produits finis " yaourt témoin et enrichi " sur le plan physico-chimique et microbiologique.
- une évaluation sensorielle.

Enfin dans le cinquième chapitre nous discutons les résultats obtenus dans cette étude.

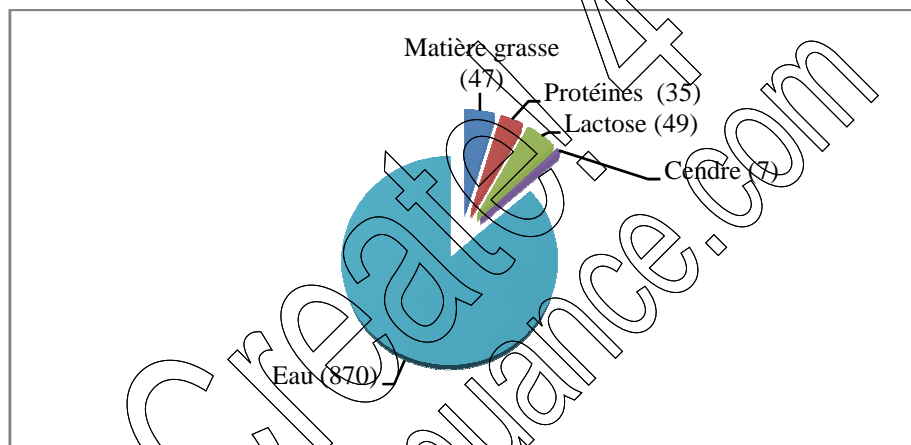
I.1. Définition du lait

La dénomination « lait » sans indication de l'espèce animale de provenance, est réservée au lait de vache. Le lait est alors le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie, non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum (ROUDAUT et LEFRANCQ, 2005).

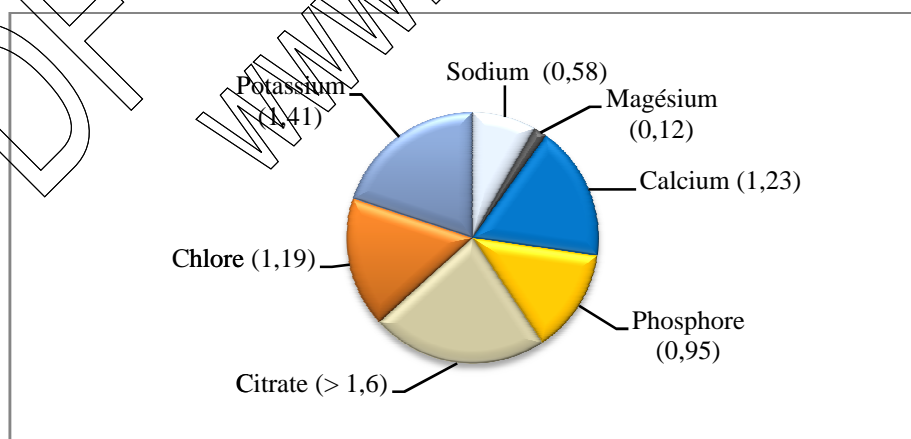
Le lait est un fluide opaque, blanc mat, plus ou moins jaunâtre d'une saveur douce et d'un pH légèrement acide proche de la neutralité (DEBRY, 2001). Il est à la fois aliment et boisson d'un grand intérêt nutritionnel, et aliment traditionnel par excellence (VIERLING, 2008).

I.2. Composition du lait

Le lait contient presque tous les éléments nutritifs nécessaires à la croissance du jeune mammifère (figure 1 "a et b"), néanmoins il n'est pas un aliment complet, car carencé en fer et acides aminés soufrés (méthionine, cystéine) (JEANTET *et al.* 2008).



a) Composition biochimique du lait (g.L⁻¹).



b) Composition minérale du lait (g.L⁻¹).

Figure 1 : Composition globale du lait de vache (JEANTET *et al.*, 2008).

I.2.1. L'eau :

Elle est le composé le plus abondant 87 g pour 100g. Elle joue le rôle de dispersant des différents constituants du lait (MAHAUT *et al.*, 2000).

I.2.2. Les glucides :

Ils représentent près de 4.8 g pour 100 g. La quasi-totalité des glucides est sous forme de lactose hydraté. Une très faible partie est sous forme de polysaccharides libres ou de glucides combinés.

Le lactose représente près d'un tiers de la valeur énergétique du lait entier, ce qui est insuffisant pour faire du lait un aliment équilibré (VIERLING, 2008).

Il est en effet une source d'énergie pour les bactéries lactiques qui le transforment par voie fermentaire en acide lactique (LUQUET, 1985).

I.2.3. La matière grasse :

JEANTET *et al.* (2008) rapportent que la matière grasse (MG) est présente dans le lait sous forme de globules gras de diamètres de $10 \cdot 10^{-6}$ à 0.1 μ m et est essentiellement constituée de triglycérides (98%). La matière grasse du lait de vache 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 (tableau 1).

Tableau 1 : Composition lipidique moyenne du lait de vache

Classe des lipides	Pourcentage des lipides totaux (%)
Triacylglycérols	97,50
Diacylglycérols	0,36
Monoacylglycérols	0,027
Acides gras libres	0,027
Cholestérol	0,31
Hydrocarbures	Traces
Caroténoïdes	0,008
Phospholipides	0,60

(JEANTET *et al.*, 2007)

Les phospholipides représentent moins de 1% de la matière grasse, sont plutôt riches en acides gras insaturés. Le lait de vache est pauvre en acides gras essentiels (acide linoléique C18:2 et acide linoléique C18:3) par rapport au lait de femme (1.6% contre 8.5% en moyenne) (JEANTET *et al.*, 2008).

La figure 2 présente un globule gras du lait.

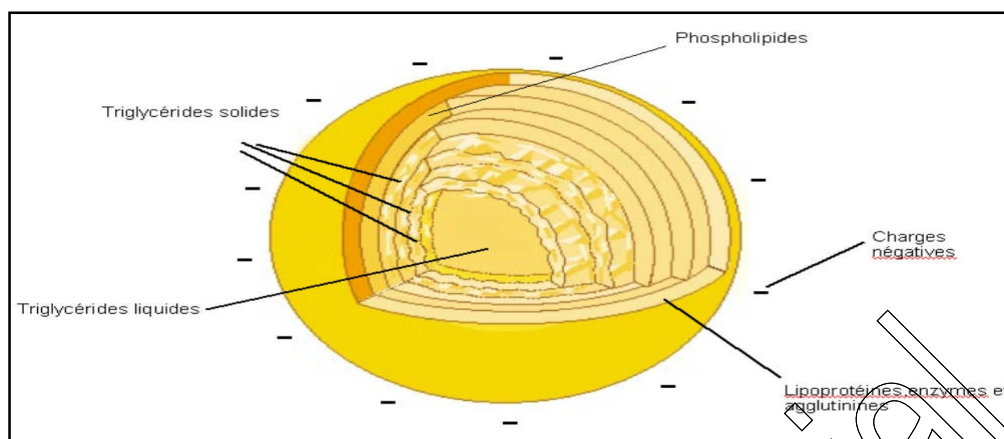


Figure 2 :Structure d'un globule de matière grasse (VIGNOLA, 2002).

I.2.4. Les protéines et autres dérivés azotés du lait :

La teneur en dérivés azotés du lait est $3,44 \pm 0,18$ g pour 100 g dans les laits de grand mélange, résultat obtenu en multipliant la teneur en azote totale par 6,38. Les protéines représentent 95% des matières azotées du lait et l'azote non protéique avec 5% (VIERLING, 2008). (Tableau 2).

Tableau 2 : Les dérivés azotés du lait

Protéines 95%		Azote non protéique 5%	
près de 78%	17%	< 1%	5%
Caséines, fraction micellaire insoluble à pH 4,6	Protéines solubles : - albumine 4% - globulines 10,2% - autres	Divers Enzymes...	Urée Acide urique Acides aminés libres Nucléotides

(VIERLING, 2008)

Les protéines laitières fournissent 12% de l'apport énergétique total. L'apport conseillé est de 70 g/jour. L'ingestion d'un litre de lait couvre 80% des besoins protéiques (JEANTET et al., 2008).

I.2.5. Les vitamines :

Les vitamines sont des substances biologiquement indispensables à la vie puisqu'elles participent comme cofacteurs dans les réactions enzymatiques et dans les échanges à l'échelle des membranes cellulaires (VIGNOLA, 2002).

Les vitamines sont réparties en deux classes selon leur solubilité, soit les vitamines hydrosolubles et les vitamines liposolubles (tableau 3).

Tableau 3 : Teneur moyenne des principales vitamines du lait

Vitamines	Teneur moyenne
Vitamines liposolubles :	
Vitamine A (+ carotène)	40 µg/100 mL
Vitamine D	2,4 µg/100 mL
Vitamine E	100 µg/100 mL
Vitamine K	5 µg/100 mL
Vitamines hydrosolubles :	
Vitamine C (acide ascorbique)	2 mg/100 mL
Vitamine B1 (thiamine)	45µg/100 mL
Vitamine B2 (riboflavine)	175 µg/100 mL
Vitamine B6 (pyridoxine)	50µg/100 mL
Vitamine B12 (cyanocobalamine)	0,45 µg/100 mL
Niacine et niacinamide	90 µg/100 mL
Acide pantothénique	350 µg/100 mL
Acide folique	5,5 µg/100 mL
Vitamine H (biotine)	3,5 µg/100 mL

(VIGNOLA, 2002)

I.2.6. Les minéraux :

D'après ALAIS *et al.* (2003), le lait est une source très riche en minéraux, d'où son importance dans l'alimentation humaine et plus particulièrement pour l'apport de calcium.

La matière minérale du lait de vache obtenue après incinération, représente en moyenne 7g/L, répartie de manière complexe entre la phase colloïdale et la phase soluble du lait (DEBRY, 2001). (Tableau 4).

Tableau 4 : Composition du lait en minéraux

Minéraux	Teneur (mg/kg)	Minéraux	Teneur (mg/kg)
Sodium (Na)	445	Calcium (Ca)	1180
Magnésium (Mg)	105	Fer (Fe)	0,50
Phosphore (P)	896	Cuivre (Cu)	0,10
Chlore (Cl)	958	Zinc (Zn)	3,80
Potassium (K)	1500	Iode (I)	0,28

(VIGNOLA, 2002)

I.2.7. Les enzymes :

POUGHEON(2001) définit les enzymes comme des substances organiques de nature protidique, produites par des cellules ou des organismes vivants, agissant comme catalyseurs dans les réactions biochimiques. Environ 60enzymes principales ont été répertoriées dans le lait dont 20 sont des constituants natifs.

Le lait contient principalement trois groupes d'enzymes : les hydrolases (estérases, protéases), les déshydrogénases ou oxydases (sulphydrique oxydase et xanthine oxydase) et les oxygénases (lactoperoxydase, catalase)(**VIGNOLA, 2002**).

I.3. Caractères physico-chimiques du lait

Les principales propriétés physicochimiques du lait sont la masse volumique, la densité, le point de congélation, le point d'ébullition et l'acidité (Tableau 5).

Tableau 5 : Caractéristiques physico-chimiques du lait de vache

Constantes	Moyennes	Valeurs extrêmes
Energie(kcal/litre)	701	587à 876
Densité du lait entier à 20 °C	1,031	1,028à 1,033
Densité de la matière grasse	-	0,94 à 0,96
pH à 20°C	6,6	6,6 à 6,8
Acidité titrable (°Dornic)	16	15à 17
Chaleur spécifique du lait entier à 15 °C	0,940	-
Point de congélation (°C)	-	-0,520à -0,550
Viscosité du lait entier à 20 °C (centipoises)	2,2	-
Viscosité du lait entier à 25 °C (centipoises)	1,8	1,6à2,1
Point d'ébullition (°C)	-	100,17à100,15

(ANONYME, 1995)

I.4. Caractéristiques microbiologiques du lait

Du fait de sa composition, le lait est un excellent substrat pour la croissance microbienne. Ainsi le lait comporte une flore originelle et une flore de contamination.

I.4.1. Flore originelle :

Le lait contient peu de micro-organismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, à partir d'un animal sain (moins de 10^3 germes /mL). Il s'agit essentiellement des germes saprophytes de pis et des canaux galactophores : microcoques, streptocoques lactiques, lactobacilles (**GUIRAUD, 2003**).

I.4.2. Flore de contamination :

Le lait peut être contaminé par divers micro-organismes de l'environnement : entérobactéries, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, microcoques, corynébactéries, *Bacillus*,... par l'intermédiaire du matériel de traite et de stockage du lait, par le sol, l'herbe ou la litière.

Des contaminations d'origine fécale peuvent entraîner la présence de *Clostridium*, d'entérobactéries coliformes et éventuellement d'entérobactéries pathogènes : *Salmonella*, *Yersinia*, *Campylobacter*.

Les laits d'animaux malades peuvent, enfin, contenir des germes pathogènes pour l'Homme : *Staphylococcus aureus* (agent de mammites infectieuses chez la vache), *Brucella* (agent de la fièvre de Malte), *Listeria*, ainsi que différents virus. Ceci explique l'importance d'un contrôle sanitaire rigoureux (LEYRAL et VIERLING, 2007).

II.1. Définition

La dénomination yaourt (ou yoghourt) est réservée au lait fermenté obtenu, selon les usages loyaux et constants, par le développement des seules bactéries lactiques thermophiles spécifiques dites *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*(ANONYME, 2009). Ces bactéries doivent se trouver vivantes dans le produit fini à raison d'au moins 10 millions de bactéries par gramme (FREDOT,2005). Le yaourt doit contenir plus de 0,8 g d'acide lactique pour 100 g de produit(ROUDAUT et LEFRANCQ, 2005).L'origine du mot « yaourt » date de 1798 et vient du turc yogurt, de yogurmak (épaissir)(RIGHI, 2006).

II.2.Les différents types de yaourt

Il existe différents types de yaourt et qui sont classés :

II.2.1. Selon le procédé technologique de fabrication :

- **Yaourt étuvé ou ferme** : la fermentation et le refroidissement du yaourt à lieu en pot, sa texture est ferme à la surface lisse et son aspect est comme une gelée compacte (JEANTET et al., 2007).
- **Yaourt brassé** :la fermentation a lieu en cuve avant brassage et conditionnement, c'est le cas de yaourt velouté nature ou aux fruits (MAHAUT et al., 2000).
- **Yaourt à boire** : un yaourt à boire est un lait fermenté brassé de faible viscosité. Il est normalement aromatisé à l'aide de jus ou de purées de fruits. Il est plutôt consommé comme une boisson rafraichissante que comme un aliment (BEAL et SODINI, 2003).

II.2.2. Selon la teneur en matière grasse :

- **Yaourt entier** : contenant une teneur minimale de 3% en matière grasse laitière, en pratique de 3 à 4,5% (VIGNOLA, 2002).
- **Yaourt partiellement écrémé** : ce type de yaourt contient moins de 3% de matière grasse en pratique de 1 à 2% (LUQUET et CORRIEU, 2005).
- **Yaourt écrémé** : au maximum 0,5% (en poids) de matière grasse; en pratique de 0,05 à 0,1%(ANONYME, 1995).

II.2.3. Selon le goût :

- **Yaourt nature** : il ne subit aucune addition.
- **Yaourt aromatisé**:ont été ajoutés des aliments aromatisants avec ou sans adjonction d'ingrédients facultatifs dans le produit fini.
- **Yaourt fruité** : addition des fruits.
- **Yaourt light**: addition des édulcorants(ANONYME, 2000).

II.3. Composition et valeur nutritionnelle du yaourt

II.3.1. Les ferments lactiques :

Depuis plus de 4000 ans, les bactéries lactiques sont utilisées pour fabriquer bon nombre de produits fermentés et notamment des produits laitiers (fromages, yaourts) (CORRIEU, 2008).

Les bactéries lactiques ont en commun la capacité de fermenter les sucres en acide lactique. Certaines sont dites « homofermentaires » car elles produisent majoritairement de l'acide lactique alors que d'autres sont dites « hétérofermentaires » et produisent de l'acide lactique en même temps que d'autres composés (acétate, éthanol et CO₂) (SANDER, 2001).

Les ferments lactiques les plus utilisés dans l'industrie de yaourt sont les « *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* ». Le tableau 6 indique les principaux caractères des deux souches.

Tableau 6 : Principaux caractères des souchesensemencées (MAIR et al., 1986)

<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>
<ul style="list-style-type: none"> • Croissance optimale (32-42°C). • Ne se développe pas en dessus de 15°C. • Se développe encore à 50°C. • Homofermentaire, produit très peu d'arômes du yaourt (acétone, acétaldéhyde). • Production d'acide lactique L(+) jusqu'à une concentration de 0,7 à 0,8%. • Supporte un milieu acide pH=4 à 4,5. 	<ul style="list-style-type: none"> • Croissance optimale (42-47°C). • Ne se développe pas en dessus de 15°C. • Se développe encore à 52°C. • Homofermentaire, produit un peu d'acétaldéhyde responsable de l'arôme du yaourt. • Production d'acide lactique D(-) jusqu'à une concentration de 1,7%. • Supporte un milieu acide pH=4 à 4,5.

II.3.1.1. Intérêts et fonctions des bactéries du yaourt :

➤ Production d'acides et abaissement du pH :

La production d'acide lactique est une des principales fonctions des bactéries lactiques en technologie laitière, car cet acide permet de concentrer et de conserver la matière sèche du lait, en intervenant comme coagulant et antimicrobien (LENOIRET *et al.*, 1994). Le métabolisme est de type homofermentaire (production exclusive de l'acide lactique).

L'acidité du yaourt est communément exprimée en degré Dornic (1°D = 0,1 g/L d'acide lactique). Elle doit être supérieure à 80 °D (BRIBOSIA *et al.*, 2003).

➤ Activité protéolytique :

Pour satisfaire leurs besoins en acides aminés, les bactéries du yaourt doivent dégrader la fraction protéique du lait constituée de caséine et de protéines sériques (LEYRAL et VIERLING, 2007). Comme le lait n'en contient pas suffisamment ; les protéases de *L. bulgaricus* dégradent donc les caséines fournissant ainsi les facteurs de croissance à *S.*

thermophilus. Celui-ci, à son tour fournit à *L. bulgaricus* de l'acide formique, le CO₂ et l'acide pyruvique(DOUMANDJI, 2007).

➤ **Activité aromatique :**

Les bactéries lactiques jouent un rôle important sur les propriétés organoleptiques du produit dans lequel elles se développent cela est dû aux composés organiques qu'elles sécrètent par transformation du milieu.

Dans le cas du lait, le citrate joue un rôle essentiel. A partir de ce composé les bactéries lactiques produisent le diacétyl, l'acétaldéhyde, l'acétate et le dioxyde de carbone qui sont les principaux responsables de l'arôme des produits laitiers fermentés (LENOIR et al., 1994).

L'acétaldéhyde est un composé important pour l'arôme du yaourt. C'est le *L. bulgaricus* qui est responsable de sa formation grâce à la thréonine aldolase.

Les *S. thermophilus* produisent un diacétyl qui confère au yaourt une saveur crémeuse(ELMER et al., 1984).

➤ **Activité bactériostatique :**

Les bactéries lactiques sont connues et utilisées pour leurs propriétés antagonistes vis à vis des flores pathogènes et d'altération(BONNEMAIRE et al., 2005).

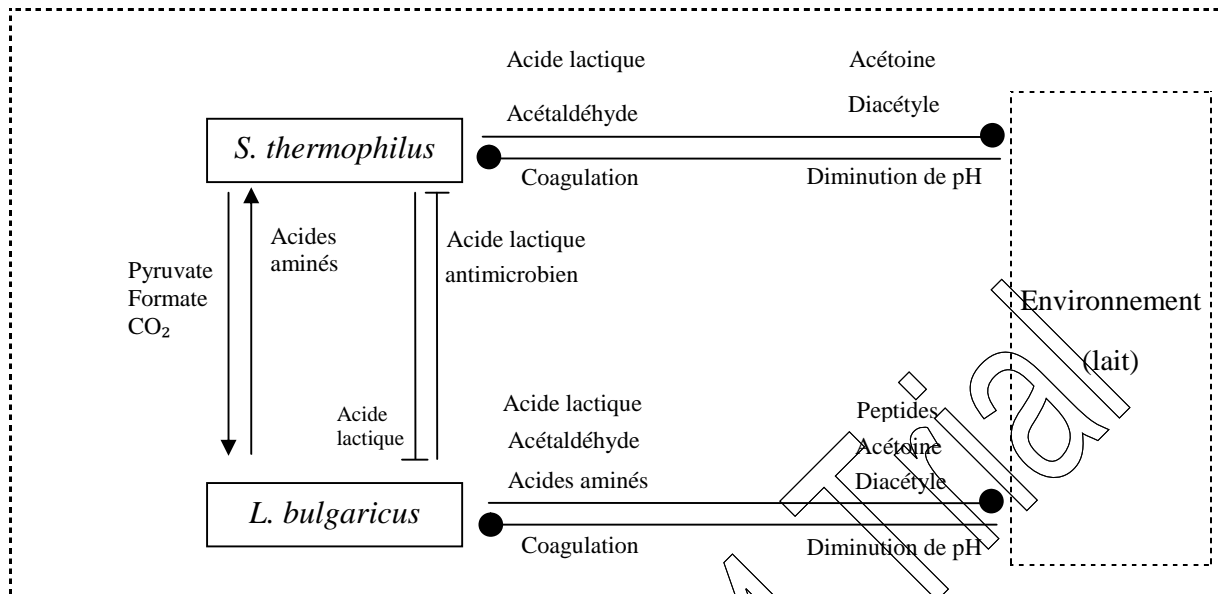
Elles excrètent des métabolites: acide lactique et autres acides organiques, diacétyl, peroxyde d'hydrogène et surtout des antibiotiques (BOURGEOIS et LEVAUX, 1991).

II.3.1.2. Synergie des bactéries de yaourt :

Les bactéries lactiques vivent en synergie trophique dans le yaourt et cette association est connue sous le nom de proto-coopération. Elle est caractérisée par la mise en évidence de la production d'acide lactique : la quantité d'acide lactique produite par la culture mixte est largement supérieure à celle produite par chaque culture pure séparément (DE ROISSART et LUQUET, 1994).

Pour se développer, les bactéries ont besoin d'acides aminés et de peptides directement utilisables. Or, le lait n'en contient que de faibles quantités permettant seulement de démarrer leur croissance. Ensuite, le *L. bulgaricus*, par son activité protéolytique, attaque la caséine qui libère les peptides permettant au *S. thermophilus* de poursuivre sa croissance. De son côté, le *S. thermophilus* stimule le *L. bulgaricus* par production d'acide formique, le CO₂ et l'acide pyruvique.

Lorsque l'on ensemence du lait avec les bactéries du yaourt, le pH (6,6-6,8) est favorable au *S. thermophilus* qui assure le départ de la fermentation lactique. L'acidité, en se développant, devient défavorable au *S. thermophilus* qui est alors relayé par le *L. bulgaricus* qui poursuit son activité fermentaire jusqu'à un pH d'environ 4,3-4,2(ANONYME, 1995).(Figure 3).



Interactions positives : →

Interactions négatives : —|

Interactions qui ne favorisent spécifiquement ou diminuent la croissance des autres espèces :

Figure 3 : Représentation schématique des interactions qui se produisent entre *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, leur environnement et les composés caractéristiques du yaourt (DE BOK et al., 2008).

II.3.2. Composition biochimique du yaourt :

Au cours de la fermentation, la composition du lait subit un certain nombre de modifications. Certaines de ces modifications en font un produit de meilleure valeur nutritionnelle que le lait (MAHAUT et al., 2000).

Le yaourt contient relativement peu de calories (en moyenne 60 kcal pour un pôt de 125g de yaourt nature classique) et couvre seulement 2 à 5% d'un besoin énergétique moyen de 2200 kcal.

Les protéines du yaourt sont particulièrement intéressantes tant d'un point de vue quantitatif que qualitatif. En effet, les protéines sont rassasiantes et favorisent l'assimilation du calcium (HARVEY et SHANNON, 2004; LUHOVYY et al., 2007).

Selon SABLONNIERE (2001), la valeur énergétique du yaourt dépend de la teneur en lipides du lait utilisé, ainsi que du taux du sucre et des autres constituants ajoutés.

Certaines vitamines, tel l'acide folique, sont consommées partiellement par les ferments, d'autres sont synthétisées. Ces effets étant fonction des souches bactériennes. Toutefois la composition minérale et vitaminique globale des yaourts est légèrement plus élevée que celle du lait du fait de l'enrichissement par le lait sec (VIERLING, 2008). (Tableau 7).

Tableau 7 :La composition moyenne de différents types de yaourt

	Teneur moyenne pour 100g de produit							Valeur énergétique Kj
	Protéines (mg)	Lipides (mg)	Glucides (mg)	Calcium (mg)	Potassium (mg)	Phosphore (mg)	Sodium (mg)	
Yaourt nature	4,15	1,2	5,2	174	210	114	57	201
Yaourt au lait entier	3,8	3,5	5,3	171	206	112	56	284
Yaourt nature 0%	4,2	Traces	5,4	164	180	100	55	163
Yaourt nature sucré	3,8	1,1	14,5	160	195	105	52	347
Yaourt aromatisé au lait entier	3,2	3,2	12	140	190	106	50	372
Yaourt brassé nature	4,3	1,8	5,2	164	205	115	40	230
Yaourt brassé aux fruits	3,75	1,65	14,5	140	190	110	50	368
Yaourt au lait entier aux fruits	3,1	2,7	16,5	140	180	100	45	431
Yaourt maigre aux fruits	3,6	Traces	17,2	140	180	100	45	351

(JEANTET, 2002)

II.4. Intérêts nutritionnels et thérapeutiques du yaourt

➤ Amélioration de l'absorption du lactose :

Le lactose est l'élément le plus concerné par ces modifications puisque 25 à 30% du lactose sont transformés en galactose et acide lactique par action des bactéries lactiques (LUQUET et CORRIEU, 2005).

En général, la teneur en lactose hydrolysée suffit au yaourt pour mieux être digéré et toléré que le lait. La présence de bactéries lactiques vivantes dans le yaourt permet une meilleure assimilation du lactose chez les personnes déficientes en lactose (JEANTET, 2002).

➤ **Amélioration de la digestibilité des protéines :**

Le yaourt est deux fois plus digeste que le lait avant fermentation et contient deux fois plus d'acides aminés libres : cette propriété résulte du traitement thermique, de l'acidification, et de l'activité protéolytique des bactéries (MAHAUT *et al.*, 2000).

➤ **Amélioration de la digestibilité des matières grasses :**

Bien que l'activité lipolytique des bactéries lactiques soit peu élevée, il y a une augmentation significative de la teneur en acide gras libres dans le yaourt. De plus, l'homogénéisation améliore la digestibilité en augmentant la surface des globules (VIGNOLA, 2002).

➤ **Activité antimicrobienne :**

Le yaourt a un rôle préventif contre les infections gastro-intestinales. L'intérêt du yaourt dans le traitement des diarrhées infantiles a été démontré par de nombreux auteurs. En effet, la production de l'acide lactique qui est légèrement antiseptique permet d'inhiber le développement de germes pathogènes dans le tube digestif (MAHAUT *et al.*, 2000). Les bactéries du yaourt produisent aussi des substances antimicrobiennes et des prébiotiques (bactériocines, acides organiques) (DACOSTA, 2000).

➤ **Stimulation du système immunitaire :**

Les bactéries lactiques favoriseraient la production d'anticorps et de cytokines, qui protègent contre les agents pathogènes présents dans le tube digestif (ADOLFSSON *et al.*, 2004).

➤ **Activité anti-tumorale :**

Selon DEBRY (2001) les lactobacilles modifieraient les enzymes bactériennes à l'origine des carcinogènes (inducteurs de cancers) dans le tube digestif, inhibant ainsi la formation des substances précancéreuses.

➤ **Activité anti-cholestérolémiante :**

La consommation de yaourt permet de prévenir les maladies coronariennes et serait plus efficace que le lait pour maintenir une cholestérolémie basse (MAHAUT *et al.*, 2000).

II.5. Technologie de fabrication du yaourt

II.5.1. Préparation du lait

La matière première peut être soit du lait frais, soit du lait reconstitué (à partir de lait en poudre maigre et de matière grasse laitière anhydre), soit du lait reconstitué (à partir de lait en poudre maigre), ou encore un mélange. Dans tous les cas, elle doit être de bonne qualité

microbiologique, exempte d'antibiotiques ou d'autres inhibiteurs et parfaitement homogénéisée (ANONYME, 1995).

II.5.2. Mélange des ingrédients

Le lait est d'abord enrichi en matière sèche de façon à atteindre une valeur finale de 14 à 16% (BOURGEOIS et LARPENT, 1996). La consistance et la viscosité du yaourt sont pour une grande partie sous la dépendance de la matière sèche du lait. La graisse confère de l'onctuosité, masque l'acidité et améliore la saveur. Les protéines améliorent la texture et masquent aussi l'acidité (ANONYME, 1995).

❖ Standardisation en matière grasse :

Le yaourt peut avoir une teneur en matière grasse de 0 à 10% toutefois, le taux de matière grasse le plus courant est de 0,5 à 3,5% (BEAL et SODINI, 2003).

❖ Enrichissement en protéines :

Le lait standardisé en matière grasse doit être enrichi en protéines laitières, pour former un yaourt consistant et exempt de synérèse. Les quantités de protéines ajoutées sont variables et dépendent de la texture recherchée (yaourt à boire, yaourt ferme, yaourt brassé). Les taux de protéines finaux sont compris entre 3,2 à 5% (BEAL et SODINI, 2003).

❖ Addition éventuelle du sucre :

Le lait peut être additionné de sucre avant la fermentation, de 5 à 10%. Le sucre est généralement constitué de saccharose, cristallisé ou sous forme liquide (sirop). Il est aussi courant d'utiliser du sucre inverti (sirop de saccharose hydrolysé), qui contient, à part égale, du glucose et du fructose (BEAL et SODINI, 2003).

II.5.3. Traitement thermique

La préparation du lait terminée, celui-ci est soumis à un traitement thermique. Il a pour but:

- ✓ de détruire les micro-organismes pathogènes pouvant être présents et la plus grande partie de la flore banale. Il permet aussi la suppression éventuelle d'inhibiteurs naturels et la stimulation des bactéries par l'apparition de facteurs de croissance;
- ✓ d'améliorer la texture de yaourten dénaturant une partie importante des protéines solubles, ce qui a pour conséquence d'augmenter la capacité de rétention d'eau du yaourt et de permettre à ces protéines de se fixer sur la caséine (ANONYME, 1995).

II.5.4. Homogénéisation

L'opération peut se faire avant la pasteurisation (ou la stérilisation) proprement dite, ou après le traitement thermique. Dans ce dernier cas, la consistance du yaourt semble meilleure, mais les risques de recontamination sont à craindre (ANONYME, 1995).

II.5.5. La fermentation du lait

Immédiatement après le traitement thermique et l'homogénéisation, le lait est refroidi à la température de fermentation, mis en cuve etensemencé. L'ensemencement se fait à l'aide d'un levain comprenant exclusivement une ou plusieurs souches de chacune des bactéries spécifiques du yaourt : *Streptococcus salivarius subsp* et de *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus*. Elle doit se faire à un taux assez élevé pour assurer une acidification correcte ; le taux varie selon la vitalité des cultures entre 1 à 7% (MAHAUT et al., 2000).

D'après LUQUET (1985), c'est après l'ensemencement que se différencient les technologies particulières des yaourts étuvés ou des yaourts brassés. Pour les yaourts fermes, le mélange lait/ferments est soutiré et l'acidification se fait en pôts. Pour les yaourts brassés, le lait est acidifié en cuve. Dans les deux cas, l'incubation est réalisée à des températures entre 42 et 45°C et dure entre 2h30 et 3h30. L'objectif de cette phase est d'atteindre une acidité de 70-80°D dans le cas des yaourts étuvés et de 100-120°D dans le cas des yaourts brassés.

II.5.6. Traitement post-fermentaire

❖ Brassage :

Le brassage du coagulum, qui intervient uniquement en production de yaourts brassés, est réalisé avant le refroidissement. Le but est de lisser le gel et d'éviter la présence de grains dans le produit, le coagulum peut passer à travers d'un filtre ou traverser une tête de lissage (BEAL et SODINI, 2003).

❖ Refroidissement :

Lorsque le pH voulu est atteint (4,2-4,6), le yaourt doit être refroidi à une température proche de 5°C pour contrôler l'activité métabolique des ferments. Tandis que les yaourts fermes sont refroidis en une seule étape à 5°C dans des chambres froides fortement ventilées (le plus souvent) ou dans un tunnel, le refroidissement des yaourts brassés s'effectue en deux étapes. La première étape, est réalisée dans un échangeur à plaques, permet d'atteindre une température de 15-20°C. Après brassage et lissage, le gel est conditionné en pot et refroidi jusqu'à 5°C en tunnel (JEANTET et al., 2007).

II.5.7. Conditionnement

Deux types d'emballage sont utilisés : les pôts en verre et les pôts en plastique (thermoformage). L'ajout du sucre et des arômes se fait suite à l'ensemencement pour les yaourts fermes alors que l'addition de fruits se fait juste après le refroidissement pour les yaourts brassés (MAHAUT et al., 2000).

II.5.8. Conservation

Le yaourt doit être conservé au réfrigérateur « 4°C » avant la date de péremption qui doit figurer obligatoirement sur l'emballage (SABLONNIERE, 2001).

II.5.9. Commercialisation

Après leur fabrication, les laits fermentés doivent être maintenus à basse température maximale de +6°C pendant leur transport et leur entreposage, et de +8°C lors de la remise au consommateur (VIGNOLA, 2002).

Le diagramme général de production est présenté dans la figure 4.

PDF Create! 4 Trial
www.nuance.com

FERMENTS
LACTIQUES

LAIT

STANDARDISATION EN
MATIERE GRASSE

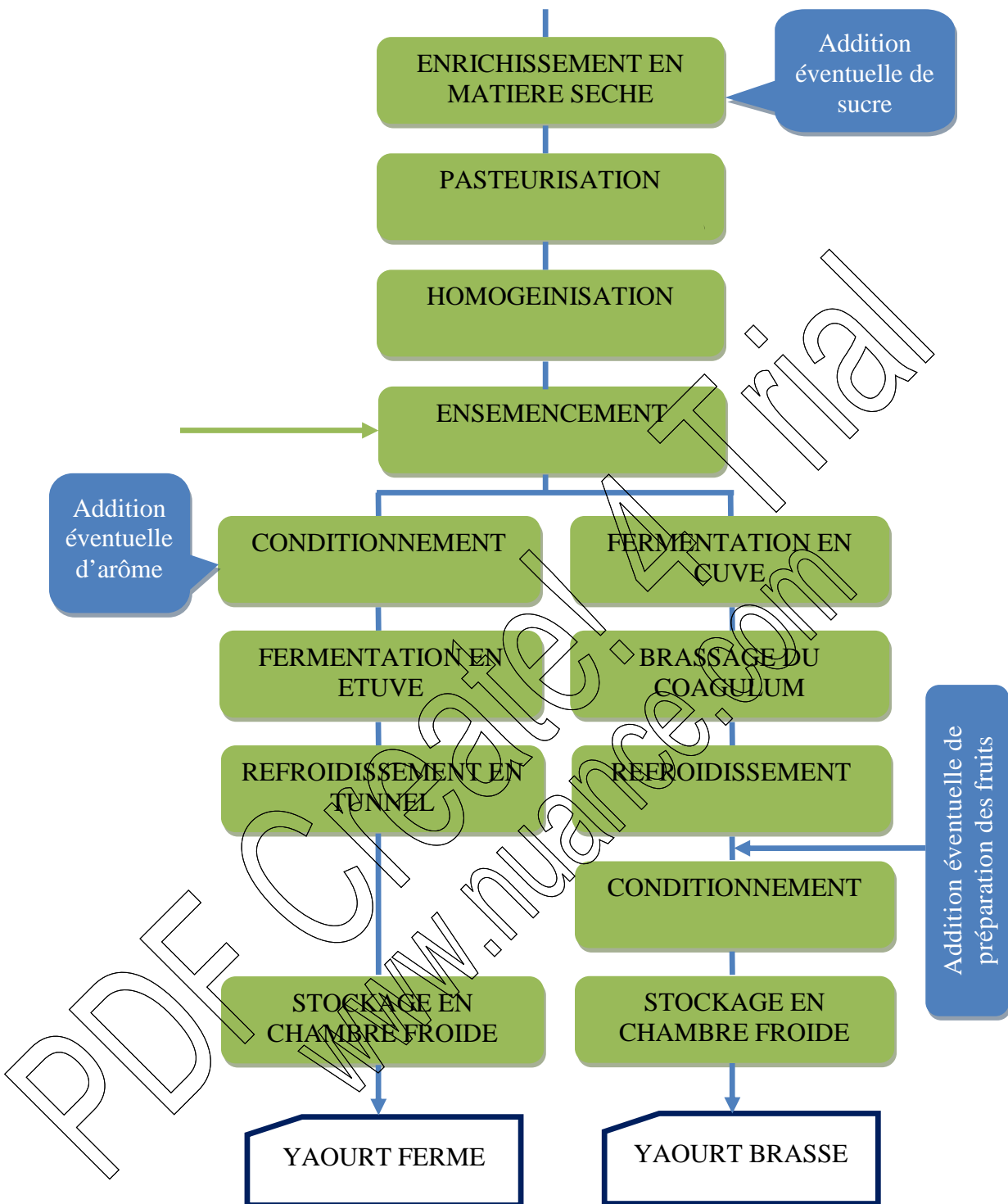


Figure 4 : Schéma de fabrication des yaourts(BOURLIOUX et al., 2011).

II.6. Accidents de fabrication

On peut les regrouper en deux catégories : les défauts d'apparence et de texture et les défauts de goût.

II.6.1. Défauts d'apparence et de texture

Ils peuvent être de plusieurs formes :

- Décantation et synérèse : liées souvent à une mauvaise conduite de la fermentation (suracidification ou postacidification) due à une cinétique de refroidissement trop lente et/ou à une température de stockage trop élevée pendant la phase de commercialisation.

-Production de gaz : elle est due à la présence de coliformes ou levures.

- Couche de crème : le crémage se produit lorsque l'homogénéisation est insuffisante ou absente.

-Manque de fermeté : ce défaut peut être dû à une teneur en matière sèche faible, à un traitement thermique trop modéré, à un niveau d'ensemencement trop bas ou à une mauvaise conduite de l'incubation (temps trop faible et/ou température trop élevée conduisant à une acidification insuffisante).

- Texture sableuse : plusieurs facteurs sont incriminés : composition (extrait sec trop élevé), mauvaise réhydratation de la poudre de lait, traitement thermique trop intense, acidification trop rapide, mauvais brassage.

II.6.2. Défauts de goût

-Amertume : se développe lorsque l'activité protéolytique des ferments est trop importante ou lorsqu'il y a contamination par des germes protéolytiques.

-Acidité trop forte ou insuffisante : l'acidité dépend de la composition, du taux d'ensemencement, de l'activité des ferments, de la présence éventuelle d'inhibiteurs ou de bactériophages, de la conduite de la fermentation (température et durée) et des vitesses de réfrigération (postacidification).

- Goût levuré : la contamination par des levures peut générer des goûts fruité et d'alcool.

-Goût de rance : du à la contamination par des germes lipolytiques.

-Goût oxydé : apparaît dans le cas d'une mauvaise protection contre la lumière (pot en verre) ou en présence de métaux catalyseurs d'oxydation (fer, cuivre).

- Goût de moisi : il peut résulter de l'emploi de fruits de mauvaise qualité (moisissures).

-Goût de cuit : du aux traitements thermiques intenses.

- Absence d'arôme : il provient en générale d'un déséquilibre de la flore (trop de streptocoques) résultant soit de la qualité des levains, soit des conditions d'incubation(JEANTET et al., 2008).

I. Lieu du travail

L'ensemble du travail a été effectué au niveau du laboratoire de physicochimie et de microbiologie de l'unité de Trèfle de Blida. Une fiche technique succincte sur cette unité est présentée en (Annexe 1).

II. Matériel et méthodes

II.1. Matériel

Appareillage et réactifs (Annexe 2).

II.2. Méthodes

II.2.1. Méthodes d'échantillonnage

L'échantillonnage est un point clef de l'obtention de résultats analytiques valides. En effet, sa bonne mise en œuvre permettra d'obtenir une bonne représentativité de l'échantillon prélevé (POINTURIER, 2003).

Les prélèvements des matières premières ont été effectués selon le protocole interne de l'unité de trèfle :

a) Eau de process

Les prélèvements ont été effectués aseptiquement après flambage de la vanne d'échantillonnage. On laisse couler pendant 5 minutes puis on prélève l'échantillon dans un flacon de 250 mL stérile.

b) Poudre de lait

La poudre de lait est conditionnée dans des sacs en polyéthylène de 25kg doublés ou triplés de sacs en papiers Kraft fermés hermétiquement. Les prélèvements ont été réalisés au hasard à partir des sacs. A l'aide d'un ciseau bien nettoyé à l'alcool, on ouvre le sac, puis on écarte à chaque fois la couche superficielle de poudre au moyen d'une spatule flambée et à l'aide d'une cuillère stérile à long manche, on prélève presque un gramme et on les recueille dans un flacon stérile à large ouverture, et puis on ferme le flacon à l'aide d'un papier aluminium pour éviter le risque de contamination.

L'analyse microbiologique s'effectue juste après le prélèvement des échantillons, tandis que l'examen physico-chimique se fait après quelques heures, et pour cela on doit protéger le contenu du flacon contre la lumière avec de papier aluminium.

c) Sucre

L'échantillonnage de sucre doit être effectué avec la même méthode que celle utilisée pour la poudre de lait.

II.2.2. Méthodes d'analyses

Les analyses physico-chimiques effectuées sur les différents échantillons prélevés (poudre de lait, eau de process, sucre et yaourt) ont été effectuée selon le guide des techniques d'analyse physico-chimiques des produits laitiers de la laiterie de trèfle et selon les méthodes officielles normalisées par la norme française **AFNOR 12 V01 (1986)** afin de détecter les différentes anomalies qui peuvent être présentes dans le produit fini.

Les analyses physico-chimiques effectuées sur les matières premières sont regroupées dans le tableau 9.

Tableau 9 : Analyses physico-chimiques des matières premières

	Poudre de lait	Eau de process	Le pollen
Analyses physico-chimiques	Acidité titrable Extrait sec total Taux d'humidité Teneur en matières grasses	TH TA TAC Cl ⁻ Cl ₂ pH	Taux d'humidité Extrait sec total Teneur en cendres Teneur en protéines Teneur en matières grasses Acidité titrable pH

II.2.2.1. Analyses physico-chimiques

a) Eau de process

1. Détermination du pH (NFT01-013)

➤ Définition

C'est le potentiel chimique des ions dans une solution. Il est mesuré à l'aide d'un pH mètre qui est équipé d'une sonde de température et une sonde de pH ; et il doit être toujours étalonné chaque matin avant toute utilisation.

➤ Mode opératoire

On fait plonger les deux sondes du pH mètre dans notre produit, et lire directement la valeur indiqué par l'appareil du pH-mètre.

2. Détermination de l'alcalinité (TA, TAC) de l'eau de process

➤ Définition

Le titre alcalin ou TA mesure la teneur de l'eau en ions hydroxydes et la demi-concentration en ions carbonate.

$$TA = [OH^-] + 1/2[CO_3^{2-}]$$

Le titre alcalimétrique complet ou TAC correspond à la teneur de l'eau en alcalis libres, la demi-concentration en ions carbonates et le bicarbonate.

$$TAC = [OH^-] + 1/2[CO_3^{2-}] + [HCO_3^-]$$

➤ Principe

La détermination de ces deux paramètres (TA, TAC) est basée sur la neutralisation d'un certain volume de l'eau par un acide minéral dilué, en présence d'un indicateur coloré.

➤ Mode opératoire

▪ Détermination du titre alcalimétrique TA

- Dans un bécher, prélever 100 mL d'eau à analyser.
- Ajouter 2 gouttes de phénolphtaléine (indicateur coloré).
- Une coloration rose doit se développer, dans le cas contraire (pas de coloration) la valeur de TA=0.
- Verser en suite doucement à l'aide d'une burette l'acide sulfurique (cas de coloration rose), en agitant constamment jusqu'à la décoloration complète de la solution.

➤ Expression des résultats

Si il n'y a pas de coloration, la valeur de TA=0;

Si non, V est le volume de l'acide sulfurique nécessaire pour la décoloration de la solution qui est exprimé en degré français (°F), où V/5 exprime le titre alcalimétrique en milliéquivalent gramme par litre.

$$TA = V$$

TA : le titre alcalimétrique exprime en degré français (°F).

V : le volume d'acide sulfurique en mL nécessaire pour obtenir le virage.

▪ Détermination du titre alcalimétrique complet TAC

Dans un bécher, prélever 100 mL d'eau à analyser puis ajouter 2 gouttes de méthyle orange, en suite titrer avec l'acide sulfurique (H₂SO₄) à 0,002 N jusqu'au virage au jaune orangé (pH=4,3).

$$\text{TAC} = V_1$$

TAC : titre alcalimétrique compte en °F

V_1 : volume de l'acide sulfurique en mL versé depuis le début du dosage.

➤ Expression des résultats

Le résultat du TAC est donné par la lecture directe sur la burette du volume de l'acide sulfurique utilisé pour titrage.

3. Détermination de titre hydrométrique (TH) (NFT90-03)

➤ Définition

Le titre hydrométrique (TH) indique la teneur totale de l'eau en sel de calcium et magnésium, la dureté d'une eau est proportionnelle au nombre total d'atome de calcium et de magnésium qu'elle renferme (LAUZE, 2002).

$$\text{TH} = [\text{Ca}^{2+}] + [\text{Mg}^{2+}]$$

➤ Principe

Il consiste à doser un échantillon d'eau avec l'acide éthylène-diamine-tétra-acétique (EDTA) en présence de noir ériochrome comme indicateur coloré dans un milieu tampon.

➤ Mode opératoire

- On prélève 100 mL d'eau à analyser et on les transfère dans un erlenmeyer de 250 mL.
- On ajoute 10 mL de la solution tampon ammoniacal (pH=10).
- On additionne 2 gouttes de noir ériochrome.
- Si la coloration vire au bleu, TH=0.
- Si la coloration vire vers le violet, on titre avec la solution EDTA (0,02N) jusqu'à la coloration bleue.

➤ Expression des résultats

Le volume de l'EDTA correspond au titre hydrométrique (TH) exprimé en degré français «°F».

$$\text{TH (°F)} = V$$

V : volume de l'EDTA

4. Dosage de chlorure (Cl) (NFT90-014)

➤ Principe

Les chlorures sont dosés en milieu neutre par une solution titrée de nitrated'argent en présence de chromate de potassium.

Le résultat est indiqué par l'apparition d'une couleur rouge caractéristique du chromate d'argent.

➤ **Mode opératoire**

- Prélever 100 mL d'eau dans un bécher.
- Ajouter 4 à 5 gouttes de chromate de potassium (K_2CrO_4) : coloration jaune.
- Titrer la solution avec nitrate d'argent à (0,1N) jusqu'au virage du jaune au rouge brique.

➤ **Expression des résultats**

La concentration en ions chlorés est donnée par les formules suivantes :

$$Cl^-(mg/L) = (V - V_0) \times 35,5$$

V : volume d' $AgNO_3$ (0,1N) qui sert au titrage

V_0 : volume d' $AgNO_3$ (0,1N) nécessaire pour l'obtention de la même teinte rouge dans un essai à blanc avec 100 mL d'eau distillée.

35,5 : masse moléculaire du chlore.

5. Dosage de chlore libre (Cl_2) (méthode par comparateur palintest) (NFT90-037)

➤ **Principe**

Le comparateur palintest fonctionne avec des disques colorés interchangeables. Il sert à comparer la couleur obtenue dans le test avec des cellules (couleurs) du disque coloré.

➤ **Mode opératoire**

- Remplir l'échantillon dans un tube de 10 mL puis ajouter la pastille DPD.
- Placer le tube traité sur le côté droit de compartiment au dos du comparateur.
- Placer un deuxième tube ne contenant que l'échantillon à analyser sur le côté gauche afin de tenir compte de la couleur éventuelle de l'échantillon.
- Positionner face à une source à lumière blanche, et faire tourner le disque jusqu'à l'obtention de deux couleurs identiques.

➤ **Expression des résultats**

Le résultat apparaît directement dans le trou sur le devant du boîtier.

b) La poudre de lait, le sucre, le pollen et produit fini

1. Détermination du pH

La mesure de pH se fait de la même manière que celle de l'eau.

2. Détermination de l'acidité titrable (la poudre de lait, pollen, produit fini)

➤ Définition

L'acidité titrable correspond à la teneur en acide lactique du lait. Elle est conventionnellement exprimée en gramme d'acide lactique (AFNOR 12V01, 1986).

➤ Principe

Il consiste à titrer l'acidité par l'hydroxyde de sodium en présence de phénolphtaléine comme indicateur limitant la neutralisation par changement de couleur.

➤ Mode opératoire

- A l'aide d'une pipette de 10mL on prélève 10mL d'échantillon à analyser (dans le cas de la poudre de lait, on dilue 2g de poudre dans 20mL d'eau distillée).
- On ajoute deux gouttes de phénolphthaléine.
- Puis on titre avec la soude (N/9) jusqu'au virage au rose qui persiste environ 10 secondes.

➤ Expression des résultats

L'acidité (A) est exprimée en degré Dornic et est donnée par la relation suivante:

$$A = 10 \cdot V$$

Et en cas de la poudre de lait

$$A = V/2$$

A : acidité titrable en °D

V : volume en mL de la solution sodique utilisé pour le titrage.

10 mL : la prise d'essai.

3. Détermination d'extrait sec total (poudre de lait, sucre, pollen et produit fini) (NF T90-029)

➤ Définition

La teneur en matière sèche est la masse restante après dessiccation complète de la matière. Elle est exprimée en pourcentage massique.

➤ Principe

Il repose sur la dessiccation par évaporation de l'eau que contient l'échantillon à analyser sous l'effet d'une source de chaleur qui est la lumière de l'infrarouge.

➤ Mode opératoire

L'extrait sec total est déterminé par une méthode simple, rapide donnant des valeurs approximatives et répondant aux exigences de l'unité par la remise des résultats en espace de quelques minutes.

Elle répond au mode opératoire suivant :

- Peser 2g du produit à analyser dans une coupelle en aluminium.
- Après étaler l'échantillon à l'aide d'une spatule sur toute la surface de la coupelle sans toucher les bords.
- Mettre le tout dans un dessiccateur électronique afin d'absorber l'humidité et attendre 10mn.

➤ Expression des résultats

Après 10mn, le résultat s'affiche directement sur l'écran de l'appareil en pourcentage massique de matière sèche par rapport au totale.

4. Détermination du taux d'humidité (poudre de lait, sucre, pollen, produit fini)

Elle se fait suite au calcul de l'EST dans un dessiccateur, suivant le mode opératoire précédemment décrit. Elle est exprimée en pourcentage de masse et donnée par la formule suivante :

$$H\% = 100\% - \text{EST}$$

H% : teneur en eau en pourcentage.

EST : extrait sec total.

5. Détermination de la teneur en cendres (pollen) (NA 717, 1992)

➤ Principe

Le taux de cendres de matériel végétal est le résidu minéral après destruction de la matière organique par calcination.

➤ Mode opératoire :

- Peser à 1 g de l'échantillon dans un creuset à incinération préalablement taré puis introduire le creuset dans le four à moufle réglé à 525 ± 25 °C. Chauffer progressivement jusqu'à carbonisation de la matière et obtention de cendres grises et spongieuses.

- Retirer le creuset du four, le laisser refroidir au dessiccateur et peser rapidement.

- Reporter le creuset au four, recommencer les opérations décrites précédemment jusqu'à ce que deux pesées successives conduisent à des résultats ne différant pas entre eux de plus de 2 mg.

➤ **Expression des résultats**

Le résultat est exprimé en pourcentage de l'échantillon.

$$\% \text{ cendres totales (base humide)} = \frac{M \text{ (cendres)}}{M \text{ (échantillon humide)}} \times 100$$

6. Détermination de la teneur en protéines(pollen) (NA 672, NF V-04-211)

➤ **Principe**

La détermination de la quantité de protéines est effectuée selon la méthode de Kjeldahl. C'est la méthode de référence pour la détermination de la teneur en azote dans un produit. Elle s'effectue en trois étapes : la minéralisation (digestion), la distillation et le titrage.

➤ **Mode opératoire**

1) Minéralisation :

- Introduire 1g de l'échantillon dans le matras Kjeldahl.
- Ajouter 20 mL de l'acide sulfurique concentré (95% - 98%) et 2g de catalyseur.
- Après avoir homogénéiser le contenu du matras, positionner le collecteur de fumées sur les matras et activer le scrubber. Les matras sont ensuite transférés sur le minéralisateur préchauffé. La minéralisation dure au moins quatre-vingt-dix minutes, le minéralisat doit être limpide et exempt de matière non digérée.
- Après le refroidissement, le tube de minéralisation est placé sur le support du distillateur.

2) Distillation :

- Le contenu de matras est dilué avec 200 mL d'eau distillée, puis alcaliniser avec 50mL de soude.
- Le distillat est récupéré dans un erlen Meyer contenant 40mL d'acide borique destiné à fixer l'ammoniac.

3) Titrage :

- L'ammoniac piégé par l'acide borique contenu dans l'erlen Meyer est titré par l'acide chlorhydrique.

➤ **Expression des résultats**

La teneur en azote total exprimée en pourcentage est donnée par la relation suivante :

$$\% \text{ Proteines} = \% \text{ N} \times F = \frac{(V_E - V_B) \times 1.4008 \times F}{M}$$

V_E : Volume de HCl (mL) utilisé pour la titration de l'échantillon.

V_B : Volume de HCl (mL) utilisé pour la titration de blanc.

M : La masse de l'échantillon en mg.

La teneur en azote est obtenue en multipliant le pourcentage d'azote par 5.7

7. Détermination de la teneur en matières grasses (pollen) (ISO 1241, 1996)

➤ Principe

La détermination de la quantité de la matière grasse est effectuée selon la méthode soxhlet qui est la méthode de référence. Son principe repose à l'extraction des lipides par un solvant organique tel l'hexane.

➤ Mode opératoire

- Dans un premier temps l'échantillon est pesé et placé dans la cartouche de cellulose, puis dans le réservoir de soxhlet.
- Remplir le ballon après l'avoir pesé avec une quantité suffisante de solvant et surmonter l'extracteur d'un réfrigérant.
- A l'aide d'un chauffe-ballon, porter le solvant à ébullition. Celui-ci passe par la tubulure et est condensé par le réfrigérant. Il tombe alors dans le réservoir contenant la cartouche et solubilise graduellement la substance à extraire.
- Le réservoir se remplit. Dès que le niveau de solvant est à hauteur du coudelatéral, le réservoir se vidange automatiquement. Le solvant et la substance à extraire sont entraînés dans le ballon.
- Comme seul le solvant peut s'évaporer de nouveau, la matière grasse s'accumule dans le ballon jusqu'à ce que l'extraction soit complète. Une fois l'extraction terminée, l'hexane est évaporé, généralement sur un évaporateur rotatif. Enfin peser de nouveau le ballon contenant le résidu extrait.

➤ Expression des résultats

Le pourcentage de matières grasses est calculé par la relation suivante :

$$\% \text{ matière grasse} = \frac{M_2 - M_1}{M_0} \times 100$$

M_0 : La masse en (g) de la prise d'essai.

M_1 : La masse en (g) du ballon.

M_2 : La masse en (g) du ballon et du résidu.

8. Détermination de la teneur en matières grasses (poudre de lait, produits finis) (AFNOR 12V01, 1986)

➤ Principe

La détermination du taux de la matière grasse se fait selon la méthode de Gerber basée sur l'utilisation de l'acide sulfurique pour la dissolution des protéines et l'addition d'alcool iso-amylque pour la séparation de la matière grasse.

➤ Mode opératoire

Dans un butyromètre on introduit :

- 10 mL de l'acide sulfurique.
- 10 mL d'eau distillée.
- 2,5 mL de la poudre de lait.
- 1 mL d'alcool iso-amylque.
- Fermer le butyromètre avec un bouchon propre et sec.
- Tourner le 3 à 4 fois en position verticale, jusqu'à la dissolution des éléments de l'échantillon et enfin centrifuger à 1200 tours/min pendant 5 min à température de 55 °C.
- Retirer le butyromètre de la centrifugeuse et ajuster le bouchon si nécessaire pour ramener la colonne de la matière grasse dans la partie graduée.

➤ Expression des résultats

La teneur en matière grasse du produit exprimé en pourcentage massique est déterminée par l'expression suivante :

$$MG = n_1 - n_2$$

MG : matière grasse en %.

n_1 : valeur atteinte par le niveau supérieur de la colonne grasse en %.

n_2 : valeur atteinte par le niveau inférieur de la colonne grasse en %.

II.2.2.2. Analyses microbiologiques

L'objectif de l'analyse microbiologique est de rechercher ou de quantifier un certain nombre de germes indicateurs d'un ou de plusieurs problèmes lors du procédé de fabrication ou présentant un danger pour la santé humaine (tableau10).

Tableau 10 : Analyses microbiologiques des matières premières et des produits finis

Produit analysé	Germes recherchés	Milieu de culture utilisé	Incubation	
❖ La poudre de lait	Germe aérobies mésophiles totaux	PCA	30°C/ 72h	
	Coliformes totaux	VRBL	37°C /24h à48h	
	❖ Le sucre	Coliformes fécaux	VRBL-Eau Peptoné kovacs	44°C/24h à 48h
		<i>Staphylococcus aureus</i>	Giolitti Cantonii Chapman	37°C/24h à 48h
	❖ Le pollen	Clostridium sulfitoréducteur	VF	37°C/24h à 48h
		Salmonelles	SFB (Enrichissement) Hektoène	37°C/24h à 48h
		Levure et moisissure	Sabouraud	20°C/5J
❖ L'eau de process	Germe aérobies mésophiles totaux	PCA	37°C/72h	
	Coliformes totaux	BCPL	37°C/24h à 48h	
	Coliformes fécaux	BCPL+ Schubert	44°C/24h à 48h	
	Clostridium sulfitoréducteur	VF	37°C/24h à 48h	
	Streptocoques fécaux	Rothe + milieu Evalitsky	37°C/24h	
❖ Produits finis	Germe aérobies mésophiles totaux	PCA	30°C/ 72h	
	Coliformes totaux	VRBL	37°C /24h à48h	
	Coliformes fécaux	VRBL-Eau Peptoné kovacs	44°C/24h à 48h	
	Levure et moisissure	Sabouraud	20°C/5J	

II.2.2.2.1. Préparation de la suspension mère et des dilutions décimales :

On introduit aseptiquement 25g du produit (poudre de lait, eau de process, sucre, yaourt ou pollen) à analyser dans un flacon stérile contenant au préalable 225mL de diluant (eau physiologique), puis on homogénéise. Cette suspension constitue alors la dilution mère (DM) qui correspond aussi à la dilution 1/10 ou 10⁻¹.

On introduit ensuite aseptiquement à l'aide d'une pipette stérile 1mL de la DM dans un tube stérile contenant au préalable 9mL d'eau physiologique, cette dilution constitue la 10^{-2} on procède de la même manière pour les autres dilutions (**BOURGEOIS et LEVAUX, 1980**).

II.2.2.2.2. Les analyses microbiologiques de l'eau de process

Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux

Principe

La recherche et le dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux dans l'eau se réalisent à deux températures différentes afin de cibler à la fois les micro-organismes à tendance psychrophiles soit à 20°C et ceux franchement mésophiles soit à 37°C (**BONTOUX, 1993**).

Mode opératoire

- A partir de l'eau du process à analyser, prendre aseptiquement 2 fois 1mL dans deux boîtes de Pétri vides préparées à cet usage et numérotées.
- Compléter ensuite chacune des boîtes avec 20mL de gélose PCA (Plate Count Agar) préalablement fondue et refroidie.
- Faire ensuite des mouvements circulaires en forme de « 8 » et de va-et-vient pour permettre le mélange de l'inoculum à la gélose.
- Laisser solidifier sur paillasse.

Incubation

- ❖ La première boîte sera incubée, couvercle en bas à 22°C, pendant 72 heures.
- ❖ La seconde sera incubée, couvercle en bas à 37°C, pendant 72 heures.

Lecture

Les germes aérobies mésophiles se présentent dans les deux cas sous forme de colonies lenticulaires poussant en masse.

Dénombrement

Il s'agit de dénombrer toutes les colonies, en tenant compte de deux remarques suivantes :

- ✓ Ne dénombrer que les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies.
- ✓ Le résultat sera exprimé en UFC par millilitre d'eau analysée à 22°C et à 37°C.

Recherche et dénombrement des coliformes fécaux et totaux (NFV08-016, 1991)

Principe

La recherche et le dénombrement des coliformes dans l'eau, se font en milieu liquide sur BCPL (Bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol) de couleur violet par la technique NPP (nombre le plus probable).

La technique en milieu liquide fait appel à deux tests consécutifs :

- **Le test de présomption** : est réservé à la recherche des coliformes totaux.
- **Le test de confirmation** : appelé encore test de Mac Kenzie, réservé à la recherche des coliformes fécaux à partir des tubes positifs du test de présomption.

Mode opératoire

Selon **GUIRAUD (1998)**, la technique de recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux dans l'eau est la suivante :

❖ Le teste de présomption

- Introduire 50 mL d'eau à analyser dans un flacon contenant 50 mL de BCPL (D/C).
- Mettre 10 mL d'eau à analyser dans 5 tubes contenant 9 mL de BCPL (D/C).
- Mettre 1 mL d'eau à analyser dans 5 tubes contenant 9 mL de BCPL (D/C).

Homogénéiser et incuber les tubes dans une étuve à 37°C pendant 24 à 48h.

Lecture

Sont considérés comme positifs les tubes présentant à la fois :

- Un dégagement gazeux (supérieur au 1/10^{ème} du volume de la cloche).
- Un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune (ce qui constitue le témoin de la fermentation de lactose présent dans le milieu).

La lecture finale se fait selon les prescriptions de table du NPP.

❖ Le test de confirmation ou test de Mac Kenzie

Le test de confirmation ou test de MacKenzie est basé sur la recherche des coliformes thermotolérants parmi lesquels on redoute surtout la présence d'*Escherichia coli*.

Les coliformes thermotolérants ont les mêmes propriétés de fermentations que les coliformes mais à 44°C.

E-Coli est un coliforme thermotolérant qui entre autre produit de l'indole à partir du tryptophane à 44°C.

Les tubes de BCPL trouvés positif lors du dénombrement des coliformes totaux feront l'objet d'un repiquage à l'aide d'une once bouclée dans un tube contenant le milieu de Schubert muni d'une cloche de Durham.

Homogénéiser et incuber les tubes dans une étuve à 44°C pendant 24 à 48h.

Lecture

Sont considérés comme positifs les tubes présentant à la fois :

- Un dégagement gazeux,

- Un anneau rouge en surface, témoin de la production d'indole par *Escherichia coli*, après adjonction de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs.

La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table de NPP.

✚ Recherche et dénombrement de *Clostridium sulfito-réducteur*

Principe

Les anaérobies sulfitoréducteur (ASR) se présentent sous forme de bactéries Gram positif, se développent en 24 à 48 heures sur une gélose viande foie en donnant des colonies typiques réduisant le sulfite de sodium (Na_2SO_3) qui se trouve dans le milieu, en sulfure qui en présence de Fe^{2+} donne FeS (Sulfure de fer) de couleur noire.

Mode opératoire

- A partir de l'eau du process à analyser prendre 25 mL dans un tube stérile, qui sera par la suite soumis à un chauffage à 80°C pendant 8 à 10 minutes, dans le but de détruire toutes les formes végétatives des ASR éventuellement présentes.
- Après chauffage, refroidir immédiatement le tube en question sous l'eau de robinet.
- Répartir ensuite le contenu de ce tube, dans 4 tubes différents et stériles, à raison de 5 mL par tube.
- Ajouter environ 18 à 20 mL de gélose VF, fondue puis refroidie à 45°C .
- Mélanger doucement le milieu et l'inoculum en évitant les bulles d'air et en évitant l'introduction d'oxygène.
- Laisser solidifier sur la paillasse pendant 30 minutes environ, puis incuber à 37°C , pendant 24 à 48 heures.

Lecture

- La première lecture doit absolument être faite à 16 heures car très souvent les colonies des ASR sont envahissantes, auquel cas on se trouverait en face d'un tube complètement noir rendant ainsi l'interprétation difficile voire impossible.
- La deuxième lecture se fait après 24 heures.
- La troisième et la dernière après 48 heures.
- Dénombrer les colonies caractéristiques de couleur noire et 5 mm de diamètre.
- Le résultat est exprimé en nombre de spores/20 mL d'eau à analyser.

✚ Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux

Principe

La technique de numérotation des streptocoques est basée sur la succession d'un milieu sélectif présomptif (milieu Rothe) et d'un milieu sélectif de confirmation (milieu liquide de Litsky et au cristal violet).

Mode opératoire

Cette recherche est réalisée en deux tests :

❖ Le test de présomption

L'ensemencement se fait par une série de tubes :

- 50 mL de l'eau à analyser dans 50mL de Rothe D/C.
- 5 tubes contenant 10mL d'eau à analysés dans 10mL de Rothe D/C.
- 5 tubes contenant chacun 1 mL d'eau à analyser additionnés à 9mL de milieu Rothe S/C.
- Incuber à 37°C pendant 24 à 48h.

Lecture

Les tubes présentant un trouble microbien sont considérés comme positifs.

❖ Le test de confirmation

Le test de confirmation est basé sur la confirmation des streptocoques fécaux éventuellement présents dans le test de présomption.

Les tubes de Rothe trouvés positif feront donc l'objet d'un repiquage à l'aide d'une anse bouclée dans un tube contenant le milieu Eva Litsky.

Bien mélange le milieu et l'inoculum.

L'incubation se fait 37°C pendant 24 heures.

Lecture

Sont considérés comme positifs les tubes présentant à la fois :

- ❖ Un trouble microbien,
- ❖ Une pastille violette (blanchâtre) au fond des tubes

La lecture finale s'effectue également selon ses prescriptions de la table du NPP.

II.2.2.2.3. Les analyses microbiologiques de la poudre de lait, sucre, pollen et produit fini

➤ Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux

Il s'agit de l'ensemble des micro-organismes capables de se multiplier en aérobiose à des températures optimales de croissance comprises entre + 20°C et + 45°C.

Le dénombrement de la flore totale aérobie mésophile reste la meilleure méthode permettant d'estimer l'indice de salubrité et de qualité des aliments dans le contrôle industriel. Un aliment dont la flore totale est trop élevée montrera de mauvaises conditions de conservation et sera considéré comme impropre à la consommation (**BONNEFOY et al., 2002**).

Principe

Le dénombrement des germes aérobies mésophiles est réalisé sur gélose PCA par un ensemencement en masse, et comptage des colonies lenticulaires obtenus.

Mode opératoire

- A partir des dilutions décimales, porter aseptiquement 1 mL dans chacune des boîtes de Pétri vides préparées à cet usage, puis compléter par 15 à 20 mL de gélose PCA préalablement fondue et refroidie à 45°C.
- Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient pour homogénéiser l'inoculum à la gélose.
- Laisser les boîtes solidifier sur la paillasse environ 30mn.
- Les boîtes sont incubées couvercles en bas à 30°C pendant 24 à 48 jusqu'à 72 heures.

Lecture

Dénombrer les colonies lenticulaires en masse de couleurs blanchâtres (Ne dénombrer que les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies)

Le résultat final est exprimé en UFC/g de produit analysé.

Recherche et dénombrement des coliformes fécaux et totaux

Ce groupe contient toutes les bactéries aérobies ou anaérobies facultatives, Gram⁻, asporulées, en forme bâtonnets, mobiles ou non.

Ces bactéries disposent d'un métabolisme respiratoire et fermentaire les rendant capables de fermenter rapidement le lactose avec production de CO₂ et d'acide lactique à 35°C.

La présence des coliformes totaux dans les aliments indique un traitement thermique inefficace ou une contamination subséquente au traitement, ils peuvent aussi démontrer un mauvais nettoyage et une mauvaise désinfection des matériels de transformation.

Principe

Sur le gélose VRBL (Gélose Lactose Biliée Cristal Violet et Rouge neutre), le développement de la plupart des bactéries n'appartenant plus à la famille des entérobactéries est inhibé par le cristal violet et les sels biliaires. La fermentation du lactose est mise en évidence par le virage de l'indicateur au rouge (GUIRAUD, 1998).

Mode opératoire

- A partir des dilutions 10⁻³ à 10⁻¹, porter aseptiquement 2 fois 1 mL de chaque dilution dans deux boîtes de Pétri vide préparées à cet usage.
- Couler environ 20 mL de gélose VRBL, préalablement fondu et refroidi à 45°C puis faire des mouvements circulaires pour bien homogénéiser la gélose à l'inoculum.
- Laisser les boîtes sur paillasse pour solidifier.
- Les boîtes seront donc incubées couvercles en bas pendant 24 à 48 heures à :

- 37°C pour la première série qui servira à la recherche des coliformes totaux.
- 44°C pour la deuxième série qui servira à la recherche des coliformes fécaux.

Lecture

On va dénombrer les boîtes contenant entre 30 et 300 colonies de couleur rouge foncé, brillantes de 0,5mm de diamètre

En fin multiplier le nombre trouvé par l'inverse de la dilution.

✚ Recherche et dénombrement de *Clostridium Sulfito-réducteur*

Les *Clostridium sulfitoréducteurs* sont des bacilles Gram positifs anaérobies stricts capables de sporuler, réduisant les sulfites en sulfure. Hôtes normaux de l'intestin, ils peuvent également être d'origine tellurique.

En bactériologie alimentaire, on cherche essentiellement les espèces d'origine fécale, en particulier *Clostridium perfringens* qui peut être responsable de toxi-infections alimentaires (BONNEFOY et al., 2002).

Mode opératoire

- A partir des dilutions 10^{-2} et 10^{-1} , on prépare 2 tubes stériles contenant chacun 1 mL.
- Mettre les tubes au bain thermostaté réglé à 80°C pendant 10mn et les refroidir immédiatement sous courant d'eau.
- Verser dans chacun des 2 tubes 15 mL de la gélose VF additionnée d'alun de fer et d'une ampoule de sulfite de sodium.
- Homogénéiser sans introduire des bulles d'air.
- Laisser solidifier sur le paillasse puis les incuber à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Lecture

Les colonies, dans la profondeur de la gélose, en anaérobiose, entourées d'un halo noir (réduction des sulfites en sulfure et précipitation du sulfure de fer) sont des colonies correspondant aux spores thermorésistantes d'ASR.

Le résultat exprimé en nombre de spore/mL.

✚ Recherche et dénombrement des *Staphylococcus aureus* (NF V08-013, 1994)

Les staphylocoques sont des coques Gram+, catalase+, aéro-anaérobies, métabolisant le glucose par la voie fermentative. Les staphylocoques comprennent une vingtaine d'espèces, *Staphylococcus aureus* est l'espèce la plus fréquemment impliquée dans les infections d'origines alimentaires. Il se distingue des autres par la pigmentation jaune d'or de ces colonies (BONNEFOY et al., 2002).

Principe

L'enrichissement sur milieu Giolitti Cantonii (GC) permet une vérification idéale des souches stressées par la réduction de téllurite de potassium en tellure responsable de la coloration noire, de plus le téllurite de potassium à un effet inhibiteur sur les autres germes.

L'isolement sur le milieu Chapman sélectionne les *staphylococcus aureus*.

Sa teneur élevée en chlorure de sodium, permet l'inhibition des autres germes.

La fermentation du mannitol est mise en évidence par le virage du rouge de phénol au jaune.

Mode opératoire

- A partir des dilutions décimales, porter aseptiquement 1mL par dilution dans un tube à vis stérile.
- Ajouter par la suite environ 15mL du milieu d'enrichissement GC, auquel est ajouté du téllurite de potassium
- Homogénéiser le milieu et l'inoculum.
- Incuber les tubes à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Lecture

Seront considérés positifs, les tubes ayant virés au noir.

Ces tubes feront l'objet d'une confirmation par l'isolement sur gélose Chapman, coulée en boîte de Pétri séchée.

Les boîtes de Chapman ainsi ensemencées seront incubées à leur tour à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Après ce délai, repérer les colonies suspectes à savoir les colonies de tailles moyennes, lisses, brillantes, de couleur jaune.

Recherche et dénombrement des salmonelles (NF V08-013, 1993)

Les salmonelles appartiennent à la famille des enterobacteriaceae, ce sont des bacilles, anaérobies facultatives, réduisent les nitrates en nitrites, mobiles grâce à une ciliature péritriche, oxydase (-), catalase (+). Leur recherche et leur identification permettent de savoir si le produit est dangereux à consommer ou non. Elles comprennent plus de 1500 sérotype, ces dernières se manifestent par des diarrhées, de la fièvre et des vomissements (AVRIL et al., 2000).

Principe

Les salmonelles sont des bactéries difficiles à isoler, vu leur nombre, pour cela leur recherche nécessite le passage par différentes étapes, d'abord un pré-enrichissement puis un enrichissement sur le milieu sélectif, et à fin isolement sur milieu Hektoen (BOURGEOIS, 1988).

Mode opératoire

La recherche de salmonella comporte plusieurs étapes qui sont les suivantes :

▪ Etape 1 : pré-enrichissement

Il consiste à préparer une suspension mère en prélevant 25g de produit à analyser que l'on introduit dans 225mL d'eau peptonée tamponnée (EPT). Cette dernière sera incubée à 37°C pendant 18 à 20 heures.

▪ Etape 2 : enrichissement primaire

On ensemence 10 mL du milieu de pré-enrichissement dans 100mL du milieu liquide SFB D/C (+ additif SFB) qui sera incubé à 37°C pendant 24 heures.

Le but de cette étape consiste à éliminer au maximum les autres germes et à garder que ceux appartenant au genre salmonella, la présence des salmonelles se traduit par un virage de la solution au rouge brique.

▪ Etape 3 : enrichissement secondaire et isolement sur Hektoen

Le but de cette étape est l'isolement du milieu d'enrichissement primaire dans une gélose Hektoen d'une part, et d'autre part un second enrichissement qui consiste à ensemencer 0,5 mL du milieu d'enrichissement primaire dans un bouillon sélénite cystine contenue dans un tube de 10 mL et l'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures.

▪ Etape 4 : isolement sélectif

A partir de milieu d'enrichissement secondaire, un second isolement est réalisé sur gélose Hektoen et une lecture de la boîte incubée la veille.

La boîte ensemencée est incubée à 37°C pendant 24 heures.

Lecture

La lecture consiste à dénombrer les colonies caractéristiques 2 à 4mm de diamètre, lisse et de couleur bleu verdâtre avec ou sans centre noir.

✚ Recherche et dénombrement des levures et moisissures

Les levures sont des champignons microscopiques. Généralement, les levures ne sont pas affectées par des variations de pH, leur plus bas de l'ordre de 3 et plus élevé de l'ordre de 7 et 8. La température optimale de croissance varie légèrement suivant les espèces (entre 20°C et 35°C). Elles dégradent les composés carbonés par un métabolisme oxydatif ce qui conduit à la formation de CO₂ et H₂O (BOURGEOIS et LEVAUX, 1991).

Les moisissures sont des champignons filamenteux qui peuvent altérer des denrées alimentaires par modification de leur valeur nutritionnelle à apparition de saveurs indésirables et une modification des caractères organoleptiques (BOURGEOIS et al., 1996).

Principe

Les levures et moisissures sont des microorganismes qui, après ensemencement en surface sur le milieu inhibiteur pour les bactéries (gélose Sabouraud au Chloramphénicol) forment des colonies après une incubation à 20-25°C pendant 5 jours (GUIRAUD, 1998).

Mode opératoire

- A partir des dilutions décimales allant de 10^{-3} à 10^{-1} , porter aseptiquement 4 gouttes dans chacune des 3 boîtes de Pétri contenant la gélose Sabouraud au Chloramphénicol, puis étaler les gouttes à l'aide d'une pipette stérile.
- Incuber les boîtes couvercle en haut à 22°C pendant 5 jours.

Lecture

Dans le souci de ne pas se trouver en face de boîtes envahies soit par les levures soit par les moisissures, on doit effectuer des lectures et des dénombrements tous les jours.

Les colonies des levures ressemblent aux colonies bactériennes, elles sont de consistance crémeuse, ronde ou ovale et souvent opaque.

Les moisissures sont pigmentées à aspect velouté et duveteux.

Etant donné qu'on a pris 4 gouttes de la dilution décimale, et qu'on considère que 1 mL est l'équivalent à 20 gouttes, pour revenir donc à 1 mL, il faut multiplier par l'inverse de la dilution, puis faire la moyenne arithmétique des différentes boîtes et exprimer le résultat final par mL de produit analysé.

II.2.2.3. Fabrication de yaourt étuvé enrichi en pollen

Le but de cette expérimentation est de formuler un produit laitier diététique ; un yaourt étuvé enrichi en pollen d'abeille qui est qualifié comme un complément alimentaire de premier ordre vu sa richesse nutritionnelle.

❖ Les ferments lactiques :

Les ferments lactiques utilisés à la laiterie de trèfle sont spécifique au yaourt étuvé.

❖ Le pollen :

Le pollen utilisé dans notre expérimentation est le pollen d'oranger. Récolté en mois de janvier (2013). Utilisé sous forme séché en poudre après avoir subi une pasteurisation dans un bain marie à 85 °C pendant 3 mn, pour garantir sa qualité hygiénique et microbiologique.

II.2.2.3.1. Essai d'enrichissement du yaourt étuvé en pollen

Trois essais de formulations ont été réalisés. Dans le premier essai, on a utilisé le pollen frais qui permet de préserver intact toutes les propriétés du pollen, contrairement aux pollens secs

mais les résultats des analyses microbiologiques menées sur le pollen et les yaourts enrichis étaient insatisfaisantes vu que le pollen frais se décompose facilement une fois décongelé.

Lors de deuxième essai on a substitué le pollen frais avec le pollen séché, et on a exercé l'enrichissement sur le yaourt brassé, néanmoins sa texture était inacceptable où le yaourt devenait liquéfié après l'injection du pollen.

Pour cette raison la formulation du yaourt enrichi a été réalisée à l'échelle laboratoire au niveau de la laiterie Trèfle de Blida en suivant le procédé de fabrication du yaourt étuvé.

Le tableau suivant indique la composition du yaourt étuvé témoin et des essais d'incorporation du pollen à différentes doses.

Tableau 11 :Composition des yaourts enrichis en pollen à différentes doses

Matière première	Poudre de lait 26% (g/L)	Eau (mL)	Sucre (g/L)	Ferments lactiques (g/L)	Pollen (g/L)
Essais					
Témoin	131	810	96	0.2	0
Essai 1	126	810	96	0.2	5
Essai 2	121	810	96	0.2	10

Mode opératoire

1. Préparation des matières premières :

Les préparations des yaourts ont été réalisées en reconstituant 131 g de la poudre de lait (26% de MG) et 96 g du sucre dans 810 mL d'eau de process.

L'enrichissement a été réalisé en faisant varier la quantité du pollen (0 ; 5 et 10%) incorporée dans les préparations des yaourts après avoir subi la pasteurisation.

Chaque formulation a été préparée à raison de 810 mL dans des casseroles en inox, elles sont ensuite placées sur une plaque chauffante qui est un équivalent d'un pasteurisateur à l'échelle du laboratoire pour être chauffées à 95°C pendant 5 mn.

2. La fermentation :

Après pasteurisation, les différentes préparations de yaourt sont refroidies jusqu'à 45°C, température d'inoculation du ferment. L'ensemencement avec les souches *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* a été effectué dans le lait à raison de 2%. Les laits inoculés sont versés à raison de 100 g par pot.

La fermentation a été réalisée dans une étuve thermostatée à 45°C. Lorsque le pH cible 4,6 est atteint ; l'incubation est arrêtée en entreposant immédiatement les pots de yaourt à 4°C à

l'intérieur de la chambre froide du laboratoire. Le diagramme général de production est présenté dans la figure 9.

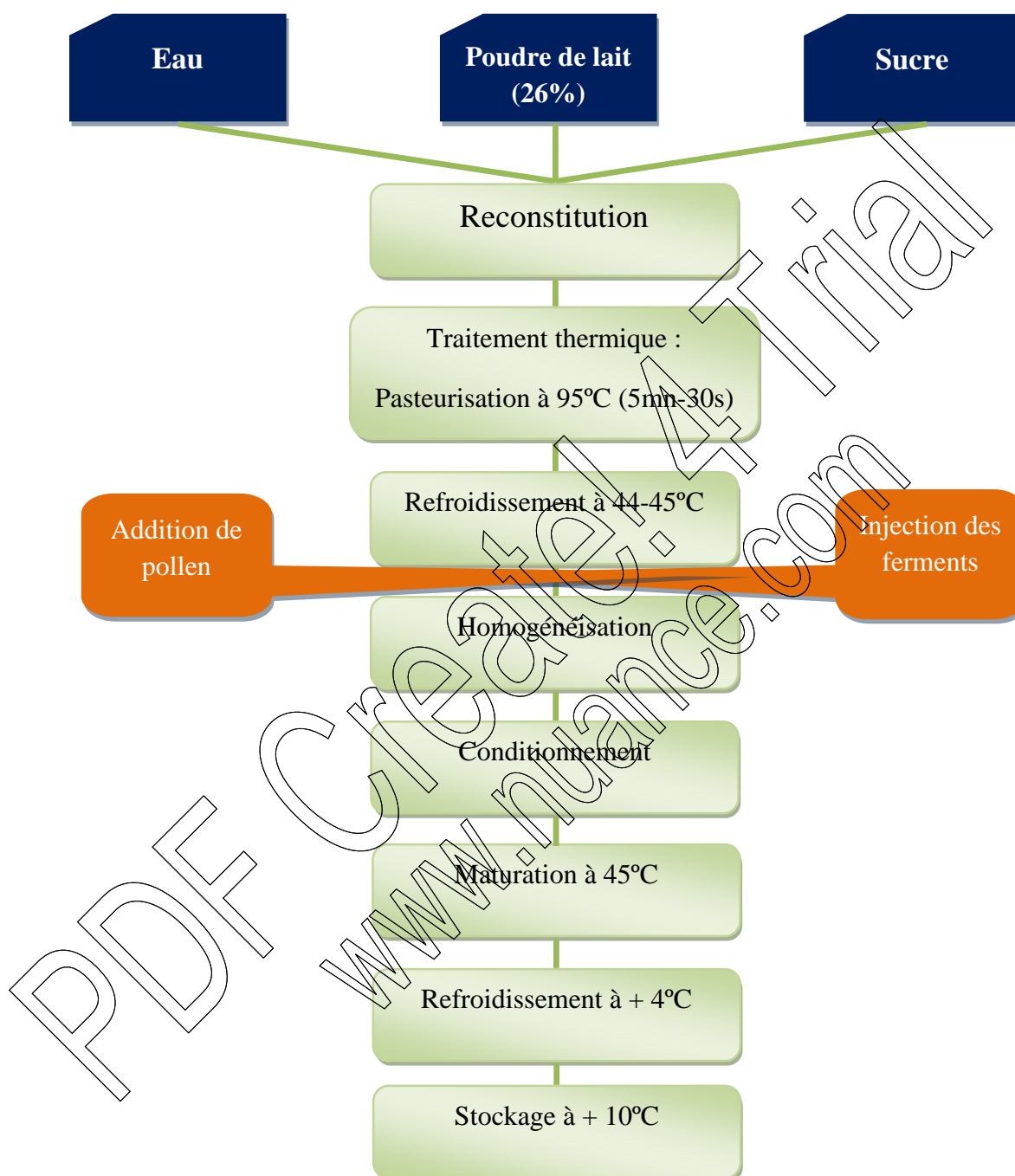


Figure 9 : Diagramme général de fabrication du yaourt étuvé enrichi en pollen selon la laiterie Trèfle de Blida.

II.2.2.4. Analyse sensorielle

L'analyse sensorielle est aujourd'hui une approche indispensable à l'évaluation de la qualité d'un produit alimentaire. Etroitement associée à la caractérisation des propriétés physico-

chimiques, elle peut être un outil d'aide à la maîtrise de la qualité et la formulation des produits transformés.

La qualité organoleptique des aliments regroupe les propriétés d'un produit perceptibles par les organes des sens (norme ISO 5492, 1992).

L'analyse sensorielle fait appel à des panels de dégustateurs et à leur sens pour mesurer les caractéristiques sensorielles et l'acceptabilité de produits. Au cours de ce travail, on a procédé à des tests auprès des consommateurs, ce qui nécessite de choisir un vaste échantillon aléatoire de personnes (généralement formé de 30 à 50 personnes), qui sont représentatives de la population cible de consommateurs éventuels, pour obtenir des renseignements sur leurs attitudes ou leurs préférences. Les personnes retenues pour participer à ces tests de consommation ne sont ni expérimentées ni choisies pour leur acuité sensorielle mais devraient être des consommateurs du produit. On peut procéder aux entrevues ou aux tests à un endroit central comme un marché, une école, un centre commercial ou un centre communautaire ou chez le consommateur (ELIAS *et al.*, 1991).

Le travail est focalisé sur l'impact des différentes doses d'enrichissement sur la qualité organoleptique du yaourt. Pour cela, nous avons eu recours à un test hédonique pour déterminer le degré d'appréciation des dégustateurs.

II.2.2.4.1. Les sujets

Le panel de dégustateurs était formé de 30 personnes d'âges différents, dont dix enfants, dix hommes et dix femmes. Ils étaient des tasters naïfs sélectionnés d'après leur disponibilité et leur volonté à participer à cette évaluation.

II.2.2.4.2. l'environnement de dégustation

Les séances ont eu lieu au niveau du laboratoire d'analyses de l'unité ainsi que chez des dégustateurs (à domicile). Les membres du panel ont donné leurs appréciations séparément ce qui a permis de recueillir leurs réponses sans qu'il n'ait aucune influence entre eux.

II.2.2.4.3. les produits

Les échantillons sont enlevés du réfrigérateur 10 mn avant le début de l'évaluation sensorielle et présentés un par un pour éviter les comparaisons entre eux.

L'impact de la dose d'enrichissement sur les propriétés organoleptiques a été examiné.

II.2.2.4.4. Les séances de dégustation

Les qualités organoleptiques évaluées ont concerné le goût, la texture, l'odeur et la couleur. Les panélistes ont donné une note d'appréciation à chaque produit, pour chacun des critères proposés. La notation est faite sur une échelle numérique de 1 à 4, selon les exigences internes de l'unité Trèfle (1= très bon, 2= bon, 3= moyen et 4= médiocre).

II.2.2.5. Analyse statistique

La moyenne et l'écart type sont calculés pour les matières premières et les trois produits finis, pour chaque critère (pH, acidité, matière grasse, matière sèche) en utilisant le logiciel Excel 2010, sachant que l'analyse des caractéristiques physico-chimiques des yaourts formulés a été effectuée en faisant deux répétitions pour chaque critère et ça à partir de même pôt du yaourt. Cette analyse a été conduite pendant huit semaines (de mois d'avril jusqu'au mois de mai).

Les données issues d'analyses physico-chimiques sont traitées par le test NEWMAN ; avec le logiciel STAT-ITCF Ver.4, en procédant à une analyse de la variance afin de faire ressortir l'effet significatif ou pas de l'incorporation du pollen séché dans le yaourt étuvé.

PDF Create! 4 Trial
www.nuance.com

I. Analyses physico-chimiques

I.1. Matières premières

I.1.1. Poudre de lait

Les résultats des analyses physico-chimiques de la poudre de lait sont représentés dans le tableau 12.

Tableau 12 : Analyses physico-chimiques de la poudre de lait

Paramètres Echantillons	Acidité titrable (°D)	Extrait sec (%)	Taux d'humidité (%)	Teneur en MG (%)
Poudre de lait	13,00± 0,47	95,32± 0,06	4,68±0,06	26,00± 0,00
Normes *	12-14	95-97	3-5	26-26,7

Normes* : Normes Algériennes indiquées dans JORA N°35, 1998.

La teneur moyenne en eau de la poudre de lait est de 4,68± 0,06 %, celle de l'extrait sec est de 95,32 ± 0,06 %, celle de l'acidité titrable est de 13,00 ± 0,47°D et celle de la matière grasse est de 26,00 ± 0,00 %. Ces valeurs sont conformes aux normes exigées par JORAN°35 (1998), ce qui confirme que la poudre de lait permettra une reconstitution parfaite du lait, sans risque de formation de grumeaux insolubles, et que les conditions de stockage et de conservation ont été bien respectées.

I.1.2. Sucre

Le tableau suivant présente les résultats des analyses physico-chimiques du sucre.

Tableau 13 : Analyses physico-chimiques du sucre

Paramètres Echantillons	Extrait sec (%)	Taux d'humidité (%)
Sucre	99,23 ± 0,09	0,77 ± 0,09
Normes*	Min 99	Max 1

Normes* : Normes Algériennes indiquées dans JORA N°35, 1998.

La teneur moyenne en eau du sucre est de 0,77± 0,09% et celle de l'extrait sec est de 99,23±0,09 %, ces valeurs sont conformes aux normes exigées par JORA N°35 (1998), ce qui confirme que les conditions de stockage du sucre ont été bien respectées.

I.1.3. Eau de process

Le tableau suivant présente les résultats des analyses physico-chimiques de l'eau de process.

Tableau 14 : Analyses physico-chimiques de l'eau de process

Paramètres Echantillons	pH	T(°C)	TH (°F)	TA (°F)	TAC (°F)	Cl ⁻ (mg/L)	Cl ₂ (mg/L)
Eau de process	7,11 ± 0,01	20,00 ± 0,47	18,00 ± 0,25	0,00± 0,00	29,50± 0,32	56,80± 0,75	1,15± 0,02
Normes**	6,50-8,20	20-23	10-15	0	< 30	< 71	1-2

Normes** : Selon les normes de Trèfle.

La valeur moyenne de pH de l'eau de process est de $7,11 \pm 0,01$, pour le titre hydrométrique est de $18,00 \pm 0,25^\circ\text{F}$, celle du titre alcalimétrique est nulle, celle du titre alcalimétrique complet est de $29,50 \pm 0,32^\circ\text{F}$, celle de chlorure est de $56,80 \pm 0,75 \text{ mg/L}$ et celle de chlore libre est de $1,15 \pm 0,02 \text{ mg/L}$. D'après ces résultats, on constate une conformité de l'eau de process aux normes établies par la laiterie Trèfle, par conséquent cette eau de process est de bonne qualité physico-chimique qui est due à l'efficacité du traitement de déchloration qu'elle a subi.

I.1.4. Pollen

Les résultats des analyses physico-chimiques effectuées sur le pollen sont mentionnés dans le tableau suivant.

Tableau 15 : Analyses physico-chimiques du pollen

Paramètres	Teneur
Taux d'humidité	$15,01 \pm 0,12 \%$
Taux d'extrait sec	$84,99 \pm 0,12 \%$
Teneur en matières azotées	2.55 %
Teneur en matières grasses	6.70%
Teneur en cendres	1.00 %
pH	4.86
Acidité	1.60 %

I.1.4.1. Teneur en eau

La teneur moyenne en eau du pollen est de $15.01 \pm 0,12$ %, cette teneur est conforme à celle rapportée par **CANE et ROULSLON (2000)**, pour lui le pollen contient généralement moins de 20 % d'eau.

I.1.4.2. Teneur en matière minérale

La teneur en cendres est de 1%, cette teneur est inférieure à celle rapportée par **ALAUX et al. (2011)**, où la teneur du pollen en cendres varie de 2.5 à 6.5 %.

HERBERT et MILLER-IHLI (1987) ont constaté que les concentrations en minéraux dans le pollen varient considérablement au cours de l'année en raison des différences dans l'origine florale du pollen.

I.1.4.3. Teneur en matières azotées

Les analyses révèlent une teneur de 2.55% en matières azotées, cette teneur suffit pour être conforme aux données de **BUCHMANN et al. (2000)** qui rapporte que le pollen de différentes espèces peut varier considérablement au niveau du contenu en protéines avec des valeurs situées entre de 2,3% et 61,7% ».

Le taux de protéines varie suivant la provenance végétale, l'emplacement, l'année et la colonie, sachant que les abeilles butinent du pollen contenant au moins 12% de protéines (**RORTAIS et al., 2005**).

I.1.4.4. Teneur en matières grasses

La teneur en matières grasses est de 6.70%, une quantité acceptable car selon **HUMAN et NICOLSON (2006)**, le pollen contient des lipides en quantité variable, de 1 à 20% du poids sec selon les espèces.

I.1.4.5. pH

La valeur du pH est de 4.86 comparable à celui du miel qui est en moyenne entre 3.5 et 6 (**DONADIEU, 1984**), ce qui confère une longue conservation au pollen.

I.2. Produits finis

I.2.1. Après production (j0)

Les résultats de l'analyse de la variance montrant l'effet de l'incorporation du pollen séché sur le yaourt, pour tous les paramètres physico-chimiques analysés (pH, acidité, matière grasse, matière sèche), sont illustrés ci-après.

I.2.1.1. pH

La variation du pH en fonction des produits finis est donnée sur le tableau 26 (annexe 8).

Le pH moyen du témoin est de $4,55 \pm 0,01$, celui de l'essai 1 et de l'essai 2 sont respectivement de $4,30 \pm 0,01$ et $4,47 \pm 0,01$. Ces valeurs sont conformes à la norme indiquée dans JORA N°35 (1998) qui préconise un pH de 4,1 à 4,7 pour le yaourt.

L'analyse de la variance a noté un effet très hautement significatif ($p = 0,0007 < 0,001$) de l'incorporation du pollen sur le pH du produit fini.

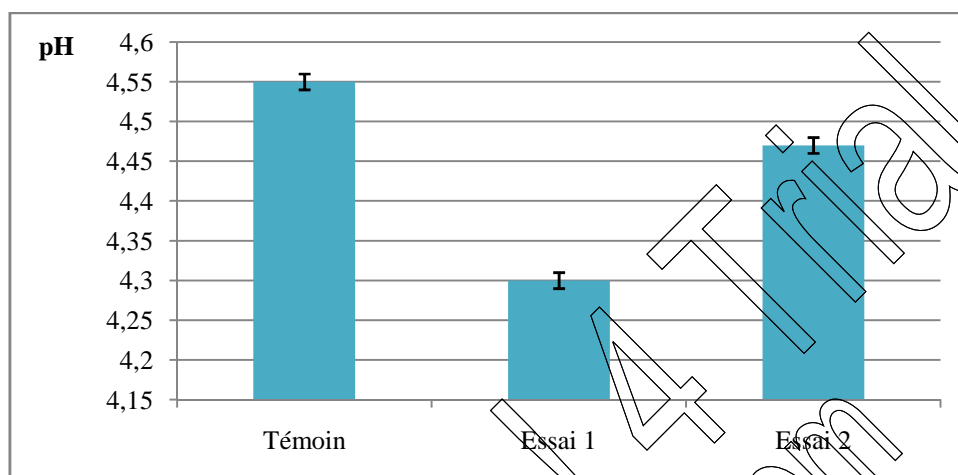


Figure 10 : Variation du pH en fonction des produits finis.

I.2.1.2. Acidité

La variation de l'acidité titrable en fonction des produits finis est donnée sur le tableau 27 (annexe 8).

L'acidité moyenne de témoin est de $75,00 \pm 5,66^\circ\text{D}$, celle de l'essai 1 est de $82,00 \pm 5,66^\circ\text{D}$ et pour de l'essai 2 elle est de $78,00 \pm 5,66^\circ\text{D}$. Ces valeurs sont conformes à la norme indiquée dans JORA N°35 (1998) qui préconise une acidité titrable de 75 à 105°D pour le yaourt.

L'analyse de la variance a révélé un effet non significatif ($p = 0,5382 > 0,05$) de l'incorporation du pollen sur l'acidité du produit fini.

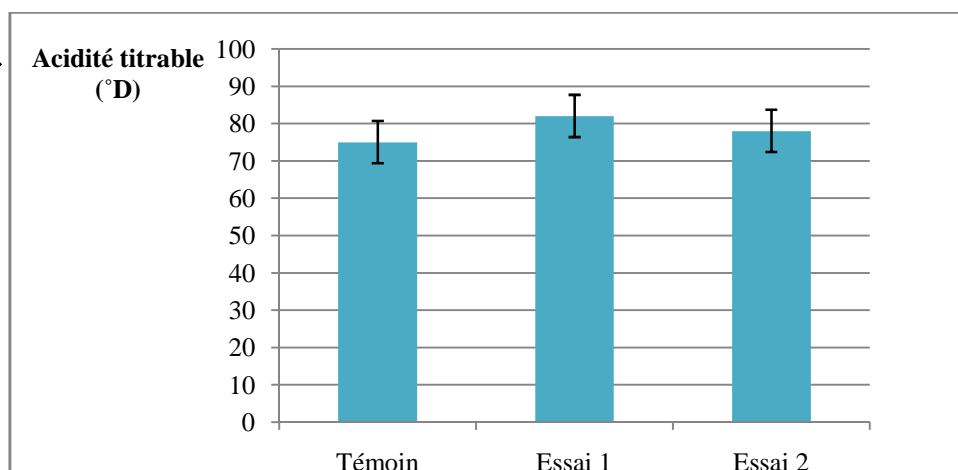
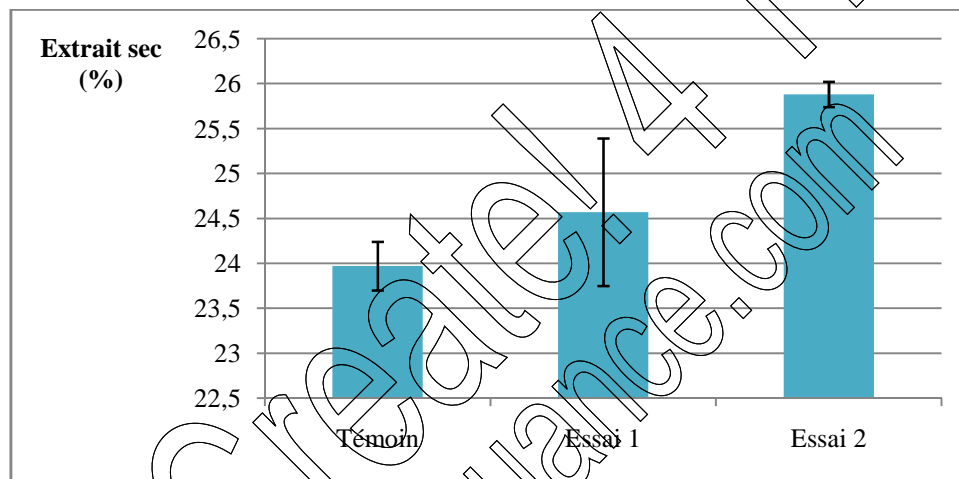


Figure 11 : Variation de l'acidité titrable en fonction des produits finis.**I.2.1.3.Extrait sec**

La variation de l'extrait sec en fonction des produits finis est donnée sur le tableau 28 (annexe 8).

La teneur moyenne de l'extrait sec de témoin est de $23,97 \pm 0,27$ %, celle de l'essai 1 est de $24,57 \pm 0,82$ % et celle de l'essai 2 est de $25,88 \pm 0,14$ %. Ces valeurs sont conformes à la norme indiquée dans JORA N°35 (1998) qui préconise un extrait sec de 22 à 25 % pour le yaourt.

Il s'est avéré de l'analyse de la variance que l'incorporation du pollena un effet non significatif ($p = 0,0683 > 0,05$) sur la teneur en matière sèche totale du produit fini.

**Figure 12 : Variation de l'extrait sec en fonction des produits finis.****I.2.1.4. Matière grasse**

La variation de la matière grasse en fonction des produits finis est donnée sur le tableau 29 (annexe 8).

La teneur moyenne de la matière grasse de témoin est de $3,30 \pm 0,00$ %, celle de l'essai 1 est de $3,80 \pm 0,00$ % et celle de l'essai 2 est de $4,00 \pm 0,00$ %.

Ces valeurs sont conformes à la norme indiquée dans JORA N°35 (1998) qui préconise une teneur en matière grasse de 3 à 4% pour le yaourt.

Il s'est avéré de l'analyse de la variance que l'incorporation du pollena un effet non significatif ($p = 0,6268 > 0,05$) sur la teneur en matière grasse du produit fini.

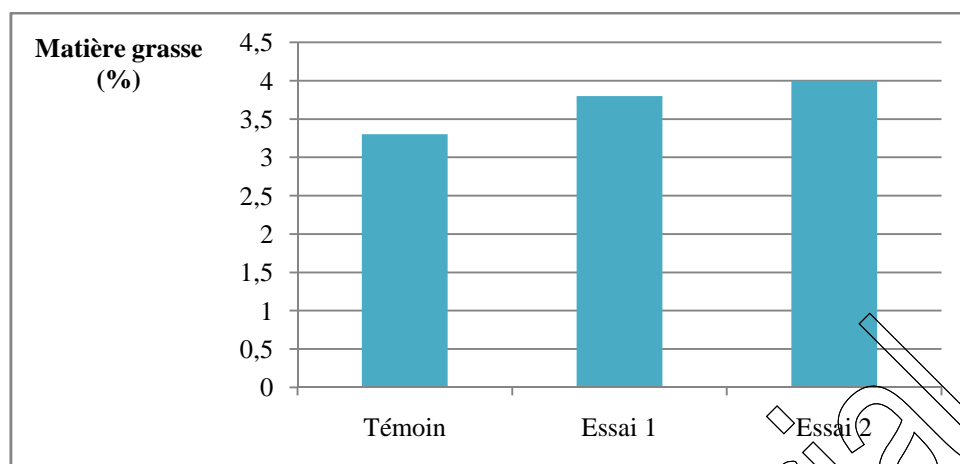


Figure 13 :Variation de la matière grasse en fonction des produits finis.

I.2.2. Suivi des paramètres physico-chimiques au cours du stockage

I.2.2.1. pH

La variation du pH du yaourt témoin et des yaourts enrichis en pollen, durant le stockage est représentée dans les tableaux 30 (annexe 9).

I.2.2.2. Acidité

La variation de l'acidité titrable du yaourt témoin et des yaourts enrichis en pollen, durant le stockage est représentée dans les tableaux 31 (annexe 9).

Le suivi de l'évolution du pH et de l'acidité titrable du yaourt témoin et enrichi, au cours de stockage nous a permis de tracer les courbes illustrées respectivement dans les figures 14 et 15 ci-après.

D'après les résultats, on constate une diminution progressive des valeurs du pH où il atteint une valeur moyenne de $4,20 \pm 0,00$ pour le yaourt témoin, $4,02 \pm 0,04$ pour l'essai 1 et $4,08 \pm 0,01$ pour l'essai 2.

Parallèlement, l'acidité augmente pour les trois types de yaourts et atteint en moyenne $85,00 \pm 5,00$ °D pour le yaourt témoin, $112,00 \pm 5,00$ °D pour l'essai 1 et $107,00 \pm 7,00$ °D pour l'essai 2.

Ces deux paramètres (pH et acidité) sont inversement proportionnels, selon **MATHIEU (1998)**, « une teneur élevée en substances acides, protéines, anions, phosphates, citrates ou acide lactique s'accompagne d'un pH faible et d'une acidité de titration élevée ».

La modification du pH s'explique par la dégradation du lactose en acide lactique ainsi que l'activité protéolytique et lipolytique des ferments lactiques aboutissant à la diminution du pH.

Il est à noter que cette acidité est bénéfique, selon **VIERLING (2008)**, l'acidité du yaourt stimule les mouvements péristaltiques du tube digestif, facilitant l'élimination des micro-

organismes pathogènes ; ainsi que par son pH, l'acide lactique inhibe le développement des germes pathogènes et constitue une protection du yaourt lui-même mais aussi du tube digestif du consommateur.

L'analyse de la variance a noté que l'incorporation du pollen a un effet très hautement significatif sur le pH ($p = 0.0000$) et l'acidité ($p = 0.0007$ □ $0,001$) du produit fini au cours du stockage.

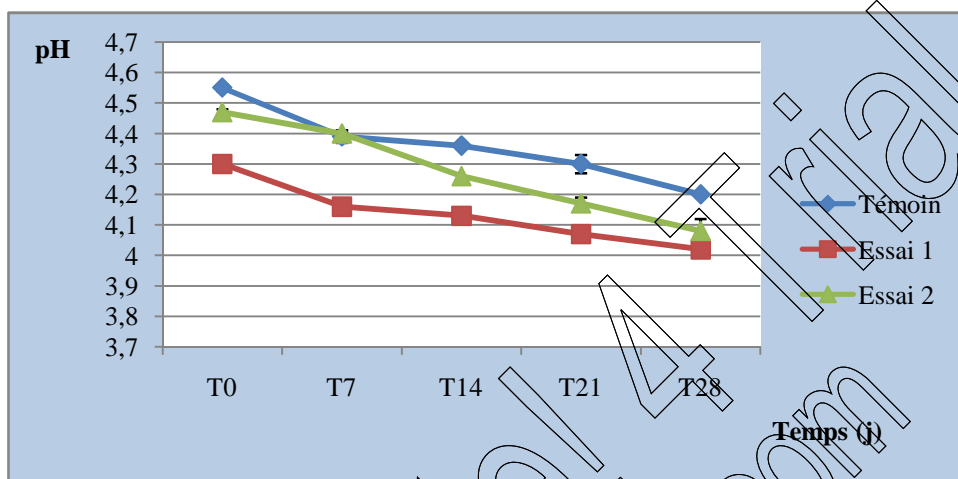


Figure 14 : Evolution du pH.

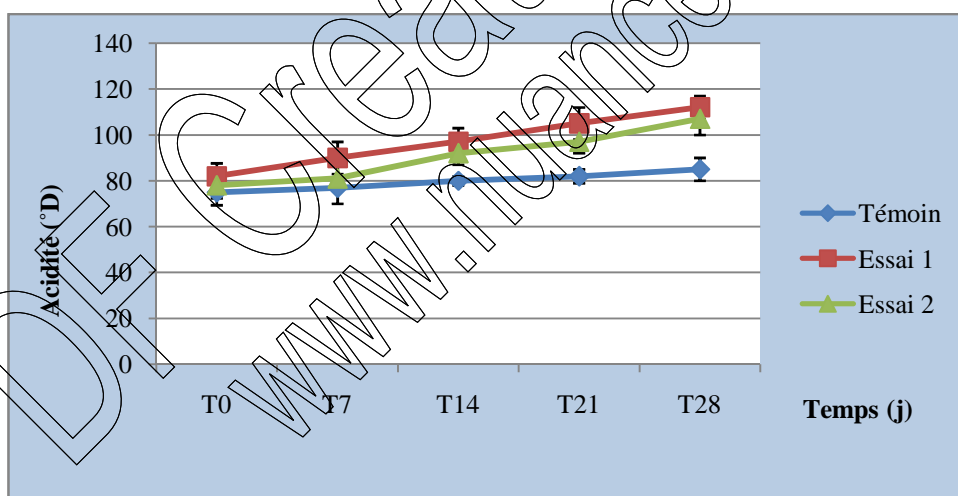


Figure 15 : Evolution de l'acidité titrable.

I.2.2.3. Extrait sec

La variation de la teneur en extrait sec des produits finis durant le stockage est représentée dans le tableau 32 (annexe 9).

Le taux de l'extrait sec du produit témoin passe de $23,97 \pm 0,27$ % à $23,70 \pm 0,28$ % après 28 jours de stockage, celui de l'essai 1 passe de $24,57 \pm 0,82$ % à $22,73 \pm 0,78$ % et pour l'essai 2, il passe de $25,88 \pm 0,14$ % à $24,82 \pm 0,07$ %, cette diminution au cours de stockage est due à l'activité protéolytique et lipolytique des ferments lactiques.

Nous observons également une augmentation de la matière sèche au fur et à mesure de l'augmentation de la dose de pollen.

Il s'est avéré de l'analyse de la variance que l'incorporation du pollen a un effet significatif ($p = 0.015 < 0.05$) sur la teneur en matière sèche totale du produit fini au cours du stockage.

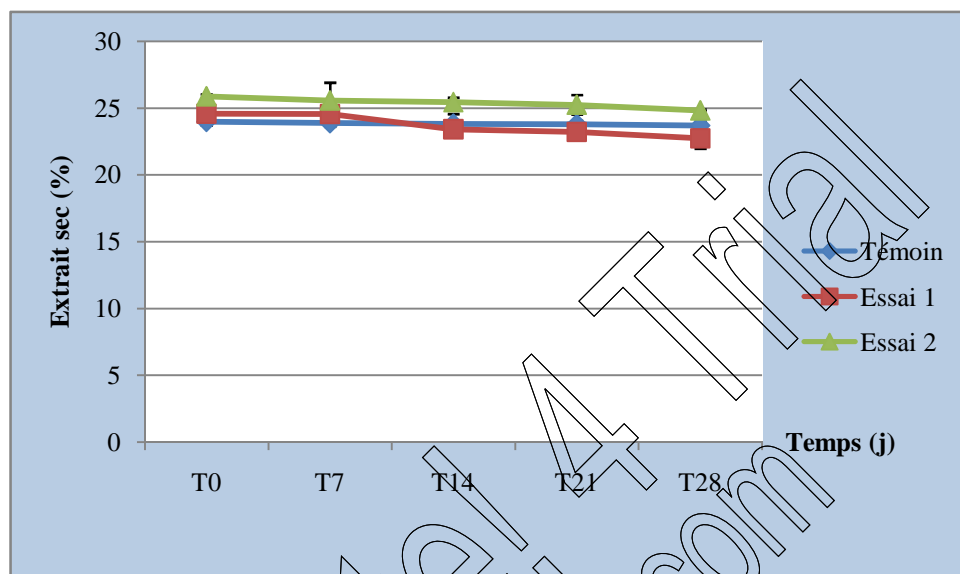


Figure 16 : Evolution de la matière sèche.

I.2.2.4. Matière grasse

La variation de la teneur en matière grasse des produits finis durant le stockage est rapportée dans le tableau 33 (annexe 9) et la figure 17.

L'observation des valeurs expérimentales montre que les produits finis ont une teneur en matière grasse supérieure à 3,00% et qui reste stable durant la période de stockage. Ceci est dû probablement aux bonnes conditions de stockage (à l'abri de l'air, l'abri de la lumière, et à l'abri de la chaleur), selon BONNEFOY *et al.* (2002), la non contamination par la flore lipolytique, y compris les levures et moisissures maintient la teneur en matière grasse constante.

L'analyse de la variance a révélé que l'incorporation du pollen a un effet très hautement significatif ($p = 0.0000 < 0,001$) sur la teneur en matière grasse du produit fini au cours du stockage.

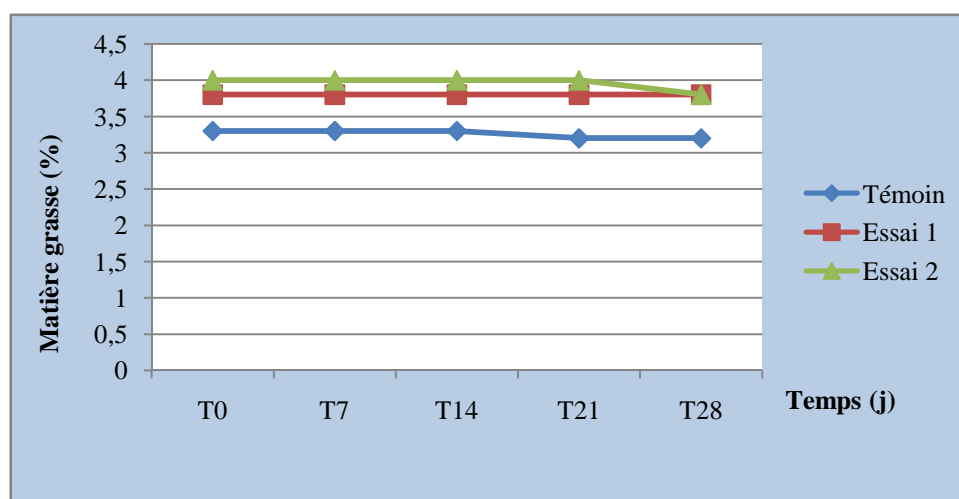


Figure 17 : Evolution de la matière grasse.

II. Analyses microbiologiques

II.1. Matières premières

II.1.1. Eau de process

Les résultats des analyses microbiologiques de l'eau de process sont rapportés dans le tableau suivant.

Tableau 16 : Analyses microbiologiques de l'eau de process

Echantillon Germes	Eau de process	Normes Algériennes (JORA N°35, 1998)
Coliformes totaux	Abs	Abs/100 MI
Coliformes fécaux	Abs	Abs/100 MI
Streptocoques fécaux	Abs	Abs/50 mL
Germes totaux	Abs	< 10 ² UFC/MI

Abs : Absence.

Les résultats des analyses microbiologiques de l'eau de process obtenues révèlent une conformité totale aux normes et cela suite à l'absence totale des germes recherchés : coliformes totaux, coliformes fécaux, streptocoques fécaux et germes totaux, cela atteste que la désinfection de l'eau par le traitement de chloration est bien maîtrisée.

II.1.2. Poudre de lait

Les résultats des analyses microbiologiques de la poudre de lait sont mentionnés dans le tableau suivant.

Tableau 17 : Analyses microbiologiques de poudre de lait

Echantillon Germes	Poudre de lait	Normes Algériennes (JORA N°35, 1998)
Germes totaux	Abs	2.10 ⁵ UFC/g

Coliformes totaux	Abs	1UFC/g
Coliformes fécaux	Abs	Abs/g
<i>Staphylococcus aureus</i>	Abs	Abs/g
Clostridium sulfitoréducteur	Abs	Abs/g
Salmonelles	Abs	Abs/25g
Levures	Abs	<10 UFC/g
Moisissures	Abs	<10 UFC/g

Les résultats des analyses microbiologiques de la poudre de lait révèlent une absence totale des germes indicateurs de contamination fécale à savoir les coliformes totaux et les coliformes fécaux, une absence totale des levures et moisissures ainsi que l'absence des germes pathogènes (Salmonelles, *Staphylococcus aureus* et les clostridium sulfitoréducteurs).

L'absence des germes recherchés indique que la poudre de lait entrant dans la fabrication du yaourt étuvé est de bonne qualité microbiologique, cela s'explique par le respect des règles d'hygiène lors de sa fabrication, les bonnes conditions de son stockage et la bonne manipulation au cours de la préparation des échantillons pour les analyses microbiologiques.

II.1.3. Sucre

Les résultats des analyses microbiologiques du sucre sont illustrés dans le tableau suivant.

Tableau 18 : Analyses microbiologiques du sucre

Echantillon	Sucre	Normes Algérienne (JORA N°35, 1998)
Germes totaux	Abs	20 germes/g
Coliformes totaux	Abs	5 germes/g
Coliformes fécaux	Abs	Abs/g
<i>Staphylococcus aureus</i>	Abs	Abs/g
Clostridium sulfite-réducteur	Abs	Abs/g
Salmonelles	Abs	Abs/g
Levures	Abs	1 germes/g
Moisissures	Abs	1 germes/g

Les résultats des analyses microbiologiques montrent que le sucre utilisé répond aux normes indiquées dans JORA N°35 (1998) par l'absence totales des germes saprophytes ou pathogènes, cela s'explique par la bonne manipulation lors des analyses microbiologique et le bon traitement de ses ingrédients lors de la fabrication, les bonnes conditions de stockage telle que la température, l'aération, l'humidité.

II.1.4. Pollen

Les résultats des analyses microbiologiques sont représentés dans le tableau suivant.

Tableau 19 : Analyses microbiologiques dupollen

Echantillon	Pollen
Germes	
Germes totaux	Abs
Coliformes totaux	Abs
Coliformes fécaux	Abs
Clostridium sulfito-réducteur	Abs
Salmonelles	Abs
Levures	Abs
Moisissures	Abs

Les résultats révèlent l'absence de toutes sortes de germes de contamination fécale, pathogène ou d'altération, cela indique que le traitement thermique qu'a subi le pollen est efficace.

II.2. Produits finis

II.2.1. Après production (j0)

Les résultats des analyses microbiologiques des produits finis sont représentés ci-après.

II.2.1.1. Yaourt témoin

Les résultats des analyses microbiologiques du yaourt témoin sont rapportés dans le tableau suivant.

Tableau 20 : Analyses microbiologiques du yaourt témoin

Temps de stockage	T0	Normes Algériennes (JORA N°35, 1998) (germes/mL)
Germes (germes/mL)		
Coliformes totaux	Abs	10
Coliformes fécaux	Abs	1
Germes totaux	Abs	20 germes/g
Levures	Abs	<100
Moisissures	Abs	Abs

Les résultats de l'analyse microbiologique du yaourt témoin montrent l'absence totale de tous les germes pathogènes ou d'altération recherchés : coliformes, germes totaux levures et moisissures, ce qui indique que le produit présente une bonne qualité hygiénique.

II.2.1.2. Essai 1

Les résultats des analyses microbiologiques de l'essai 1 sont illustrés dans le tableau suivant.

Tableau 21: Analyses microbiologiques de l'essai 1

Temps de stockage Germes (germes/mL)	T0	Normes Algériennes (JORA N°35, 1998) (germes/mL)
Coliformes totaux	Abs	10
Coliformes fécaux	Abs	1
Germes totaux	Abs	20 germes/g
Levures	Abs	<100
Moisissures	Abs	Abs

Les résultats de l'analyse microbiologique de l'essai 1 montrent l'absence totale de tous les germes pathogènes ou d'altération recherchés : coliformes, germes totaux levures et moisissures, ce qui indique que le produit présente une bonne qualité hygiénique.

II.2.1.3. Essai 2

Les résultats des analyses microbiologiques de l'essai 2 sont illustrés dans le tableau suivant.

Tableau 22: Analyses microbiologiques de l'essai 2

Temps de stockage Germes (germes/mL)	T0	Normes Algériennes (JORA N°35, 1998) (germes/mL)
Coliformes totaux	Abs	10
Coliformes fécaux	Abs	1
Germes totaux	Abs	20 germes/g
Levures	Abs	<100
Moisissures	Abs	Abs

Les résultats de l'analyse microbiologique de l'essai 2 montrent l'absence totale de tous les germes pathogènes ou d'altération recherchés : coliformes, germes totaux levures et moisissures, ce qui indique que le produit présente une bonne qualité hygiénique.

II.2.2. Au cours du stockage

Les résultats des analyses microbiologiques des produits finis sont représentés ci-après.

II.2.2.1. Yaourt témoin

Les résultats des analyses microbiologiques du témoin sont représentés dans le tableau suivant.

Tableau 23 : Analyses microbiologiques du yaourt témoin

Temps de stockage Germes (germes/mL)	T0	T7	T14	T21	T28	Normes Algériennes (JORA N°35, 1998)
--	----	----	-----	-----	-----	---

						(germes/mL)
Coliformes totaux	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	10
Coliformes fécaux	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	1
Germes totaux	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	20 germes/g
Levures	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	<100
Moisissures	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs

Les résultats de l'analyse microbiologique du yaourt témoin révèlent une conformité totale aux normes algériennes et cela suite à l'absence totale des germes recherchés pathogènes (*Staphylococcus aureus*, *Clostridium sulfitoréducteur*...), d'altération (levures et moisissures) ou même les germes indicateurs d'hygiène (coliformes totaux et coliformes fécaux), ce qui confirme que le processus et les conditions de fabrication sont bien maîtrisés et que les matières premières utilisées sont de bonne qualité hygiénique.

II.2.2.2. Essai 1

Les résultats des analyses microbiologiques de l'essai 1 sont représentés dans le tableau suivant.

Tableau 24 : Analyses microbiologiques de l'essai 1

Temps de stockage Germes (germes/mL)	T0	T7	T14	T21	T28	Normes Algériennes (JORA N°35, 1998) (germes/mL)
Coliformes totaux	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	10
Coliformes fécaux	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	1
Germes totaux	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	20 germes/g
Levures	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	<100
Moisissures	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs

Les résultats de l'analyse microbiologique de l'essai 1 au cours du stockage ont révélé l'absence totale de tous les germes pathogènes (*Staphylococcus aureus*, *Clostridium sulfitoréducteur*...), les germes d'altération (levures et moisissures) ou même les germes indicateurs d'hygiène (coliformes totaux et coliformes fécaux), ce qui confirme que le processus et les conditions de fabrication sont bien maîtrisés et que les matières premières utilisées sont de bonne qualité hygiénique.

II.2.2.3. Essai 2

Les résultats des analyses microbiologiques de l'essai 2 sont représentés dans le tableau suivant.

Tableau 25 : Analyses microbiologiques de l'essai 2

Temps de stockage Germes (germes/mL)	T0	T7	T14	T21	T28	Normes Algériennes (JORA N°35, 1998)
--	----	----	-----	-----	-----	---

						(germes/mL)
Coliformes totaux	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	10
Coliformes fécaux	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	1
Germes totaux	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	20 germes/g
Levures	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	<100
Moisissures	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs

Les résultats de l'analyse microbiologique de l'essai 2 au cours du stockage ont révélé l'absence totale de tous les germes pathogènes (*Staphylococcus aureus*, *Clostridium sulfitoréducteur*...), les germes d'altération (levures et moisissures) ou même les germes indicateurs d'hygiène (coliformes totaux et coliformes fécaux), ce qui confirme que le processus et les conditions de fabrication sont bien maîtrisés et que les matières premières utilisées sont de bonne qualité hygiénique.

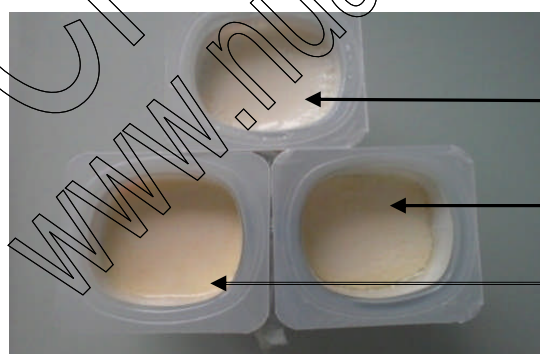
III. Évaluation sensorielle



Témoin

Essai 1

Essai 2



Témoin

Essai 1

Essai 2

Figure 18 : Les différentes formulations de yaourt étuvé enrichi en pollen (originales).

Les résultats de l'évaluation sensorielle des yaourts enrichis en pollen (essai 1 et essai 2), pour les trois groupes de panels (enfants, femmes et hommes) sont rapportés dans les tableaux et les figures suivants. On rappelle de l'échelle de notation utilisé (1- Très bon, 2- Bon, 3- Moyen, 4- Médiocre).

1) Enfants :

Le résultat de l'évaluation sensorielle des enfants pour les deux types de yaourts enrichis, est représenté dans les tableaux 34 et 35 (annexe 10) et les figures 19 et 20 respectivement.

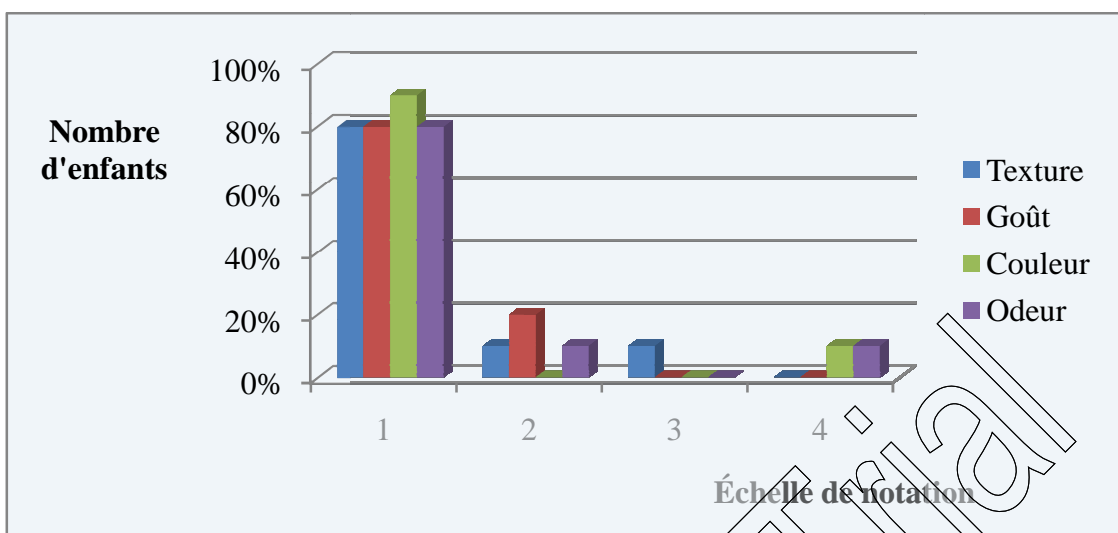


Figure 19 : Profil sensoriel de l'essai 1.

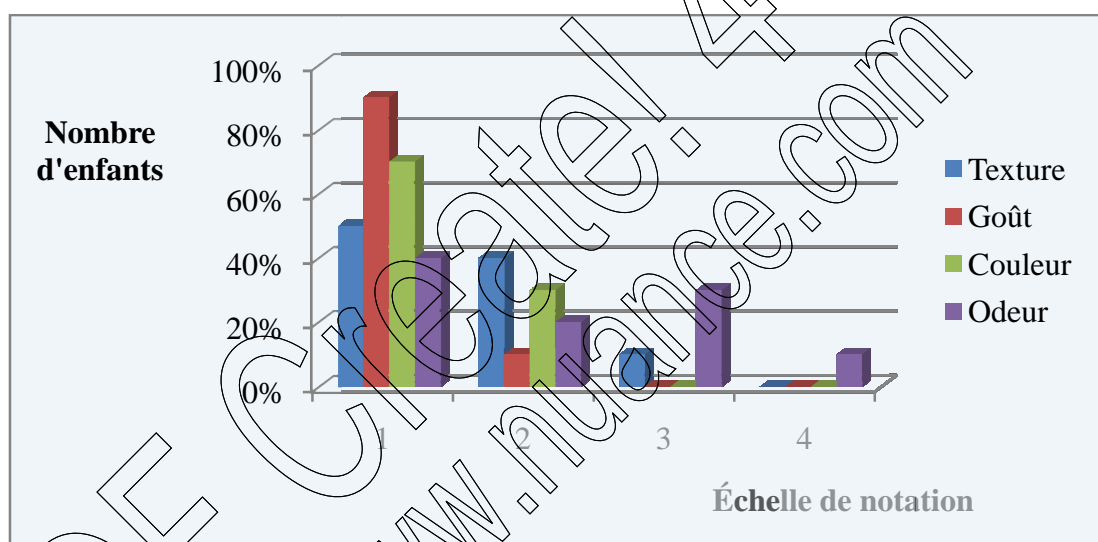


Figure 20 : Profil sensoriel de l'essai 2.

L'évaluation sensorielle effectuée par les enfants a révélé que l'essai 1 est plus apprécié que l'essai 2, la majorité a jugé ses qualités sensorielles « très bonnes », cela à dire que la majorité des enfants n'ont pas détecté l'arrière-goût du lait sachant que la plus part regrettent souvent de prendre leur lait pour cette raison-là, et lors de la dégustation ils ont admis que le yaourt enrichi en pollen constitue un bon substitut au lait.

Pour l'essai 2 il a été jugé bon par la majorité des enfants à cause du goût du pollen prononcé (goût de foin) étant donné que la dose est double l'essai 1, en plus de l'aspect un peu granuleux du produit qui revient à la précipitation des graines du pollen suite à une mauvaise solubilisation au cours de la préparation.

2) Femmes :

Le résultat de l'évaluation sensorielle mené par les femmes, pour les deux types de yaourts enrichis mentionné dans les tableaux 36 et 37 (annexe 10) et les figures 21 et 22 respectivement.

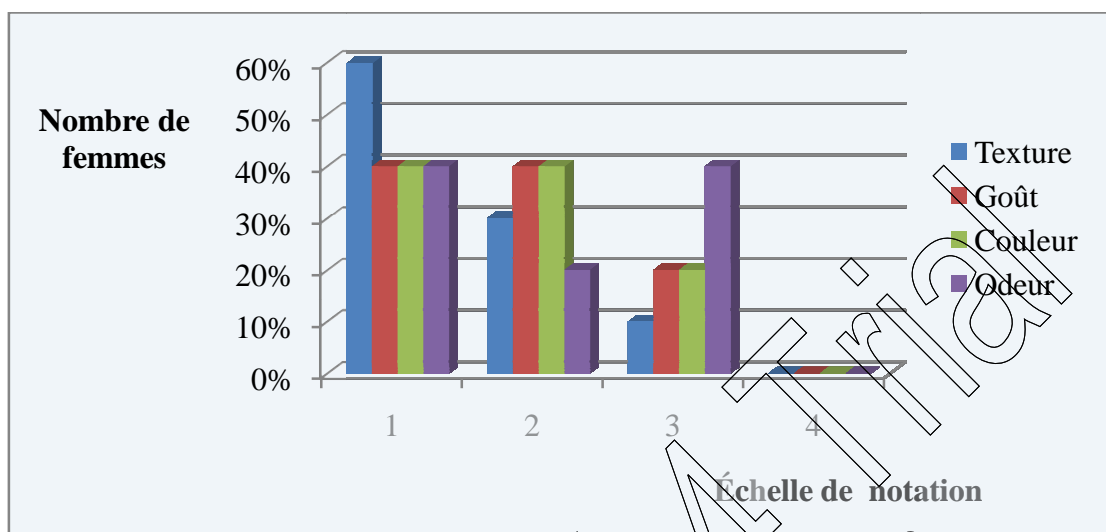


Figure 21 : Profil sensoriel de l'essai 1.

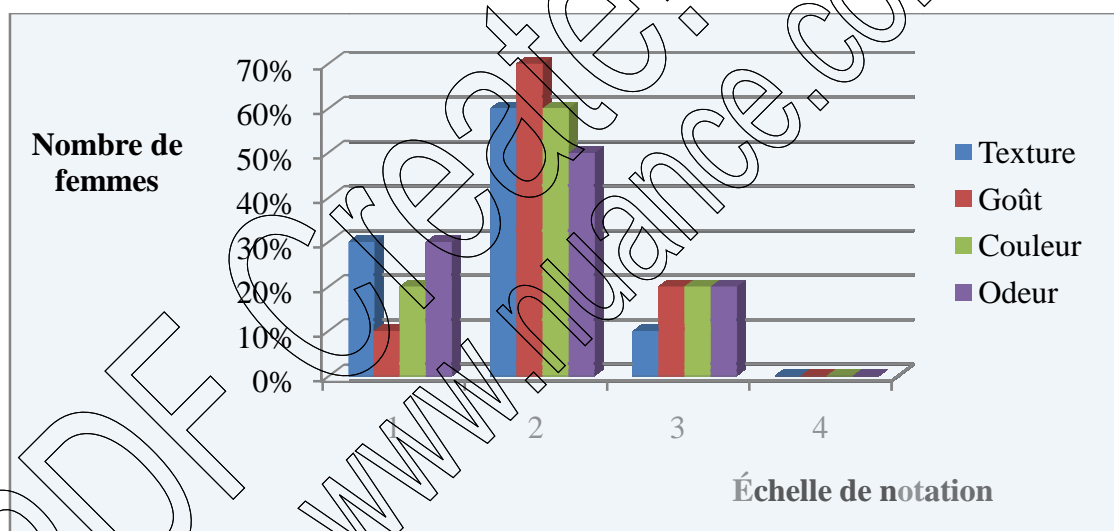


Figure 22 : Profil sensoriel de l'essai 2.

D'après les résultats obtenus on constate que la majorité des femmes ont jugé « très bon » La texture, le goût, la couleur et l'odeur de l'essai 1 et elles ont jugé « bon » les qualités sensorielles de l'essai 2.

3) Hommes :

Le résultat de l'évaluation sensorielle menée par les hommes concernant les deux types des yaourts enrichis, est représenté dans les tableaux 38 et 39 (annexe 10) et les figures 23 et 24 respectivement.

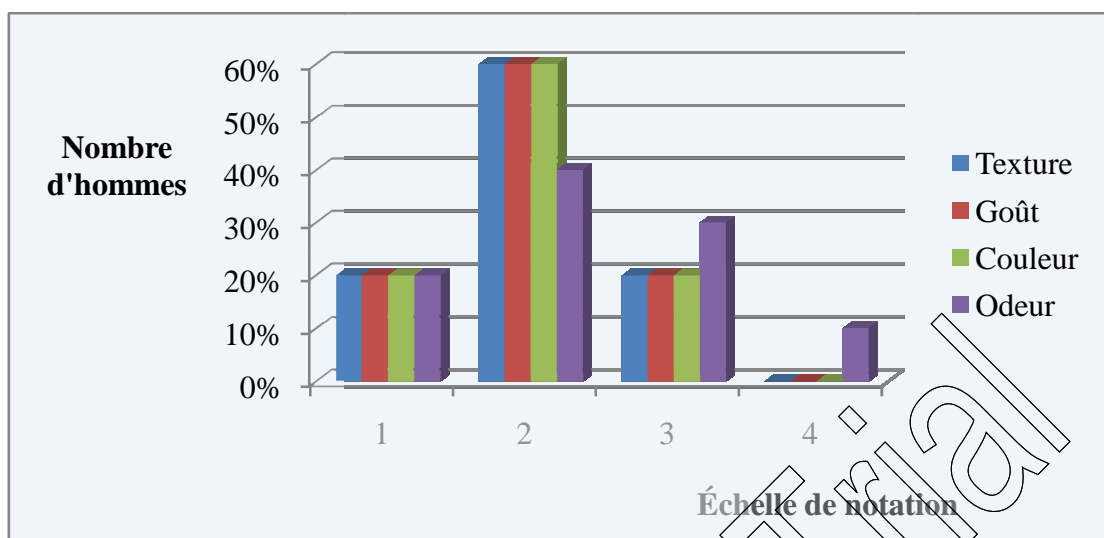


Figure 23 : Profil sensoriel de l'essai 1.

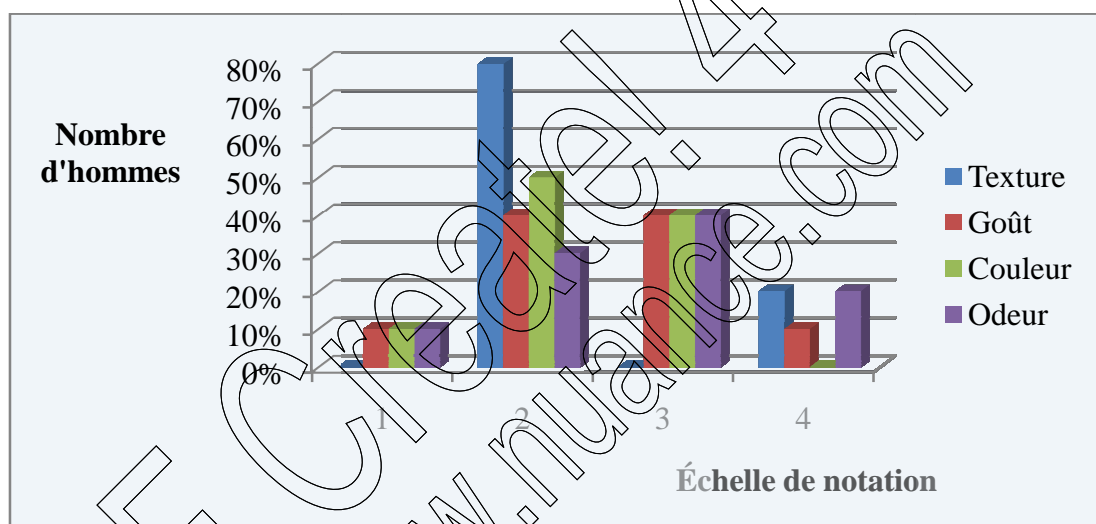


Figure 24 : Profil sensoriel de l'essai 2.

Les figures 19 et 21 représentant l'acceptabilité des yaourts enrichis à différentes doses par le panel des hommes, révèlent que les qualités sensorielles des deux yaourts ont été jugés « bonnes », néanmoins le yaourt enrichi à raison de 5g/L reste toujours le mieux apprécié.

4) L'ensemble du panel :

Le résultat global de l'évaluation sensorielle des deux types de yaourts enrichis à différentes doses, par l'ensemble du panel est démontré dans les tableaux 40 et 41 (annexe 10) et les figures 25 et 26 respectivement.

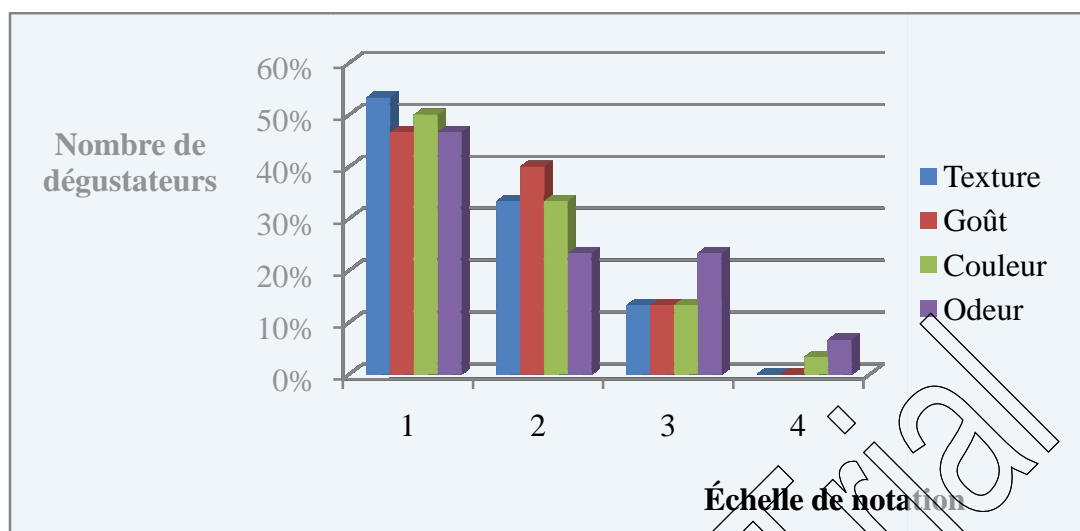


Figure 25 : Profil sensoriel de l'essai 1.

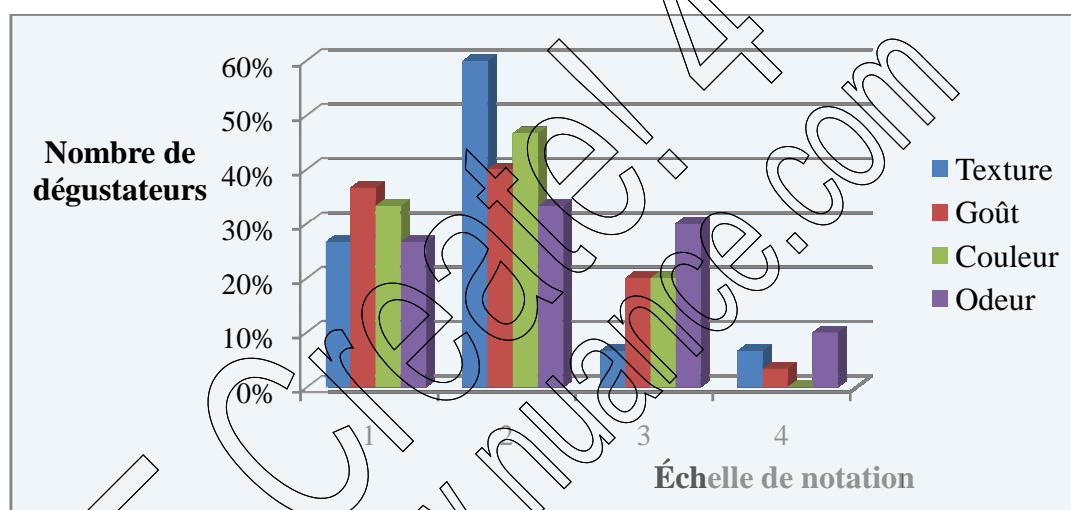


Figure 26 : Profil sensoriel de l'essai 2.

La figure 27 illustre la comparaison des profils sensoriels des deux produits finis enrichis.

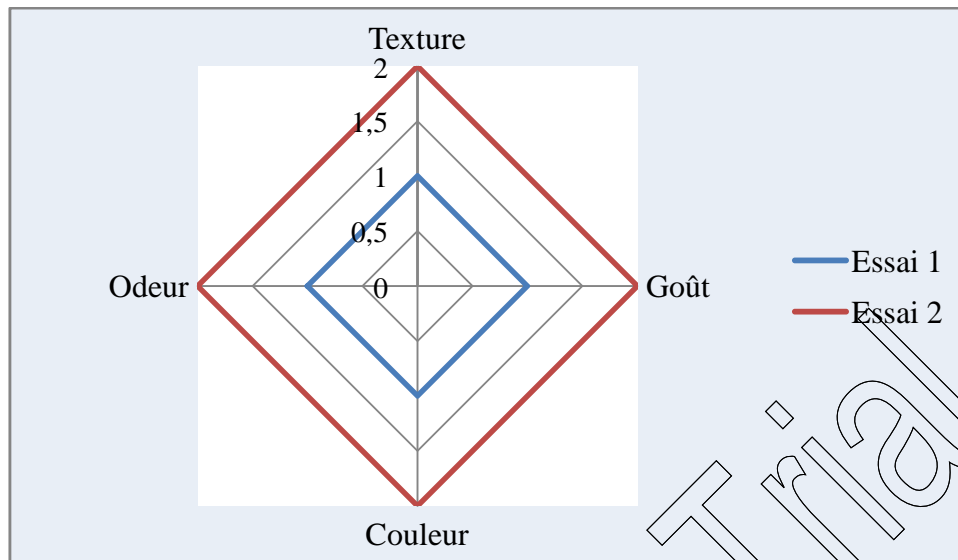


Figure 27 : Comparaison des profils sensoriels des yaourts enrichis.

On conclue que le yaourt enrichi en pollen à raison de 5g/L est le plus apprécié par les dégustateurs, le yaourt enrichi en pollen à raison de 10g/L est aussi apprécié par les dégustateurs mais à un degré moindre.

Conclusion

Malgré l'état actuel des connaissances, les carences en micronutriments représentent toujours un problème de santé publique aux conséquences physiologiques et économiques non négligeables ce qui a conduit à la création d'un nouveau marché : celui des alicaments. Ils consistent en des aliments sains, couvrant les besoins nutritifs, et apportant au corps la prévention de certaines maladies. De ce fait, notre étude a porté sur l'essai de l'enrichissement d'un produit à forte consommation sur le territoire national « le yaourt » avec le pollen d'abeille qui est une substance qualifiée de « naturelle » par excellence, vu ses qualités nutritionnelles pures.

Au cours de cette étude, nous avons mis au point la fabrication de yaourt étuvé enrichi en pollen à différentes doses, par la suite nous avons évalué la qualité physico-chimique, microbiologique et organoleptique du produit fini formulé et au cours de son stockage.

Sur le plan physico-chimique on constate pour la poudre de lait que les teneurs des paramètres (acidité, EST, H%, MG) sont conformes aux normes préconisées par JORA N°35, (1998). Ces résultats confirment que les conditions de fabrication et de conservation ont été bien maîtrisées.

A partir des résultats du tableau 14, nous remarquons que l'eau de process a un pH voisin de la neutralité (pH=7,11), nous remarquons également une conformité de la valeur du chlore libre (56,8 mg/L) à celle exigée par la laiterie Trèfle, ce qui atteste que le traitement de déchloration que l'eau a subi est efficace.

Pareillement pour les autres matières premières (sucre et pollen), nous révélons une conformité des résultats physico-chimiques aux normes exigées, donc elles peuvent être utilisées sans risque pour la reconstitution du lait.

Ces analyses physico-chimiques concernent aussi le produit fini (yaourt témoin et enrichi) jusqu'à 3 semaines de stockage.

D'après les résultats concernant la variation du pH et de l'acidité titrable des produits finis, on constate une diminution progressive des valeurs du pH où il atteint une valeur de 4,2 pour le yaourt témoin, 4,02 pour l'essai 1 et 4,08 pour l'essai 2.

Parallèlement, l'acidité augmente pour les trois types de yaourts et atteint 85°D pour le yaourt témoin, 112°D pour l'essai 1 et 107°D pour l'essai 2, cela s'explique par la dégradation du lactose en acide lactique ainsi que l'activité protéolytique et lipolytique des ferments lactiques aboutissant à la diminution du pH et l'augmentation de l'acidité titrable.

D'après les résultats concernant la variation de l'extrait sec des produits finis au cours de stockage, nous remarquons une augmentation de la matière sèche au 1^{er} jour de production au fur et à mesure de l'augmentation de la dose du pollen où on note 23,97 % pour le témoin, 24,57% pour l'essai 1 et 25,88 % pour l'essai 2 puis on remarque une diminution progressive de ces teneurs au cours de stockage.

Les résultats montrent que la teneur des produits finis en matière grasse est supérieure à 3,0% et qui reste stable durant la période de stockage.

Pour les analyses microbiologiques, il s'est avéré que le processus et les conditions de fabrication des produits, sont bien maîtrisés et que les matières premières utilisées sont de bonne qualité hygiénique et cela était confirmé par l'absence totale des germes d'altération ou même les germes indicateurs d'hygiène.

Conclusion

Par la suite, nous avons soumis ces produits à une appréciation sensorielle par le biais de test hédonique dans le but de mesurer le plaisir et/ou la satisfaction éprouvés à la consommation du produit. Cette évaluation a révélé que le yaourt enrichi en pollen avec une dose de 5g/L est nettement le plus préféré par les dégustateurs vu qu'il est un yaourt de très bonne qualité organoleptique, le yaourt enrichi à raison de 10g/L est aussi aimé par les dégustateurs généralement sa qualité organoleptique est bonne.

Les perspectives de poursuite de cette modeste part de contribution sont très larges. Nous nous contenterons de suggérer ici les perspectives les plus intéressantes :

- ✓ Enrichir le yaourt en pollen améliore les bienfaits et augmente la valeur nutritionnelle, néanmoins beaucoup des constituants de pollen notamment les acides aminés et certaines vitamines sont connus comme étant sensibles aux traitements thermiques. En effet, le chauffage non modéré induit malheureusement une baisse sensible de la valeur nutritionnelle du pollen de ce fait la préparation du produit doit être faite avec soins pour préserver le maximum de ses qualités nutritionnelles.
- ✓ Faire une pré-étude économique pour le produit.
- ✓ Le succès des interventions contre les carences en micronutriments passe par la participation active des individus. Leur information et éducation, notamment à travers les campagnes, sont essentielles car les gens appréhendent mal la réalité du problème et ses conséquences, ainsi que les secteurs publics de la santé et de l'éducation, les industries agroalimentaires et les médias devraient contribuer aux succès des interventions et au contrôle de ce problème.