

**UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA**

**Faculté des Sciences de la nature et de la vie**

**Département Agro-alimentaire**

**THESE DE DOCTORAT**

En Nutrition et transformation des aliments

**VALORISATION DES PROTEINES ET DE SUBSTANCES ACTIVES  
EXTRAITES DE PLANTES (*Atriplex halimus*, *Griffonia  
simplicifolia*, *ET Lupinus albus*,) COMME ADDITIFS DANS LA  
FORMULATION DE PRODUITS ALIMENTAIRES DIETETIQUES**

Par

**Nesrine ZAOUADI**

Devant le jury composé de :

S.MEGATELI	Professeur	Blida 1	Président
S.LEFNAOUI	MCA	U.Y.F.Médéa	Examinatrice
A.MEZAINI	Professeur	UHBC	Examineur
A.HADJ ZIANE- ZAFOUR	Professeur	Blida 1	Encadrant

Blida, Décembre 2020

**UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA**

**Faculté des Sciences de la nature et de la vie**

**Département Agro-alimentaire**

**THESE DE DOCTORAT**

En Nutrition et transformation des aliments

**VALORISATION DES PROTEINES ET DE SUBSTANCES ACTIVES  
EXTRAITES DE PLANTES (*Atriplex halimus*, *Griffonia  
simplicifolia*, *ET Lupinus albus*,) COMME ADDITIFS DANS LA  
FORMULATION DE PRODUITS ALIMENTAIRES DIETETIQUES**

Par

**Nesrine ZAOUADI**

Devant le jury composé de :

S.MEGATELI	Professeur	Blida 1	Président
S.LEFNAOUI	MCA	U.Y.F.Médéa	Examinatrice
A.MEZAINI	Professeur	UHBC	Examineur
A.HADJ ZIANE- ZAFOUR	Professeur	Blida 1	Encadrant

Blida, Décembre 2020

## RESUME

Les plantes constituent un précieux arsenal dans la découverte de nouveaux agents thérapeutiques et ont reçu beaucoup d'attention en tant que sources de substances biologiquement actives (polyphénols, vitamines, acides aminés...). Dans ce travail trois espèces « *Atriplex halimus*, *Griffonia simplicifolia* et *Lupinus albus* » ont été étudiées. Les caractéristiques physico-chimiques et phytochimiques ont été évaluées. Les acides aminés et acides gras contenus dans ces plantes ont été identifiées par les techniques chromatographiques (UPLC, GC/MS). L'objectif de cette présente étude est l'incorporation de ces plantes dans des produits alimentaires à large consommation à savoir les boissons et les produits laitiers. Afin d'optimiser les formulations, la méthodologie des plans d'expériences a été utilisée. Pour se faire, deux boissons végétales ont été préparées ; la première à base de jus d'agrumes et d'extrait aqueux de feuilles d'*A. halimus* édulcorée à la stevia, et la deuxième ; un lait végétal « lait au lupin » qui est voisin du lait de soja, la boisson est édulcorée aux dattes et aromatisée au caramel. Aussi, un fromage frais a été formulé à partir de l'extrait aqueux des graines de *L. albus*, et enfin une crème de riz contenant du *G.simplicifolia* et de la farine de dattes (apport de saveur sucrée). L'effet de cette incorporation sur les caractéristiques sensorielles, physicochimiques, phytochimiques, microbiologiques, et rhéologiques (Crème de riz) des produits élaborés en comparaison avec des produits de références commercialisés (PR, BS, PRf, PRcr) ont été examinés. La teneur en protéines est de  $45,2\pm 0,09\%$  dans les graines de *L. albus*,  $14,52\pm 0,44\%$  dans les feuilles d'*A.halimus* et  $22,16\pm 0,46\%$  dans les graines de *G.simplicifolia*. La teneur en matière grasse est de  $9,04\pm 0,14\%$  dans les graines *L. albus*,  $4,63\pm 0,08\%$  dans les feuilles d'*A.halimus*, et  $19,07\pm 0,23\%$  dans les graines de *G.simplicifolia*. Les feuilles d'*A.halimus* ont une teneur en polyphénols de  $15,69\pm 0,63$  (mg EAG/g),  $7,15\pm 0,45$  (mg EC/g) de Flavonoïdes, et  $8,20\pm 0,38$  (mg EC/g) de Tanins. Alors que *G.simplicifolia* et *L.albus* contiennent  $18,25\pm 0,27$  (mg EAG/g) et  $9,32\pm 0,92$  (mg EAG/g) de polyphénols et  $2,63\pm 0,47$  (mg/kg) et  $8,61\pm 0,40$  (mg/kg) d'alcaloïdes respectivement. L'activité antioxydante la plus importante a été observée chez *A.halimus* ( $66,48\pm 0,61\%$ ), suivit par *L.albus* ( $52,92\pm 0,58\%$ ), et enfin *G.simplicifolia* ( $34,76\pm 1,39\%$ ).

Le contenu en acides aminés et acides gras varie considérablement entre les trois plantes, cependant *L.albus* est plus riche en acides aminés dont les principaux sont la leucine, la proline et lysine. Les acides gras les plus répandus sont l'acide oléique chez *L.albus*, l'acide linoléique est retrouvé chez *G.simplicifolia*, alors que *A.halimus* contient de l'acide palmitique. La boisson végétale optimale (à base d'extrait d'*A.halimus*) présente une bonne qualité sensorielle (note attribuée pour l'acceptabilité 3,85 et la saveur 4,27 sur un total de 5), avec un apport en vitamine C estimé à 28,24mg/100ml. Alors que la formule retenue pour le lait de lupin est caractérisée par une teneur en protéines de 7,29%, une teneur en Calcium de 33,13 mg/100ml, activité antioxydante estimée à 31,15 %, et la note attribuée à l'acceptabilité est de 3,66 (sur un total de 5). La formule optimale du fromage frais contenant du lait de lupin, possède un taux de protéine de 19,07%, une teneur en cendre de 0,87% et un score de 3,70 pour l'acceptabilité générale. Cependant la crème de riz formulée permet d'apporter 8,98g/100g de protéines, 10,93% pour l'activité antiradicalaire, et le score de 4,40 pour la saveur sucrée. Les résultats de cette étude permettent de conclure que les aliments fonctionnels développés assurent un apport supplémentaire en composés bioactifs cas des acides aminés indispensable, acides gras insaturés, polyphénols, et sels minéraux qui ont plusieurs avantages pour la santé des consommateurs.

Mots clés : Valorisation, *Atriplex halimus*, *Griffonia simplicifolia*, *Lupinus albus*, aliment fonctionnel.

## ABSTRACT

Plants constitute a precious arsenal in the discovery of new therapeutic agents and have received a lot of attention as sources of biologically active substances (polyphenols, vitamins, amino acids...). Three species "*Atriplex halimus*, *Griffonia simplicifolia* and *Lupinus albus*" have been studied. The physico-chemical and phytochemical characteristics were evaluated. Amino acids and fatty acids contained in these plants were identified by chromatographic techniques (UPLC, GC/MS). The objective of this study is the incorporation of these plants in food products with a wide range of consumption namely beverages and dairy products. In order to optimize the formulations, experimental design methodology was used. To do so, two vegetable drinks were prepared; the first one based on citrus juice and aqueous extract of *A. halimus* leaves sweetened with stevia, and the second one; a vegetable milk "lupin milk" which is similar to soy milk, the drink is sweetened with dates and flavored with caramel. Also, a fresh cheese has been formulated from the aqueous extract of *L. albus* seeds, and finally a rice cream containing *G.simplicifolia* and date flour. The effect of this incorporation on the sensory, physicochemical, phytochemical and microbiological characteristics of the products developed in comparison to marketed reference products (PR, BS, PRf, PRcr) was examined. The protein content is  $45.2\pm 0.09\%$  in *L. albus* seeds,  $14.52\pm 0.44\%$  in *A.halimus* leaves and  $22.16\pm 0.09\%$  in *G.simplicifolia* seeds. The fat content is  $9.04\pm 0.14$  in *L. albus* seeds,  $4.64\pm 0.08\%$  in *A.halimus* leaves, and  $19.07\pm 0.23\%$  in *G.simplicifolia* seeds. *A.halimus* leaves have a polyphenol content of  $15.69\pm 0.63$  (mg EAG/g),  $7.15\pm 0.45$  (mg EC/g) Flavonoids, and  $8.20\pm 0.38$  (mg EC/g) Tannins. While *G.simplicifolia* and *L.albus* contain  $18.25\pm 0.27$  (mg EAG/g) and  $9.32\pm 0.92$  (mg EAG/g) polyphenols and  $2.63\pm 0.47$  (mg/kg) and  $8.61\pm 0.40$  (mg/kg) alkaloids respectively. The highest antioxidant activity was observed in *L.albus* ( $52.92\pm 0.58\%$ ), followed by *G.simplicifolia* ( $34.76\pm 1.39\%$ ), and finally *A.halimus*  $25.02\pm 0.61\%$ . The content of amino acids and fatty acids varies considerably between the three plants, however *L.albus* is richer in amino acids of which the main ones are free and are leucine, proline and lysine. Oleic acid seems to be dominant in *L.albus*, linoleic acid is found in *G.simplicifolia*, while palmitic acid is the most present in *A.halimus*. The optimal vegetable drink (based on *A.halimus* extract) has a good sensory quality (acceptability score 3.85 and flavour score 4.27 out of a total of 5), with an estimated vitamin C intake of 28.24mg/100ml. Whereas the formula chosen for lupin milk is characterised by a protein content of 7.29%, a Calcium content of 33.13 mg/100ml, with an estimated antioxidant activity of 31.15%, and the score attributed for acceptability is 3.66 (out of a total of 5). The optimal fresh cheese formula containing lupin milk has a protein content of 19.07%, ash content of 0.87% and a score of 3.70 for general acceptability. However, the formulated rice cream provides 8.98g/100g of protein, 10.93% for antiradical activity, and a score of 4.40 for sweetness. In conclusion, the functional foods that have been developed provide an additional supply of bioactive compounds, such as essential amino acids, unsaturated fatty acids, polyphenols and mineral salts, which have several benefits for the health of consumers.

Key words: Valorization, *Atriplex halimus*, *Griffonia simplicifolia*, *Lupinus albus*, functional food.

## الملخص

تشكل النباتات ترسانة ثمينة في اكتشاف مواد علاجية جديدة وقد حظيت باهتمام كبير كمصادر للمواد الفعالة بيولوجياً (البوليفينول والفيتامينات والأحماض الأمينية، إلخ). من أجل تعزيز النباتات الموجودة، تمت دراسة ثلاثة أنواع هي "*Atriplex halimus* و *Griffonia simplicifolia* و *Lupinus albus*". تم تقييم الخصائص الفيزيوكيميائية. تم التعرف على الأحماض الأمينية والأحماض الدهنية الموجودة في هذه النباتات من خلال تقنيات الكروماتوغرافيا (GC / MS ، UPLC). الهدف من هذه الدراسة هو إمكانية دمج هذه النباتات في المنتجات الغذائية والتي تتمثل في المشروبات ومشتقات الحليب. من أجل تحسين الصيغ، تم استخدام منهجية خطط التجربة. للقيام بذلك، تم إعداد مشروبين من النباتات. الأول يحتوي على عصير الحمضيات ومستخلص أوراق *A. halimus* و محلى بستيفيا ، والثاني ؛ "حليب الترمس" الذي يشبه حليب الصويا ، و هو محلى بالتمر. كما تم إعداد جبن طازج مصنوع من مستخلص بذور *L. albus* ، وأخيراً كريم أرز يحتوي على *G. simplicifolia* ومسحوق التمر. تم فحص تأثير هذا الدمج على الخصائص الحسية الفيزيوكيميائية والميكروبيولوجية للمنتجات المحضرة بالمقارنة مع المنتجات المرجعية المسوقة (PR، BS، PRf، PRcr). محتوى البروتين (45.2 ± 0.09%) في بذور نبات *L. albus* (14.52 ± 0.44%) في أوراق نبات *A. halimus* و (22.16 ± 0.46%) في بذور *G. simplicifolia*. محتوى المانعة الدسمة (9.04 ± 0.14%) في بذور *L. Albus* و (4.63 ± 0.08%) في أوراق *A. halimus* و (19.07 ± 0.23%) في بذور *G. simplicifolia*. تحتوي أوراق *A. halimus* على محتوى بوليفينول يبلغ (15.69 ± 0.63 مغ/غ)، (7.15 ± 0.45 مغ / غ) فلافونويد، و (8.20 ± 0.38 مغ / غ) من العفص تمت دراستهم. بينما يحتوي كل من *G. simplicifolia* و *L. albus* على (18.25 ± 0.27 مغ / غ و (9.32 ± 0.92 مغ / غ من مادة البوليفينول و (2.63 ± 0.47 مغ / غ و (8.61 ± 0.40 مغ / غ فلوويدات على التوالي. لوحظ أهم نشاط مضاد للأكسدة بالنسبة لـ *A. halimus* (66.48 ± 0.61%) يليه *L. albus* (52.92 ± 0.58%)، وأخيراً *G. simplicifolia* (34.76 ± 1.39%). يختلف محتوى الأحماض الأمينية والأحماض الدهنية بشكل كبير بين النباتات الثلاثة، إلا أن *L. Albus* يحتوي على أعلى نسبة، وأهمها الليوسين والبرولين والليسين. يبدو أن حمض الأوليك هو المسيطر في *L. albus*، ويوجد حمض اللينوليك في *G. simplicifolia*، بينما ينتشر حمض البالمتيك في *A. halimus*. يتمتع المشروب النباتي الأمثل (استناداً إلى مستخلص *A. halimus*) بجودة حسية جيدة (العلامة المنسوبة إلى القبول 3.85 والنكهة 4.27 من إجمالي 5)، مع مساهمة فيتامين C يقدر بـ 28.24 مغ / 100 مل. بينما يتميز حليب الترمس بمحتوى بروتيني (7.29%)، ومحتوى الكالسيوم 33.13 مغ / 100 مل، يقدر نشاط كسح الجذور DPPH بـ 31.15%، والعلامة المنسوبة إلى القبول (3.66 من إجمالي 5). تحتوي الصيغة المثلى للجبن، التي تحتوي على حليب الترمس، على 19.07% من البروتين، وعلى 0.87% من الأملاح المعدنية ودرجة 3.70 للقبول العام. ومع ذلك، فإن كريم الأرز المصنعة توفر 8.98 غ / 100 غ من البروتين، و10.93% لنشاط كسح الجذور DPPH ، ودرجة 4.40 للنكهة الحلوة. تسمح نتائج هذه الدراسة باستنتاج أن الأطعمة الوظيفية المطورة توفر مصدرًا إضافيًا للمركبات النشطة بيولوجيًا مثل الأحماض الأمينية الأساسية والأحماض الدهنية غير المشبعة والبوليفينول والأملاح المعدنية التي لها العديد من الفوائد الصحية للمستهلكين .

الكلمات الدالة: تثمين، *Lupinus albus*، *Griffonia simplicifolia*، *Atriplex halimus*، غذاء وظيفي

## REMERCIEMENTS

En tout premier lieu, ma gratitude la plus sincère à notre seigneur, ALLAH, de m'avoir donné la possibilité d'entreprendre cette étude et de m'avoir donné la force de l'achever.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance au Pr. MEGATELI pour me faire honneur en présidant ma soutenance de thèse. Je remercie le Dr. LEFNAOUI, ainsi que le Pr. MEZAINI d'avoir accepté d'examiner et d'évaluer mon travail de thèse.

A ma directrice de thèse Pr. HADJ ZIANE ZAFOUR Amel, je vous exprime mes plus sincères remerciements. J'ai eu le privilège de travailler parmi votre équipe et d'apprécier vos qualités et vos valeurs. Votre sérieux, votre compétence et votre sens du devoir m'ont énormément marqué. Veuillez trouver ici l'expression de ma respectueuse considération et ma profonde admiration pour toutes vos qualités scientifiques et humaines.

Je tiens à remercier aussi le Pr. SERAP SAGLIK ASLAN qui m'a donné l'opportunité de réaliser un stage d'un mois au laboratoire du département de chimie analytique, faculté de pharmacie, Université d'Istanbul, ce qui m'a permis d'enrichir ma thèse et mes connaissances.

Je tiens également à remercier tous le personnel de la laiterie ARIB de AIN DEFLA pour leur collaboration positive et contribution au travail.

J'adresse mes plus vifs remerciements aux ingénieurs et techniciens de laboratoire de Biochimie et de Microbiologie à l'Université Djilali Bounamaa de Khemis Miliana pour leur aide, leur gentillesse au quotidien, leur soutien et merci pour votre amitié. Mes remerciements vont à tous ceux qui ont, de près ou de loin, contribué à l'élaboration de cette thèse.

## Dédicaces

À mes très chers parents qui ont été toujours présents à mes côtés par leur amour, soutien et encouragements. A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse, A toi Maman qui a tout le temps prié pour moi. A l'homme qui doit ma vie, ma réussite et mon respect. A toi mon Père, toi qui m'a toujours gâtée. Je vous serai éternellement reconnaissante

À mon unique frère Mohamed pour sa contribution à la réalisation de ce travail et aussi pour son soutien moral

À mon unique sœur Manal et son mari Aniss; qui m'ont toujours soutenu et encouragé, que dieu leur offre chance et bonheur

Particulièrement à mon fils Kenzi, qui sait toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille, que dieu te protège et te garde pour ta maman qui t'aime très fort

À mes oncles, tantes, cousins, cousines paternels et maternels, et mes amis (es)

## TABLE DES MATIERES

RESUME	2
REMERCIEMENT	3
DEDICACES	4
TABLE DES MATIERES	5
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX	6
INTRODUCTION	7
I SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	
1 . DESCRIPTION DES LES PLANTES ETUDIEES	10
1.1 . <i>Atriplex halimus</i> L.	10
1.1.1. Description	10
1.1.2. Systématique de <i>Atriplex halimus</i>	11
1.1.3. Répartition des <i>Atriplex</i>	11
1.1.4. Composition chimique	12
1.1.5. Propriétés thérapeutiques de <i>Atriplex halimus</i>	13
1.1.5.1. Propriétés antioxydantes	13
1.1.5.2. Effets antidiabétiques	13
1.2. <i>Griffonia simplicifolia</i>	13
1.2.1. Dénominations	14
1.2.2. Systématique de <i>Griffonia simplicifolia</i>	14
1.2.3. Description	14
1.2.4. Compositions des graines de <i>Griffonia simplicifolia</i>	15
1.2.4.1. Composition en acides aminés	15
1.2.4.2. Composition en acides gras et phytostérols	17
1.2.4.3. Autres composés	18
1.2.4. Effet thérapeutique de <i>Griffonia simplicifolia</i>	18
1.2.4.1. Dépression	18
1.2.4.2. Maux de tête chronique	19
1.3. <i>Lupinus albus</i> L.	19
1.3.1. Dénomination	19

1.3.2. Origine et répartition géographique	19
1.3.3. Description botanique	20
1.3.4. Systématique du <i>Lupinus albus</i>	20
1.3.5. Composition de la graine de <i>Lupinus</i>	21
1.3.5.1. Composition en acides aminés	21
1.3.5.2. Composition en acides gras	22
1.3.5.3. Glucides	23
1.3.5.4. Composition en sels minéraux et vitamines	23
1.3.5.5. Alcaloïdes	24
1.3.6. Utilisation de <i>Lupinus albus</i>	24
2. BOISSONS VEGETALES	27
2. 2. Différents types de boisson	27
2.1. Consommation des boissons en Algérie	27
2.2.1. Boissons chaudes	27
2.2.2. Jus de fruits	28
2.2.2.1. Classification des jus de fruits	28
2.2.2.2. Valeur nutritionnelle des jus de fruits	29
2.2.3. Boissons gazéifiées	30
2.2.4. Boissons lights	30
2.2.5. Boissons végétales	30
2.2.5.1. Classification des boissons végétales	30
2.2.5.2. Fabrication des boissons végétales	32
3. LAIT ET PRODUITS LAITIERS	34
3.1. Lait cru	34
3.1.1. Composition chimique du lait	35
3.2. Produits laitiers frais	36
3.2.1. Fromage frais	36
3.2.1.1. Composition chimique du fromage frais	36
3.2.1.2. Technologie de fabrication des fromages frais	37
3.2.2. Desserts lactés	38

3.2.2.1. Crèmes desserts	39
3.2.2.2. Riz au lait	39
3.2.2.3. DLF allégés en matière grasse et/ou en sucres ou édulcorés	40
3.2.2.4. Ingrédients de fabrication des desserts lactés	41
3.2.2.5. Procédés de fabrication des DLF	41
3.2.2.6. Comportement rhéologique des desserts lactés	43

## II PARTIE PRATIQUE

4. CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE ET PHYTOCHIMIQUE DES PLANTES ETUDIEES	53
4.1. Matériel et méthodes	45
4.1.1. Provenance du matériel végétal	45
4.1.1.1. <i>Atriplex halimus</i>	45
4.1.1.2. <i>Griffonia simplicifolia</i>	46
4.1.1.3. <i>Lupinus albus</i>	46
4.1.2. Méthodes	48
4.1.2.1. Teneur en matière sèche (MS)	48
4.1.2.2. Teneur en matière minérale (MM)	48
4.1.2.3. Détermination de la teneur en protéines	49
4.1.2.4. Détermination du profil en acides aminés	49
4.1.2.5. Détermination de la teneur en matière grasse	50
4.1.2.6. Détermination de la composition en acides gras	50
4.1.2.7. Détermination de la teneur en éléments minéraux par Spectroscopie d'absorption atomique	51
4.1.2.8. Analyse phytochimique	52
4.1.2.9. Analyse statistique	55
4.2. Résultats et discussion	55
4.2.1. Composition chimique	55
4.2.2. Composition en sels minéraux	58
4.2.3. Etude phytochimique	59
4.2.4. Activité antioxydante	61
4.2.5. Composition en acides aminés	62

4.2.6. Composition en acides gras	66
5. FORMULATION DE BOISSONS VEGETALES	71
5.1. Matériel et méthodes	71
5.1.1. Boisson à base de feuilles de <i>Atriplex halimus</i>	71
5.1.1.1. Matériel	71
5.1.1.2. Caractérisation physicochimique des fruits de <i>Citrus limon</i> et <i>Citrus sinensis</i>	73
5.1.1.3. Préformulation	77
5.1.1.4. Formulation	78
5.1.2. Boisson à base de graines de <i>Lupinus albus</i> « lait de lupin »	81
5.1.2.1. Matériel	81
5.1.2.2. Méthodes d'analyses	82
5.1.2.3. Pré-formulation	83
5.1.2.4. Formulation	85
5.1.3. Caractérisation des boissons formulées	86
5.1.3.1. Analyse sensorielle	86
5.1.3.2. Caractérisation physico-chimique	87
5.1.3.3. Analyse microbiologique	87
5.1.3.4. Analyse statistique	88
5.2. Résultats et discussion	89
5.2.1. Boisson à l'extrait de feuilles de <i>A. halimus</i>	89
5.2.1.1. Jus d'agrumes	89
5.2.1.2. Evaluation sensorielle des boissons formulées	91
5.2.1.3. Caractérisation physico-chimique des boissons formulées	94
5.2.1.4. Qualité microbiologique	103
5.2.1.5. Optimisation de la formule	105
5.2.2. Formulation d'un lait végétal (lait de <i>Lupinus</i> ) édulcoré aux dattes	109
5.2.2.1. Caractérisation physico-chimique des dattes	109
5.2.2.2. Etude phytochimique des dattes	110
5.2.2.3. Evaluation sensorielle des boissons formulées	111
5.2.2.4. Caractéristiques physicochimiques des boissons formulées	113

5.2.2.5. Qualité microbiologique	124
5.2.2.6. Optimisation de la formule	125
6. FORMULATION DE PRODUITS LAITIERS FRAIS	129
6.1. Matériel et méthodes	129
6.1.1. Formulation d'un fromage frais à base d'extrait de graines de <i>L. albus</i>	129
6.1.1.1. Matériel	129
6.1.1.2. Méthodes	131
6.1.2. Formulation de crème de riz à partir de <i>Griffonia simplicifolia</i>	135
6.1.2.1. Matériel	135
6.1.2.2. Pré formulation	136
6.1.2.3. Préparation de la matière première	136
6.1.2.4. Réalisation des différents essais	137
6.1.3. Analyses physico-chimiques de la matière première	138
6.1.3.1. Détermination de la teneur en calcium du lait et de l'extrait de <i>Lupinus</i>	138
6.1.3.2. Analyses phytochimiques des dattes	138
6.1.4. Analyse microbiologique de la matière première	139
6.1.5. Evaluation sensorielle des produits élaborés	140
6.1.6. Evaluation physico-chimique des produits finis	141
6.1.6.1. Détermination de l'extrait sec total (EST)	141
6.1.6.2. pH et acidité	141
6.1.6.3. Détermination de la teneur en cendres	141
6.1.6.4. Détermination de la teneur en matière grasse	141
6.1.6.5. Protéines et sucres totaux	142
6.1.6.6. Calcium	142
6.1.7. Analyse phytochimique des crèmes de riz	143
6.1.7.1. Préparation des extraits	143
6.1.7.2. Dosage des polyphénols totaux	143
6.1.7.3. Évaluation de l'activité antioxydante (Activité antiradicalaire DPPH)	143
6.1.8. Analyse microbiologique des produits finis	143
6.1.9. Analyse rhéologique des crèmes de riz	143

6.1.9.1. Propriétés de cisaillement à l'état stable	144
6.1.9.2. Propriétés viscoélastiques	145
6.1.10. Analyses statistiques	145
6.2. Résultats et discussion	146
6.2.1. Formulation de fromage fait à base d'extrait de <i>Lupinus albus</i>	146
6.2.1.1. Caractérisation physico-chimique de l'extrait aqueux de <i>L.albus</i> et du lait reconstitué	146
6.2.1.2. Analyses microbiologiques de la matière première	147
6.2.1.3. Caractérisation sensorielle des fromages formulés et produit de référence	148
6.2.1.4. Caractérisation physico-chimique des fromages	151
6.2.1.5. Caractérisation microbiologique des fromages	158
6.2.1.6. Optimisation de la formule	159
6.2.2. Crème de riz à base de <i>Griffonia simplicifolia</i>	161
6.2.2.1. Caractéristiques physico-chimiques du Lait partiellement écrémé	161
6.2.2.2. Caractéristiques physico-chimiques des dattes	162
6.2.2.3. Analyse microbiologique du lait	164
6.2.2.4. Résultat de l'Analyse sensorielle	164
6.2.2.6. Caractérisation rhéologique	174
6.2.2.7. Analyse microbiologique	183
6.2.2.8. Optimisation de la formule	184
CONCLUSION	188
APPENDICE	191
A. Liste des symboles et des abréviations	191
B. Concepts théoriques sur les plans d'expériences	192
C. Questionnaires de l'évaluation sensorielle	202
D. Méthodes de recherche et de dénombrement des micro-organismes	206
E. Effet des différents facteurs sur les réponses	211
F. Résultats classés en groupes homogènes	215
REFERENCES	223

## LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Figure 1.1	Photographies de <i>Atriplex halimus</i>	11
Figure 1.2	Plante de <i>Griffonia simplicifolia</i>	15
Figure 1.3	Structure du 5-hydroxy-L- tryptophane (5HTP)	16
Figure 1.4	Plante <i>Lupinus albus</i>	20
Figure 3.1	Diagramme de fabrication des principaux desserts lactés frais	42
Figure 4.1	Photographie de <i>Atriplex halimus</i>	46
Figure 4.2	Photographie de la graine de <i>Griffonia simplicifolia</i>	46
Figure 4.3	Photographie des graines de <i>Lupinus albus</i> (lupin blanc)	47
Figure 4.4	Photographies de la plante <i>Lupinus albus</i>	47
Figure 4.5	Chromatogrammes des acides aminés des trois plantes étudiées A : <i>A.halimus</i> , B : <i>L.albus</i> , C : <i>G.simplicifolia</i>	63
Figure 4.6	Chromatogramme du tryptophane des trois plantes étudiées	64
Figure 4.7	Chromatogrammes des acides gras contenus dans les trois plantes étudiées	68
Figure 5.1	Ingrédients ayant servi à la formulation de la boisson de <i>Atriplex</i>	72
Figure 5.2	Produit de référence (PR) jus d'orange Rouïba light	73
Figure 5.3	Préparation de l'extrait aqueux de feuilles de <i>A. halimus</i>	79
Figure 5.4	Diagramme de fabrication de la boisson de <i>A. halimus</i>	79
Figure 5.5	Photographie des ingrédients utilisés dans l'élaboration de la boisson de <i>L.albus</i> et photographie de la boisson de référence (BS)	81
Figure 5.6	Etape de préparation des graines de <i>L.albus</i>	85
Figure 5.7	Préparation des dilutions cas des produits liquides	88
Figure 5.8	Photographie des seize boissons formulées	92

Figure 5.9	Profil sensoriel des seize essais et PR	93
Figure 5.10	Teneur en EST des boissons formulées et PR	94
Figure 5.11	Teneur en cendres des boissons formulées et PR	95
Figure 5.12	Evolution du potentiel hydrogène pendant 20 jours de conservation à 4-6°C pour les boissons formulées et boisson de référence « jus Rouïba »	96
Figure 5.13	Acidité des boissons formulées et boisson de référence	97
Figure 5.14	Extrait sec soluble (Brix°), et sucres totaux des boissons formulées et PR	98
Figure 5.15	Teneur en vitamine C (mg/100ml) des boissons élaborées et PR	99
Figure 5.16	Teneur en polyphénols totaux des boissons formulées et PR	100
Figure 5.17	Teneur en flavonoïdes des boissons formulées et PR	101
Figure 5.18	Activité antioxydante des boissons formulées et de PR	102
Figure 5.19	Les paramètres conditionnant la qualité au sens statistique des résultats de la modélisation en surface de réponses (Vitamine c, Saveur et Acceptabilité)	107
Figure 5.20	Courbes iso-réponse (vitamine c, saveur et acceptabilité)	108
Figure 5.21	Photographies des essais de boisson formulées	112
Figure 5.22	Profil sensoriel des boissons au <i>L.albus</i> et la BS	112
Figure 5.23	Teneur en matière sèche des boissons formulées, et BS	113
Figure 5.24	Teneur en cendre des boissons formulées, et BS	114
Figure 5.25	Variation du pH des boissons formulées et BS durant la période de conservation 20 jours	115
Figure 5.26	Evolution de l'acidité des boissons formulées, et BS durant 20 jours de conservation	116

Figure 5.27	Teneur en matière grasse des boissons formulées, et la BS	117
Figure 5.28	Teneur en protéine dans les boissons formulées, et la BS	118
Figure 5.29	Teneur en sucres totaux des boissons formulées, et BS	119
Figure 5.30	Teneur en calcium dans les boissons formulées et BS	120
Figure 5.31	Teneur en vitamine C dans les boissons formulées et BS	121
Figure 5.32	Teneur en polyphénols totaux dans boissons formulées, et BS	122
Figure 5.33	Activité antioxydant des boissons formulées et BS	123
Figure 5.34	Les paramètres conditionnant la qualité au sens statistique des résultats de la modélisation en surface de réponses (Protéines, Calcium, Activité antioxydante et Acceptabilité)	126
Figure 5.35	Courbes iso-réponse (Protéines, Calcium, AA, et Acceptabilité)	127
Figure 6.1	Ingrédients utilisés dans l'élaboration du fromage frais	130
Figure 6.2	Diagramme de préparation de l'extrait de <i>Lupinus</i>	132
Figure 6.3	Photographie des graines de <i>L.albus</i> après traitement et leur extrait	133
Figure 6.4	Photographie de quelques étapes de fabrication du fromage	133
Figure 6.5	Diagramme de la fabrication du fromage frais (PR) à la laiterie d'ARIB	134
Figure 6.6	Ingrédients utilisés pour l'élaboration de la crème de riz à la <i>Griffonia simplicifolia</i>	135
Figure 6.7	Farine de dattes	136
Figure 6.8	Farine de riz et farine de <i>Griffonia simplicifolia</i>	137
Figure 6.9	Rhéomètre ANTON PAAR MCR302	144
Figure 6.10	Photographies des fromages formulés et le PRf	149
Figure 6.11	Profil sensoriel des fromages formulés et PRf	150
Figure 6.12	Taux de l'extrait sec total des fromages formulés et du PRf	151

Figure 6.13	Taux de matière grasse des produits formulés et du PRf	152
Figure 6.14	Taux de cendres des produits formulés et du PRf	153
Figure 6.15	Taux de protéines des produits formulés et du PRf	154
Figure 6.16	Evolution du pH durant la période de conservation (20 jours)	155
Figure 6.17	Evolution de l'acidité titrable durant 20 jours de conservation	156
Figure 6.18	Teneur en calcium des fromages formulés et du PRf	158
Figure 6.19	Paramètres conditionnant la qualité au sens statistique des résultats de la modélisation en surface de réponses (Protéines, Cendres et Acceptabilité générale)	160
Figure 6.20	Courbes iso réponses du taux de protéines, texture et acceptabilité	161
Figure 6.21	Crèmes de riz formulées	163
Figure 6.22	Profil sensoriel des crèmes de riz formulées et du PRcr	165
Figure 6.23	Valeur de pH des crèmes de riz formulés et PRcr	166
Figure 6.24	Teneur en extraits secs totaux des crèmes de riz formulées et PRcr	167
Figure 6.25	Teneur en cendres des crèmes de riz formulées et PRcr	168
Figure 6.26	Teneurs en sucres totaux pour les crèmes de riz formulées et PRcr	169
Figure 6.27	Taux de protéines des crèmes de riz formulées et PRcr	170
Figure 6.28	Teneur en matière grasse des crèmes de riz formulées et PRcr	171
Figure 6.29	Teneur en polyphénols des crèmes de riz formulées et PRcr	172
Figure 6.30	Activités antioxydante des crèmes de riz formulées et PRcr	173
Figure 6.31	Courbes d'écoulement et de viscosité des crèmes de riz formulées et PRcr	174
Figure 6.32	Courbes de viscoélasticité des crèmes de riz formulées et PRcr	179

Figure 6.33	Les paramètres conditionnant la qualité au sens statistique des résultats de la modélisation en surface de réponses (Protéines, Sucrosité, et AA)	185
Figure 6.34	Courbes iso réponses du taux de protéines, sucrosité et activité antioxydante	186
Figure 6.35	Crème de riz « formule optimale »	187
Tableau 1.1	Systématique de <i>Atriplex halimus</i>	11
Tableau 1.2	Composition chimique de <i>Atriplex halimus</i>	12
Tableau 1.3	Systématique de <i>Griffonia simplicifolia</i>	14
Tableau 1.4	Composition de la graine de <i>Griffonia simplicifolia</i> en acides aminés (g/100g)	15
Tableau 1.5	Composition de la graine de <i>Griffonia simplicifolia</i> en acides gras et stérols (g/100g)	17
Tableau 1.6	Composition de la graine de <i>Griffonia simplicifolia</i> en sels minéraux (mg/100g)	18
Tableau 1.7	Dénomination de <i>Lupinus albus</i>	19
Tableau 1.8	Systématique de <i>Lupinus albus</i>	21
Tableau 1.9	Composition de <i>L. albus</i> pour 100 g de partie comestible	21
Tableau 1.10	Composition en acides aminés (g) pour 100 (g) de la graine de <i>Lupinus albus</i>	22
Tableau 1.11	Composition en acides gras de l'huile de <i>L.albus</i> (g/100g)	22
Tableau 1.12	Composition en sucres (g/100g) de la graine de <i>L. albus</i>	23
Tableau 1.13	Composition en élément minéraux des grains de <i>Lupinus albus</i>	24
Tableau 1.14	Comparaison de valeurs nutritionnelles par type de farine	25
Tableau 2.1	Valeurs nutritionnelles moyennes des jus de fruit (100 ml)	29
Tableau 2.2	Composition nutritionnelle moyenne du lait de soja	32
Tableau 3.1	Composition moyenne du lait de vache pour 100ml	35
Tableau 3.2	Composition du fromage frais pour 100g de produit frais	37
Tableau 3.3	Composition nutritionnelle de quelques desserts lactés	40
Tableau 4.1	Composition chimique des feuilles de <i>A.halimus</i> et graines de <i>G.simplicifolia</i> et <i>L.albus</i>	56

Tableau 4.2	Composition en quelques éléments minéraux des feuilles de <i>A.halimus</i> et des graines de <i>L.albus</i> et de <i>G.simplicifolia</i>	58
Tableau 4.3	Teneur en phénols totaux, des feuilles de <i>A. halimus</i> , et graines de <i>G. simplicifolia</i> et <i>L. albus</i> (mg EAG/g)	60
Tableau 4.4	Teneur en alcaloïdes dans les graines de <i>L.albus</i> et <i>G. simplicifolia</i>	61
Tableau 4.5	Activité antioxydante des feuilles de <i>A.halimus</i> et des graines de <i>L.albus</i> et de <i>G.simplicifolia</i>	62
Tableau 4.6	Valeurs moyennes de la composition en acides aminés (g/100g)	65
Tableau 4.7	Profil en acides gras des plantes étudiées	67
Tableau 5.1	Niveaux des facteurs	77
Tableau 5.2	Les différentes formules (g/100g de boisson) à réaliser	80
Tableau 5.3	Les niveaux de facteurs concernant la boisson au <i>L.albus</i>	83
Tableau 5.4	Les différents essais à réaliser (les ingrédients sont en %)	84
Tableau 5.5	Composition du jus d'agrumes	90
Tableau 5.6	Résultats du dénombrement des levures et moisissures (UFC/g) des boissons formulées et PR	104
Tableau 5.7	Composition de la formule optimale	108
Tableau 5.8	Caractéristiques physicochimiques des dattes Mech Degla	109
Tableau 5.9	Composition en polyphénols totaux et flavonoïdes des dattes Mech- Degla ainsi que son activité antioxydante	110
Tableau 5.10	Dénombrement de levures dans les boissons formulées et BS	124
Tableau 5.11	Composition de la formule optimale	128
Tableau 6.1	Matrice du plan de mélange « fromage frais à l'extrait de <i>Lupinus</i> »	131

Tableau 6.2	Composition des deux formules (traditionnelle et nouvelle) de crème de riz	136
Tableau 6.3	La matrice du plan de mélange « crème de riz »	137
Tableau 6.4	Composition chimique de l'extrait aqueux des graines de <i>L. albus</i> en comparaison avec celle du lait reconstitué	146
Tableau 6.5	Résultats de l'analyse microbiologique du lait reconstitué	148
Tableau 6.6	Résultats des analyses physico-chimiques du lait partiellement écrémé	162
Tableau 6.7	Caractéristiques physico-chimiques des dattes	162
Tableau 6.8	Paramètres rhéologiques de chaque crème de riz formulée € PRcr	178
Tableau 6.9	Germes aérobies mésophiles totaux retrouvés dans les crèmes de riz	183

# INTRODUCTION

## INTRODUCTION GENERALE

La science nutritionnelle a évolué d'une approche préventive des déficiences alimentaires, qui a conduit à l'établissement de standards et de recommandations nutritionnelles inscrites dans des directives vers la promotion du rôle de l'alimentation dans le maintien d'un état de bien-être et de santé ou la réduction des risques de maladies [1]. Les aliments diététiques sont destinés à une alimentation particulière et doivent faire l'objet d'une formulation ou d'un procédé de fabrication spécifique pour se différencier de l'aliment courant et répondre à des besoins physiologiques particuliers soit en raison d'une maladie, soit en raison d'une situation physiologique hors de la normale (convalescence, grossesse, activités sportives intenses) [2].

La consommation des aliments d'origine végétale a augmenté ces dernières années, en raison des bienfaits, où plusieurs études épidémiologiques ont démontré qu'une telle alimentation réduit considérablement les maladies dégénératives comme les accidents cardiovasculaires et certains types de cancer [3,4]. Les propriétés préventives des aliments d'origine végétale sont liées à la présence des vitamines C, E et A, des caroténoïdes et des composés phénoliques qui sont des molécules dotées d'un pouvoir antioxydant [3]. La recherche de substance active à partir de matières végétales a pris une très grande ampleur dans la dernière décennie, de nombreuses recherches se sont accentuées sur l'extraction d'antioxydants des plantes pour une application prometteuse dans les industries agro-alimentaires, les produits pharmaceutiques et cosmétiques. Ainsi les plantes jouent un rôle majeur dans la découverte de nouveaux agents thérapeutiques et ont reçu beaucoup d'attention en tant que sources de substances biologiquement actives, notamment des antioxydants hypoglycémiques et agents hypolipidémiques. [5,6,7].

Dans ce travail nous nous sommes intéressés à l'étude de certaines espèces végétales à savoir *Atriplex halimus*, plante utilisée par les tribus pour traiter le diabète et les problèmes cardiaques.

Cette plante est riche en fibres alimentaires (cellulose), protéines, vitamines (B et C) et sels minéraux (Sodium, calcium, potassium, magnésium, phosphore) [8,9,10].

Les graines de *Griffonia simplicifolia*, une plante légumineuse ont suscité un intérêt commercial car elles contiennent une quantité élevée d'un acide aminé rare connu sous le nom de 5-hydroxytryptophane (5-HTP) [11]. Ce dernier est un traitement naturel très recherché pour les affections impliquant un déséquilibre sérotonine comme la dépression, l'insomnie [12], et la fibromyalgie. Ce composé peut également protéger contre le diabète de type 2 [13] ainsi que les maladies du système nerveux central [14].

Aussi les graines de *Lupinus albus* L., légumineuse présente des vertus multiples dont la réduction du risque de dyslipidémie, de diabète, d'obésité, d'hypertension et de dysfonctionnement intestinal [15,16,17]. Ces effets sont probablement dus aux activités synergiques des composants des graines de lupin, notamment les protéines spécifiques, les fibres et les composés bioactifs [16]. Les caractéristiques nutritionnelles et thérapeutiques des trois plantes nous ont incités à formuler différentes préparations alimentaires. L'industrie agro-alimentaire cherche actuellement à ajouter de la valeur à certains de ses produits et le développement des produits "santé" qui est une alternative très intéressante, à une époque où la relation alimentation-santé est reconnue et où nous souffrons de plus en plus de pathologies liées à l'alimentation, les produits locomotifs de la demande en aliments diététiques sont les boissons, suivis de près par les produits laitiers [6].

Pour cerner le contexte de cette étude, la thèse est structurée en deux parties. Une première partie, subdivisée en trois chapitres, qui englobe une synthèse bibliographique donnant un aperçu sur les plantes étudiées « *Atriplex halimus*, *Griffonia simplicifolia* et *Lupinus albus* », les boissons végétales, et le lait et les produits laitiers.

Une deuxième partie, la partie pratique, qui est scindée en trois sections dont la première est une caractérisation physico-chimique et phytochimique des plantes étudiées et évaluation de leur activité antioxydante, la seconde s'intéresse à l'incorporation des feuilles d'*A. halimus* dans la préparation d'une boisson végétale, constituée de jus d'agrumes, et édulcorée par l'extrait de *Stevia rebaudiana*.

Ainsi que la valorisation des graines de *L.albus* dans l'élaboration d'un lait végétal similaire au lait de soja, et pouvant être une alternative au lait de mammifères, pour les personnes souffrant d'intolérance au lactose. La troisième section est dédiée aux produits laitiers, elle comporte l'incorporation de l'extrait aqueux des graines de *L.albus*, dans l'élaboration d'un fromage frais. Ainsi que la formulation d'un dessert lacté de type crème de riz à base de graines de *G.simplicifolia*, sucrée naturellement aux dattes.

Toutes les préparations alimentaires sont réalisées à l'aide de la méthodologie des plans d'expérience « le plan de mélange », et ont subies une évaluation des caractéristiques sensorielles, physico-chimiques, phytochimiques, microbiologiques, et rhéologiques (crème de riz) avec une comparaison à un produit commercialisé.

Enfin, une conclusion générale qui résume les principaux résultats obtenus dans ce travail de thèse et présente les perspectives des prochaines recherches pour la continuité de cet axe d'intérêt socio-économique.

## CHAPITRE1

### DESCRIPTION DES PLANTES ETUDIEES

## CHAPITRE 1

### DESCRIPTION DES PLANTES ETUDIÉES

Dans ce chapitre seront présentées les trois plantes ; objet de cette thèse. Il s'agit de, *Atriplex halimus*, *Griffonia simplicifolia*, et *Lupinus albus*

#### 1.1. *Atriplex halimus* L.

Le genre *Atriplex* est le plus répandu et le plus diversifié dans la nature (famille des *Chenopodiaceae*) et compte environ 400 espèces réparties dans les régions tempérées, subtropicales et dans les différentes régions arides et semi-arides du monde. Il se retrouve particulièrement en Australie où on peut déterminer une grande diversité d'espèces et de sous-espèces dont 48 dans le bassin méditerranéen [18]. La plupart de ces espèces se développent dans des régions arides et salines, bien que certaines soient implantées dans des marais d'eau douce [19].

##### 1.1.1. Description

*Atriplex halimus* L. est un arbuste vivace indigène le plus représenté sur le pourtour méditerranéen [19]. Il se ramifie près de la base, il peut atteindre 3,1 m de hauteur et 3 m de diamètre [20]. Les racines sont grosses, d'abord étalées obliques, puis s'enfonçant verticalement jusqu'à une profondeur variable. Les tiges de cette plante sont très rameuses d'une couleur blanche grisâtre plus ou moins anguleuse entièrement feuillées. Les feuilles d'*Atriplex halimus* sont persistantes de 2 à 6 cm de long, alternées, simples, entières, avec un court pétiole, ovales, arrondies lorsqu'elles sont jeunes, triangulaires plus ou moins lancéolées, vert argenté charnues, luisantes couvertes de poils vésiculaires très riches en sel [21]. Les Fleurs d'*Atriplex halimus* sont monoïques, formant des épis denses et courts, nus groupés en panicules terminales plus ou moins feuillées [22]. Cette plante se trouve dans toute l'Algérie, les rocailles, talus argileux et dans les zones d'épandage plus ou moins salées [23].

### 1.1.2. Systématique de *Atriplex halimus*

D'après QUEZEL et SANTA, [23] ; DUPONT et GUIGNARD, [24] *Atriplex halimus* appartient à la classification illustrée sur le tableau ci-dessous :

Tableau 1.1 : Systématique de *Atriplex halimus*.

<b>Embranchement</b>	Spermaphytes
<b>Sous embranchement</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Dicotylédones
<b>Sous classe</b>	Apétales
<b>Série</b>	Hermaphrodites
<b>Ordre</b>	Centrospermales
<b>Famille</b>	Amaranthacées (Chénopodiaceae)
<b>Genre</b>	<i>Atriplex</i> .
<b>Espèce</b>	<i>Atriplex halimus</i> L

Les noms vernaculaires sont Pourpier de mer, OTAL [25], et Gtaf en Algérie [22]. La figure ci-dessous illustre la structure de cette plante :



Figure 1.1: Photographies de *Atriplex halimus*

### 1.1.3. Répartition des *Atriplex*

L'espèce est spontanée à l'intérieur d'une aire relativement vaste englobant les pays de l'Afrique du nord et du proche et moyen Orient. Des îles Canaries jusqu'en Iran en passant par le Sud Algérien (massif du Hoggar) [26].

En Europe, *Atriplex halimus* est présent sur toute la rive nord de la méditerranée et aussi en Bulgarie [27].

#### 1.1.4. Composition chimique

La composition chimique (Tableau 1.2) de *Atriplex halimus* dépend de plusieurs paramètres tels que le climat, l'âge de la plante et la saison [28]. Les métabolites secondaires chez *Atriplex* montrent la présence des phénols totaux, des saponines glycosides, des alcaloïdes, des tannins, des résines, des betaines et des flavonoïdes dont les flavonols qui constituent la classe chimique majeure chez la plupart des espèces d'*Atriplex* [29, 30, 31,32].

La teneur en matière sèche est minimale en hiver (19% au mois de Février) et maximale en été (45% au mois d'Aout). La teneur en cellulose brute est surtout influencée par la période de prélèvement, le minimum (10% matière sèche (MS) est atteint au printemps et le maximum (28%) en été. L'évolution des teneurs en matières azotées totales est inverse à celle des MS. Les teneurs les plus élevées ont été enregistrées au mois de Février (20 à 24%), période correspondant à l'apparition des jeunes pousses. En automne (période de fructification), les teneurs chutent vers des valeurs de 9 à 12 % de MS [33].

Tableau 1.2: Composition chimique de *Atriplex halimus* [33,34].

<b>Composition chimique</b>	<b>Quantité</b>
<b>Matière Sèche (g/100g)</b>	38,6
<b>Protéines brutes (g/100g)</b>	12,7
<b>Lipides brutes (g/100g)</b>	3,4
<b>Cendres (g/100g)</b>	24,9
<b>Fibres au détergent neutre (g/100g)</b>	59,4
<b>Fibre au détergent (g/100g)</b>	36,8
<b>Hémicellulose (g/100g)</b>	22,6
<b>Cellulose (g/100g)</b>	27,5
<b>Calcium (Ca) (g /kg)</b>	21,5
<b>Phosphore (P) (g/kg)</b>	1,9
<b>Magnésium (Mg) (g/kg)</b>	20, 3
<b>Sélénium (Se) (µg/kg)</b>	22
<b>Zinc (Zn) (mg/kg)</b>	103
<b>Manganèse (Mn) (mg/kg)</b>	395

Cette matière végétale est très riche en protéines, fibres, sels minéraux en vitamines A, C, et D et saponines, alcaloïdes, flavonoïdes [8, 9].

### 1.1.5. Propriétés thérapeutiques de *Atriplex halimus*

*Atriplex halimus* est une plante consommée par l'Homme et l'animal. Les populations des Touaregs mangent ses feuilles après cuisson ou crues et utilisent leurs cendres comme savon. Les tisanes préparées à base de cette plante, sont très efficaces contre une acidité élevée dans l'estomac. De plus, les racines sont bénéfiques pour la gencive. Cette plante est surtout utilisée contre les tumeurs [35].

Son utilisation dans la médecine traditionnelle est largement connue pour ces propriétés hypoglycémiantes et hypolipidémiantes [36]. Les feuilles de *Atriplex halimus* sont aussi utilisées, en décoction, contre les calculs rénaux [35].

#### 1.1.5.1. Propriétés antioxydantes

A partir des travaux de EMAM [9] sur les constituants bioactifs de *A. halimus* d'Égypte et ceux de BENHAMMOU et *al.* [30] sur les propriétés antioxydantes concernent les principaux métabolites secondaires des feuilles et des tiges. Les résultats de cette dernière étude ont révélé que les fractions de l'acétate éthylique et butanolique possèdent une forte capacité de donner l'hydrogène pour réduire le fer et une activité plus élevée à piéger le radical DPPH.

#### 1.1.5.2. Effets antidiabétiques :

Plusieurs travaux ont été réalisés sur les effets antidiabétiques des feuilles de *Atriplex halimus*. Parmi une étude pour élaborer le catalogue des plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète [35].

CHIKHI *et al.* [36] ont étudié l'efficacité de *Atriplex halimus* sur le diabète induit chez le rat Wistar. Les résultats ont montré que l'administration de l'extrait aqueux de *Atriplex halimus* à une dose de 200 mg/kg provoque une diminution hautement significative de la glycémie après quatre semaines de traitement.

Selon DAY *et al.* [37] 3g/jour de feuille de *Atriplex halimus* L. fait diminuer le taux de glucose dans le sang.

### 1.2. *Griffonia simplicifolia*

D'après l'Institut Européen des Substances Végétales, [38], Le Griffonia est largement répandu en Afrique tropicale de l'Ouest, du Libéria au Gabon, mais particulièrement au Ghana. Les africains le consomment depuis de nombreuses années en médecine traditionnelle.

### 1.2.1. Dénominations

*Griffonia simplicifolia* n'a pas été décrit par Linné, père de la taxonomie botanique actuelle, mais par Henri Baillon, médecin du XIX<sup>ème</sup> siècle et Professeur d'histoire naturelle à l'école centrale des arts et des manufactures. Cette liane grimpante est aussi appelée *Bandeiraea simplicifolia*, décrite dans la taxonomie de Georges Bentham, botaniste anglais du XVIII<sup>ème</sup> siècle *Schotia simplicifolia*, son nom local est Kajya, Atooto, Poopoo [39].

### 1.2.2. Systématique de *Griffonia simplicifolia*

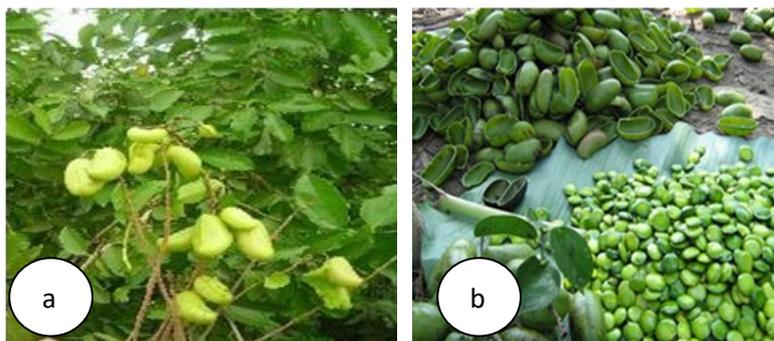
Selon l'Institut Européen des substances Végétales, [38], cette plante appartient à la sous-famille des *Caesalpinioideae*. Le genre *Griffonia* est composé de quatre espèces *Griffonia tessmanii*, *Griffonia physocarpa*, *Griffonia speciosa*, et *Griffonia simplicifolia*. Cette dernière espèce reste la plus connue. Les trois dernières espèces contiennent du 5-HTP. Cependant, seule *Griffonia simplicifolia* est exploitée dans le but d'extraire le précurseur de la sérotonine, cette espèce présentant les plus fortes concentrations.

Tableau 1.3 : Systématique de *Griffonia simplicifolia* [39].

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Division</b>	Magnoliophyta
<b>Classe</b>	Magnoliopsida.
<b>Ordre</b>	Fabals.
<b>Famille</b>	Fabaceae.
<b>Genre</b>	Griffonia.
<b>espèce</b>	<i>Griffonia simplicifolia</i>

### 1.2.3. Description

*Griffonia simplicifolia*, est un arbuste dont le tronc peut atteindre 7 cm de diamètre et entre 3 et 10 mètres de hauteur. Les feuilles sont entières, ovées et glabres. Les fleurs sont bisexuées, groupées en grappes tomenteuses grises. Les pétales sont charnus, tous semblables, à poils courts et clairsemés sur le bord. Le fruit est une gousse, obliquement ovoïde et gonflée (Figure 1.2). Elle contient une à quatre graines orbiculaires glabres. Les gousses mûrissent au mois d'aout [40].



a) Feuilles et gousses de *G. simplicifolia*, b.) les graines de *G. simplicifolia*

Figure 1.2: Plante de *Griffonia simplicifolia* [41].

#### 1.2.4. Compositions des graines de *Griffonia simplicifolia*

##### 1.2.4.1. Composition en acides aminés

D'après GIURLEO, [41] ; les graines de *Griffonia simplicifolia* présentent une teneur en protéines de 33,58 %, avec une teneur moyenne en 5-HTP de 12,84%. La composition moyenne en acides aminés se trouve dans le tableau (1.4).

Tableau 1.4 : Composition de la graine de *Griffonia simplicifolia* en acides aminés (g/100g) [41,42]

Composant	Quantité
<b>Protéines</b>	33,58
<b>Lysine</b>	4,08
<b>Histidine</b>	0,68
<b>Arginine</b>	2,38
<b>Acides aspartique</b>	12,24
<b>Thréonine</b>	6,8
<b>Serine</b>	10,2
<b>Glutamate</b>	4,76
<b>Proline</b>	4,08
<b>Alanine</b>	6,46
<b>valine</b>	6,12
<b>Leucine</b>	7,14
<b>Isoleucine</b>	4,42
<b>Tyrosine</b>	3,4
<b>5-HTP</b>	13,4

Le 5-HTP a également été trouvé naturellement dans les fruits et les graines d'autres espèces telles que *Ananas comosus* (ananas), *Juglans regia* (noix), *Musa sapientum* (banane), *Persea americana* (avocat), *Solanum lycopersicum* (tomate), *Solanum melongena* (aubergine), [43], *Citrullus lanatus* (pastèque), [44]. Cependant, aucune de ces sources n'accumule des quantités élevées de 5-HTP, ceci semble être exclusif au genre *Griffonia* [11].

- Le 5-Hydroxytryptophane

Le 5-Hydroxytryptophane (5-HTP) est un acide aminé aromatique (figure 1.3) produit par le corps à partir de l'acide aminé essentiel L-tryptophane et impliqué dans la synthèse de la sérotonine. Il est produit commercialement par extraction à partir des graines de la plante africaine *Griffonia simplicifolia*, et est typiquement disponible sous forme de L'énantiomère, où réside l'essentiel de l'activité biologique [45].

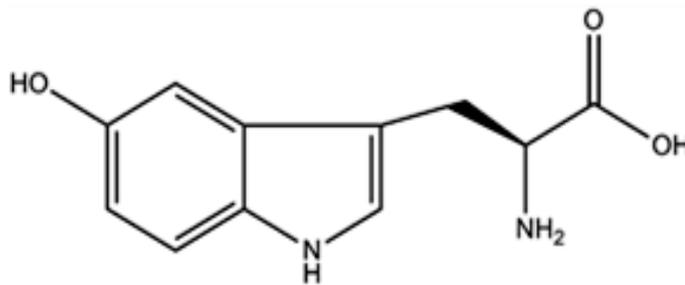


Figure 1.3 : Structure du 5-hydroxy-L- tryptophane (5HTP) [46].

Dans les graines mûres, on trouve entre 6 et 14 % de 5-HTP. L'importante concentration de cet acide aminé dans les graines laisse suggérer une possibilité de stockage par la plante. Le 5-HTP est une molécule hautement soluble dans l'eau. Après récolte des graines, celles-ci sont traitées dans des usines aux USA et en Allemagne surtout. On extrait alors une poudre gris-blanche contenant des cristaux brun-pâles. La composition en 5-HTP relève alors des taux allant de 95 à 98%. Lorsqu'il est pris seul par voie orale, le 5-HTP est rapidement métabolisé en sérotonine dans la muqueuse gastrique, les reins, le foie ou l'intestin grêle par des décarboxylases périphériques, ce qui rend sa biodisponibilité très faible [47].

Le 5-HTP peut être pris lors d'un repas car son absorption intestinale n'est pas influencée par la présence d'autres acides aminés [48]. Ce composé est bien absorbé après administration par voie orale, étant donné qu'environ 70% de la dose pénètre dans la circulation sanguine [49].

Le 5-HTP agit principalement en augmentant les niveaux de sérotonine qui est une hormone bien connue qui joue un rôle clé dans l'humeur chez les mammifères dans le système nerveux central. D'autres neurotransmetteurs et des produits chimiques du SNC, comme la mélatonine, la dopamine, la norépinéphrine et l'endorphine bêta, ont également montré une augmentation après administration orale de 5-HTP [45,49]

#### 1.2.4.2. Composition en acides gras et phytostérols

La composition en acides gras et stérols de l'huile des graines de *Griffonia simplicifolia*, (Tableau 1.5) indique la présence de l'acides palmitique, stéarique, linoléique, oléique et arachidonique. L'acide linoléique représente 53 à 60% de la teneur en acides gras des graines. La composition en acides palmitique et stéarique est plus importante dans les graines de *Griffonia* que dans les graines de sésame, de soja, d'arachide et de tournesol. Le stérol principal est  $\beta$ -sitostérol présent à 60%, suivit du stigmastérol à 29% et le campestérol avec 11% [50,51,52,53].

Tableau 1.5: Composition de la graine de *Griffonia simplicifolia* en acides gras et stérols (g/100g) [50,51]

<b>Composant</b>	<b>Quantité</b>
<b>Matière grasse</b>	21,05-32,18
<b>Acide palmitique</b>	9-11
<b>Acide stéarique</b>	16-18
<b>Acide oléique</b>	10-11
<b>Acide linoléique</b>	53-60
<b>Acide arachidonique</b>	3-4
<b><math>\beta</math>-sitostérol</b>	60
<b>stigmastérol</b>	29
<b>campestérol</b>	11

La teneur en acide linoléique de l'huile de graines de *Griffonia* est similaire à celle de l'huile de tournesol. Les phytostérols tels que le  $\beta$ -sitosterol sont largement consommés en tant que compléments alimentaires pour traiter l'hypercholestérolémie [54].

#### 1.2.4.3. Autres composés

Les glucides sont estimés en moyenne à  $1,425 \pm 1,65$  %. Les graines de *Griffonia* sont une source non négligeable en sels minéraux (tableau 1.6) cas du calcium, fer, zinc, magnésium, cuivre et phosphore [41].

Tableau 1.6 : Composition de la graine de *Griffonia simplicifolia* en sels minéraux (mg/100g) [39, 41]

Composant	Quantité
Phosphore	306
Calcium	101
Magnésium	205
Fer	5,17
Zinc	3,53
cuivre	2,6

Les graines de *G.simplicifolia* semblent contenir une quantité légèrement plus élevée de phosphore que la plupart des plantes [55].

D'après LIS et SHARON, [56] la graine de *Griffonia* contient d'autres composés, dont quatre types de lectines (Les lectines sont des protéines d'origine non immunitaire capables de reconnaître des glucides complexes de manière spécifique) à savoir GS I, GS II, GS III et GS IV.

#### 1.2.4. Effet thérapeutique de *Griffonia simplicifolia*

##### 1.2.4.1. Dépression

Le 5-HTP est un traitement naturel très recherché pour les conditions impliquant un déséquilibre de la sérotonine comme la dépression [12], et l'insatiabilité [57]. Des études menées chez des patients atteints de dépression unipolaire ou bipolaire ont démontré une réponse clinique significative en 2 à 4 semaines à des doses de 50 à 300 mg trois fois par jour (ne pas dépasser 700-1000mg/j) [58].

#### 1.2.4.2. Maux de tête chronique

Le 5-HTP a été utilisé avec succès dans la prévention des maux de tête chroniques de divers types, y compris la migraine. Le 5-HTP s'est avéré être bénéfique dans le traitement de l'insomnie, fibromyalgie, douleur, anxiété et fatigue [58,59]

### 1.3. *Lupinus albus*

Le lupin blanc « *Lupinus albus* » est une légumineuse annuelle à grosses graines et tige pubescente portant des feuilles disposées de façon alternée et des fleurs de couleur blanche et leur racine pivotale. Elle est également à l'étude en raison de sa composition chimique et un grand potentiel dans la prévention des troubles lipidiques [60]. Les graines de lupin font partie de la ration alimentaire normale depuis l'antiquité et sont consommées comme collations dans plusieurs pays Européens. Depuis l'introduction de la farine de lupin comme ingrédient dans la farine de blé dans les années 1990 pour ses qualités nutritionnelles et la transformation alimentaire, la consommation de lupin est devenue plus répandue en l'Europe [61, 62].

#### 1.3.1. Dénomination

Le terme « lupin » vient du latin *Lupinus* qui désignait le lupin blanc chez les anciens Romains et qui a été choisi par Linné pour désigner le genre. C'est l'amertume de ses graines qui aurait justifié le choix du nom *Lupinus*, dérive de *lupus*, le loup. Le qualificatif blanc fait référence à la couleur des fleurs [63, 64].

Tableau 1.7 : Dénomination de *Lupinus albus* [64]

Langue	Nom
Arabe	Tormousse
Français	Lupin blanc, Lupin d'Egypte
English	White Lupin, Sweet Lupine

#### 1.3.2. Origine et répartition géographique

Les principales espèces cultivées de lupins sont *L. albus*, *L.* (lupin blanc), *L. angustifolius*, *L.* (lupin bleu), *L. luteus*, *L.* (lupin jaune) et *L. mutabilis* (perle de lupin) [67].

Les trois premières espèces sont originaires de la région méditerranéenne, *L.mutabilis* appartient à l'Amérique du Sud [67,68]. De nos jours, c'est un légume sec secondaire, cultivé autour de la Méditerranée et de la mer Noire, dans la vallée du Nil, jusqu'au Soudan et en Ethiopie. Il est aussi parfois cultivé ailleurs, au Kenya, en Tanzanie, au Zimbabwe et en Afrique du Sud [69,70].

### 1.3.3. Description botanique

Le *Lupinus albus* est une plante herbacée annuelle haute de 30 centimètres à 1,20 mètre, ramifiée et buissonnante, légèrement velue, dont la racine est pivotante. Ses tiges pubescentes portent des feuilles disposées de façon alternée (Figure 1.4), glabres dessus, velues dessous, longuement pétiolées, stipulées et digitées [65].

Les fruits, sont des gousses oblongues étroites peu velues contenant de 3 à 6 graines plates rectangulaires ou carrées aux bords arrondis, de couleur blanche légèrement saumonée. Les graines de lupin Blanc sont généralement classés comme sucré ou amère en fonction de la teneur en alcaloïdes [66].



Figure 1.4: Plante de *Lupinus albus*.

### 1.3.4. Systématique de *Lupinus albus*

Selon BHARDWAJ et HAMAMA, [66] ce genre comporte 200 à 500 espèces. Les lupins appartiennent à l'embranchement des spermatophytes, le sous-embranchement des angiospermes, la classe des *Magnoliopsidae* (Dicotylédones), la sous-classe des *Rosidae*, l'ordre des fabales, la famille des *Fabaceae* (Légumineuses), la sous-famille des papilionacées, et le genre *Lupinus* [71].

Tableau 1.8 : Systématique de *Lupinus albus* [71]

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Sous- règne</b>	Viridaeplante
<b>Division</b>	Tracheophyta
<b>Class</b>	Magnoliopsida
<b>Sous class</b>	Rosidée
<b>Ordre</b>	Fabales
<b>Famille</b>	Fabaceae
<b>Genre</b>	<i>Lupinus</i>
<b>Espèce</b>	<i>L. Albus</i>

### 1.3.5. Composition de la graine de lupin

Le genre *Lupinus* contient généralement entre 34 à 52% de protéines, de 5 à 20% de matière grasse et 30 à 40% de fibres. La variation dans la composition (tableau 1.9) est due à des différences génétiques et environnementales [72].

Tableau 1.9: Composition de *Lupinus albus* pour 100 g de partie comestible [72,73, 74]

<b>Composition</b>	<b>Quantité</b>
<b>Eau (g)</b>	1,6 - 5,2
<b>Protéines (g)</b>	34,1- 52
<b>Glucides (g)</b>	18,3 - 27,1
<b>Lipides (g)</b>	8,4 - 10,4
<b>Cendres (g)</b>	3,29 - 4,6
<b>Fibres (g)</b>	10 - 49,9

### 1.3.5.1. Composition en acides aminés

Les graines de *Lupinus* renferment des teneurs importantes en acides aminés dont la composition est donnée dans le Tableau (1.10).

Tableau 1.10: Composition en acides aminés (g) pour 100 (g) de *L. albus* [73]

<b>Composant</b>	<b>Quantité</b>	<b>Composant</b>	<b>Quantité</b>
<b>Arginine</b>	11,7	<b>Méthionine</b>	0,25 - 0,4
<b>Cystine</b>	1,6	<b>Phénylalanine</b>	1,5 – 3,8
<b>Histidine</b>	1,9 - 2,6	<b>Thréonine</b>	1,4-4,3
<b>Isoleucine</b>	1,6 - 3,5	<b>Tryptophane</b>	0,3-1,1
<b>Leucine</b>	2,8 – 7,4	<b>Tyrosine</b>	5,0
<b>Lysine</b>	2 - 5,8	<b>Valine</b>	1,6-3,6

### 1.3.5.2. Composition en acides gras

L'huile de *L. albus* est particulièrement riche en acide gras insaturées (Tableau 1.11).

Tableau 1.11 : Composition en acides gras de l'huile de *L. albus* (g/100g) [73,74].

<b>Acide gras</b>	<b>Quantité</b>
<b>C16 :0 Palmitique</b>	6,54-8,0
<b>C16 :1 Palmitoléique</b>	0,6<1
<b>C18 :0 Stéarique</b>	1,2 - 2,15
<b>C18 :1 Oléique</b>	35,58 - 54,7
<b>C18 :2 Linoléique</b>	14,0 - 18,3
<b>C18 :3 Linoléinique</b>	8,5 - 9,3
<b>C20 :0 Arachidique</b>	1,08 -1,3
<b>C20 :1 Eicosanoïque</b>	4,3 - 5,0
<b>C20 :2 Eicosadiénoïque</b>	<1
<b>C22 :0 Béhénique</b>	3,23 - 3,9
<b>C22 :1 Erucique</b>	1,08-2,1
<b>C24 :0 Lignocérique</b>	<1

Les deux acides gras les plus abondants sont l'acide oléique et l'acide linoléique avec une bonne présence d'acide  $\alpha$ -linoléique (Environ 8 à 10% de l'huile). Ceci confère à cette matière grasse une réelle qualité, notamment en alimentation humaine [74]

#### 1.3.5.3. Glucides

Les glucides représentent en moyenne 21,6% de la matière sèche de la graine (Tableau 1.12), et sont pour l'essentiel des alpha- galactosides [72,73].

Tableau 1.12: Composition en sucres (g/100g) de la graine de *L. albus* [72,73,74]

<b>Fraction glucidique</b>	<b>Quantité</b>
<b>Saccharose</b>	25,2 - 29,6
<b>Raffinose</b>	8,2 - 11,4
<b>Stachyose</b>	56,7 - 61,8
<b>Verbascose</b>	9,7 - 12,3
<b>Cellulose brute</b>	10,27 - 14,3
<b>Lignine</b>	0,64 – 2,9
<b>Amidon</b>	<0,1

La graine de Lupin est également une excellente source de fibre contenant jusqu'à 39% de fibres, composée de 75 à 80% de fibre soluble, 18-25% de fibres insolubles et 5-9% d'hémicellulose totales [16]. Le composant le plus abondant est le Stachyose. Le lupin est faible en amidon, tandis que d'autre légumineuse les plus courantes contiennent jusqu'à 50% d'amidon. La coque de lupin comprend 25% du grain et est faible en lignine [63].

#### 1.3.5.4. Composition en sels minéraux et vitamines

Le lupin apporte, des oligoéléments (K, Ca, Mg, Cu, Mn, Zn) et également des vitamines (tableau 1.13). La graine de lupin bleu contient moins de phosphore, potassium, cobalt et surtout de manganèse que le lupin blanc mais plus de fer et sélénium [75].

Tableau 1.13 : Composition en élément minéraux des grains [71,75]

<b>Minéraux</b>	<b>Quantité</b>	<b>vitamines</b>	<b>Quantité</b>
<b>Calcium (mg/100g)</b>	176	<b>Vitamine B1 (mg/100g)</b>	0,64
<b>Magnésium (mg/100g)</b>	198	<b>Vitamine B2 (mg/100g)</b>	0,22
<b>Phosphore (mg/100g)</b>	440	<b>Vitamine B3 (mg/100g)</b>	2,2
<b>Potassium (mg/100g)</b>	1010	<b>Vitamine B5 (mg/100g)</b>	0,75
<b>Soufre (mg/100g)</b>	240	<b>Vitamine B6 (mg/100g)</b>	0,36
<b>Sodium (mg/100g)</b>	15	<b>Vitamine B9 (µg/100g)</b>	355
<b>Manganèse (mg/100g)</b>	835	<b>Vitamine C (mg/100g)</b>	4,8
<b>Zinc (mg/100g)</b>	4,75	<b>Vitamine E (mg/100g)</b>	0,5

#### 1.3.5.5. Alcaloïdes

Les principaux alcaloïdes du lupin blanc sont la lupanine, la 13-hydroxylupanine et la spartéine. Le "lupin doux" est défini comme ayant moins de 200 mg d'alcaloïdes/kg ; il peut être consommé sans précaution particulière. Chez les cultivars amers, les alcaloïdes, qui sont solubles dans l'eau, peuvent être éliminés des graines en immergeant celles-ci dans l'eau courante. La teneur en alcaloïdes de lupin varie selon les cultivars, et le type de sol [63].

#### 1.3.6. Utilisation de *Lupinus albus*

Ses graines sont utilisées en tant que source de protéines pour l'alimentation animale et humaine dans diverses parties du monde, non seulement pour leur valeur nutritive, mais aussi pour leur adaptabilité aux sols marginaux et climats.

##### - Alimentation humaine

La graine de lupin a été utilisée pour l'alimentation des populations humaines depuis que l'homme s'est sédentarisé tant sur les bords de la méditerranée ainsi que sur l'altiplano de la cordillère des Andes [63]. %, d'alcaloïdes [76]. Actuellement la graine de lupin est toujours consommée de manière traditionnelle, en particulier à l'apéritif, mais aussi après un traitement industriel qui transforme la graine en farine pour être introduit comme ingrédient dans certains aliments [63].

La farine est une bonne source de macro et micro-nutriments, protéines, lipides, glucides, minéraux et vitamines. Elle est utilisée pour enrichir les pâtes, mélanges à gâteaux, les céréales et autres produits de boulangerie [76].

La farine de lupin est également ajoutée à émulsionner les produits de viande pour augmenter la valeur nutritionnelle, l'arôme et de modifier la texture [77]. Le lupin semble être une commodité largement utilisé dans les applications alimentaires, Utilisés comme additif très nourrissant à la fois pour les produits d'alimentation humaine [65].

Tableau 1.14 : Comparaison de valeurs nutritionnelles par type de farine [78].

<b>Composant</b>	<b>Farine de lupin</b>	<b>Farine de maïs</b>	<b>Farine de blé</b>
<b>Energie</b>	1490 kJ	1530 kJ	1480 kJ
<b>Protéines</b>	36,2 g	6,23 g	9,9 g
<b>Lipides</b>	9,74 g	2,1 g	1 g
<b>Glucides</b>	21,5 mg	78,1g	73,7 g

La farine de lupin est obtenue à partir de graine de *L. albus* après nettoyage, décorticage et broyage, elle est de couleur jaune, à odeur et gout spécifique, riche en fibre (30%) et en protéine. Dotée d'un indice glycémique faible, elle a tout de l'ingrédient de base des recettes diététiques, produits naturel sans gluten, ravit les personnes qui y sont intolérantes, mais aussi les sportifs et les végétariens [74].

La farine Lupin est largement considérée comme un excellent matériau additionnel pour différents produits alimentaires en raison de sa teneur élevée en protéines [76], et est largement utilisé comme substitut des œufs, pour par exemple dans les gâteaux, crêpes, biscuits, ou brioche et ont été ajoutées à spaghetti, les pâtes, les chips, et le pain [70]. Les graines contiennent un grand nombre de composés bioactifs qui présentent des avantages métaboliques lorsqu'ils sont consommés sur une base régulière [15].

L'huile de lupin est caractérisée par une composition d'acides gras totales équilibrée avec des acides gras saturés de 10 % et le totale insaturé 32 % à 50 % d'acide oléique, 17 % à 47 % d'acide linoléique et 3% à 11 % de l'acide linoléique [75].

- Effets thérapeutiques

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde possède des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme. Utilisées en médecine classique et en phytothérapies; elles présentent en effet des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus [79].

Les protéines de lupin reçoivent une attention en termes de bienfaits pour la santé, qui concerne un certain nombre de conditions maintenant connu sous le nom de « syndrome métabolique » qui comprend l'obésité, l'hypertension artérielle, et l'hypercholestérolémie [77].

Les aliments enrichis par lupin représentent un bon équilibre entre les acides aminés essentiels et est une bonne source de nutriments, non seulement protéines mais aussi des lipides, fibres alimentaires, minéraux, et les vitamines [76].

L'excellente offre de contenu en fibres dans le lupin favorise également la motilité intestinale, empêchant constipation, vomissements et nausée, et aussi en régularisant le processus de digestion [63]. Le lupin a un faible index glycémique [16].

- Autres utilisations

Le lupin blanc est une plante prometteuse de légumineuses pour les engrais verts, les cultures de couverture et la production de fourrage. La composition des graines et haute teneur en protéine font les cultivars doux très approprié pour l'alimentation de bétail, dans les systèmes d'élevage intensif. Le Lupin blanc peut être utilisé fin de l'hiver au début de la saison de l'herbage comme fourrage frais ou sec. Le lupin blanc est utilisé pour l'alimentation du poisson chez le turbot, et la truite arc en ciel pour sa protéine et ses lipides à haute valeur [81].

## CHAPITRE 2

# BOISSONS VEGETALES

## CHAPITRE 2

### BOISSONS VEGETALES

Les boissons végétales sont précieuses dans notre alimentation moderne et sont récemment développées. Les boissons végétales sont riches en vitamines et en sels minéraux et jouent un rôle dans la préservation de notre santé en garantissant le bon fonctionnement de l'organisme et aussi luttent contre le surpoids et l'obésité.

#### 2.1. Consommation des boissons en Algérie

En 2012, environ 2,4 milliards de litres ont été vendus sur l'ensemble du territoire national, pour une somme de 104,8 milliards de dinars. L'Algérien consomme environ, 17 litres de jus de fruits industriels annuellement, contre 8 litres pour un Tunisien, et 33 litres pour un Libyen et seulement 5 litres pour un Marocain. Ces chiffres sont tirés d'une étude marocaine effectuée en 2010, par le cabinet Nielsen, estime que la consommation de jus de fruits, en Algérie était de l'ordre de 10 litres par habitant par an, soit 336 millions de litres. Elles avancent des chiffres moins importants, soulignant que la demande en jus de fruits est de 6,7 litres par personne et par an en 2013, et de 8,3 litres pour l'année 2014 [82]. En 2017, les ventes de boissons végétales représentaient 127,6 millions d'euros, soit une évolution de 22% en un an en France. Ces nouvelles tendances sont également visibles dans d'autres pays comme les Etats-Unis où les ventes de boissons végétales ont augmenté de 9% en 2017 pour atteindre 1,4 milliards d'euros [83].

#### 2. 2. Différents types de boisson

##### 2.2.1. Boissons chaudes

On peut y regrouper le café, le thé, la chicorée, les infusions, et décoction de plantes médicinales.

Ces dernières constituent un réservoir immense en composés potentiels et en molécules bioactives. A côté des métabolites primaires, elles accumulent fréquemment des métabolites dits secondaires. Ces derniers représentent une source importante de molécules à savoir les polyphénols et les flavonoïdes, qui sont largement utilisés en thérapeutique comme vasculoprotecteurs, antiinflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, et antioxydants [84].

### 2.2.2. Jus de fruits

Le jus de fruit est le liquide obtenu de la partie comestible du fruit sain, mûri d'une manière appropriée, ou bien, à partir des fruits conservés par moyens physiques et/ou par traitements appliqués en conformité aux règlements de la commission Codex Alimentarius [85].

Les jus de fruit peuvent être concentrés et ensuite reconstitués à l'eau potable, en conformité aux critères établis. Les arômes, les pulpes et les cellules obtenus par des procédés physiques appropriées à partir de fruits de la même espèce peuvent être restitués au jus de fruits. Dans le cas des agrumes, le jus de fruits doit prévenir de l'endocarpe [85].

#### 2.2.2.1. Classification des jus de fruits

- Purs jus de fruits

Un pur jus de fruits est le produit liquide fermentescible mais non fermenté obtenu par procédés mécaniques de la partie comestible de fruits, les procédés usuels étant la pression, l'aspiration ou l'essorage centrifuge, accompagnés ou non d'une clarification enzymatique et d'une filtration pour les jus clairs et d'un raffinage sur tamis pour les jus troubles. Ces jus ne sont pas additionnés ni de colorants ni de conservateurs [85,86].

- Jus de fruits concentrés

Ce sont des produits fabriqués après élimination physique d'une quantité de l'eau de constitution. La concentration doit être d'au moins 50%. Or la production du jus destiné à être concentré, des procédés adaptés sont utilisés [85].

- Nectar de fruits

C'est le produit non fermenté, mais fermentescible, obtenu en ajoutant de l'eau, et du jus de fruits concentré, à la purée de fruit ou à un mélange de ces deux derniers, avec ou sans adjonction de sucres, de miel et/ou de sirop et/ou d'édulcorants, a des substances aromatiques, des composés aromatisants volatils, de la pulpe qui doivent tous avoir été obtenus à partir du même type de fruits et par des moyens physiques adaptés, peuvent être ajoutés [85,86].

- Jus de fruits déshydraté

Il est fabriqué à partir de jus de fruits par l'élimination de la quasi-totalité de l'eau de constitution [87].

#### 2.2.2.2. Valeur nutritionnelle des jus de fruits

Solen FREDOT [87], le seul apport énergétique est présenté par les glucides dont la teneur varie de 10 à 17% pour les jus de fruits, proche de 20 % pour les nectars. De 10 à 12 % pour les autres boissons de fruits les sucres ajoutés sont du glucose, du fructose, et du saccharose selon le pouvoir sucrant recherché. Sans oublier que les jus de fruits sont aussi source de vitamine C, Potassium, calcium, carotène et autres.

Tableau 2.1: Valeurs nutritionnelles moyennes des jus de fruit (100 ml) [87,78].

<b>Composants</b>	<b>Jus de fruit</b>	<b>Jus de fruit à base de concentré</b>	<b>Nectar de fruit</b>
<b>Energie (Kcal)</b>	50	40	53
<b>Protéines (g)</b>	0,52	0,54	0,3
<b>Lipides (g)</b>	0,14	0,13	0,089
<b>Glucides (g)</b>	12	10	20
<b>Na (mg)</b>	1	1,5	2,5
<b>K (mg)</b>	35	150	87
<b>Ca (mg)</b>	10	10	5
<b>Vit C (mg)</b>	5-50	30	10

### 2.2.3. Boissons gazéifiées

Ils sont saturés en gaz carbonique, ce qui augmente la propriété rafraîchissante de la boisson [87].

### 2.2.4. Boissons lights

Selon la réglementation Européenne, le terme « light » implique, pour les boissons sucrées, un allègement d'au moins 30 % de la teneur en sucres. Toutefois, dans la réalité, la plupart des boissons « light » ne contiennent pas de sucres. Elles sont élaborées avec des édulcorants intenses, comme l'aspartame, l'acésulfame K et/ou le sucrose. Leur apport calorique est de ce fait pratiquement nul. Elles constituent une alternative aux boissons sucrées [86].

### 2.2.5. Boissons végétales

Un lait végétal est une boisson produite à partir de végétaux qui présente des aspects proches de ceux des laits d'origine animale. Il est exempt de caséines, de lactose, de cholestérol, riches en vitamines et en sels minéraux [88].

Préconisées initialement comme alternative aux produits laitiers pour les personnes allergiques ou intolérantes (lactose) ou ayant du mal à digérer le lait animal, les boissons végétales sont de plus en plus consommées. En effet grâce à la créativité des fabricants (amélioration de la texture, diversité des recettes), les boissons végétales sont appréciées pour leur qualité gustative [87].

#### 2.2.5.1. Classification des boissons végétales

Elles sont classées en 5 catégories [89] ; celles à base de végétaux (avoine, riz, maïs et épeautre), à base de légumineuses (soja, et lupin), à base de fruits à coque (amande, coco, pistache, noisette et noix), à base de graines (sésame, lin, chanvre et tournesol) ou encore à base de pseudo-céréales (quinoa, et amarante).

- Boisson d'amande

L'emploi du terme « lait d'amande » correspond à un lait d'amande non modifié par l'ajout de substances supplémentaires. Saveur douce, bonne pour la croissance, et facile à digérer [89].

Contient des éléments minéraux et vitamines (Tableau 2.2). C'est la boisson qui enregistre la plus forte croissance mondiale sur le marché des boissons végétales. La boisson aux amandes est pauvre en lipides et en sucres, et affiche seulement 22,5 calories environs pour 100 ml, Tout comme les boissons au soja, la boisson aux amandes est sans gluten [89].

- Boissons de soja

Le lait de soja, est un produit obtenu par extraction à l'eau des graines, éventuellement après gonflement dans l'eau. Traditionnellement, les graines de soja sont trempées, puis broyées en milieu humide, et enfin filtrées pour séparer un extrait liquide lait de soja (tonyu) [90].

Le lait de soja ne contient pas de lactose d'où son intérêt pour les personnes ne tolérant pas de lactose. Il ne possède pas de cholestérol et ses lipides sont composés principalement d'acides gras polyinsaturés d'où son intérêt diététique. Par rapport au lait de vache, il contient moins de vitamines liposolubles et de sels minéraux. La composition du tonyu (Tableau 2.2) varie selon le ratio eau : graines mis en œuvre et le taux d'extraction pratiqué. Les teneurs en protéines et en lipides du tonyu et de lait de vache sont proches : le tonyu est plus riche en fer mais plus pauvre en calcium à moins qu'une formulation ne soit prévue à cet effet [88,89].

- Boisson au riz

C'est une boisson à la saveur douce. Il existe aussi des versions aromatisées au chocolat, à la vanille et des mélanges composés en association avec un autre lait végétal (riz-amandes), Le lait de riz allège une préparation qui contient des œufs (crème pâtissière, flan traditionnel). Elle a la teneur en sucre (Tableau 2.2) la plus élevée parmi les boissons végétales. Le riz en soi ne contient pas de matière grasse. La teneur en protéines des boissons au riz est de 0,1 g/100 ml, ce qui est faible par rapport à d'autres boissons végétales [78,91].

- Boisson à la noix de coco

Le lait de noix de coco est le jus que l'on extrait de la pulpe blanche de la noix de coco. C'est l'émulsion diluée dans l'eau de l'endosperme (amande) de la noix de coco finement hachée [89].

Selon [92], cette boisson est très riche en potassium (Tableau 2.2) en plus de son effet diurétique naturel, purgatif, détoxiquant, vermifuge, prévient l'ostéoporose, en raison de ses apports en minéraux.

Tableau 2.2: Composition nutritionnelle moyenne du lait de soja [78].

<b>Constituant</b>	<b>Lait de soja</b>	<b>Lait d'amande</b>	<b>Lait de coco</b>	<b>Lait de riz</b>
<b>Energie (kcal/100g)</b>	35,8	22,5	188	53,7
<b>Eau (g/100g)</b>	93	96	75,1	87,6
<b>Protéines (g/100g)</b>	3,63	0,6	1,77	0,1
<b>Glucides (g/100g)</b>	0,7	1,45	3,4	10,8
<b>Lipides (g/100g)</b>	2,07	1,5	18,4	1
<b>Cendres (g/100g)</b>	0,33	0,047	0,69	< 0,25
<b>Calcium (mg/100g)</b>	12	7	18	5
<b>Fe (mg/100g)</b>	0,41	0.1	3,3	0,01
<b>Mg (mg/100g)</b>	16	-	46	3,3
<b>P(mg/100g)</b>	50	15	96	10
<b>K (mg/100g)</b>	110	25	220	16
<b>Na (mg/100g)</b>	24,3	-	30	29,5
<b>Vit E (mg/100g)</b>	0,11	0,69	0,7	0,48

#### 2.2.5.2. Fabrication des boissons végétales

Les matières premières végétales sont trempées puis moulues, elles vont donner une farine. L'extraction de cette farine se fait ensuite dans l'eau. Une phase de séparation vient ensuite par filtration ou décantation pour éliminer les déchets. C'est à ce moment qu'une addition de produit peut intervenir comme le sucre, les agents stabilisants ou des nutriments. Le mélange subit un traitement de stérilisation à Ultra Haute Température ou une pasteurisation pour sa conservation, comme réalisé pour le lait de vache. Le jus obtenu à l'apparence du lait [88].

- Arôme

Substance ou préparation ajoutée à un aliment ou une boisson pour lui conférer un nouvel arôme caramel, ou bien vanille, chocolat [86].

- Agents de texture

Les agents de texture comprennent les émulsifiants, les épaississants, les gélifiants, les stabilisants et les amidons chimiquement modifiés. Ce type d'additifs utilisés peut maintenir ou améliorer la consistance des produits alimentaires, et leur viscosité [86].

Selon Fredot [87], les hydrocolloïdes d'origine végétale, constituent une très large famille de substances, sont représentatifs des catégories épaississants, gélifiants, stabilisants : pectines, xanthane, guar, caroube.

- Colorants

Les colorants alimentaires ajoutent de la couleur à une denrée alimentaire, ou rétablissent sa couleur naturelle [86].

- Antioxydants

Les substances qui augmentent l'acidité des boissons et/ou lui donnent un goût acide. Elles sont utilisées pour empêcher les aliments gras de rancir et pour protéger les vitamines liposolubles (A, D, E et K) dans les boissons contre l'oxydation. Les esters d'acides galliques, le butylhydroxytoluène et le butylhydroxyanisole, appartiennent à cette catégorie. Les vitamines C et E ont également des propriétés antioxydantes et ont l'avantage d'augmenter la valeur nutritive des aliments [86].

- Édulcorants

Les additifs alimentaires utilisés pour donner une saveur sucrée aux boissons. Ils sont utiles dans les aliments allégés ou diététiques, comme ceux pour les diabétiques. Les édulcorants intenses, comme l'acésulfame K (SIN 950), l'aspartame (SIN 951), la saccharine (SIN 954). Il existe aussi des édulcorants naturels comme l'extrait (glycosides de stéviol) de *Stevia rebaudiana* [86,93].

## CHAPITRE 3

# LAIT ET PRODUITS LAITIERS

## CHAPITRE 3

### LAIT ET PRODUITS LAITIERS

Par sa richesse en calcium, vitamines et en protéines, le lait est un aliment à nombreux vertus. Les produits dérivés du lait ont des qualités souvent similaires et contribuent, sous des formes variées et riches en goût, à l'équilibre nutritionnel à chaque âge de la vie.

La famille des produits laitiers est la source principale de calcium (constitution et maintien de la solidité du squelette et des dents), fournisseur de protéines d'excellentes qualités (forte digestibilité et contenant une grande majorité d'acides aminés indispensables), de lipides (source énergétique), de glucides (lactose), mais aussi de vitamines (notamment B1, B2 pour le fonctionnement des cellules, B9 et B12 pour la formation des globules rouges et la transformation des protéines, A pour la vision, D biodisponibilité du calcium et du phosphore) et de quantités importantes de minéraux (phosphore, iode, zinc, potassium et sélénium)

#### 3.1. Lait cru

Le mot « lait » désigne le liquide sécrété par les glandes mammaires d'un mammifère femelle en vue de nourrir son petit. Chez l'ensemble des mammifères, il correspond au premier aliment ingéré, dès la période néonatale [94].

Le lait doit être en outre collecté dans de bonnes conditions hygiéniques et présenter toutes les garanties sanitaires. Il peut être commercialisé en l'état mais le plus souvent après avoir subi des traitements de standardisation lipidique et d'épuration microbienne pour limiter les risques hygiéniques et assurer une plus longue conservation [95]. Compte tenu de sa richesse en éléments nutritifs, le lait constitue un aliment très périssable, divers moyens sont utilisés pour le conserver, pour cette raison le lait se vend sous différentes formes [94].

### 3.1.1. Composition chimique du lait

Le lait est reconnu depuis longtemps comme une source de calcium et de protéines, riches en acides aminés essentiels, tout particulièrement en lysine qui est, par excellence, l'acide aminé de la croissance. Ses lipides, caractérisés par rapport aux autres corps gras alimentaires par une forte proportion d'acides gras à chaînes courtes, sont beaucoup plus riches en acides gras saturés qu'en acides gras insaturés [96]. Les principaux composants chimiques du lait de vache sont résumés dans le tableau (3.1).

Tableau 3.1: Composition moyenne du lait de vache pour 100ml [97, 98]

<b>Nutriments</b>	<b>Quantités pour 100ml de lait</b>
<b>Eau (g)</b>	87
<b>Protéines (g)</b>	3,5
<b>Acide glutamique (mg)</b>	628
<b>Lysine (mg)</b>	222
<b>Méthionine et cystéine (mg)</b>	93
<b>Thréonine (mg)</b>	150
<b>Tryptophane (mg)</b>	49
<b>Glucides (g)</b>	5,0
<b>Lipides (g)</b>	3,3-4,7
<b>Acides gras saturés (g)</b>	0,2-3,0
<b>Acides gras insaturés (g)</b>	0,5-2,3
<b>Calcium (mg)</b>	104,3-128,3
<b>Phosphore (mg)</b>	95,0-218,5
<b>Potassium (mg)</b>	121,2-168,1
<b>Vitamine E (µg)</b>	100
<b>Vitamine B<sub>2</sub> (µg)</b>	175

Le lactose est le glucide, ou l'hydrate de carbone, le plus important du lait puisqu'il constitue environ 40 % des solides totaux. Ainsi, le lait contient près de 4,8 % de lactose, tandis que la poudre de lait écrémé en contient 52% et la poudre de lactosérum, près de 70% [99].

Selon GAUCHERON [100], le lait contient des quantités importantes de différents minéraux. Les principaux sont le calcium, le magnésium, le sodium et le potassium pour les cations et le phosphate, le chlorure et le citrate pour les anions. Ils véhiculent par ailleurs des quantités appréciables de cholestérol et de vitamine A ainsi que de faibles quantités de vitamine D et E [96].

### 3.2. Produits laitiers frais

On entend par « produits laitiers » les produits dérivés exclusivement du lait, étant entendu que des substances nécessaires pour leur fabrication peuvent être ajoutées, pourvu que ces substances ne soient pas utilisées en vue de remplacer, en tout ou en partie, l'un quelconque des constituants du lait [99]

D'après LUBRANO-LAVADERA *et al.*, [101], au sein des produits laitiers, on distingue la catégorie de produits frais à date limite de consommation courte, à conserver entre 0 et 6C°. L'ultra- frais laitier comprend trois « sous-catégories » de produits à savoir ; les yaourts et autres laits fermentés ; les fromages blancs (fromages blancs lissés, et petits suisses) ; et les desserts lactés frais (crèmes desserts, laits gélifiés, semoules et riz au lait).

#### 3.2.1. Fromage frais

Le fromage frais est une pâte très humide, peu minéralisée. C'est le produit d'une coagulation lente à dominance acide, obtenue grâce à l'action des bactéries lactiques combinée ou non à celle d'une faible quantité de présure (1-5 ml/100 l de lait) et un temps d'incubation long [102].

Ces fromages présentent une grande diversité selon le degré d'égouttage du coagulum et la teneur en matière grasse du lait mis en œuvre. Les quantités en protéines et en calcium quel que soit le type de fromage frais leur confère une qualité nutritionnelle importante [103].

##### 3.2.1.1. Composition chimique du fromage frais

Le fromage est très riche de par sa composition, en protéines, acides aminés, lipides, acides gras, vitamines et en minéraux [99,102]. Le tableau (3.2) présente la composition moyenne du fromage frais (petit suisse).

Tableau 3.2: Composition du fromage frais pour 100g de produit frais [78].

Constituant	Teneur moyenne
Eau (g/100g)	76,8
Protéines (g/100g)	8,85
Glucides (g/100g)	3,73
Lipides (g/100g)	9,89
Cendres (g/100g)	0,6
Cholestérol (mg/100g)	33,7
Calcium (mg/100g)	110
Chlorure (mg/100g)	103
Magnésium (mg/100g)	9,4
Phosphore (mg/100g)	125
Potassium (mg/100g)	130
Sodium (mg/100g)	37,3

### 3.2.1.2. Technologie de fabrication des fromages frais

- Standardisation physico-chimique et biologique du lait

Tous les types de lait n'ont pas la même aptitude à la transformation fromagère, car ils présentent un certain nombre de caractéristiques différentes (composition en caséines, en MG, qualité hygiénique, pH, etc.). Afin de s'affranchir des variations de la teneur en protéines des laits, les industriels ont la possibilité de régler le taux protéique des laits à l'aide de différentes techniques : élimination de l'eau par évaporation, concentration par filtration ou par ajout de caséinates. Les industriels effectuent notamment l'ajustement des teneurs en matière grasse, du pH d'emprésurage pour faciliter la coagulation du lait et l'ajout de minéraux [104].

- Coagulation

La coagulation par voie acide consiste à précipiter les caséines à leur point isoélectrique par acidification bactérienne (ferments lactiques) qui aboutit à la déstructuration des micelles de caséines avec une réorganisation de ces protéines en gel. La coagulation enzymatique présente la même finalité puisqu'elle consiste en la transformation du lait en gel par l'action d'enzymes protéolytiques qui vont préférentiellement hydrolyser les caséines k, désorganisant ainsi les micelles et permettant ensuite leur réticulation. La coagulation mixte résulte de l'action conjuguée de la présure et de l'acidification [102].

- Tranchage

Il consiste à couper le gel en portions égales afin d'accroître la surface d'exsudation de lactosérum [102].

- Egouttage et moulage

Il fixe les caractéristiques physiques (pH et activité de l'eau) et chimiques du caillé. Le processus d'égouttage est lié à des facteurs indirects (acidification et coagulation enzymatique) et des facteurs liés à la matière première (richesse en caséine laitière, en protéines solubles et en matière grasse), et des facteurs directs correspondant à des traitements de types mécanique et thermique. L'égouttage centrifuge est une méthode de séparation qui ne s'applique qu'aux caillés obtenus à partir du lait écrémé afin d'éviter les pertes de matière grasse pendant la centrifugation [105]. La pâte fraîche sera additionnée de crème fraîche. L'ajout de crème éventuel pour obtenir le taux de MG souhaité. Le moulage se réalise à température ambiante dans des moules en plastique pour faciliter l'égouttage lorsque le pH atteint une valeur comprise entre 4,3 et 5,0 [106].

- Conservation

Il est permis d'ajouter aux fromages frais des substances variées (dans une proportion ne dépassant pas les 30% du poids du produit fini) : le saccharose, les matières aromatiques naturelles, fruits, pulpes et jus de fruits, confitures, miel et colorants. La température de conservation doit toujours se situer entre 0 et 6°C. Tous les fromages frais présentent une DLC de 24 jours [106].

### 3.2.2. Desserts lactés

Les desserts lactés sont fabriqués à partir de matière première laitière entrant dans leur composition pour au moins 50%. Auxquelles on ajoute d'autres ingrédients (riz, semoule, sucre, fruits, caramel, café, chocolat, ect.), et des additifs comme les agents de texture, épaississants ou gélifiants, arôme, colorant. Ils ne bénéficient pas d'une protection acide. Leur fabrication nécessite un traitement thermique systématique et un conditionnement soigné [107].

### 3.2.2.1. Crèmes desserts

La nomination de « lait gélifié aromatisé » est réservée aux produits laitiers préparés avec du lait, du sucre et des matières aromatiques naturelles. Ils peuvent être additionnés de stabilisateurs autorisés ou de matières amylacées, et éventuellement de colorants naturels. La crème dessert comporte 84 à 90% de lait, 8 à 12% de saccharose, 2 à 4 % d'amidon, 0,1 à 0,3% de carraghénane, et des arômes [108].

### 3.2.2.2. Riz au lait

En plus du lait, le riz au lait traditionnel doit contenir au minimum 8 % de riz (5% pour les autres) et doit être cuit dans le lait pour que le riz au lait puisse être qualifié de traditionnel [101].

La teneur de l'amidon de riz en amylose est le principal facteur de qualité à la consommation. Le contenu en amylose est directement en corrélation avec le gonflement du riz et l'absorption d'eau au cours de la cuisson et aussi la dureté, la blancheur et la texture du riz cuit. Ainsi les riz cireux gonflent peu et ont une forte tendance à se désagréger. Un riz riche en amylose est plus ferme et colle moins. Le riz est une bonne source de vitamines du groupe B (thiamine, riboflavine et niacine) mais contient peu ou pas de vitamines A, C et D. Le riz contient des quantités assez importantes de Mg, P, Ca et K [109].

- Valeur nutritionnelle des desserts lactés

Les desserts lactés participent à une alimentation équilibrée et présentent d'une manière générale les mêmes qualités nutritionnelles (Tableau 3.3) que le lait, ils contiennent une quantité intéressante de protéines qui est de 1,8 à 5,5g/100g [107]. Les teneurs en lipides des DLF sont très variables avec des moyennes comprises entre 3 et 20g/100g selon les catégories de produits. Les glucides des DLF sont majoritairement des sucres simples, dont la teneur varie entre 14,6 et 24,8 g/100g selon les catégories de produits [101].

Ces sucres simples correspondent au lactose apporté par le lait et aux sucres ajoutés, en quantités variables selon les recettes. Mais les DLF peuvent également contenir des glucides complexes, (comme de l'amidon pour les riz au lait) [107].

Tableau 3.3: Composition nutritionnelle de quelques desserts lactés [78]

Composant	Lait gélifiés aromatisés	Riz au lait	Crème dessert	Mousse au chocolat
<b>Énergie (KJ/100g)</b>	613	531	525	754
<b>Eau (g/100g)</b>	66,9	71,5	71,2	61,2
<b>Protéine (g/100g)</b>	3,39	3,34	3,48	4,85
<b>Glucides (g/100g)</b>	24,8	21,3	18,9	24,8
<b>Lipide (g/100g)</b>	3,53	3,01	3,52	6,48
<b>Calcium (mg/100)</b>	120	61,6	102	149
<b>Magnésium (mg/100)</b>	14,5	10,9	19	59,5
<b>Potassium (mg/100g)</b>	181	96	190	371
<b>Phosphore (mg/100g)</b>	81	75	80	122

Les DLF contiennent des teneurs moyennes en calcium comprises entre 60 et 140 mg/100g, ils constituent une source de calcium non négligeable. Dans une moindre mesure, les DLF contribuent également aux apports en vitamines B2, B9 et D, ainsi qu'en phosphore [110].

### 3.2.2.3. DLF allégés en matière grasse et/ou en sucres ou édulcorés

D'après LUBRANO-LAVADERA *et al.* [101], ces produits résultent de la combinaison de leurs faibles teneurs en lipides et/ou de leurs teneurs en glucides intermédiaires. La standardisation de la teneur en matière grasse par écrémage puis réintroduction de crème à des degrés divers, conduit à des produits dont la teneur en matière grasse varie depuis des produits totalement écrémés (< 0,5 g de MG/100g), allégés ou partiellement écrémés (généralement 1,8%), par rapport aux produits « entiers » (3,5%). Pour certains desserts lactés allégés en sucre, des édulcorants comme l'aspartame ou les glycosides de stéviol connus sous le nom de « *stévia* » peuvent également être utilisés.

#### 3.2.2.4. Ingrédients de fabrication des desserts lactés

En pratique, la plupart des DLF présentent une teneur en lait et en ingrédients laitiers de 60 à 75 %, parfois plus. Le sucre est un ingrédient habituel pour un dessert. Les sucres ajoutés dans les DLF sont variables (saccharose, fructose ou glucose). Certains DLF peuvent également contenir des agents sucrants comme les sirops de glucose-fructose. D'autres ingrédients spécifiques peuvent être ajoutés, apportant une large palette de textures (crème, œufs, riz, semoule) et de saveurs comme le chocolat, fruits [101].

#### 3.2.2.5. Procédés de fabrication des DLF

D'un dessert à un autre, les techniques de fabrication diffèrent. Cependant, certaines, étapes sont communes à la plupart des DLF (Figure 3.1).

- Pesée et incorporation des ingrédients

Le mélange des ingrédients se fait selon un ordre préétabli dans la cuve de pasteurisation. On commence toujours par mélanger les ingrédients liquides entre eux (lait pasteurisé et arôme liquide de vanille). Les produits secs (sucre, amidon, carraghénane) sont préalablement mélangés entre eux, afin de faciliter leur dissolution dans les ingrédients liquides [107].

- Cuisson, pasteurisation, et stérilisation

L'étape du traitement thermique est indispensable pour l'innocuité du produit laitier. Le traitement thermique se situe entre 80 et 98 °C pendant une durée variable de 20 s à 30 min. Les enzymes responsables de la dégradation du produit laitier, telles que les lipases responsables de l'oxydation des lipides, sont alors inhibées [107].

- Conditionnement

Le conditionnement doit être impérativement effectué à haute température (80°C), ceci permet de protéger le mélange des contaminations et il assure la pasteurisation de l'emballage et du couvercle. Les DLF ne sont protégés ni par la flore lactique, ni par l'acidité qui résulte de la fermentation. Le traitement thermique assure la conservation des produits et garantit leur innocuité [107].

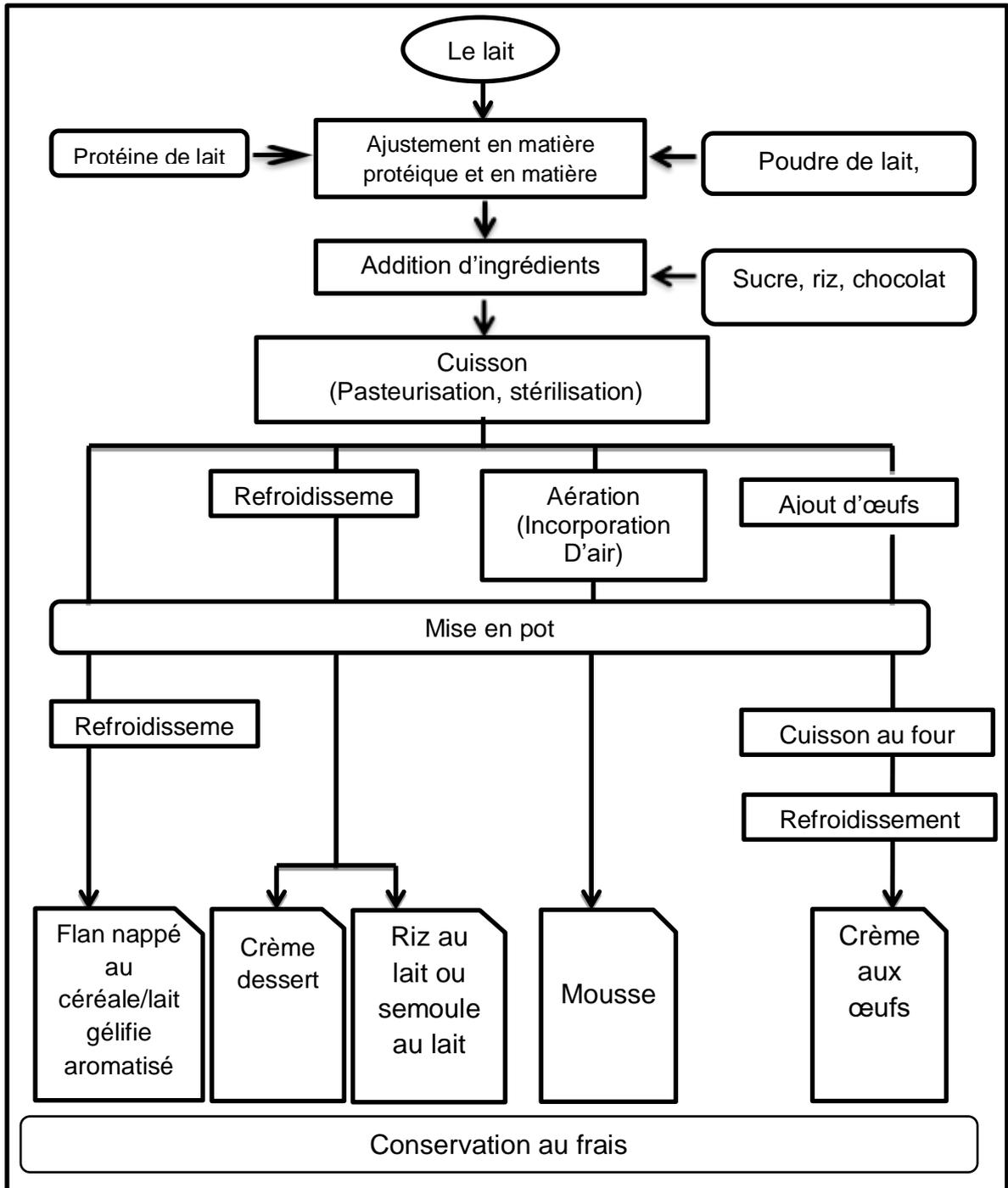


Figure 3.1: Diagramme de fabrication des principaux desserts lactés frais [101]

- Refroidissement rapide des pots et stockage en chambre froide

Après conditionnement, le refroidissement doit s'effectuer rapidement ; ainsi que la conservation au froid (la température doit toujours se situer entre 0 et 6°C). En cas de refroidissement trop lent, les produits risquent de présenter des défauts de texture, sans oublier les risques de développement microbien [107].

### 3.2.2.6. Comportement rhéologique des desserts lactés

Les propriétés rhéologiques des desserts lactés sont fortement influencées par les caractéristiques particulières de certains ingrédients, telles que la teneur en matière grasse du lait, le type d'amidon et / ou le type et la concentration d'hydrocolloïdes et leurs interactions croisées [111, 112].

La texture semi-solide des desserts lactés est obtenue grâce à l'utilisation d'agent gélifiant (polysaccharides). Ces derniers augmentent la viscosité du lait tout en favorisant la rétention d'eau. Le lait acquiert ainsi une structure tridimensionnelle assurée par les liaisons hydrogènes et électrostatiques qui jouent le rôle de liant entre les différents ingrédients [113].

L'amidon joue le rôle d'épaississant; il est constitué d'un mélange d'amylose et d'amylopectine en proportions variables. En solution, l'amylose est sous forme de pelote statistique; il ne gonfle qu'à des températures élevées (60-65 C°). Quand la température diminue, les solutions concentrées en amylose donnent rapidement des gels amorphes plus ou moins rigides, élastiques et parfois thixotropes. Le gonflement assure le maintien de la suspension suite à la diminution de la densité des granules [114]. Ainsi la cuisson qui consiste en une dissolution des ingrédients sous l'effet de la température, constitue l'étape la plus importante dans la préparation de la crème de riz. La farine de riz (amidon) permet d'obtenir un gel avec certaines propriétés organoleptiques et rhéologiques qui caractérisent ce produit.

WISCHMANN, et al [115] ont étudié les effets de la concentration en amidon dans les desserts laitiers, qui ont montré des propriétés dépendantes du temps et des comportements pseudo-plastique et viscoélastique typiques des gels structurés.

DEPYPERE et al., [116] ont étudié les interactions entre la k-carraghénine, l'amidon de maïs et les protéines lactières et ont analysé les propriétés viscoélastiques des systèmes modèles de produits laitiers. BATISTA et al., [117] ont caractérisé à la fois l'écoulement et la viscoélasticité de deux desserts laitiers commerciaux, comme étant affectés par la substitution des protéines végétales au lait.

D'après BARNWA et al., [8] les crèmes de riz ont une consistance semi-solide, leur comportement est rhéofluidifiant. Ce sont des fluides à écoulement non Newtonien ; leur étude du point de vue rhéologique présente un intérêt considérable. Les fluides non Newtoniens sont caractérisés par l'absence de proportionnalité entre la contrainte de cisaillement  $\tau$  et la vitesse de cisaillement  $\dot{\gamma}$ . Ce comportement est décrit par la loi de puissance, dite également d'Oswald de Wale, qui s'écrit:

$$\tau = k \dot{\gamma}^n \quad (3.1)$$

où  $k$  est le coefficient de consistance et  $n$  l'indice d'écoulement.

## CHAPITRE 4

# CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE ET PHYTOCHIMIQUE DES PLANTES ETUDIEES

## CHAPITRE 4

### CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE ET PHYTOCHIMIQUE DES PLANTES ETUDIEES

#### 4.1. Matériel et méthodes

Les plantes représentent une source inépuisable de composés bioactifs tels que les polyphénols, dans ce contexte, les objectifs visés dans ce chapitre sont donc, d'évaluer d'abord les caractéristiques physico-chimiques des feuilles de *Atriplex halimus*, et graines de *Lupinus albus* et *Griffonia simplicifolia* utilisées dans cette étude, puis de déterminer, par la chromatographie liquide à haute performance la teneur en acides aminés, ainsi que l'identification et quantification des acides gras contenus dans les trois plantes grâce à la chromatographie en phase gazeuse. Ce travail comporte également une étude phytochimique.

#### 4.1.1. Provenance du matériel végétal

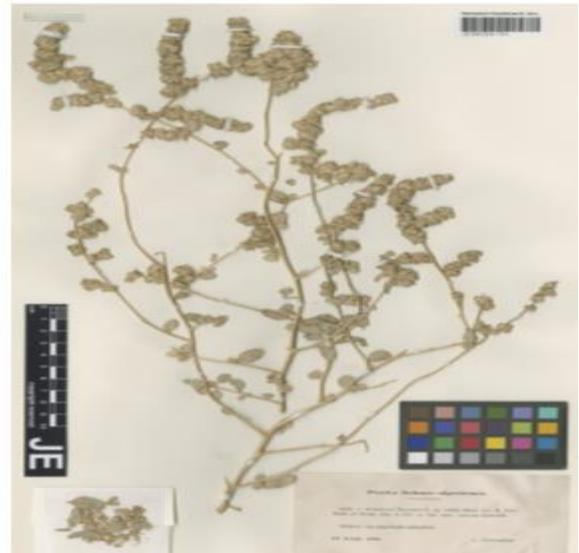
##### 4.1.1.1. *Atriplex halimus*

Les feuilles de *Atriplex halimus* ont été récoltées dans la région de Beni abas à Bechar, en Mars 2014 (Figure 4.1. A), puis séchés à l'ombre. La plante est un Arbrisseau de 1-2 mètres de haut, blanc argenté, les feuilles sont alternes, persistantes, ovales ou oblongues, faiblement nervées. Pour pouvoir identifier la plante recueillie, nous avons eu recours à l'Herbarium de Friedrich-Schiller-Universität Jena (JE), JE0002613, Allemagne, dans JSTOR global plant (figure 1.5.B) donnant la description suivante :

*Atriplex. halimus* est un arbuste de 1 à 3 m de haut, très rameux, formant des touffes pouvant atteindre 1 à 3 m de diamètre. Les feuilles sont alternes, brièvement mais nettement pétiolées, plus ou moins charnues, couvertes de poils blanchâtres (trichomes), ovales, entièrement ou légèrement sinuées, de 0,5 à 1cm de large sur 2 à 4 cm de long.



A) Photographie de la plante *A. halimus* originale



B) *A. halimus* de l'Herbarium de Friedrich-Schiller-Universität Jena (JE), JE0002613 d'Allemagne

Figure 4.1: Photographie de *Atriplex halimus*

#### 4.1.1.2. *Griffonia simplicifolia*

Les graines de *Griffonia simplicifolia* (Figure 4.2) ont été fournies, par un herboriste « la maison des plantes » à Nice en France, ces graines sont originaires du Ghana. Les graines de *G. simplicifolia* sont conditionnées dans un sac en papier de 300 gramme.



Figure 4.2 : Photographie de la graine de *Griffonia simplicifolia*.

#### 4.1.1.3. *Lupinus albus* :

Les graines de *Lupinus albus* (Figure 4.3) ont été achetées du commerce (Khemis Miliana-Ain defla, Algérie) provenant d'Égypte.



Figure 4.3: Photographie des graines de *Lupinus albus* (lupin blanc).

Dans le but de s'assurer de l'espèce *Lupinus albus*, nous avons planté quelques graines et trois mois après, nous avons obtenu une plante (Figure 4.4) faisant objet d'identification. Elle mesure 30 cm de long, couverte de poils dont les feuilles sont alternes, composées de 5 à 7 folioles. Ses inflorescences sont en épis composés de fleurs papilionacées blanches. Les gousses sont velues, aplaties renfermant 3 à 6 grosses graines, lisses en forme de pavé au contour arrondi, blanc.



a) Photographie de la plante de *L. albus* (originale)

b) *L.albus* de l'Herbarium Botanic Garden and Botanical Museum B -W 13342 -01 0, Freie Universität Berlin

Figure 4.4 : Photographies de la plante *Lupinus albus*

Pour identifier la plante nous avons utilisé l'Herbarium Botanic Garden and Botanical Museum B -W 13342 -01 0, Freie Universität Berlin retrouvé dans JSTOR global plant (figure 4.4) donnant la description suivante :

- Plante herbacée, ramifiée, à poils courts, atteignant jusqu'à 120 cm de haut
- Feuilles alternes, composées à 5-9 folioles, obovales, de 2-6 cm 0,5-2 cm poilues dessous.

- Inflorescence en grappe terminale de 3-30 cm de long, nombreuse fleurs.
- Les gousses sont étroitement oblongues, de 6-15 cm, 1-2 cm, bombées au niveau des graines, brièvement poilues contenant 3-6 graines.
- Graines rectangulaires ou carrées à coins arrondis, lisses, et blanches.

Cette description confirme l'espèce *Lupinus albus* L.

Les feuilles de *A. halimus* et les graines de *L. albus*, et *G. simplicifolia* ont été broyées séparément à l'aide d'un moulin électrique. Le broyat obtenu est conservé dans des récipients hermétiques jusqu'au jour de l'analyse.

#### 4.1.2. Méthodes

##### 4.1.2.1. Teneur en matière sèche (MS) :

Le matériel utilisé (capsules et couvercles) pour la détermination de la teneur en eau a été préalablement séché dans l'étuve à 105 °C puis transféré dans un dessiccateur ensuite il a été pesé. Environ 3 g d'échantillon (W1) ont été placés dans l'étuve pendant 24 h à 105 °C. Ensuite, ils ont été transférés dans un dessiccateur et pesés (W2) [119]. Le taux d'humidité a été calculé selon l'équation (4.1)

$$H (\%) = \frac{W1 - W2}{W1} \times 100 \quad (4.1)$$

La teneur en matière sèche est donnée par la relation (1.2)

$$MS (\%) = 100 - H \quad (4.2)$$

##### 4.1.2.2. Teneur en matière minérale (MM)

L'échantillon à analyser est calciné à 550 °C dans un four à moufle jusqu'à obtention d'une cendre blanchâtre. Initialement, 1,5 à 2,0 g d'échantillons ont été placés dans le creusé (le poids du creusé et des échantillons ont été enregistrés). Après chauffage à 105 °C pendant 2 heures et refroidissement dans le dessiccateur, les échantillons ont été repesés et soumis à un chauffage pendant 5 heures à 550 °C [119].

Les échantillons obtenus ont été conservés dans un dessiccateur, refroidis à température ambiante et pesés à nouveau. Leurs teneurs en cendres ont été déterminées en utilisant l'équation (4.3) ci-dessous:

$$\text{Teneur en cendres (\%)} = \frac{P - P_c}{P} \times 100 \quad (4.3)$$

Où P est le poids initial de l'échantillon et P<sub>c</sub> est le poids de l'échantillon après avoir été soumis à la calcination.

#### 4.1.2.3. Détermination de la teneur en protéines

L'azote total est dosé par la méthode de KJELDAHL [120], à partir d'une prise d'essai de 1g de matière sèche, cette méthode détermine le contenu azoté des substances organiques et inorganiques. Cette méthode est réalisée trois principales étapes qui sont la minéralisation, la distillation et le titrage.

La teneur en matière azotées totale est obtenue en multipliant la teneur en azote total par le coefficient de conversion qui est de 6,25.

Cette teneur est calculée de la manière suivante :

$$\text{Azote total} = \frac{(v_1 - v_2) \times 0.0014}{P} \times 100 \quad (4.4)$$

Avec :

V<sub>1</sub> : Volume de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (ml).

V<sub>2</sub> : Volume du NaOH.

P : Poids de l'échantillon sec (g).

#### 4.1.2.4. Détermination du profil en acides aminés

Le profil en acides aminés des trois plantes a été établi au Centre scientifique et technologique de Marmara (TUBITAK MAM, Turquie), en utilisant la méthode de chromatographie liquide ultra haute performance (UPLC). Une méthode de dérivation précolonne est utilisée pour l'analyse, où les acides aminés sont dérivés en phénylthiocarbamyl (PTC) par le réactif phényl isothiocyanate (PITC). La séparation et la détection ont eu lieu sur une colonne d'analyse de chromatographie liquide à haute performance en phase inverse à l'aide d'un détecteur UV à 254 nm [121,122,123].

Une méthode d'analyse du tryptophane a été mise au point à l'aide de la HPLC avec détection par fluorescence (HPLC-FLD). Le tryptophane a été détecté en utilisant les longueurs d'onde d'excitation et d'émission à 280 et 340 nm, respectivement [124].

Les teneurs en acides aminés ont été calculées en comparant l'aire de pic de l'échantillon avec les courbes standard et les valeurs ont été exprimées en (g/100g).

#### 4.1.2.5. Détermination de la teneur en matière grasse

Un ballon contenant environ 2 g d'échantillon (emballé dans un filtre en papier  $W_1$ ) est placé dans un extracteur Soxhlet en chauffage puis le solvant (éther de pétrole) a été introduit par le condenseur qui est fixé au Soxhlet doté d'un système de refroidissement, ce qui permet d'extraire les lipides par un processus de reflux continu puis de les concentrer. L'échantillon et le papier filtre ont été refroidis dans un dessiccateur et repesés ( $W_2$ ) [119].

La teneur en lipides a été déterminée selon l'équation (4.5).

$$\text{Teneur en lipides (\%)} = \frac{W_1 - W_2}{W_1} \times 100 \quad (4.5)$$

#### 4.1.2.6. Détermination de la composition en acides gras

- Trans-estérification

Les graines et feuilles séchées puis broyées ont été mélangées avec du Trifluorure de Bore/Méthanol ( $\text{BF}_3/\text{MeOH}$ ) à 20% à température ambiante pendant 2 h et à 78°C pendant 3 h. Les esters méthyliques d'acides gras résultants ont été extraits avec de l'éther de pétrole (40-60°C) et les solvants sont éliminés à 40°C en utilisant un courant d'azote [125].

- Analyses par CPG et GC-MS

Un chromatographe en phase gazeuse (Shimadzu GC-14 A), équipé d'un FID (260°C) et d'un injecteur split (1:20) a été utilisé pour l'analyse des esters méthyliques des acides gras. L'azote était le gaz vecteur à une pression d'entrée de 1 kg/cm<sup>2</sup>. Les esters méthyliques ont été analysés sur une colonne capillaire de silice fondue TC-WAX (GL Sciences Inc.) (30 m x 0,25 mm diamètre intérieur, et 0,25 µm d'épaisseur) et la température a été programmée entre 170 et 225°C à 1°C/min avec un temps de maintien final de 25 minutes. L'identification des esters méthyliques a été effectuée en comparant les temps de rétention des esters méthyliques d'acides gras standard (Applied Science Laboratories Inc. et Sigma chemical Co.) [125].

L'équipement GC-MS (HP 6890 Series GC System) disposait d'un contrôle électronique de la pression et d'une détection sélective de la masse (énergie ionisante : 70 eV, température source : 300°C). La séparation des esters méthyliques d'acides gras a été réalisée sur une colonne capillaire de silice J&W (GL Sciences Inc.) (30 m x 0,25 mm diamètre intérieur, 0,25 µm d'épaisseur) et la température a été programmée entre 150 et 230°C à 2°C/ min. L'hélium a été utilisé comme gaz vecteur avec un débit de (1 ml/min), Le mode d'injection Split est avec un ratio de 1:50. L'injecteur a été maintenu à 250°C et le détecteur à 300°C [125].

#### 4.1.2.7. Détermination de la teneur en éléments minéraux par Spectroscopie d'absorption atomique

Les éléments minéraux (Ca, K, P, Na) sont déterminés par spectrométrie d'absorption atomique (AA 240 FS Agilent). L'analyse se base sur l'absorption de photons par des atomes à l'état fondamental. Les photons absorbés étant caractéristiques des éléments absorbants, et leur quantité étant proportionnelle au nombre d'atomes d'élément absorbant, l'absorption permet de mesurer les concentrations des éléments doser [120]

Une quantité de 0,4 g d'échantillon broyé est pesée dans un creuset en porcelaine puis mis au four à 650 °C pendant 5 h. Après refroidissement, 5ml d'acide nitrique 1 mol est ajouté à la cendre obtenue puis porté à évaporation totale sur un bain de sable. Au résidu sont ajoutés 5 ml d'acide chlorhydrique 0,1 mol. Il est ensuite remis au four à 400 °C pendant 30 min. Le résidu final est récupéré avec 10 ml d'acide chlorhydrique 1 mol puis versé dans une fiole de 50 ml. Le creuset est rincé deux fois avec 10 ml de l'acide chlorhydrique. La fiole est complétée à 50ml avec l'acide chlorhydrique. Dans les mêmes conditions, un essai à blanc est réalisé. Les longueurs d'ondes des éléments à analyser sont d'abord définies sur l'appareil (317,9 nm pour le calcium, 768 nm pour le potassium, 589 nm pour le sodium et 700 nm pour le phosphore). Ensuite, les différentes lectures des gammes d'étalonnage permettent d'établir la courbe d'étalonnage traduisant l'absorbance en fonction de la concentration. Enfin, les solutions contenant la cendre sont présentées à l'appareil afin de déterminer l'absorbance. Notons qu'il faut obligatoirement faire passer le blanc entre le passage de deux solutions différentes [120].

#### 4.1.2.8. Analyse phytochimique

- Extraction

Les extraits obtenus à partir de poudres ont été préparés selon les procédés classiques de préparation d'extraits utilisés en milieu villageois que sont l'infusion (pour les feuilles de *A. halimus*, les graines de *L. albus* et *G. simplifolia*). Cela a permis d'obtenir des extraits aqueux pouvant être employés dans l'élaboration de différentes préparations alimentaires.

- Infusion

Une prise d'essai de 10 g de poudre de plante a été introduite dans un ballon contenant 100 mL d'eau distillée bouillante. L'ensemble a été maintenu pendant 30 minutes jusqu'au refroidissement. Après filtration, le filtrat a été concentré à l'évaporateur rotatif sous vide à 50°C. L'extrait a été ensuite mis à l'étuve à 46°C pendant 24 heures. Les essais ont été réalisés en triple. Les poudres obtenues ont été pesées puis conservées dans un flacon stérilisé hermétiquement fermé [126,127].

- Dosage des phénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué selon la méthode de Folin-Ciocalteu (FC) [128,129]. Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et phosphomolibdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ), il est réduit par les phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ). Cette coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption à 760 nm.

- ✓ Mode opératoire

Mettre 0,5 ml de chaque extrait dans des tubes à essais ; ajouter 1,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu 10 fois dilué dans  $H_2O$  distillée; agiter puis laisser agir 5 min avant d'ajouter 1,5 ml de carbonate de sodium à 6%. Après 1 heure d'incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière, lire les absorbances à partir du spectrophotomètre UV-visible à 760 nm, toutes les mesures sont répétées 3 fois.

L'étalon utilisé est l'acide gallique. Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS).

- Dosage des tanins

Les tanins sont déterminés par la méthode de la vanilline en milieu acide décrite par BA *et al.*, [130]. Le réactif de vanilline a été préparé en mélangeant à volume égal: HCl à 8 % (v/v), le méthanol à 37 % (v/v) et 4 % de vanilline dans du méthanol (m/v). Le mélange a été maintenu à 30 °C avant le dosage.

200 µl de chaque extrait à analyser ont été ajoutés à 1000 µl de réactif de vanilline, le mélange a été agité puis incubé à l'obscurité à 30 °C pendant 20 min. L'absorbance est mesurée à 500 nm par un spectrophotomètre UV-visible (Perkin Elmer) contre un blanc constitué d'un mélange de méthanol (37 %) et de HCl (8%) à volume égal. Le résultat est exprimé en mg équivalent catéchol/g de matière végétale sèche en se référant à la courbe d'étalonnage du catéchol.

- Dosage des flavonoïdes totaux

La détermination des flavonoïdes totaux a été effectuée selon la méthode décrite par [130]. Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium). Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons.

- ✓ Mode opératoire

500 µl de chaque extrait à analyser sont ajoutés à 1500 µl de méthanol à 95 %, 100 µl de AlCl<sub>3</sub> à 10 % (m/v), 100 µl d'acétate de sodium 1 M et 2,8 ml d'eau distillée. Le mélange est agité puis incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 min. Le blanc est réalisé par remplacement de l'extrait par du méthanol à 95 % et l'absorbance est mesurée à 415 nm en utilisant un spectrophotomètre UV-visible.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent quercétine/g de matière végétale sèche en se référant à la courbe d'étalonnage de la quercétine.

- Dosage des Alcaloïdes totaux

L'extraction des alcaloïdes totaux à partir des graines se fait selon la méthode de Bouzidi *et al.*, [131], les alcaloïdes sont obtenus par une extraction liquide-liquide, basée sur la différence de solubilité des alcaloïdes en milieu acide et alcalin.

100 g de poudre de graines de *L. albus* et *G. simplicifolia* sont ajoutée séparément à 250 ml d'éther de pétrole pour macération sous agitation mécanique, à température ambiante pendant 3 heures.

Après filtration, le marc (graines moulues débarrassées de la matière grasse) est alcalinisé par une solution 40 ml d'ammoniaque (0,5N) pendant au moins 8 heures à température ambiante, permettant ainsi aux alcaloïdes. La poudre alcalinisée est placée dans une cartouche en cellulose, celle-ci est placée à son tour dans l'appareil de Soxhlet. Ce dernier est monté sur un ballon contenant 250 ml de dichlorométhane. Les alcaloïdes en première étape sont extraits à chaud sous reflux par 250 ml de dichlorométhane pendant 3 à 4 heures (au moins 5 cycles sont nécessaires pour un épuisement total des graines).

A l'issue de cette opération, l'extrait brut est passé à la purification par une trois extractions successives par une solution de 150ml d'acide sulfurique (0,5N), les trois fractions sont reprises dans une ampoule à décantation, alcalinisées jusqu'à pH 9 par ajout de quelques ml d'ammoniaque (0,5N). Nous épuisons ensuite la solution par 150ml de chloroforme, en agitant doucement l'ampoule à chaque fois. Nous récupérons les trois fractions organiques qui seront déshydratées par filtration sur papier filtre soutenant du sulfate de sodium anhydre. L'extrait recueilli est évaporé à sec, le résidu sec représente les alcaloïdes totaux.

- Activité antioxydante (test au DPPH)

Afin d'étudier l'activité antioxydante des différents extraits (trois plantes), nous avons utilisé la méthode basée sur le DPPH (diphényle-picrylhydrazyl) comme un radical relativement stable, selon le protocole décrit par [131]. Dans ce test les antioxydants réduisent le diphényl-picrylhydrazyl ayant une couleur violette en un composé jaune, le diphényl-picryl hydrazine dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu a donné des protons.



Où AH est un composé capable de céder un H<sup>+</sup> au radical DPPH.

La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 2,4 mg de DPPH dans 100ml de méthanol. 50µl des solutions d'extraits ou standard (quercétine) sont ajoutés à 1,95ml de DPPH, le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30min, et la décoloration par rapport au contrôle négatif contenant uniquement la solution de DPPH est mesurée à 517nm.

L'activité antiradicalaire est estimée selon l'équation suivante :

$$\text{DPPH} (\%) = \frac{\text{Abs Témoin} - \text{Abs Echantillon}}{\text{Abs Témoin}} \times 100 \quad (4.6)$$

#### 4.1.2.9. Analyse statistique

L'interprétation des résultats obtenus pour les analyses physicochimiques et phytochimiques des plantes étudiées est basée sur une analyse statistique par l'utilisation du logiciel IBM SPSS 22.

L'analyse statistique consiste en une analyse de la variance à un seul facteur au seuil de 5 %. Si cette analyse révèle des différences significatives, on procède au test de Tukey qui consiste en une comparaison des moyennes permettant ainsi un classement des populations étudiées en groupes homogènes.

## 4.2. Résultats et discussion

### 4.2.1. Composition chimique

Les résultats de la composition chimique des feuilles de *A.halimus*, et graines de *G.simplicifolia* et *L.albus* sont représentés dans le tableau (4.1).

Les paramètres analysés dans les feuilles d'*Atriplex halimus*, graines de *Lupinus albus* et de *Griffonia simplicifolia* montrent que d'une manière générale les espèces étudiées présentent des teneurs en matière sèche (MS), matière minérale (MM), matière protéique (MP), et en matière grasse (MG) très variables, ils sont en fonction de l'espèce et de la fraction morphologique analysée.

Tableau 4.1 : Composition chimique des feuilles de *A.halimus* et graines de *G.simplicifolia* et *L.albus*

Composition (g/100g)	<i>A. halimus</i>	<i>A. halimus</i> [132,133,134]	<i>G.simplicifolia</i>	<i>G.simplicifolia</i> [41,139, 140]	<i>L.albus</i>	<i>L.albus</i> [77,80,135,136,138]
<b>MP</b>	14,52±0,44 <sup>a</sup>	8-20,40	22,16±0,46 <sup>b</sup>	18,16	45,20 ±0,09 <sup>c</sup>	32,2-46,3
<b>MG</b>	4,63±0,08 <sup>a</sup>	2,6-4,1	19,07±0,23 <sup>c</sup>	21-32	9,04 ±0,14 <sup>b</sup>	5,5-12,37
<b>MS</b>	82,86±2,77 <sup>a</sup>	25,96 – 32,10	93,33±1,06 <sup>b</sup>	40,60	95,5 ±0,09 <sup>b</sup>	91,68-95,4
<b>MM</b>	18,48±0,78 <sup>c</sup>	28,03	5,07±0,48 <sup>b</sup>	-	3,01 ±0,15 <sup>a</sup>	2,8-4,3

Les valeurs sont présentées sous forme de la moyenne±écart type.

Les valeurs avec des lettres (a-b-c) étaient significativement différentes (Tukey, p<0,05).

La teneur en matière sèche chez *Atriplex halimus* est de (82,86 2,77<sup>a</sup> g/100g) qui est plus importante par rapport à celle rapportée par, ARBOUCHE *et al.*, [132] 25,96 g/100g. Ces différences observées peuvent s'expliquer par la variation des conditions climatiques et édaphiques.

En parallèle, la teneur en matière minérale est plus faible que celle rapportée par ARBOUCHE *et al.*, [132] chez *A. halimus* qui sont de 25,5 g/100g. Ceci est probablement dû à une forte accumulation d'éléments minéraux en raison de leur caractère halophile et aussi aux conditions pédoclimatiques qui sont différentes.

Le taux de matière azotée totale analysée chez *A. halimus* est supérieur par rapport à celles qui rapportées par RAHMOUNE *et al.*, [133], qui enregistrent entre 8 et 9 g/100g dans les feuilles. La teneur en matière grasse est plus importante par rapport à la valeur citée par ARBOUCHE *et al.*, [132], qui est de 2,6 g/100g.

*Atriplex halimus* contient 32,10 g/100g de matière sèche, 74,30 g/100g de matière organique, 25,70 g/100g de minéraux, une valeur élevée en protéines brutes (20,40 %), des niveaux plus élevés de cendres (28,03 g/100g), et 4,1 g/100g de lipides [134].

Les résultats du Tableau (4.1) montrent que la graine de Lupin contient une teneur considérable en protéines. Le taux de protéines est supérieur à celui retrouvé par ERBA [77], FONTANARI *et al.*, [135], et JAYASENA *et al.*, [136] qui est de 32,2, 36,47, 32,5 g/100g respectivement. Par ailleurs, d'autres auteurs ont trouvé des valeurs plus importantes, ELSAMANI *et al.*, [80] ont trouvé 46,3% de protéines.

La teneur en matière grasse retrouvée est inférieure aux résultats rapportés par FONTANARI *et al.*, [135] qui indiquent une valeur de 12,37 g/100g, et ELSAMANI *et al.*, [80], indiquant 10,4 g/100g. Alors que ERBAS *et al.*, [77] et JAYASENA *et al.*, [136] ont rapporté respectivement des valeurs de 5,94 et 5,5 g/100g. Les teneurs en protéines et en matière grasse sont plus importantes chez *L. albus* par rapport aux autres espèces [74,135, 136,137].

Les résultats retrouvés pour la matière sèche concordent parfaitement avec ceux d'ELSAMANI *et al.*, [80] et FONTANARI *et al.*, [135]. Cependant ERBA *et al.*, [77] indiquent une teneur en matière sèche de 91,68 g/100g.

La valeur de la matière minérale est comparable à celle rapportée par YORGANCILAR et BILGIÇLI [138] indiquant un intervalle de 2,8- 4,3 g/100g.

Les graines de *Griffonia simplicifolia* utilisées dans cette étude sont sous forme sèche, c'est pourquoi la teneur en matière sèche est de  $93,33 \pm 1,06^b$  g/100g, avec un taux de protéines de  $22,163 \pm 0,46^b$  g/100g. FLEISHER *et al.*, [139] indiquent avoir trouvé 18,16g/100g de protéines avec une teneur en matière sèche de 40,60 g/100g.

La teneur en matière grasse obtenue à partir des graines de *Griffonia simplicifolia* est de  $19,07 \pm 0,23^c$  g/100g, d'autre part GIURLEO, [41] indique une variation de 21% à 32% pour les graines provenant de deux origines différentes (Ghana et Liberia). Selon NOVIDZRO *et al.*, [140] le taux de lipides dans les graines de *Griffonia simplicifolia* a été estimé à  $28,40 \pm 1,20$  g/100g.

L'analyse statistique des données montrent des différences significatives (protéines, MG, MS et MM) entre les trois plantes étudiées.

Cependant le test de Tukey permet de dire que la différence de la teneur en matière sèche entre les deux légumineuses *G.simplicifolia* et *L.albus* est non significative ( $p > 0,05$ ).

Globalement les variations de la composition chimique observée peuvent s'expliquer essentiellement par les pratiques post-récolte. De plus des facteurs tels que l'accès aux nutriments du sol, à la génétique et aux facteurs de stress biotiques et abiotiques aurait pu jouer un rôle dans ces résultats.

#### 4.2.2. Composition en sels minéraux

Les résultats de la composition en macroéléments sont donnés dans le Tableau (4.2). L'absorption des éléments minéraux chez *A. halimus* est étroitement liée à la nature du sol. Pour le Na, le taux varie de 2,06 à 4,41 g/100g, alors que le calcium est de 1,62-2,71 g/100g. Pour le Phosphore, son assimilation est moindre (0,43-1,06 g/100g) due probablement au pH alcalin du sol [132], ce qui explique le résultat trouvé ( $0,15 \pm 0,02^a$  g/100g).

D'autre part BOUSSAID *et al.*, [141], indiquent des valeurs de l'ordre de 4,41 g/100g pour le Na, 1,77 g/100g pour le Ca, 2,59 g/100g pour le K, et 0,21 g/100g pour le P.

Tableau 4.2 : Composition en quelques éléments minéraux des feuilles de *A. halimus* et des graines de *L. albus* et de *G. simplicifolia*.

Composition (g/100g)	<i>A. halimus</i>	<i>A. halimus</i> [132, 141]	<i>G. simplicifolia</i>	<i>G. simplicifolia</i> [41,140]	<i>L. albus</i>	<i>L. albus</i> [71,80,138]
<b>K</b>	$3,47 \pm 0,25^b$	2,59	$1,08 \pm 0,01^a$	2,5	$1,42 \pm 0,03^a$	0,023-1,01
<b>Na</b>	$7,23 \pm 0,33^b$	2,06-4,41	$0,04 \pm 0,02^a$	0,12	$0,07 \pm 0,03^a$	0,015
<b>P</b>	$0,15 \pm 0,02^a$	0,21-1,06	$0,39 \pm 0,03^b$	0,20-1,38	$0,16 \pm 0,02^a$	0,15-0,56
<b>Ca</b>	$3,27 \pm 0,25^b$	1,62-2,71	$0,09 \pm 0,03^a$	0,10-0,16	$0,35 \pm 0,02^a$	0,17-1,24

Les valeurs sont présentées sous forme de la moyenne  $\pm$  écart type.

Les valeurs avec des lettres (a-b-c) étaient significativement différentes (Tukey,  $p < 0,05$ ).

Les légumineuses sont des sources minérales très importantes pour l'alimentation humaine. Les taux de sodium et de potassium sont supérieurs aux valeurs retrouvées par ELSAMANI *et al.*, [80] et YORGANCILAR et BILGIÇLI [138], chez les graines de lupin blanc (*L. albus*).

Ces derniers ont indiqué que la teneur en minéraux du lupin était de (0,153 à 0,561 g/ 100 g) pour le Phosphore, (0,023 et 0,032 g/100 g) pour le potassium, (0,38 et 1,24 g/100 g) pour le Calcium respectivement, ainsi les apports nutritionnels recommandés pour l'Homme adulte sont de 0,80 g de P, (1,6-2,0 g) de K, 0,80 g de Ca, pour 100 g (matière sèche) de *Lupinus* doux.

A partir des résultats (Tableau 4.2), les graines de *Griffonia* sont une source non négligeable de potassium, phosphore. Elles semblent contenir une quantité de phosphore légèrement supérieure à celle de la plupart des plantes où cet élément représente en moyenne environ 0,2 g/100g du poids sec [41].

La teneur en sodium des graines de *Griffonia* a permis de les classer parmi les aliments qui sont généralement associés à une faible teneur en sodium, comme les lentilles [138]. D'après NOVIDZRO *et al.*, [140] le calcium et le phosphore sont nécessaires pour la croissance des os. Comme l'absorption intestinale du calcium est favorable lorsque le rapport Ca/P est compris entre 0,5 et 0,8, alors il est nécessaire de compléter une ration alimentaire à base de graine de *Griffonia simplicifolia* dont le rapport Ca/P est de 0,17 avec d'autres sources de calcium (lait).

Par ailleurs, une différence non significative ( $p > 0,05$ ) a été constatée entre les graines de légumineuses pour le taux de calcium, sodium et potassium, et entre *A.halimus* et *L.albus* pour le taux de phosphore.

#### 4.2.3. Etude phytochimique

Les feuilles de *Atriplex halimus* contiennent un large éventail de métabolites bioactifs. L'analyse qualitative effectuée par CHIKHI *et al.*, [36] pour l'extrait aqueux a démontré la présence de phytocomposants comme les tanins, et les flavonoïdes.

De manière générale, la valeur des phénols totaux est supérieure à celle obtenue par CHIKHI *et al.*, [36], et BENHAMMOU *et al.*, [142] sur les extraits aqueux et méthanoliques des feuilles de la même espèce végétale issue de Bechar avec respectivement 12,47 et 10,12±0,24 mg EAG/g MS. Alors que OUELD KADDOUR *et al.*, [143] ont trouvé 85,23±1,80 mg EAG/g d'extrait hydroéthanolique des feuilles de *A. halimus* issu de la région de Biskra, 279,33±1,17mg EAG/g d'extrait hydroéthanolique des feuilles de *A. halimus* de la région de Mazagran et 162,21±0,14 mg EAG/g pour *A. halimus* de la région de Sig.

La teneur en tannins retrouvée ( $8,20 \pm 0,38$  mg EC/g) concorde avec le résultat annoncé par Benhamou [32], avec  $9,118$  mg EC/g MS de la plante halophyte, alors que le taux de flavonoïdes ( $7,15 \pm 0,45$  mg EC/g) est nettement supérieur à la valeur retrouvée par le même auteur ( $2,485 \pm 0,017$  mg EC/g) de matière sèche.

Par ailleurs l'analyse phytochimique réalisée sur les graines de *L. albus* et de *G. simplicifolia* a porté uniquement sur les phénols totaux et alcaloïdes. Le taux de phénols totaux trouvé chez *L. albus* (Tableau 4.3) est légèrement supérieur aux résultats des travaux antérieurs. Les phénols totaux des extraits de quatre génotypes de *L. albus* varient de  $4,36$  mg EAG/g à  $7,24$  mg EAG/g [144].

Tableau 4.3 : Teneur en phénols totaux, des feuilles de *A. halimus*, et graines de *G. simplicifolia* et *L. albus* (mg EAG/g)

<i>A.halimus</i>	<i>G.simlicifolia</i>	<i>L.albus</i>
$15,69 \pm 0,63^b$	$18,25 \pm 0,27^c$	$9,32 \pm 0,92^a$

Les valeurs sont présentées sous forme de la moyenne  $\pm$  écart type. Les valeurs avec des lettres (a-b-c) étaient significativement différentes (Tukey,  $p < 0,05$ ).

WANG et CLEMENTS [90] ont trouvé un taux de phénols totaux de trois variétés de graines de *L. albus* entre  $444,4$  à  $1661,2$  mg EAG/100g. RANILLA *et al.*, [145] ont estimé que les phénols totaux des graines de lupin blanc sont de  $764$  mg/100 g, mais le résultat a été exprimé en équivalents de catéchine sur la base du poids frais des graines.

A leur tour, SIGER *et al.*, [146] ont exprimé les phénols totaux des graines de cultivars de *L. albus* en équivalents d'acide gallique et ont trouvé des valeurs plus faibles :  $212,12$ -  $271,25$  mg/100g MS.

La teneur en polyphénols des feuilles de *Griffonia* en équivalant d'acide gallique (EAG), varie de  $7,83 \pm 0,49$  EAG/gramme à  $39,86 \pm 0,60$  EAG/gramme avec une moyenne de  $21,16 \pm 0,48$  EAG/gramme [41]. La teneur totale en phénols de l'extrait à l'acétate d'éthyle des feuilles de *G. simplicifolia* est de  $8,71$  mg/g EAG [147].

L'analyse de la variance ( $p \leq 0,05$ ) révèle l'existence d'une différence significative entre les plantes étudiées ; les tests de comparaison des moyennes permettent de distinguer trois groupes homogènes (Tableau 4.3).

Le taux d'alcaloïdes présenté dans le Tableau (4.4), montre une variation significative ( $p \leq 0,05$ ) entre les deux légumineuses. Dans les graines brutes, la teneur totale en alcaloïdes est de 14,4 g/kg [77]. MUZQUIZ *et al.*, [148] ont signalé que la teneur totale en alcaloïdes des espèces turques de *L. albus* est de 19,1 g/kg.

Les alcaloïdes contenus dans la graine de *L. albus* est représenté principalement par la lupanine qui est le composant majoritaire suivi de la sparteine, albine, a-isolupanine et multiflorine [77,148].

Tableau 4.4 : Teneur en alcaloïdes dans les graines de *L.albus* et *G. simplicifolia*.

Plante	<i>L. albus</i>	<i>G. simplicifolia</i>
<b>Alcaloïdes (mg/kg)</b>	8,61±0,40 <sup>b</sup>	2,63±0,47 <sup>a</sup>

Les valeurs sont présentées sous forme de la moyenne±écart type. Les valeurs avec des lettres (a-b) étaient significativement différentes (Tukey,  $p < 0,05$ ).

En outre, la quantité en composés phénoliques disponible varie selon un certain nombre de facteurs : les conditions environnementales comme le degré de salinité et de sécheresse [149], la localisation géographique, le stade de maturation et la période de cueillette. La méthode d'extraction et le solvant utilisé [150].

#### 4.2.4. Activité antioxydante

La capacité antioxydante des extraits de feuilles de *A. halimus*, et des graines de *G. simplicifolia* et *L. albus* est évaluée à l'aide du DPPH. Le pouvoir antioxydant de l'extrait aqueux des feuilles de *Atriplex halimus* est estimé à 66,48±0,58%, par ailleurs OUEL KADDOUR *et al.*, [143] ont trouvé que l'extrait hydroéthanolique des feuilles de la même plante de la région de Biskra a montré un effet antioxydant important par le même test et estimé à 78,50±0,01%. Alors que celui de Mazagran et, de Sig présentent un pouvoir antioxydant moins important (64,49%,37% respectivement). Cette activité est due probablement à l'abondance des flavonols qui représentent la classe majeure du genre *Atriplex* [27].

Selon WANG *et al.*, [90], les facteurs environnementaux, la période, l'intensité du stress et le stade végétatif ou de développement et les parties de la plante influencent l'accumulation des espèces réactives d'oxygène (ROS) dans les plantes, et induisent une variation des quantités et des qualités des métabolites secondaires synthétisés et par conséquent une variabilité du pouvoir antioxydant.

L'activité antioxydante des feuilles de *Griffonia simplicifolia* en équivalent trolox (TEAC), s'est échelonnée entre  $5,14 \pm 0,19$  TEAC/gramme et  $22,15 \pm 0,64$  TEAC/gramme. Alors que celle des graines de *Griffonia* se situe entre  $163,65 \pm 15,46$  TEAC/gramme à  $257,35 \pm 11,43$  TEAC/gramme [41]. L'extrait aqueux de graines de *Griffonia simplicifolia* a révélé une activité antioxydante (DPPH) de 24,82%, alors que la fraction d'acétate d'éthyle possède une activité de 14,07% [147].

Tableau 4.5 : Activité antioxydante des feuilles de *A.halimus* et des graines de *L.albus* et de *G.simplicifolia*.

<i>A.halimus</i>	<i>G.simplicifolia</i>	<i>L.albus</i>
$66,48 \pm 0,58\%^c$	$34,76 \pm 1,39\%^a$	$52,92 \pm 0,58\%^b$

Les valeurs sont présentées sous forme de la moyenne  $\pm$  écart type. Les valeurs avec des lettres (a-b-c) étaient significativement différentes (Tukey,  $p < 0,05$ ).

L'activité antioxydante (DPPH) des graines de *Lupinus albus* brutes s'est avérée être de 9,59 % [144]. MARTINEZ-VILLALUENGA *et al.*, [151] et DUENAS *et al.*, [152] ont indiqué des valeurs entre 2,83 et 7,10 %. Alors que ABDELDAIEM and BLASSY [153] ont trouvé une activité antioxydante plus importante et qui est estimée à 55,64%.

L'analyse de la variance révèle l'existence d'une différence significative entre les trois plantes, en effet le teste de comparaison des moyennes permet de distinguer différents groupes homogènes (Tableau 4.5).

#### 4.2.5. Composition en acides aminés

Les Figures (4.5 et 4.6) représentent les chromatogrammes d'acides aminés des trois plantes étudiées, le Tableau (4.6) indique les différentes proportions d'acides aminés contenus dans les feuilles de *A.halimus*, les graines de *G.simplicifolia* et de *L. albus*.

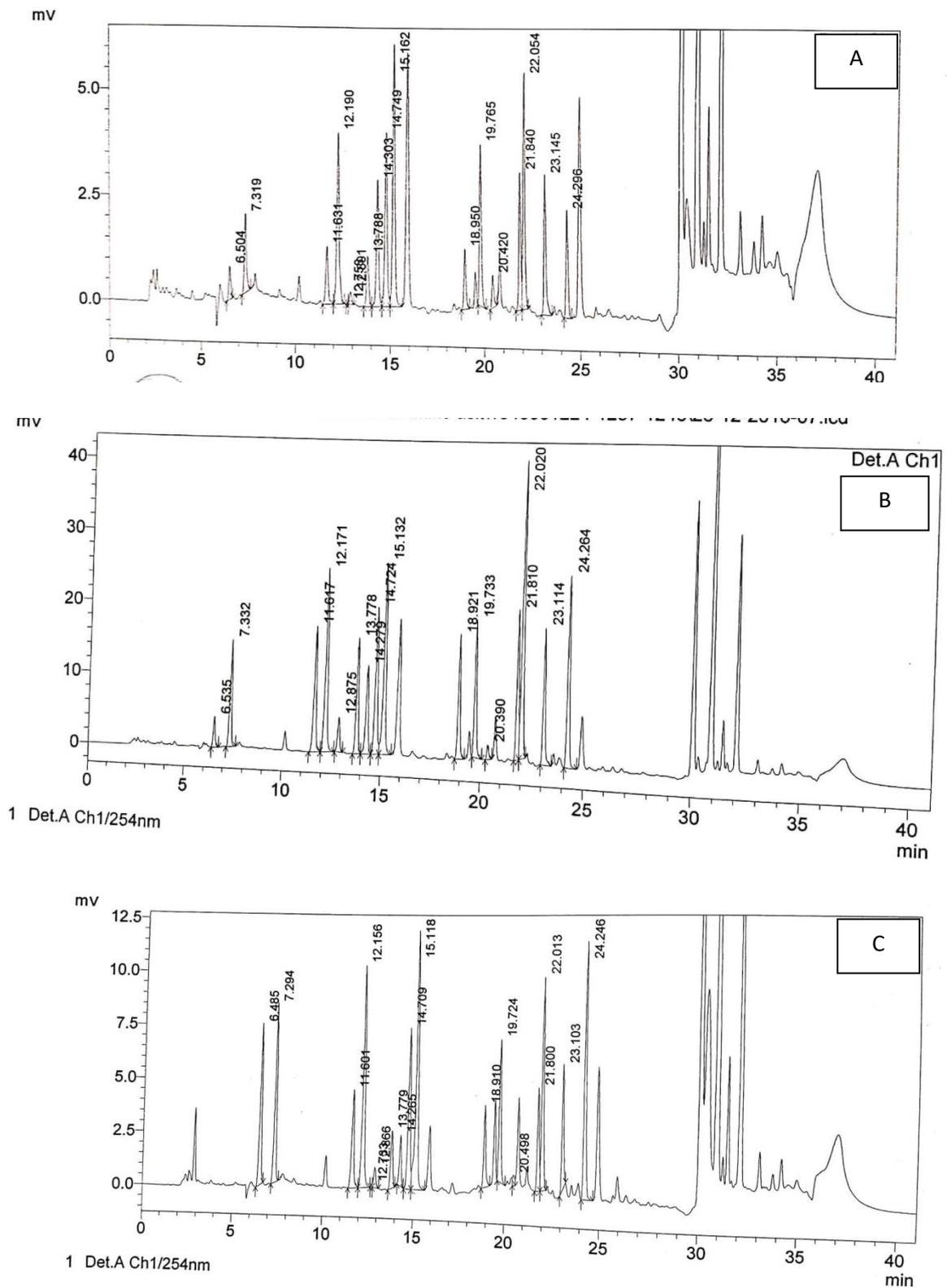


Figure 4.5 : Chromatogrammes des acides aminés des trois plantes étudiées  
 A : *A.halimus*, B : *L.albus*, C : *G.simplicifolia*.

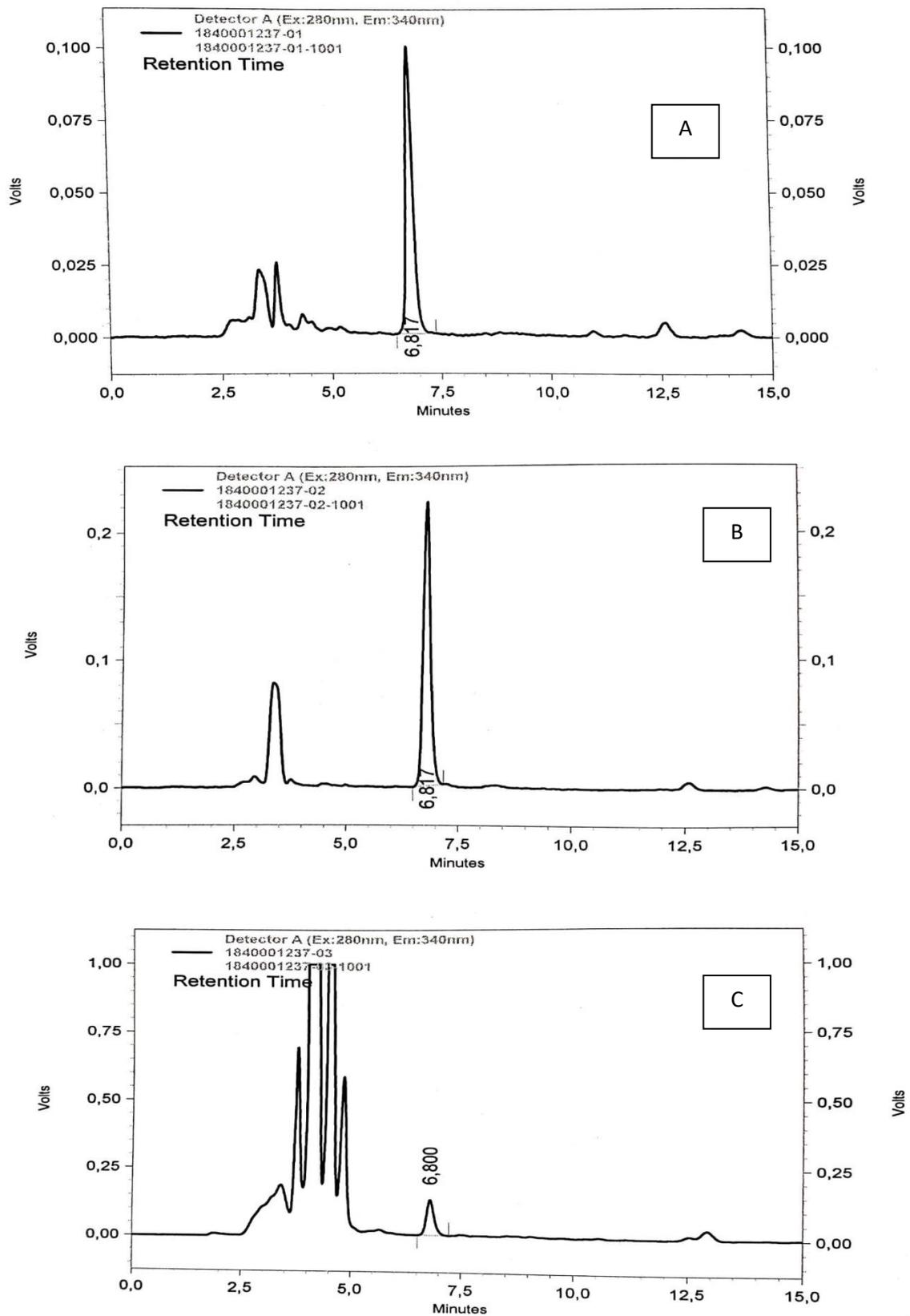


Figure 4.6 : Chromatogramme du tryptophane des trois plantes étudiées

A : *A.halimus*, B : *L.albus*, C : *G.simplicifolia*.

Tableau 4.6: Valeurs moyennes de la composition en acides aminés (g/100g)

Acides aminés	<i>A.halimus</i>	<i>A.halimus</i> [9]	<i>G.simplicifolia</i>	<i>G.simplicifolia</i> [12]	<i>L.albus</i>	<i>L.albus</i> [138,154]
Arg	0,46±0,02 <sup>b</sup>	0,09-0,20	0,32±0,02 <sup>a</sup>	0,074	2,31±0,01 <sup>c</sup>	2,7- 3,77
His	0,16±0,01 <sup>b</sup>	0,08-0,10	0,13±0,01 <sup>a</sup>	-	0,73±0,01 <sup>c</sup>	0,84-0,89
Ile	0,82±0,01 <sup>b</sup>	0,09-0,19	0,38±0,01 <sup>a</sup>	0,019	1,98±0,01 <sup>c</sup>	1,28-1,42
Leu	1,38±0,01 <sup>b</sup>	0,17-0,34	0,80±0,02 <sup>a</sup>	0,02	4,17±0,01 <sup>c</sup>	2,31-2,71
Lys	0,97±0,02 <sup>a</sup>	0,11-0,26	1,47±0,01 <sup>b</sup>	0,016	4,06±0,02 <sup>c</sup>	1,64-1,83
Met	0,23±0,01 <sup>b</sup>	-	0,05±0,01 <sup>a</sup>	-	0,23±0,01 <sup>b</sup>	0,07-0,29
Phe	1,20±0,01 <sup>b</sup>	0,09-0,22	0,59±0,09 <sup>a</sup>	-	2,45±0,01 <sup>c</sup>	1,26-1,44
Thr	1,22±0,01 <sup>b</sup>	0,13-0,21	0,27±0,01 <sup>a</sup>	-	1,92±0,02 <sup>c</sup>	1,31-1,42
Val	1,01±0,01 <sup>b</sup>	0,12-0,24	0,54±0,03 <sup>a</sup>	0,04	1,89±0,01 <sup>c</sup>	1,32 1,42
Ala	0,89±0,01 <sup>b</sup>	0,13-0,24	0,50±0,01 <sup>a</sup>	-	1,65±0,01 <sup>c</sup>	1,17-1,24
Asp	0,29±0,01 <sup>a</sup>	0,28-0,46	0,96±0,01 <sup>c</sup>	0,71	0,63±0,02 <sup>b</sup>	3,38-3,54
Gly	0,76±0,02 <sup>b</sup>	0,25-0,33	0,6±0,01 <sup>a</sup>	0,02	1,81±0,02 <sup>c</sup>	1,21-1,34
Glu	0,69±0,01 <sup>a</sup>	0,57-0,65	0,89±0,01 <sup>b</sup>	-	1,91±0,01 <sup>c</sup>	6,26-6,81
Pro	1,49±0,01 <sup>b</sup>	0,27-0,45	1,03±0,02 <sup>a</sup>	0,22	2,62±0,01 <sup>c</sup>	1,10 1,29
Ser	0,37±0,02 <sup>a</sup>	0,10-0,26	0,42±0,01 <sup>b</sup>	0,02	1,87±0,02 <sup>c</sup>	1,44-1,63
Tyr	0,56±0,01 <sup>b</sup>	0,07-0,15	0,46±0,01 <sup>a</sup>	0,34	2,40±0,01 <sup>c</sup>	1,15-1,56
Trp	0,09±0,01 <sup>b</sup>	-	0,07±0,01 <sup>a</sup>	0,33	1,53±0,01 <sup>c</sup>	0,02

Les valeurs sont présentées sous forme de la moyenne±écart type. Les valeurs avec des lettres (a-b-c) étaient significativement différentes (Tukey,  $p < 0,05$ ).

Le contenu en acides aminés varie significativement ( $p \leq 0,05$ ) entre les trois plantes, cependant le test de comparaison des moyennes a permis de distinguer une variation non significative ( $p > 0,05$ ) pour la teneur en Méthionine chez les deux plantes (*A.halimus* et *L.albus* formant un groupe homogène).

*L. albus* est plus riche en acides aminés par rapport à *A. halimus* et *G. simplicifolia*. Les principaux acides aminés libres que l'on trouve dans les plantes examinées sont la leucine, la proline et lysine. En ce qui concerne *Lupinus albus*, sa composition se distingue des autres par la présence importante de leucine, lysine, proline, phénylalanine, tyrosine et arginine.

*L. albus* présente des taux plus élevés de leucine et de lysine, des taux plus faibles d'acide glutamique et d'acide aspartique par rapport aux résultats de NALLE *et al.*, [154] et YORGANCILAR *et al.*, [138]. Tous les cultivars de lupin blanc sont des sources modérées de lysine, mais déficients en méthionine et en cystéine [154]. Les données sur la composition en acides aminés indiquent que la graine de *L. albus* est une source appropriée de protéines supplémentaires.

Par ailleurs les résultats de TSALIKI *et al.*, [155] montrent que les acides aminés et les peptides, présents en concentrations relativement élevées dans les graines de *Lupinus* peuvent améliorer l'activité antioxydante.

Les données obtenues (Tableau 4.6) ont révélé que les feuilles de *Atriplex halimus* contiennent plusieurs acides aminés à différentes concentrations, où la proline, leucine, phénylalanine, thréonine, valine représentent les concentrations les plus élevées.

D'autre part EMAM [9] a trouvé quinze acides aminés dont l'acide glutamique, l'acide aspartique et la proline sont les plus élevés. La nature de l'habitat affecte la synthèse des métabolites de la plante qui contient des acides aminés libres à des concentrations différentes selon l'habitat écologique. Le pourcentage de proline est l'acide aminé le plus élevé chez *Atriplex halimus* [127].

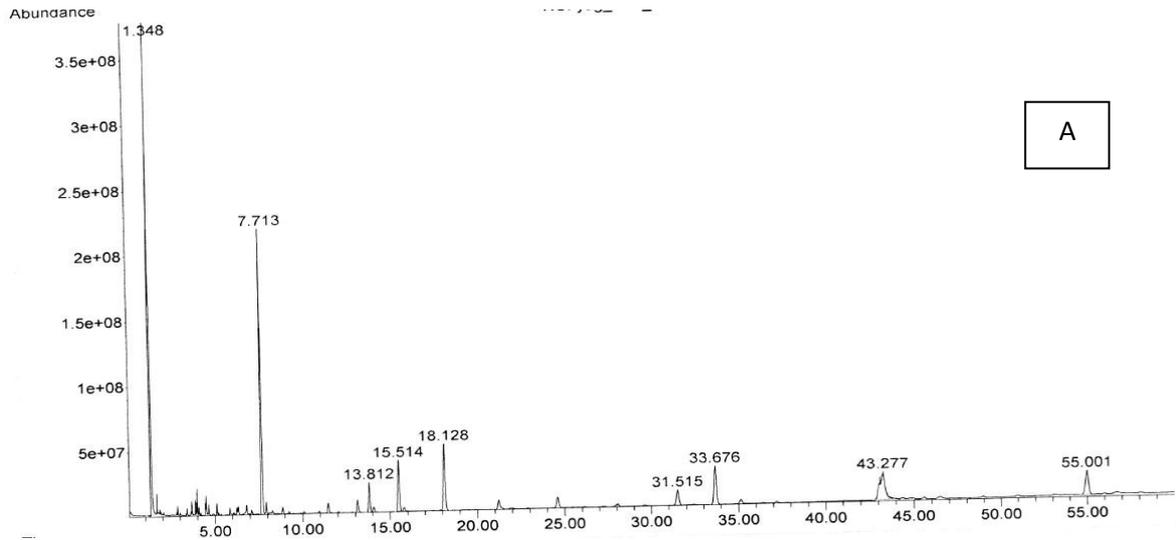
#### 4.2.6. Composition en acides gras

La composition en acides gras des feuilles de *A. halimus* et graines de *G. simplicifolia* et *L. albus* est représentée dans la Figure (4.7) et le Tableau (4.7). Les données montrent une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) entre les différentes plantes. Le profil en acides gras des graines de *Griffonia* est constitué essentiellement d'acide palmitique (16 :0), acide stéarique (18 :0), acide oléique (18:1), acide linoléique (18:2) et acide arachidique (20:0).

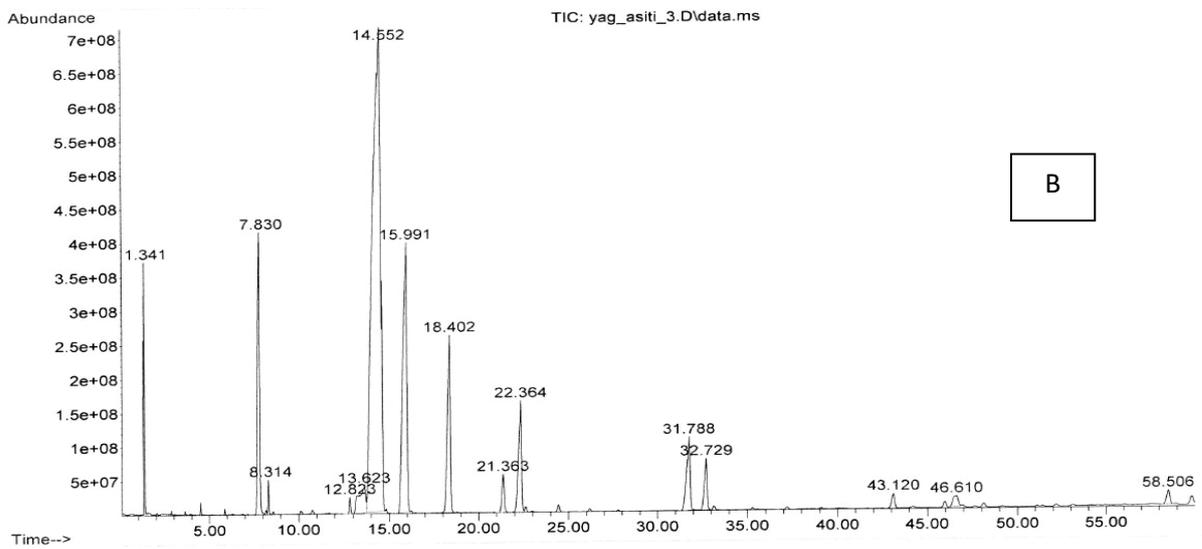
Tableau 4.7: Profil en acides gras des plantes étudiées.

Acides gras %	<i>A.halimus</i>	<i>A.halimus</i> [9]	<i>L.albus</i>	<i>L.albus</i> [138,156]	<i>G.simplicifolia</i>	<i>G.simplicifolia</i> [50]
Acide Myristique (C14 :0)	-	0,44-3,35	-	-	0,45±0,02	-
Acide Palmitique C16 :0	30,82±0,01 <sup>c</sup>	3,07-3,47	8,08±0,02 <sup>a</sup>	6,2-11,6	8,64±0,01 <sup>b</sup>	8,8-11,12
Acide Stearique C18 :0	1,96±0,02 <sup>a</sup>	5,74-37,42	2,58±0,03 <sup>b</sup>	0,4 -5,3	19,90±0,01 <sup>c</sup>	16-18
Acide Oleique C18 :1	4,54±0,02 <sup>a</sup>	12,07-14,61	52,95±0,04 <sup>c</sup>	43,6-55,4	18,44±0,02 <sup>b</sup>	8-11
Acide Linoléique C18 :2	8,39±0,01 <sup>a</sup>	3,65-7,26	14,62±0,02 <sup>b</sup>	17,2-26,9	40,11±0,01 <sup>c</sup>	53-73,19
Acide Linoléique C18 :3	12,72±0,01 <sup>c</sup>	6,47	7,01±0,01 <sup>b</sup>	6,7-15,22	0,33±0,02 <sup>a</sup>	-
Acide Arachidique C20 :0	2,27±0,01 <sup>b</sup>	-	1,19±0,02 <sup>a</sup>	1,4-6,2	6,69±0,02 <sup>c</sup>	3-4,9
Acide Gadoléique C20 :1	-	-	4,48±0,01	-	0,38±0,02	-
Acide béhénique C22 :0	4,02±0,01 <sup>c</sup>	-	3,46±0,03 <sup>b</sup>	2,5-8,4	3,25±0,01 <sup>a</sup>	-
Acide Erucique C22 :1	-	-	1,91±0,01	-	-	-
Acide Thapsique C16 :2	9,99±0,01	-	-	-	-	-
Acide Lignocérique C24 :0	14,61±0,02 <sup>c</sup>	-	0,57±0,01 <sup>a</sup>	-	1,32±0,02 <sup>b</sup>	-
Acide Cerotique C26 :0	7,86±0,01	-	-	-	-	-
Acide 5-cétostearique C18 :2	-	-	0,74±0,02	-	-	-

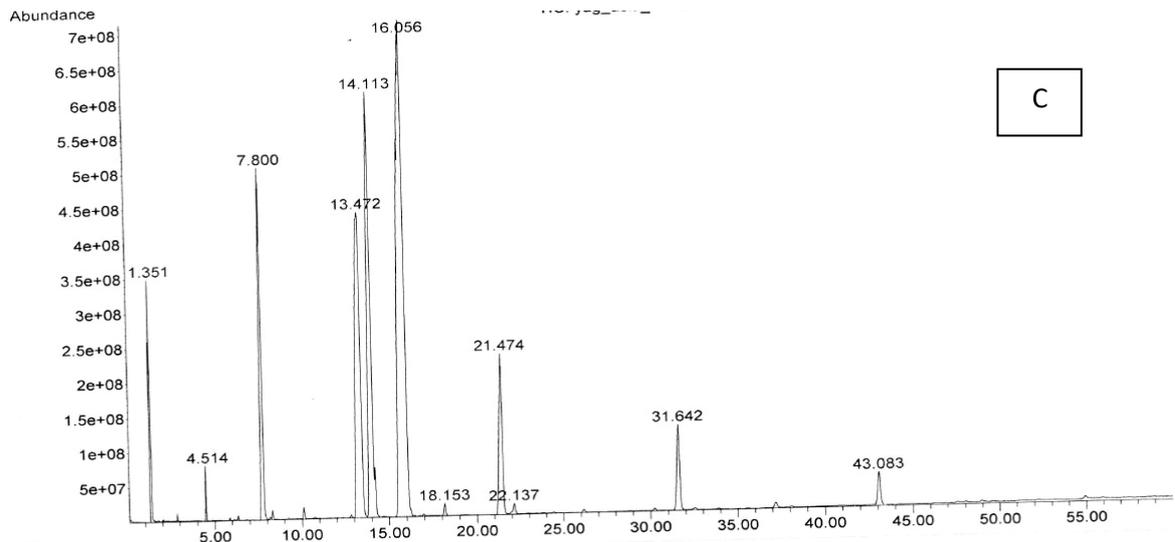
Les valeurs sont présentées sous forme de la moyenne±écart type. Les valeurs avec des lettres (a-b-c) étaient significativement différentes (Tukey, p<0,05).



A



B



C

Figure 4.7 : Chromatogrammes des acides gras contenus dans les trois plantes étudiées, A : *A. halimus*, B : *L. albus* , C : *G. simplicifolia*.

Les valeurs absolues de l'acide oléique et de l'acide arachidique sont inférieures à celles de l'acide linoléique. Ainsi, l'huile des graines de *G. simplicifolia* peut être une source appropriée d'acide linoléique [50]. Le profil des acides gras de *Griffonia* est relativement similaire à celui signalé par PETKOV et RAMAZANOV [50], et NOVIDZRO *et al.*, [140].

Dans l'ensemble, l'acide linoléique représente 40,11% de la composition totale de l'huile de graines. La forte teneur en acide linoléique de l'huile de graines de *Griffonia* n'est pas surprenante car des quantités relativement élevées de cet acide gras sont caractéristiques de la sous-famille des cesalpinoideae [157].

Chez les Légumineuses, l'acide linoléique représente généralement 21 à 53% des acides gras libres [75]. La composition en acides palmitique et stéarique est plus importante chez les *Griffonia* que dans l'huile de sésame, de soja, d'arachide [56] et de tournesol [53]. La composition en acide linoléique de l'huile de graines de *Griffonia* est similaire à celle de l'huile de tournesol [53]. La teneur en acide oléique est sensiblement plus faible que celle de l'huile de sésame, de soja, d'arachide et de tournesol [158].

Nous avons également retrouvé de faibles proportions d'acide béhénique (3,25%) qui est un acide gras saturé retrouvé également dans l'huile de colza et l'huile d'arachide.

Les graines de Lupin ont une teneur non négligeable en matière grasse, qui contient une importante proportion en acides gras insaturés ce qui favorise son utilisation dans l'alimentation humaine [126].

L'acide oléique est l'acide gras le plus dominant (52,95%), qui est un acide gras essentiel monoinsaturé, la graine contient aussi de l'acide linoléique (14,62) et l'acide linoléique (7,01).

Des résultats similaires ont été retrouvés par MÜLAYIM *et al.*, [68], ERBAS [77], YORGANCILAR et BILGICLI, [138]., et UZUN *et al.*, [156]. ERBAS [77], a rapporté que l'huile des graines de *L. albus* est composée de 13,5% d'acides gras saturés, 55,4% d'AG monoinsaturés (représenté par l'acide oléique), et 31,1% d'AG polyinsaturés.

La composition des graines de *L. albus* en acides gras ressemble à celle de la cacahuète, sauf pour l'acide érucique (faible dans la graine de lupin). La cacahuète contient donc 6-9% d'acide palmitique, 53-71% d'acide oléique, 13-27% d'acide linoléique [157].

Les résultats obtenus ont révélé la présence d'acides gras saturés (acide palmitique, acide stéarique et acide arachidique, Acide Lignocérique, Acide Thapsique et Acide Cérotique) chez l'*Atriplex halimus* en plus des acides gras insaturés (palmitoléique, oléique et linoléique, linoléique).

L'acide gras saturé le plus répandu chez *A. halimus* est l'acide palmitique à raison de 30,82%, suivi de l'acide Lignocérique à 14,61%, alors que l'AGI le plus présent est l'acide linoléique avec 12,72%. Le pourcentage le plus faible est l'acide stéarique à 1,96%. D'autre part selon EMAM [9], L'acide stéarique représente le pourcentage le plus élevé d'acides gras (37,42%) suivi de l'acide palmitoléique (35,99%) et le plus faible est l'acide myristique avec un pourcentage (0,44%) dans l'habitat de Wadi-Hof. L'acide palmitoléique représente le pourcentage le plus élevé d'acides gras, suivi par l'acide linoléique (38,78% et 49,08%) et l'acide pélargonique (0,45%) qui est le plus faible dans l'habitat de Wadi-Sudr. En parallèle MOHAMMEDI, [127], a montré qu'*A. halimus* contient des acides gras insaturés (acide palmitoléique, acide oléique, acide linoléique et acide linoléique)

## CHAPITRE 5

# FORMULATION DE BOISSONS VEGETALES

## CHAPITRE 5

### FORMULATION DE BOISSONS VEGETALES

La formulation de deux boissons végétales diététiques est décrite dans cette partie. La première est élaborée à base d'extraits de feuilles « *Atriplex halimus* » et de jus d'agrumes orange « *Citrus sinensis* L. » et, citron « *Citrus limon* L. » ; un édulcorant naturel a également été utilisé « extrait de *Stevia rebaudiana* ». Pour la deuxième formule, les graines de *Lupinus albus* ont servies à la réalisation d'une boisson comparable au lait de Soja « Lait végétal ». Pour ce faire, la stratégie adoptée consiste, à planifier les essais de formulation par la méthodologie, des plans d'expériences, dans notre cas nous avons utilisé le plan de mélange (les notions de base sont en Appendice B).

L'étape de préformulation a permis de définir les facteurs les plus importants, pouvant avoir une influence sur les différentes propriétés physico-chimiques et organoleptiques. Ces derniers sont liés aux variables de formulation, à savoir, les ingrédients constituant les boissons et aux variables du procédé. Le but de cette phase de travail, est de faire ressortir les principaux ingrédients, susceptibles d'avoir un effet significatif sur les réponses choisies. Les formules optimales seront obtenues par modélisation et simulation en surface de réponses. Les effets de cette incorporation sur les caractéristiques sensorielles, physicochimiques, phytochimiques et microbiologiques des préparations alimentaires élaborées ont été étudiés et une comparaison à des produits de référence a été réalisée.

#### 5.1. Matériel et méthodes

##### 5.1.1. Boisson à base de feuilles de *Atriplex halimus*

###### 5.1.1.1. Matériel

- *Atriplex halimus* : Les feuilles sèches utilisées durant cette étude ont été parvenues de la région de béni Abbas wilaya de Béchar.

- Les fruits de *Citrus sinensis* L. et de *Citrus limon* L. proviennent de la région d'Ain Defla (marché de Bourached).
- *Stévia* : C'est un édulcorant naturel, fabriqué en Europe par le laboratoire Ethnoscience.

Feuilles sèches de *Atriplex halimus**Stévia*Fruit de *Citrus sinensis* L.Fruit de *Citrus limon* L.Figure 5.1: Ingrédients ayant servi à la formulation de la boisson d'*Atriplex*.

- Boisson de référence « Rouïba light » : c'est une boisson industrielle, composée d'eau, concentré et pulpe d'orange, arômes, correcteur d'acidité : Acide citrique, stabilisant : (SIN440, SIN414), édulcorant : Aspartame 24 mg/100 ml, acesulfame-k 17mg/100 ml, Colorant : SIN160e, vitamines : (C, E, B2, B6, B1, A), "Additifs alimentaires", Teneur en fruit : minimum 12%. c'est une boisson locale disponible sur le marché, fabriqué par NCA- ROUIBA (Figure 5.2).

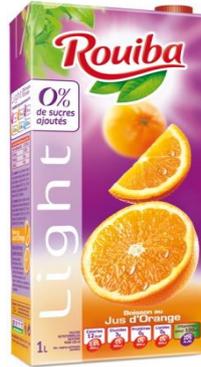


Figure 5.2: Produit de référence (PR) jus d'orange Rouïba light

#### 5.1.1.2. Caractérisation physicochimique des fruits de *Citrus limon* et *Citrus sinensis*

- Teneur en matière sèche [158]

Trois creusets vides sont séchés à l'étuve durant 15 min à  $103 \pm 2^\circ\text{C}$ , puis tarés après refroidissement dans un dessiccateur. 2g d'échantillon (jus) sont pesés dans chacun des creusets. Puis placés dans une étuve réglée à  $105 \pm 1^\circ\text{C}$  pendant 6 heures. Les creusets sont retirés de l'étuve et pesés après refroidissement dans un dessiccateur. La teneur en eau des échantillons est calculée selon la formule suivante :

$$H(\%) = \frac{(M1-M2)}{P} \times 100 \quad (5.1)$$

H % : humidité ;

M1 : masse du creuset contenant la matière fraîche avant étuvage (g) ;

M2 : masse du creuset contenant la matière fraîche après étuvage (g) ;

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

MS : matière sèche

$$MS(\%) = 100 - H \quad (5.2)$$

- Teneur en cendres [158]

Cette méthode consiste à calciner l'échantillon à  $550^\circ\text{C}$  dans un four à moufle jusqu'à l'obtention d'une cendre blanchâtre de poids constant.

2g d'échantillon (jus) sont pesés dans des creusets et sont ensuite placés dans un four à moufle réglé à 550°C pendant 5 heures, jusqu'à l'obtention des cendres blanchâtres. Les creusets sont pesés après refroidissement dans un dessiccateur.

La matière organique est calculée selon la formule suivante :

$$MO(\%) = \frac{(M1 - M2)}{P} \times 100 \quad (5.3)$$

Avec :

MO : matière organique (%)

M1 : masse du creuset contenant la prise d'essai (g)

M2 : masse du creuset et des cendres (g)

P : prise d'essai (g)

La teneur en cendres est calculée comme suit :

$$Cendre(\%) = 100 - MO \quad (5.4)$$

- Dosage de l'acidité totale [159]

On détermine l'acidité du jus extrait du fruit par titrage avec une solution alcaline de soude 0,1 N en présence de phénophtaléine. Le résultat final est la moyenne de trois répétitions. L'acidité totale du jus est exprimée en grammes d'acide citrique par litre de jus.

- Mode opératoire

10 ml de chaque échantillon ont été mises dans un bécher de 250 ml. Ensuite 50 ml d'eau distillée sont ajoutés.

Trois gouttes de phénophtaléine (1%) sont ajoutées sous agitation. Le titrage est effectué par la solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) 0,1 N jusqu'à l'obtention d'une couleur rose persistante pendant 10 s.

- Expression des résultats

L'acidité est déterminée par la formule suivante :

$$A(\%) = \frac{205 \cdot V_1 \cdot 100}{V_0 \cdot M \cdot 10} \times 0.07 \quad (5.5)$$

Où:

M : masse en grammes du produit prélevé

V<sub>0</sub>: Volume en millilitres de la prise d'essai

V<sub>1</sub>: Volume en millilitres de la solution d'hydroxyde de sodium à 0,1 N utilisé.

0.07 : Facteur de conversion de l'acidité titrable en équivalent d'acide citrique.

- Détermination du % Brix [119]

Le degré Brix a été déterminé par lecture directe en déposant quelques gouttes de jus sur le prisme du réfractomètre. Ce paramètre est défini comme étant la teneur en sucres exprimée en g pour 100 g de jus. La valeur obtenue correspond à la moyenne de dix mesures.

- Dosage des sucres totaux [160]

Les sucres totaux hydrosolubles ont été extraits à partir d'une fraction aliquote de 10g d'échantillon (jus) portée à ébullition pendant 30mn, en présence de 3g de carbonate de calcium et de 30ml d'eau distillée.

L'extrait est clarifié par de petites quantités d'acétate de plomb qui par agitation forme un complexe qui se précipite. Le volume est complété avec d'eau distillé à un litre et filtré sur papier Whatman n° 01. L'acétate de plomb est éliminé par filtration de solution après addition d'une petite quantité d'oxalate de potassium.

Les sucres totaux sont dosés selon la méthode de Dubois ; 2ml de la solution à doser ont été mis dans un tube à essai avec 1ml de phénol à (5% dans l'eau). 5 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> sont ajoutés rapidement sans les faire couler le long de parois et le mélange est agité immédiatement. Une coloration jaune se développe et stable durant plusieurs heures. Les tubes sont placés au bain-marie à 25-30C° pendant 20 minutes puis refroidis sous courant d'eau à 20C°. L'absorbance est mesurée à 485nm. Les teneurs ont été déterminées en référence à une gamme étalon de glucose.

- Dosage indirect de vitamine C [161]

La teneur en vitamine C est estimée par une méthode iodométrique, basée sur l'oxydation de l'acide ascorbique par l'iode en milieu acide. Elle consiste en une acidification de 50ml de la boisson avec 3ml d'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) à 0.1N en présence de quelques gouttes d'empois d'amidon à 0.5%.

La titration est effectuée avec une solution d'iode (I<sub>2</sub>) à 0.05 N. 25ml d'iode (1N) sont ajoutés à 500ml d'eau distillée jusqu'à apparition d'une couleur verte persistante. La quantité de vitamine C est déterminée suivant la formule (5.6).

$$\text{La quantité de vitamine C (mg/l)} = V_I \times 20 \times 4.4 \quad (5.6)$$

Où : V<sub>I</sub> : volume de la solution titrante (en ml).

- Composés phénoliques totaux

Le dosage des composés phénoliques totaux est déterminé selon la méthode décrite par [162]. C'est une méthode colorimétrique, utilisant le follin-ciocalteu comme réactif et l'acide gallique comme standard d'étalonnage.

Un volume de 0,5ml d'extrait est ajouté à 0,5ml du réactif follin-ciocalteu, après 3min, 2ml de carbonate de sodium (200mg/ml) sont ajoutés. L'ensemble est mélangé, puis les tubes sont maintenus à température ambiante et à l'obscurité pendant 15min, ensuite 10ml d'eau distillée sont ajoutées.

La lecture est faite à 760nm. La concentration en composés phénoliques totaux est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard. Les concentrations sont exprimées en mg équivalent d'acide gallique/100 ml de jus.

- Les Flavonoïdes [163]

L'estimation de la teneur en flavonoïdes totaux contenus dans les extraits est réalisée par la méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>). Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>). Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (fer et aluminium).

L' $\text{AlCl}_3$  forme un complexe très stable avec les groupements hydroxydes OH des phénols, ce complexe jaune absorbe la lumière visible à une longueur d'onde de 430 nm.

La concentration des flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (0-40  $\mu\text{g/ml}$ ).

- Activité antioxydante [164]

L'activité antioxydante a été déterminée en utilisant le DPPH. 2ml de ce dernier (0,15 mmol / L) sont mélangés avec 1ml de chaque extrait. L'ensemble est mélangé à l'aide d'un vortex pendant 30 s, puis porté à l'obscurité à température du laboratoire pendant 20 min. Après cette durée, l'absorbance est mesurée à 517 nm.

La teneur en antioxydants à activité antiradicalaire est déterminée en équivalent d'acide ascorbique à partir d'une courbe d'étalonnage préalablement établie. L'activité antioxydante est exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH selon la formule suivante :

$$AA (\%) = [(Abs_{\text{temoin}} - Abs_{\text{échantillon}}) / Abs_{\text{temoin}}] \times 100 \quad (5.7)$$

### 5.1.1.3. Préformulation

- Les niveaux de facteurs

Les quantités minimales et maximales des différents ingrédients (facteurs) (tableau 5.1) ont été déterminées à partir des références [165,166]. Les facteurs et les niveaux sélectionnés ont été introduits dans le logiciel MODDE 6 pour avoir les différentes formules à réaliser.

Tableau 5.1: Niveaux des facteurs

<b><i>Ingrédients</i></b>	<b><i>Valeur minimale</i></b>	<b><i>Valeur maximale</i></b>
<b>Jus de citron</b>	0,02	0,14
<b>Jus d'orange</b>	0,08	0,56
<b>Stévia</b>	0,005	0,025
<b>Extrait aqueux de <i>A. halimus</i></b>	0,275	0,895

- Définition des réponses

Afin d'évaluer l'influence des facteurs sélectionnés sur l'optimisation de la formulation, plusieurs réponses expérimentales ont été retenues :

La mesure de la valeur du pH en fonction du temps (stabilité du potentiel hydrogène), teneur en sucres totaux et en vitamine C, Aspects organoleptiques, Teneur en polyphénols totaux et activité antioxydante.

- Choix d'une stratégie d'expérimentation

L'objectif étudié renvoi à l'utilisation d'un modèle polynomial non linéaire. Le modèle mathématique adopté dans ce cas est celui du second degré. Il s'agit d'un modèle à trois facteurs qui sont : L'extrait de *Atriplex halimus*, mélange de jus (citron, et orange), et *stévia*. Dans ce travail, on a utilisé le plan d'expérience de type plan de mélange ternaire. Ce modèle est représenté par la formule suivante (5.8).

$$y = a_0 + a_1x_1 + a_2x_2 + a_3x_3 + a_4x_1x_2 + a_5x_1x_3 + a_6x_2x_3 + a_7x_1^2 + a_8x_2^2 + a_9x_3^2 \quad (5.8)$$

Où :

Y : est désigné comme étant la réponse.

$x_1, x_2, x_3$ : sont les teneurs respectives des trois facteurs : jus d'agrumes (orange et citron), *stévia* et l'extrait de feuilles de *Atriplex halimus*.

$a_0, a_1, a_2, a_3, a_4, a_5, a_6, a_7, a_8, a_9$ : représentent des coefficients constants et inconnus. En ce qui concerne le plan adopté, le choix s'est porté sur le plan D-optimal.

#### 5.1.1.4. Formulation

De nombreux travaux ont démontré que les feuilles de *Atriplex halimus* ont plusieurs effets bénéfiques sur la santé humaine notamment leur effet thérapeutique. Ceci nous a mené à l'introduire dans la formule. Pour la préparation de la boisson faite à partir de feuilles de *Atriplex*, nous avons suivi la méthode de VIZIREANU *et al*, [167] (Figure 5.4).

- Préparation de L'extrait aqueux des feuilles de *Atriplex halimus*

L'infusion a été obtenue en introduisant 3g de feuilles sèches de *Atriplex halimus* dans 400ml d'eau déminéralisée bouillante.

Après 5 minutes d'infusion, nous avons ajouté 1g de zeste de citron. Au bout de 15 minutes l'infusion est filtrée puis refroidit jusqu'à 30°C.

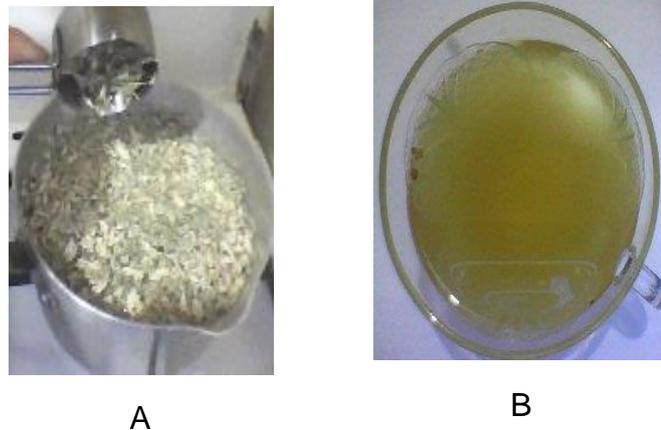


Figure 5.3: Préparation de l'extrait aqueux de feuilles de *A. halimus*. A : incorporation des feuilles dans l'eau bouillante. B : extrait aqueux des feuilles de *A. halimus*.

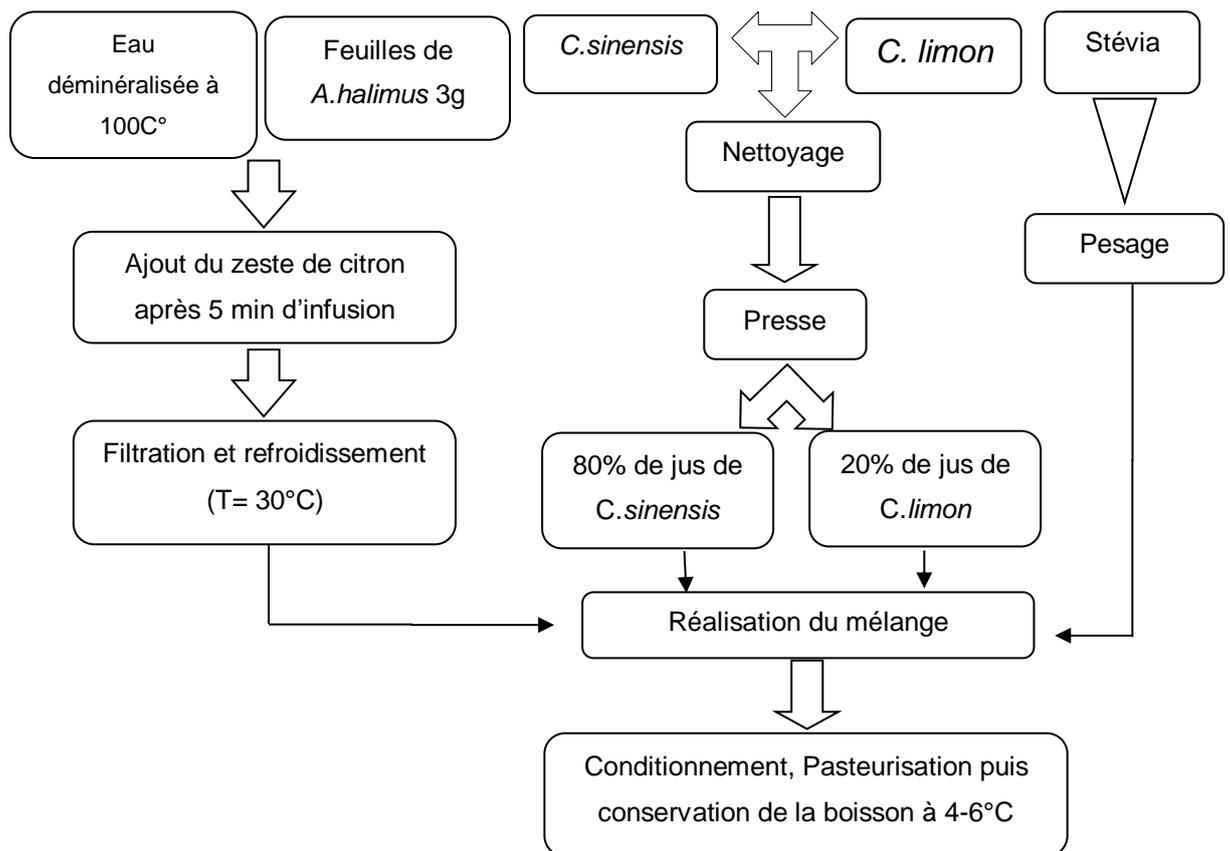


Figure 5.4: Diagramme de fabrication de la boisson de *Atriplex halimus*

- Préparation du jus d'agrumes

Il est obtenu par pressage manuel (presse agrumes) des fruits mûrs d'orange et de citron dans une proportion de 80/20 (v/v).

- Réalisation du mélange

L'extrait de *A. halimus* est ajouté au mélange de jus d'agrumes, par la suite se fait l'incorporation de l'extrait de *Stevia rebaudiana* (poudre). La boisson ainsi obtenue devra être conditionnée dans des bouteilles en verre puis par la suite pasteurisée à 90°C pendant 5 min.

- La réalisation des essais

L'introduction des différents facteurs avec leurs niveaux dans le MODDE 6 a donné les formules illustrées dans le tableau suivant. La réalisation des seize formules se fait selon le diagramme illustré dans la figure (5.4).

Tableau 5.2: Les différentes formules (g/100g de boisson) à réaliser

<b>Essai</b>	<b>Jus d'agrumes</b>	<b>stévia</b>	<b>Extrait de <i>A. halimus</i></b>
<b>1</b>	10	2,5	87,5
<b>2</b>	40	1,5	58,5
<b>3</b>	70	2,5	27,5
<b>4</b>	50	0,5	49,5
<b>5</b>	70	1,83	28,17
<b>6</b>	40	1,5	58,5
<b>7</b>	10	0,5	89,5
<b>8</b>	10	1,17	88,83
<b>9</b>	40	1,5	58,5
<b>10</b>	70	0,5	29,5
<b>11</b>	10	1,83	88,17
<b>12</b>	50	2,5	47,5
<b>13</b>	40	1,5	58,5
<b>14</b>	30	2,5	67,5
<b>15</b>	30	0,5	69,5
<b>16</b>	70	1,17	28,83

### 5.1.2. Boisson à base de graines de *Lupinus albus* « lait de lupin »

#### 5.1.2.1. Matériel

- *Lupinus albus*

Les graines utilisées dans la fabrication de la boisson ont été achetées chez un herboriste à Khemis Miliana, elles proviennent d'Égypte. Ces graines sont d'une importante source en éléments nutritifs, particulièrement en protéines.

- Dattes Mech-Degla

Elles proviennent de la région de Biskra. Elles sont utilisées pour remplacer le sucre, et pour leur haute valeur nutritive notamment en éléments minéraux. Cette variété de dattes sèches se conserve assez bien car contient moins de 15% d'eau. Elle est de forme sub-cylindrique, légèrement rétrécie à son extrémité. A maturité, la datte est plutôt beige claire teinté d'un marron peu prononcé. L'épicarpe est ridé, peu brillant et cassant. Le mésocarpe est peu charnu de consistance sèche et de texture fibreuse [168].

- Boisson de référence

La boisson de référence à laquelle nos essais ont été comparés est le lait de soja BIO de marque « carrefour » achetée dans l'hypermarché « ARDIS ».



Graines de *L. albus*



Datte Mech-Degla



Boisson de référence

Figure 5.5: Photographie des ingrédients utilisés dans l'élaboration de la boisson de *L.albus* et photographie de la boisson de référence (BS).

### 5.1.2.2. Méthodes d'analyses

- Caractérisation physico-chimique de la datte

La caractérisation physicochimique des dattes de la variété Mech-Degla a portée sur la détermination de la teneur en eau [158], détermination de la teneur en cendres [158], détermination de l'acidité totale [159] ; l'acidité titrable est exprimée en gramme d'acide citrique pour 100 g de datte. Ainsi que la mesure du pH [158], et la détermination de la teneur en protéines [120].

- Détermination de la teneur en matière grasse

Un ballon contenant environ 2 g d'échantillon (emballé dans un filtre en papier Wattman « W1 ») a été placé dans un extracteur Soxhlet en chauffage, le solvant (hexane) a été introduit par le condenseur qui est fixé au Soxhlet doté d'un système de refroidissement, ce qui permet d'extraire les lipides par un processus de reflux continu puis de les concentrer. L'échantillon et le papier filtre ont été refroidis dans un dessiccateur, séchés jusqu'à l'évaporation totale du solvant et repesés « W2 » [158]. La teneur en lipides a été déterminée selon l'équation (5.9).

$$MG (\%) = \left[ \frac{W_1 - W_2}{W_1} \right] \times 100 \quad (5.9)$$

- Extraction des composés phénoliques totaux (CPT)

La méthode utilisée pour l'extraction des composés phénoliques des dattes est l'extraction conventionnelle (EC). Les composés phénoliques des dattes ont été extraits par agitation selon la méthode [169], avec de légères modifications. Un gramme de poudre a été extrait avec 20 ml d'éthanol à 50 % (v/v).

Le mélange éthanol-échantillon a été maintenu sous agitation magnétique avec un agitateur pendant 60 minutes à température ambiante. Les extraits ont ensuite été filtrés sur papier Wattman (n° 4). Le volume final de la solution a été ajusté par le niveau d'éthanol et stocké à 4 °C pour le dosage des composés phénoliques.

- Dosage des composés phénoliques totaux

La teneur en composés phénoliques a été déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu et l'acide gallique comme standard comme décrit par [170].

- Dosage des flavonoïdes

La teneur totale en flavonoïdes a été évaluée comme décrit par BAHORUN *et al.*, [171], 1ml d'extrait a été ajouté à 1ml de chlorure d'aluminium à 2% (poids/volume). Après 10 minutes, l'absorbance a été mesurée à 430 nm. La quantité de flavonoïdes totaux a été déterminée en utilisant la quercétine comme standard et rapportée en mg équivalent de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS).

- Activité antiradicalaire DPPH

La capacité de l'extrait à piéger le radical libre DPPH a été déterminée par la méthode de MILARDOVIC *et al.*, [172].

### 5.1.2.3. Pré-formulation

Le but de cette étape, est de faire ressortir les principaux ingrédients, susceptibles d'avoir un effet significatif sur les réponses choisies.

- Détermination des facteurs

Les facteurs sélectionnés sont internes à la formulation (Les graines de lupin, Dattes, Eau déminéralisée, Arôme caramel).

Les niveaux des facteurs correspondent aux quantités minimales et maximales qu'on pourrait introduire au niveau de notre formulation. Ces valeurs sont été établies en se basant sur les travaux de BENAHMED, [173].

Tableau 5.3: Les niveaux de facteurs concernant la boisson au *L.albus*

Ingrédients	Niveau -1	Niveau +1
<b>Graines de <i>L.albus</i></b>	0,09	0,20
<b>Dattes Mech-degla</b>	0,05	0,15
<b>Eau déminéralisée</b>	0,645	0,855
<b>Arôme</b>	0,005	

Les facteurs et les niveaux sélectionnés (Tableau 5.3) ont été introduits dans le logiciel MODDE 6 pour avoir les différentes formules à réaliser (Tableau 5.4).

Le modèle mathématique adopté est celui du second degré, représenté par la formule (5.10).

$$Y = a_0 + a_1x_1 + a_2x_2 + a_3x_3 + a_4x_1x_2 + a_5x_1x_3 + a_6x_2x_3 + a_7x_1^2 + a_8x_2^2 + a_9x_3^2 \quad (5.10)$$

Ou :

Y : désignée comme étant la réponse.

$x_1$  : graine de *L. albus*,  $x_2$  : dattes,  $x_3$  : eau déminéralisée.

$a_0 + a_1 + a_2 + a_3 + a_4 + a_5 + a_6 + a_7 + a_8 + a_9$  : représentent des coefficients constants et inconnus.

Tableau 5.4: Les différents essais à réaliser (les ingrédients sont en %)

Essais	<i>L.albus</i>	Eau	Datte	Arôme
1	16,33	78,17	5	0,5
2	14,5	75	10	0,5
3	14,5	75	10	0,5
4	9	75,5	15	0,5
5	20	74,5	5	0,5
6	9	85,5	5	0,5
7	20	71,17	8,33	0,5
8	20	64,5	15	0,5
9	20	67,83	11,67	0,5
10	14,5	75	10	0,5
11	9	78,83	11,67	0,5
12	9	82,17	8,33	0,5
13	12,67	81,83	5	0,5
14	16,33	68,17	15	0,5
15	12,67	71,83	15	0,5
16	14,5	75	10	0,5

#### 5.1.2.4. Formulation

- Préparation des dattes

Les dattes ont été nettoyées à l'eau du robinet puis rincées à l'eau distillée, dénoyautées avec les mains, découpées en petit morceaux et séchées dans une étuve à 40 °C jusqu'à l'obtention d'un poids constant, puis broyées dans un broyeur électrique pour obtenir une poudre.

La poudre obtenue a été ensuite passée à travers un tamis standard de 125 µm, seule la fraction ayant une taille de particules < 125 µm a été utilisée et stockée dans des boîtes étanches à l'air dans l'obscurité jusqu'à utilisation.

- Préparation des graines de *Lupinus*

Les graines de *Lupinus albus* ont été nettoyées manuellement à l'eau pour enlever la poussière, et les graines brisées. La graine a été hydratée à l'eau chaude (80°C pendant 30 min). Le tégument a été retiré de la graine à la main (figure 5.6).

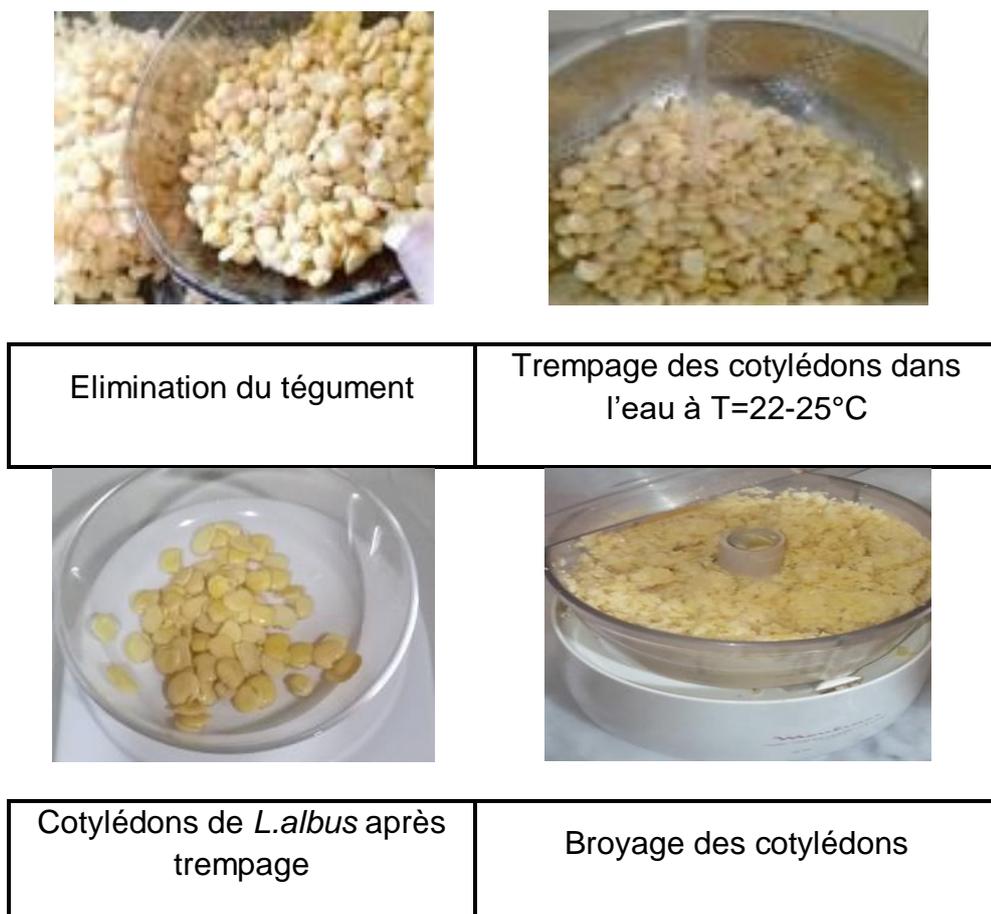


Figure 5.6: Etape de préparation des graines de *L.albus*

Les cotylédons ainsi obtenus ont subi un trempage dans de l'eau à raison de 1/3 (cotylédons/ eau), l'eau étant fréquemment renouvelée pendant les trois jours de trempage [80]. Le trempage garantit l'élimination des alcaloïdes responsable de gout amer. Le broyage des cotylédons se fait à l'aide d'un broyeur électrique (moulinex, France), cette opération permet d'obtenir une pâte (Figure 5.6).

- Réalisation des différents essais de boisson

Les boissons ont été formulées en suivant la méthode d'ELSAMANI *et al.*, [80] avec certaines modifications.

Dans un récipient, on mélange la farine de datte, la pâte de *L. albus* et l'eau déminéralisée (40-50°C) à des proportions différentes. Le mix d'ingrédients a été bien homogénéisé à l'aide d'un agitateur à ultrasons pendant 30 min puis centrifugé à 2600tour /min pendant 5 minutes.

Le produit obtenu a été filtré puis stérilisé à 100°C pendant 20 minutes et enfin conservé à 4 °C pendant 20 jours.

### 5.1.3. Caractérisation des boissons formulées

#### 5.1.3.1. Analyse sensorielle

L'analyse sensorielle ou évaluation sensorielle permet de définir, mesurer, analyser et interpréter les caractéristiques d'un produit perçues par l'intermédiaire des organes des sens, c'est-à-dire ses propriétés gustatives, olfactives, visuelles, auditives et tactiles. Certaines normes définissent simplement l'analyse sensorielle comme suit : examen des propriétés organoleptiques d'un produit par les organes des sens [174].

L'évaluation sensorielle vise à apprécier le degré d'acceptation des différents essais des boissons formulées (boisson faite à base de feuilles de *Atriplex halimus*, et celle au lait de *Lupinus*).

L'évaluation se fait par des personnes connaissant les techniques d'évaluation sensorielle et des consommateurs réguliers de boisson, et de jus de fruits. Considérés comme dégustateurs amateurs. Cette analyse a été réalisée dans un endroit calme et propre.

L'analyse sensorielle des deux boissons (boisson faite à base de feuilles de *A.halimus*, et celle faite au lait de *L. albus*) a été faite au niveau de l'Université Djilali Bounamaa de Khemis Miliana.

La première boisson a été testée par 25 personnes (âgés entre 20-55 ans, dont 12 femmes et 13 hommes), Alors que la boisson au *L.albus* a été testée par 29 personnes (âgés entre 21-58 ans, dont 16 femmes et 13 hommes).

Les volontaires sont des enseignants et étudiants de l'université de Khemis Miliana. L'évaluation des produits se fait sur une fiche de dégustation (Appendice C) en utilisant une échelle hédonique à cinq points, allant de : 5 (extrêmement apprécié) à 1 (extrêmement détesté), pour chaque attribut sensoriel: aspect, couleur, odeur et saveur, avec l'évaluation de l'acceptabilité générale des produits.

#### 5.1.3.2. Caractérisation physico-chimique

Nous avons déterminé les paramètres physicochimiques par les mêmes méthodes appliquées sur la matière première à savoir l'extrait sec total, le taux de cendres, évolution du pH pendant 20 jours de conservation des boissons au frais (4-6°C) [158], l'acidité titrable (20 jours pour la boisson au lupin) [159], vitamine C [161], le taux de protéines [120] et de matière grasse, le degré Brix [119] et le taux de sucres totaux [160].

La détermination de la teneur en composés phénoliques totaux, teneur en flavonoïdes totaux et activité antiradicalaire (test au DPPH) ont été faites selon les techniques décrites précédemment (analyse de la matière première).

La détermination du taux de calcium a été effectuée uniquement pour la boisson au lupin (les seize formules et BS), par spectrométrie d'absorption atomique [120].

#### 5.1.3.3. Analyse microbiologique

Cette analyse a été entreprise dans le but d'assurer la qualité hygiénique des boissons. Elle consiste à rechercher et à dénombrer certaines espèces ou certains groupes de bactéries les plus représentatives. L'analyse est effectuée après 13 jours de conservation au frais (4-6°C).

- Préparation des dilutions décimales [163]

Dans des conditions d'asepsie, une série de dilutions décimales ont été réalisées en diluant 1 ml de la solution mère dans 9 ml d'une solution de tryptone sel stérile, ce qui constitue la dilution  $10^{-1}$ , puis après homogénéisation à l'aide d'un vortex, la même opération a été répétée pour l'obtention des dilutions successives (figure 5.7).

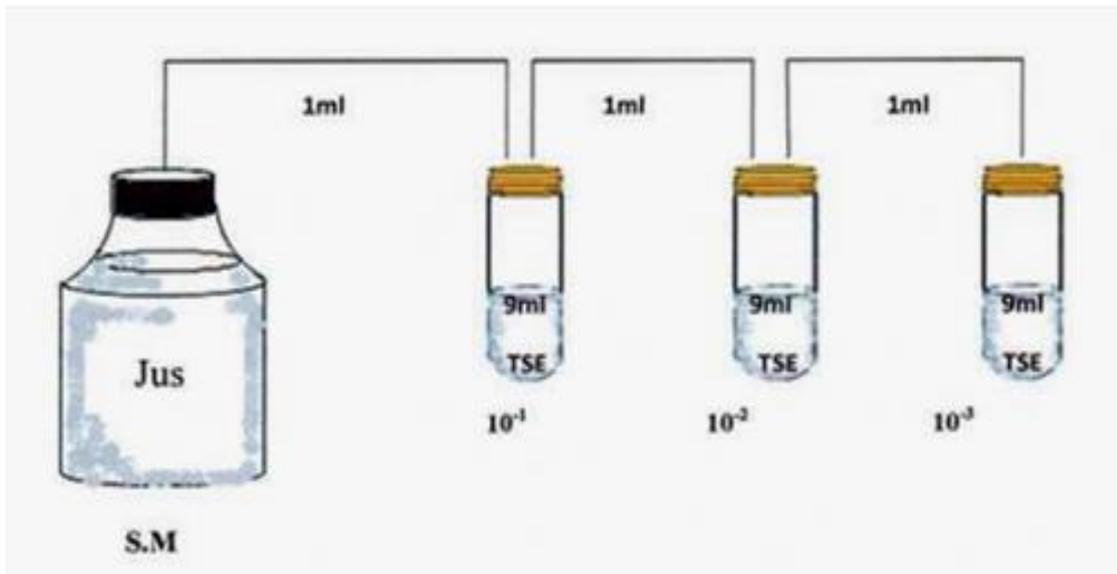


Figure 5.7 : Préparation des dilutions cas des produits liquides

Les différents germes recherchés (Appendice D) sont les coliformes totaux et fécaux, *Staphylococcus aureus*, et levures et moisissures [175,176].

#### 5.1.3.4. Analyse statistique

L'interprétation des résultats obtenus est basée sur une analyse statistique par l'utilisation du logiciel IBM SPSS 26. L'analyse statistique consiste en une analyse de la variance à un seul facteur au seuil de 5 %.

Si cette analyse révèle des différences significatives, on procède au test de Tukey qui consiste en une comparaison des moyennes permettant ainsi un classement des populations étudiées en groupes homogènes.

## 5.2. Résultats et discussion

La boisson végétale est une combinaison de protéines, de glucides, de lipides et d'autres substances bioactives. Cette partie comporte la caractérisation des deux types de boissons élaborées « boisson à l'extrait de feuilles de *A. halimus* et jus d'agrumes » et « la boisson au *L.albus* et aux dattes ».

### 5.2.1. Boisson à l'extrait de feuilles de *A.halimus*

#### 5.2.1.1. Jus d'agrumes

Le jus d'agrumes est constitué principalement d'eau qui est de  $87,13 \pm 0,02\%$  pour le jus d'orange à  $86,68 \pm 0,01\%$  pour le jus de citron soit un extrait sec total estimé à  $12,87 \pm 0,02\%$  et  $13,32 \pm 0,01\%$ . ROBARDS ET ANTOLOVICH, [177], ont trouvé des valeurs similaires à nos résultats.

L'acidité est parmi les principaux paramètres qui déterminent la qualité des fruits, elle est souvent utilisée pour la caractérisation des produits issus de la transformation des fruits [178]. L'acidité des jus d'agrumes est due principalement à la présence d'acide citrique et d'acide malique [179]. Les résultats (Tableau 5.5) concordent bien avec ceux trouvés par SMATI et al, [180], indiquant avoir trouvé 5,098 g/100ml pour le jus de citron mature. Les jus d'orange purs Brésiliens ; ont la valeur moyenne de 7,9 % [181].

Les résultats retrouvés pour le degré Brix et la teneur en sucres totaux sont en concordance avec les travaux de SMATI *et al.*, [180] et INGALLINRA *et al.*, [182] qui ont montré que le jus de citron possède un degré Brix qui varie de  $6,73^\circ$  à  $7,49^\circ$ , alors que celui du jus d'orange est compris entre  $11,6^\circ$ - $13,5^\circ$  Brix. Par conséquent, la teneur en sucres totaux est comprise entre 65,3 g/l et 74,56 g/l de jus de citron et de 97 g/l de jus d'orange. La valeur de  $10,8^\circ$  Brix est indiquée dans le jus d'orange Brésilien [181].

La teneur en vitamine C est de  $39,01 \pm 0,70$  mg/100ml pour le citron, et  $51,13 \pm 0,03$  mg/100ml pour l'orange. SMATI *et al.*, [180], ont démontré que la pulpe d'agrumes contient des teneurs en vitamine C qui varient de 24,30 à 36,9 mg/100 g MF, SANCHEZ-MORENO *et al.*, [183], ont obtenus des teneurs en acide ascorbique pour le jus d'orange qui varient de 39,67 à 44,67 mg/100ml.

Tableau 5.5 : Composition du jus d'agrumes

Paramètres	Jus de citron	Jus d'orange
<b>Extrait sec total (g/100ml)</b>	12,87±0,02	13,32±0,01
<b>Brix °</b>	7,32±0,05	11,61±0,17
<b>Sucres totaux (g/100ml)</b>	6,78±0,02	10,07±0,02
<b>Acidité titrable (g/100ml)</b>	4,44±0,01	1,83±0,03
<b>Vitamine C (mg/100ml)</b>	39,01±0,70	51,13±0,03
<b>Cendres (g/100ml)</b>	0,29±0,14	0,35±0,03
<b>Polyphénols totaux (mg EAG/ml)</b>	106,71±1,24	115,49±0,85
<b>Flavonoïdes (mg EQ/100ml)</b>	22,63±1,00	34,43±0,76
<b>Activité antioxydante (%)</b>	90,75±0,12	90,96±0,45

Les teneurs en polyphénols totaux des variétés étudiées sont plus importantes que celles rapportées par GORINSTEIN *et al.*, [184], dont les valeurs sont de 164 (limon) ; 154 (orange) ; 135 mg EAG/100g (pamplemousse) et ceux de TOUNSI *et al.*, [185] pour le jus des différents agrumes (784,67 orange amer ; citron 333 ; orange sanguine 255 ; et celle de mandarine 106,22 mg EAG/100ml).

GUIMARÃES *et al.*, [186], ont rapportés des teneurs plus importantes en polyphenols totaux pour le jus de citron jaune 1117 ; citron vert 9010 ; orange 1241 mg EAG/100 ml). Selon SMATI *et al.*, [180], dans le jus de citron, la teneur en polyphénols est comprise entre 769,90 - 1234,34 mg/l, les teneurs en composés phénoliques sont élevées au début de la maturation et diminuent ensuite au cours de la croissance.

TOUNSI *et al.*, [185], ont noté que la teneur en flavonoïdes dans les jus d'agrumes, la mandarine, le citron, l'orange amère et l'orange sanguine sont respectivement de 8,53 ; 8,2 ; 6,78 ; et 3,47 mg/100g. GUIMARÃES *et al.*, [186] Ont indiqué des teneurs pour le jus d'agrumes des différentes variétés 0,32 pamplemousse ; 0,22 citron jaune ; 0,43 citron vert ; 0,62 orange mg EQ/g).

Alors que METOUI *et al.*, [187], ont trouvé des valeurs entre 80-118 mg EQ/100g pour la pulpe d'orange.

L'évaluation de l'activité antioxydante du jus de citron et d'orange a montré que le jus examiné est capable de capter le radical DPPH. En effet, le jus de citron montre un pourcentage d'inhibition de  $90,75 \pm 0,12\%$ . Ce pourcentage est comparable à celui de SMATI *et al.*, [180] dont la valeur avoisine 91%. Le pouvoir antioxydant du jus de citron cultivé en Chine présente un pourcentage de 24,50% [188].

Des études réalisées par TOUNSI *et al.*, [185], sur l'orange amer et sanguine, ont montré que la capacité antiradicalaire est de 96,1%, 90,21% respectivement. GARDNER *et al.*, [189], ont mesuré la contribution de ces composés à l'activité antioxydante globale du jus. L'acide ascorbique représentait entre 65 et 100 % de l'activité anti-oxydante globale. Ce résultat a été confirmé par GIL-IZQUIERDO *et al.*, [190] qui ont montré que 77 à 96 % de cette activité était due à la vitamine C et par SANCHEZ-MORENO *et al.*, [183] avec un pourcentage de 99%. La vitamine C est donc un marqueur important de la qualité nutritionnelle du jus.

L'analyse statistique révèle une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) pour les paramètres étudiés, à l'exception du taux de cendres et activité antioxydante qui présentent une variation non significative ( $p > 0,05$ ). Cependant, les caractéristiques physico-chimiques peuvent changer d'une manière significative, en fonction d'un certain nombre de facteurs, ainsi de la diversité entre les variétés (d'orange et de citron) et les facteurs environnementaux (climat, fertilité du sol et degré de maturité). Le jus d'agrumes est une source importante de composés bioactifs caractérisés par une importante activité antioxydante.

#### 5.2.1.2. Evaluation sensorielle des boissons formulées

L'aspect visuel de la boisson est le premier paramètre à évaluer, la couleur résulte de la présence de trois ingrédients jus d'orange, jus de citron et aussi l'extrait de feuilles de *A. halimus* qui a une couleur verdâtre issue de la chlorophylle.

La présence de pulpe d'orange et de citron permet de diminuer la fluidité des boissons. L'aspect des seize boissons formulées est donné dans la figure (5.8).



Figure 5.8 : Photographie des seize boissons formulées

La Figure (5.9) montre la variation des perceptions gustatives relevées, ainsi on a remarqué que les préférences des dégustateurs sont orientées beaucoup plus aux essais 4 – 5 – 6 - 12 et 13 avec respectivement  $4,12 \pm 0,63^j$  ;  $4,10 \pm 0,43^j$  ;  $4,01 \pm 0,36^{ij}$  ;  $4,47 \pm 0,54^k$  ;  $4,01 \pm 0,33^{hij}$  pour l'acceptabilité ; tandis que les essais 1 – 7 - 8 et 11 ne sont pas acceptés car ces essais contiennent les proportions les plus faibles en jus d'agrumes et en édulcorant (faible perception de la saveur sucrée). Ces essais contiennent aussi d'importantes proportions en extrait, affectant ainsi les propriétés sensorielles.

Les boissons formulées ne contiennent pas de saccharose, La saveur sucrée est apportée par la présence de l'extrait de *Stévia reboudiana* qui est un édulcorant naturel (steviosides).

Les essais qui contiennent une importante teneur en jus d'agrumes (70%) ont une saveur plus acide que ceux qui en contiennent moins (50 ; 40 ;30 ;10%).

Selon ABDELDAIEM et BLASSY [153] on distingue la flaveur des oranges presque exclusivement grâce à ces constituants. Les composés non volatils tels que les sucres, les acides et les sels minéraux donnent au jus des saveurs acidulées, sucrées, légèrement amères et même salées.

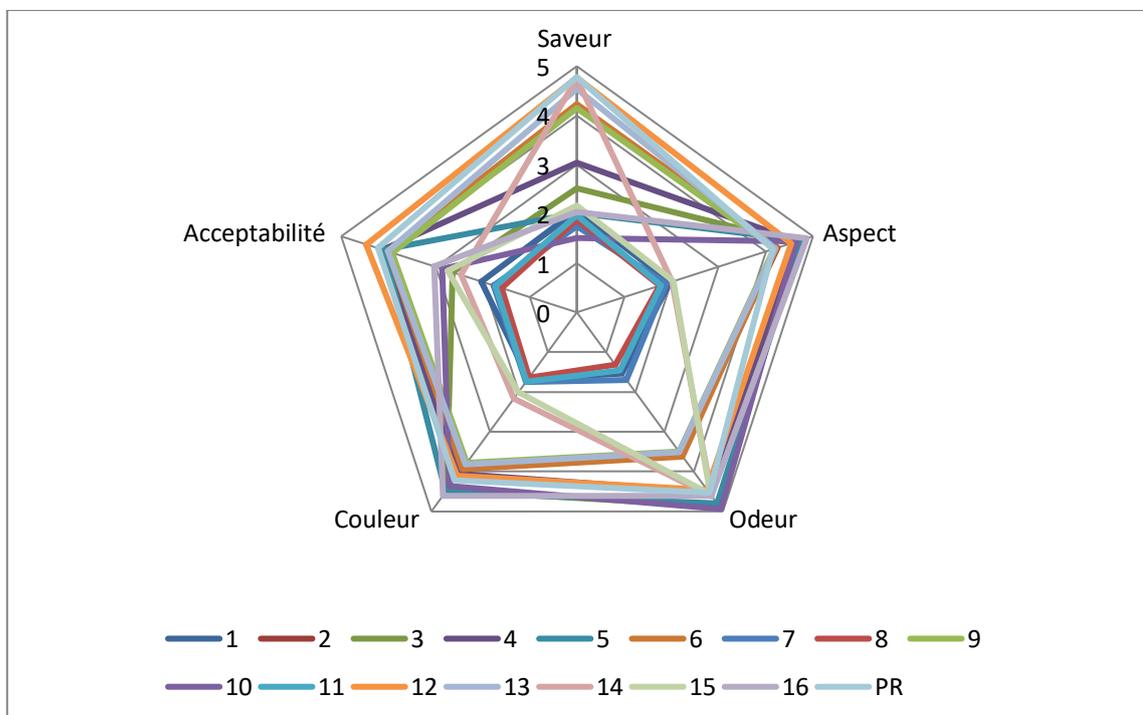


Figure 5.9 : Profil sensoriel des seize essais et PR.

Comme la saveur, la couleur aussi montre une nette variation des perceptions visuelle relevées par l'ensemble des dégustateurs, ainsi on peut classer les boissons formulées en trois groupes distinct ; les boissons de couleur orange représentés par les essais 3 ;5 ;10 ; et 16, une couleur orange moins intense pour les essais 4 et 12, une couleur jaune orangé pour les essais 2 ;6 ;9 et 13, et enfin une couleur jaune verdâtre pour les essais qui contiennent plus d'extrait de *Atriplex halimus* que de jus d'agrumes 1 ;7 ;8 ;11.

Lorsque l'extrait de stévia est présent dans les boissons à raison de 2,5 %, le jus d'agrumes à 50%, et l'extrait d'*Atriplex* avec un taux de 47,5%, l'acceptabilité est nettement supérieure ( $p < 0,05$ ) à celle des autres boissons.

### 5.2.1.3. Caractérisation physico-chimique des boissons formulées

- Extrait sec total

La figure (5.10) montre que les boissons formulées ont un taux d'extrait sec qui varie entre ( $11,14 \pm 0,05^a\%$  à  $18,51 \pm 0,12^a\%$ ) avec  $13,89 \pm 0,03^h\%$  pour le PR. Ces résultats indiquent une variation significative ( $p \leq 0,05$ ) entre les différents essais, le test de comparaison des moyennes permet de distinguer différents groupes homogènes.

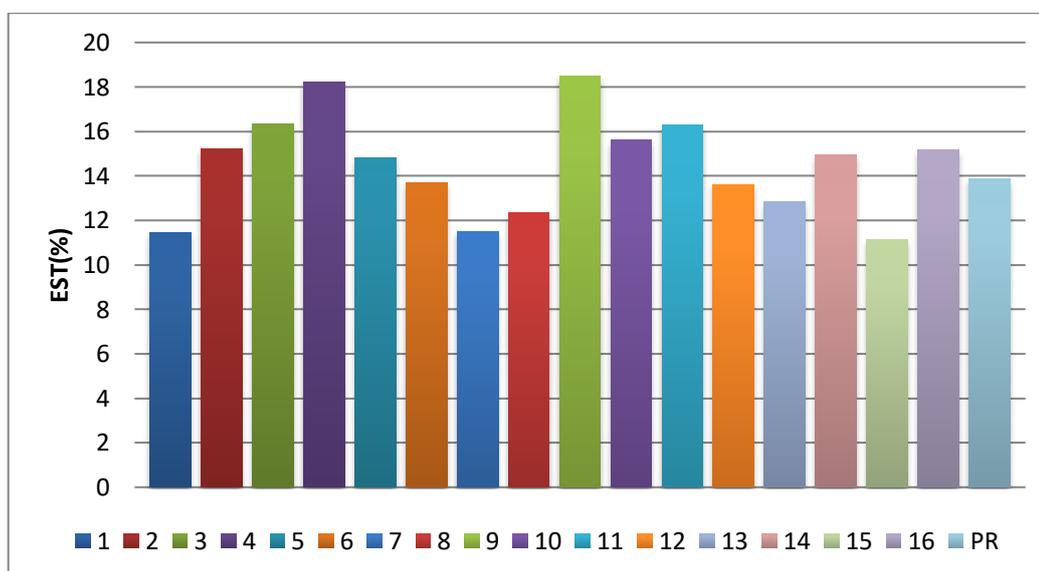


Figure 5.10 : Teneur en EST des boissons formulées et PR

BENCHABANE *et al.*, [191] ont indiqué que l'extrait sec total est estimé à 10,57% et la teneur en eau est de 89,43%, lors de la valorisation de la datte par la formulation d'une boisson à base de lait et de jus d'orange.

Cependant des valeurs d'extrait sec total comprises entre 10,61-15,79%, et des teneurs en eau qui varient entre 84,21% et 89,39% ont été signalées par BENAHMED *et al.*, [173] pour un jus naturel fait à base d'un sirop de dattes communes et d'extrait de spiruline et jus de citron naturel.

- Teneur en cendres

Les résultats de la teneur en cendres des boissons étudiées sont représentés dans la figure (5.11), à partir de cette figure, nous constatons que les cendres constituent entre  $1,28 \pm 0,07^b$  % à  $4,26 \pm 0,04^p$  % du poids total de la boisson, et  $0,8 \pm 0,06^a$  % pour la boisson de référence.

Le taux de cendres dans les boissons formulées est significativement supérieur ( $p \leq 0,05$ ) à celui de la boisson de référence, ceci peut être expliqué par le fait que l'extrait aqueux des feuilles de *A.halimus* utilisé dans l'élaboration des différents essais de boisson contribue en grande partie à l'apport en sels minéraux.

Le test de Tukey a montré que pour les essais 3 et 9, la variation n'est pas significative.

Selon ARBOUCHE *et al.*, [132] le taux de sels minéraux dans cette plante varie entre 23,8 et 27,2% dû à une forte accumulation d'éléments minéraux en raison de leur caractère halophile.

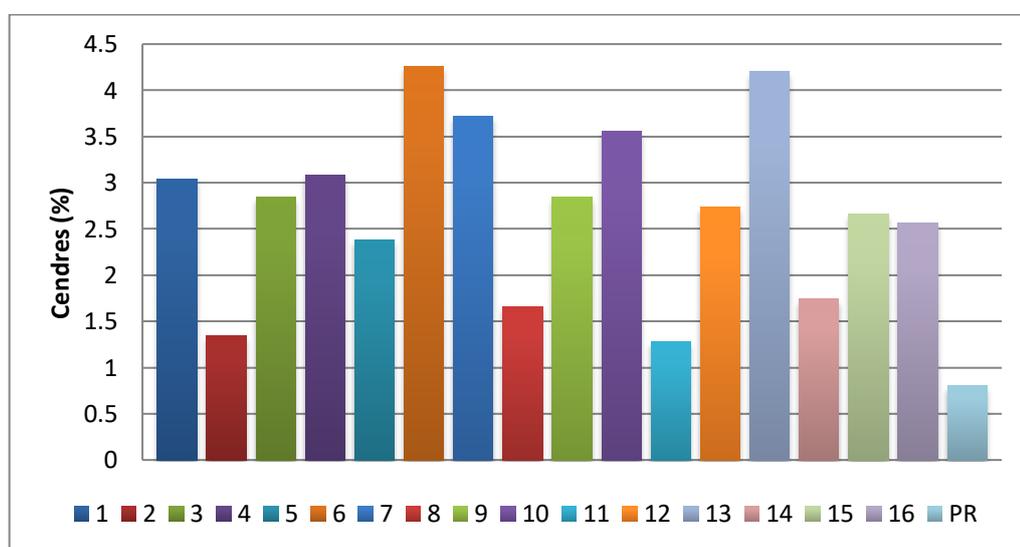


Figure 5.11 :Teneur en cendres des boissons formulées et boisson de référence.

La norme AFNOR V 76-005 de 5 décembre 1994 [192] pour les jus d'orange; préconisant un intervalle de 280 mg/100g à 500 mg/100g.

La teneur en cendres des jus d'orange est comprise entre 250 mg/100g et 480 mg/100g avec une valeur moyenne de 350 mg/100g [177].

▪ L'évolution du potentiel hydrogène au cours de la conservation

Le potentiel hydrogène a été mesuré tous les 5 jours pendant les 20 jours de conservation (4-6°C), selon les résultats obtenus (figure 5.12), les boissons formulées varient de manière significative ( $p \leq 0,05$ ) au cours du temps mais cette variation reste acceptable car les valeurs de pH sont en accord avec la norme de qualité AFNOR, [192] qui préconise un pH de 2,8 à 3,5. Le pH de la boisson joue en faveur de sa qualité microbiologique.

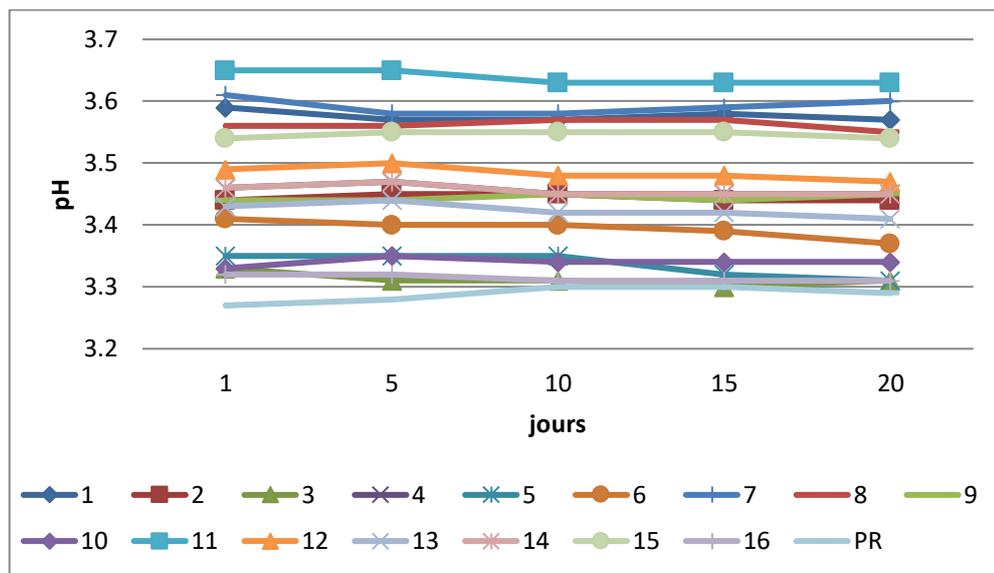


Figure 5.12: Evolution du potentiel hydrogène pendant 20 jours de conservation à 4-6°C pour les boissons formulées et boisson de référence « jus Rouïba ».

Selon BENHAMED [173], le pH varie entre 2,83 à 4,01 dans un jus naturel fait à base d'un sirop de datte commune, d'extrait de spiruline et jus de citron naturel. BENCHABANE *et al.*, [191], ont annoncé le pH de 4,22, pour une boisson faite à base de lait et jus d'orange.

GUNATHILAKE *et al.*, [193], ont trouvé des valeurs de pH comprises entre 3,0-3,2 pour différentes formules de boissons bioactives (effet cardio-protecteur) enrichies en fruits. Alors que KIM *et al.*, [194], indiquent la valeur de pH estimée à 3,40 pour une boisson contenant du jus d'agrumes et enrichi en substances bioactives.

- Acidité titrable

La lecture de la Figure (5.13) a permis de constater que la valeur la plus basse de l'acidité est de  $1,59 \pm 0,03^a$  %, et la valeur maximale est égale à  $2,68 \pm 0,02^k$  %, les essais (3, 5, 10, 16) qui contiennent 70% de jus d'agrumes ont une acidité significativement ( $p \leq 0,05$ ) plus importante par rapport aux essais qui en contiennent moins (50, 40, 30, 10 %).

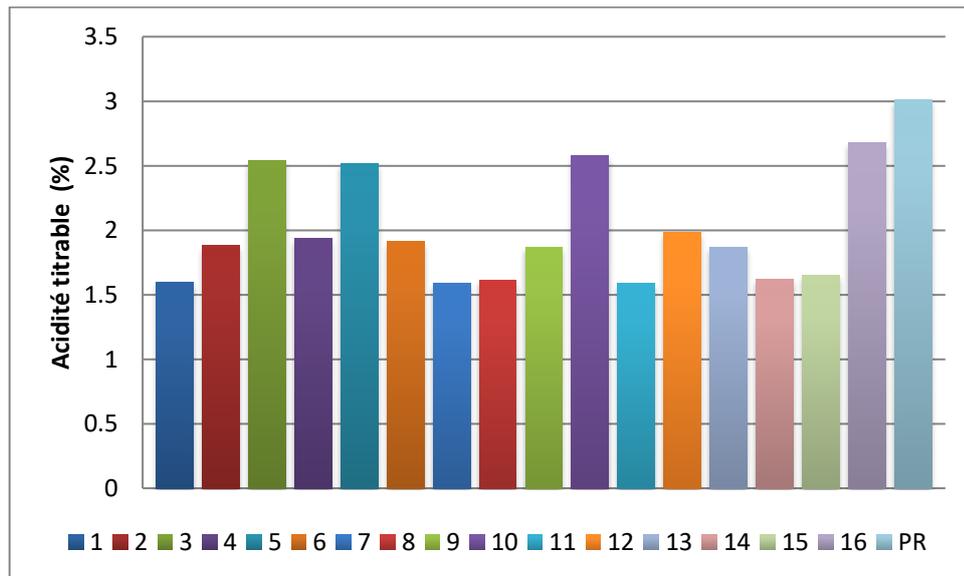


Figure 5.13 : Acidité des boissons formulées et boisson de référence

La boisson de référence enregistre une valeur d'acidité égale  $3,01 \pm 0,04^l$  %, qui est incluse dans la fourchette donnée par la norme AFNOR NF V 76-005 [192] qui fixe un intervalle de 3,85 % à 5,04 % pour les jus d'orange à base de concentré.

BENHAMED [173], ont trouvé des valeurs d'acidité qui varient entre 2,24 et 5,6 %, dans un jus naturel fait à base de sirop de datte, extrait de spiruline et jus de citron.

De leur côté BENCHABANE *et al.*, [191], ont constaté une valeur de 3,2 % dans une boisson faite à base de lait et jus d'orange. Alors que KIM *et al.*, [194] ont trouvé la valeur de  $0,59 \pm 0,03$  % dans une boisson à base d'agrumes.

Hormis son rôle fondamental dans la saveur acidulée du jus d'orange, et de citron, l'acidité a une influence remarquable sur la perception sensorielle des composés volatils du jus [178].

- Taux de solides solubles et teneurs en sucres

Les solides solubles ou extrait sec soluble représentent l'ensemble de tous les solides dissous dans l'eau, incluant les sucres, les sels, les protéines et les acides carboxyliques. L'indice réfractométrique des jus de fruit permet d'évaluer rapidement leur concentration en sucres solubles. Il mesure en effet la fraction de matières sèches solubles majoritairement composé de ces sucres solubles [195].

Les résultats obtenus pour le taux de solide soluble et sucres totaux des boissons élaborées sont représentés dans la figure (5.14), l'analyse de la variance pour les mêmes paramètres indique la présence d'une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) entre les boissons, ainsi les tests de comparaison permettent de les classer en différents groupes homogènes.

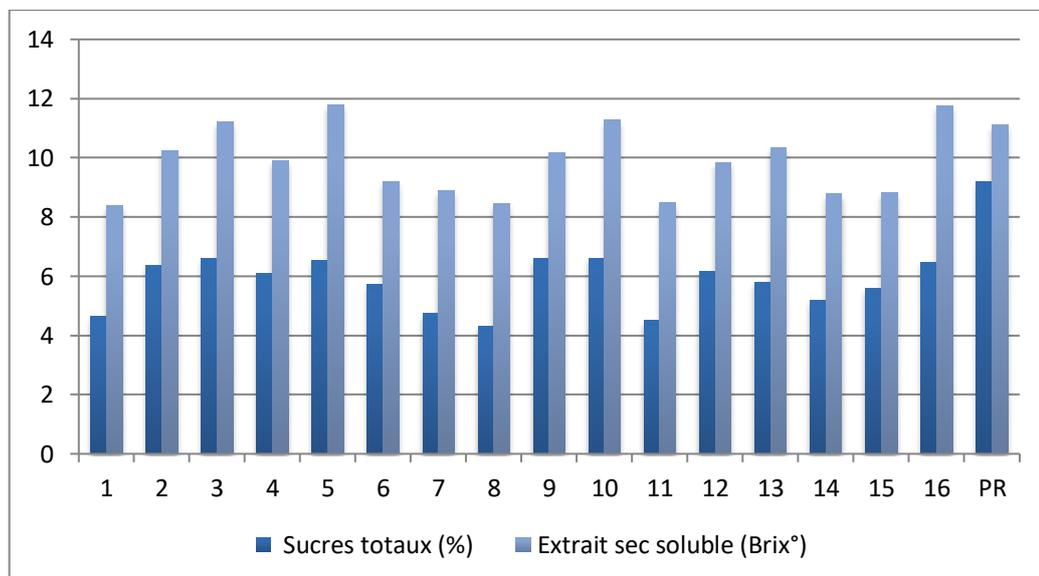


Figure 5.14 : Extrait sec soluble (Brix°), et sucres totaux des boissons formulées et PR

Selon HENDRIX et REDD [196], environ 76% de la matière sèche hydrosoluble du jus d'orange est constituée principalement par des glucides. Il a été rapporté par GUNATHILAKE *et al.*, [193] dans leur étude (élaboration de cinq formules de boisson à base de fruits possédant un effet cardioprotecteur) que le Brix° est de 14,7-14,9.

KIM *et al.*, [194] ont également rapporté une valeur de Brix° plus importante par rapport à nos résultats estimés à  $16,33 \pm 0,12$ .

BENHAMED [173] indiquent des valeurs en sucres totaux qui varient entre 5,05 à 12,82% observées dans une boisson faite à partir de sirop de datte et jus de citron. BENCHABANE *et al.*, [191], ont trouvé 11,11% de sucres totaux pour une boisson faite à base lait et jus d'orange.

- Teneur en Vitamine C

La vitamine C est un marqueur important de la qualité nutritionnelle du jus. Les résultats obtenus pour la vitamine C sont représentés par la figure (5.15).

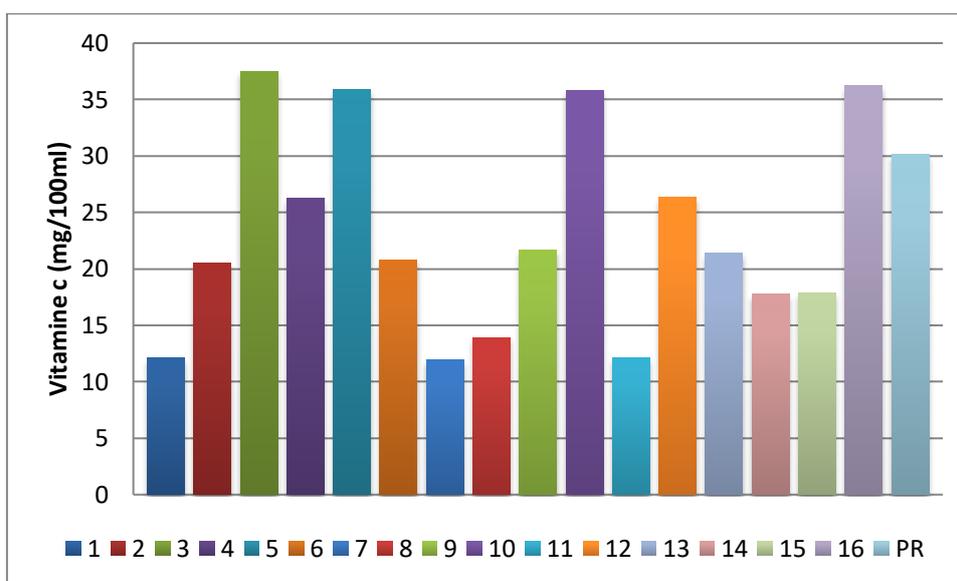


Figure 5.15 : Teneur en vitamine C (mg/100ml) des boissons élaborées et PR.

D'après les résultats obtenus (Figure 5.15), les teneurs moyennes en vitamine C des boissons analysés sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) ; elles varient de  $11,96 \pm 0,09^a$  à  $37,48 \pm 0,14^m$  mg/100ml, avec  $30,12 \pm 0,06^j$  mg/100g pour la boisson de référence.

Cette différence peut être expliquée par l'origine géographique, les variations saisonnières et annuelles du soleil, l'humidité, la variété, position sur l'arbre et le degré de maturité, des agrumes (orange et citron) utilisés dans la nouvelle formule de boisson et des concentrés d'orange utilisées dans la fabrication de la boisson de référence [197,198]. La température et la durée de stockage semblent être les facteurs les plus critiques favorisant la dégradation des vitamines [181].

BENHAMED [173] ont obtenues des valeurs qui varient entre 31,5 à 52,5 mg /100g observé dans une boisson faite à base de sirop de datte, de jus de citron, et de spiruline. D'autre part KIM *et al.*, [194], ont observé un taux de  $41,09 \pm 0,89$  mg/g d'acide ascorbique dans une boisson contenant du jus d'agrumes et enrichi en substances bioactives.

- Teneur en polyphénols totaux

Les composés phénoliques sont largement distribués dans les agrumes. Ils contribuent à la qualité nutritionnelle et sensorielle des fruits et légumes ; ils sont responsables de leurs couleur, flaveur et goût en plus de leur fonction anti-oxydante et leur impact sur la santé [199].

La teneur en polyphénols totaux est estimée à l'aide de la méthode du Foline-Cicalteu en utilisant une courbe d'étalonnage à l'acide gallique. La figure ci-dessous illustre les résultats obtenus concernant la teneur en polyphénols totaux dans la boisson de formulation et la boisson de référence.

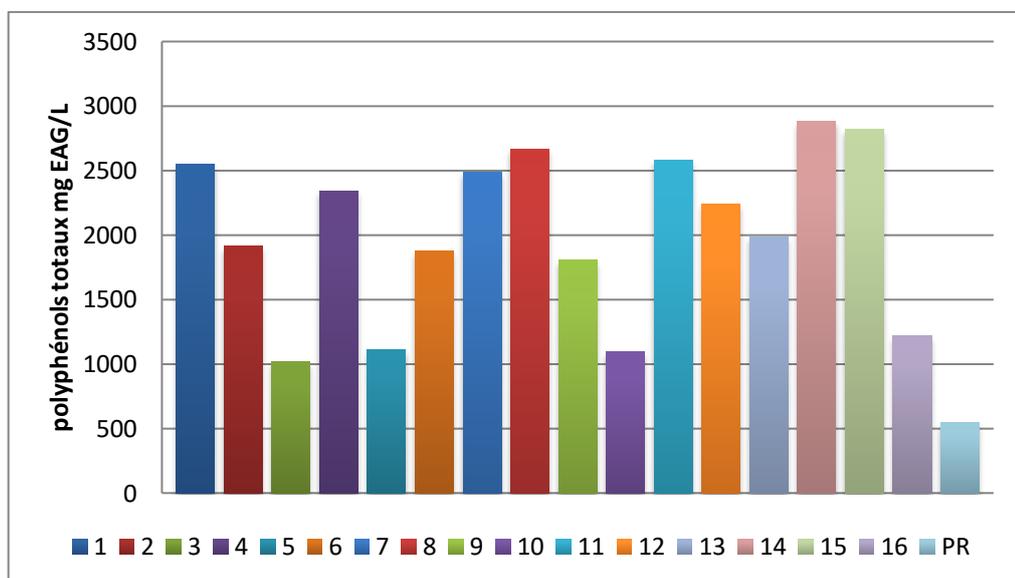


Figure 5.16 : Teneur en polyphénols totaux des boissons formulées et PR

La concentration des polyphénols totaux dans les boissons formulées varie significativement ( $p < 0,05$ ), cette variation est comprise entre  $1020,28 \pm 0,30^b$  et  $2881,09 \pm 0,21^q$  mg EAG/L, alors que la boisson de référence a une teneur estimée à  $543,32 \pm 0,21^a$  mg EAG/L.

Les différences observées peuvent être liées au fait que les essais élaborés contiennent en plus du jus d'agrumes (orange et citron), des proportions différentes d'extrait de *Atriplex halimus* par rapport à la boisson de référence qui contient uniquement du jus d'orange. Ainsi l'extrait de *A.halimus* et le jus de citron contribuent à apporter plus de composés bioactifs (le taux en polyphénols totaux) en comparaison avec le PR.

Ses résultats corroborent ou légèrement différent avec ceux trouvés par un certain nombre d'auteur ; en citant BUNIEWSKA *et al.*, [200], ont trouvé entre 2646,6-2805,6 mg/L; GUNATHILAKE *et al.*, [193] dans l'élaboration de boisson à base de fruits et d'extrait de gingembre possédant un effet cardioprotecteur ont trouvé une teneur en polyphénols totaux de 1020-1338 mg/L.

KIM *et al.*, [194] évoquent une teneur plus en polyphénols totaux estimée à  $20790 \pm 0,12$  mg /L. Selon AMARAL *et al.*, [201] la teneur phénolique d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (origine géographique, conditions climatiques, les pratiques culturelles, la maturité à la récolte et les conditions de stockage)

- Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une grande classe des composants phénoliques présents chez les végétaux ayant des effets bénéfiques sur la santé.

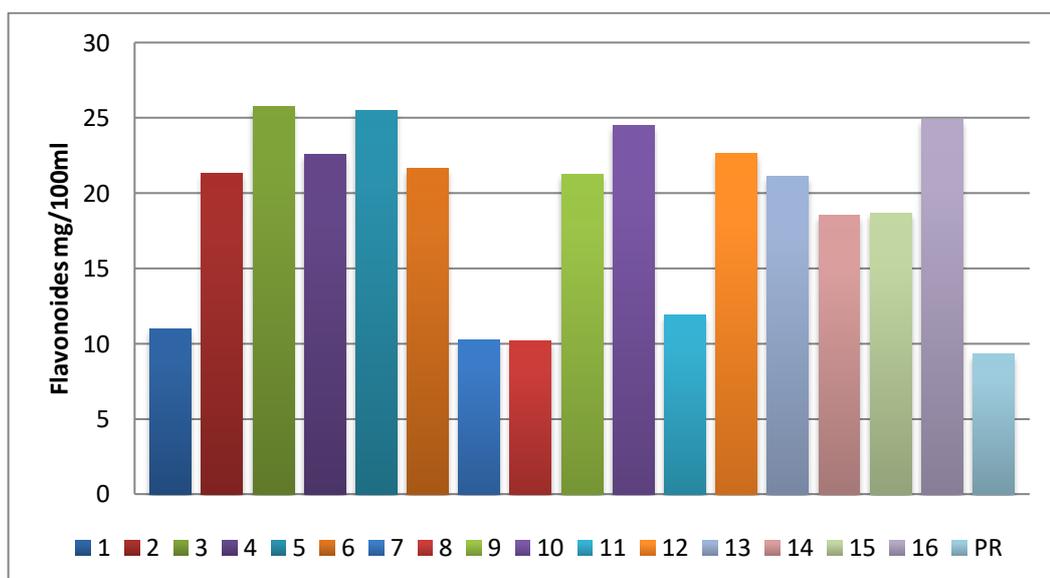


Figure 5.17: Teneur en flavonoïdes des boissons formulées et PR

D'après la Figure (5.17), les boissons contiennent une concentration en flavonoïdes qui varie de manière significative ( $p < 0,05$ ) entre  $10,15 \pm 0,28^b$  et  $25,78 \pm 0,55^j$  mg Eq/100ml, alors que la boisson de référence « jus Rouïba » contient une concentration en flavonoïdes égale à  $9,33 \pm 0,17^a$  mg/100g. Cette différence peut être attribuée au procédé de fabrication, s'agissant des oranges ou de concentré d'orange, la boisson de référence est faite à base de concentré d'orange, alors que les boissons formulées sont faites à partir d'orange et de citron. Les flavonoïdes sont sensibles au traitement thermique, une dégradation significative s'observe à une température supérieure à  $100^\circ\text{C}$  [194].

D'après VANAMALA *et al.*, [202] ; LU *et al.*, [203], la teneur en flavonoïdes des Agrumes est fonction de leur origine génétique, de la période de récolte et des différentes parties du fruit analysé.

Selon MELO *et al.*, [204] ; XU *et al.*, [164], la diversité des teneurs en flavonoïdes peut être due aux conditions environnementales (la lumière, climat, saison, et le soleil), le degré de maturation ainsi que la méthode analytique.

- Activité antioxydante (test au DPPH)

L'évaluation de l'activité antioxydante a montré que les boissons formulées sont capables de piéger le radical DPPH (figure 2.19), les valeurs sont comprises entre  $48,23 \pm 0,26^b$  -  $60,18 \pm 0,53^j$  %, la boisson de référence présente une valeur moins importante estimée à  $30,38 \pm 0,34^a$  %.

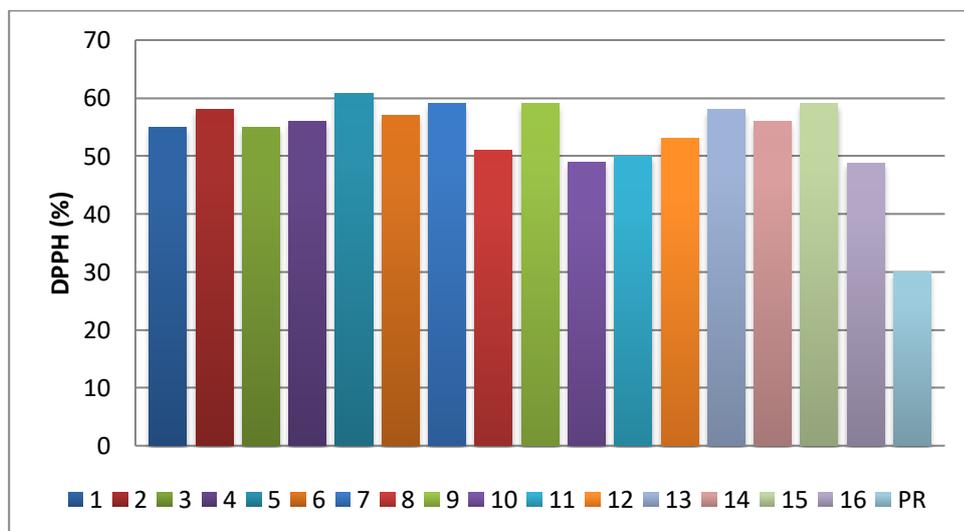


Figure 5.18 : Activité antioxydante des boissons formulées et de PR

D'après TOUNSI *et al.*, [185], les jus d'orange amère et d'orange sanguine ont montré une activité supérieure à celle du citron et de la mandarine (les valeurs étaient respectivement de 96,1%, 90,21%, 63,8% et 56,75%).

Dans le même contexte, les résultats des tests DPPH pour les jus d'agrumes provenant de variétés cultivées en Chine XU *et al.*, [164] ont montré que les valeurs obtenues pour les échantillons soumis au test DPPH étaient comprises entre 23,69% et 60,24%.

En outre, l'activité de piégeage des radicaux libres de la DPPH de divers extraits de pulpe de fruits de pamplemousse se situait entre 5 % et 16 % [205], soit des valeurs inférieures à celles des boissons formulées.

Gil-ZQUIERDO *et al.*, [190] ont montré que 77 à 96 % de l'activité antioxydante globale était due à la vitamine C, SANCHEZ-MORENO *et al.*, [183] l'ont aussi démontré avec un pourcentage de 99 %. Le jus d'agrumes est une source importante de composés caractérisés par une activité antioxydante et reconnus comme bénéfiques pour la santé humaine. Il contient des teneurs élevées en caroténoïdes comme la  $\beta$ -carotène (précurseur de la vitamine A), en acide ascorbique et en flavonoïdes.

Les molécules bioactives contenues dans l'extrait de *Atriplex halimus* utilisé à différentes proportions dans la formulation des boissons, possède un important pouvoir antioxydant [9; 143].

#### 5.2.1.4. Qualité microbiologique

Globalement les analyses microbiologiques permettent de fournir certains indices sur la qualité du produit obtenu à la fin du processus de fabrication. La qualité microbiologique des boissons étudiées est interprétée conformément à l'arrêté interministériel du 4 octobre 2016 fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires [176].

Elle est estimée par le qualificatif satisfaisant (lorsque le nombre de levures et moisissure  $<10$ ) ou inacceptable (lorsque le nombre de levures et moisissures  $>10^2$ ), ainsi la limite microbiologique de l'acceptabilité est comprise entre 10 et  $10^2$  ufc/g.

Les résultats de l'analyse microbiologique portant sur le dénombrement de levures et moisissures sont représentés dans le tableau (5.6).

Tableau 5.6 : Résultats du dénombrement des levures et moisissures (UFC/g) des boissons formulées et PR.

<b>Essais</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>
<b>Levures et moisissures</b>	25	20	10	15	10	19	15	32	20
<b>Essais</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	<b>12</b>	<b>13</b>	<b>14</b>	<b>15</b>	<b>16</b>	<b>PR</b>	<b>Réglementation</b>
									<b>[176]</b>
<b>Levures et moisissures</b>	19	15	15	20	18	15	16	40	100

Ainsi, il ressort des résultats obtenus que sur les seize essais et la boisson de référence sont de qualité acceptable.

LARPENT et CHOUETTE [206] soulignent que les levures sont les principaux agents d'altération des boissons. Il est à signaler que la flore originelle des boissons provient essentiellement des fruits et légumes qui en constituent la matière première [207], et que d'autres contaminations sont apportées par le sucre et les sirops sucrés, par le matériel utilisé pour la fabrication (levures et moisissures) et par les manipulations cas des germes de contamination fécale [208].

Ces altérations se manifestent par des modifications de l'aspect, de l'odeur et du goût comme elles se traduisent par l'augmentation de la pression dans les récipients qui résultent des fermentations.

En comparant ces résultats à la réglementation algérienne [176], on peut dire que les boissons formulées sont conformes à la limite microbiologique et par conséquent de bonne qualité hygiénique.

### 5.2.1.5. Optimisation de la formule

- Sélection des réponses

Les réponses retenues pour la réalisation d'un plan d'expérience ont permis l'obtention d'une matrice de corrélation établie entre l'ensemble des variables (prises deux à deux).

Le but de cette notion est de détecter les corrélations éventuelles entre toutes les réponses, pour identifier les réponses dépendantes et les écarter de la matrice d'expériences.

Car, lorsque deux réponses sont dépendantes, elles sont systématiquement gouvernées par le même mécanisme. On considérera que les réponses sont corrélées si  $R \geq 70\%$ .

A partir de la matrice de corrélation on constate que le pH, et acidité titrable, sont dépendants on se propose alors d'éliminer le pH car la variation entre les essais est insignifiante.

Les sucres totaux sont également éliminés vu leur corrélation avec l'acidité qui a été maintenue. Par la suite cette réponse est éliminée du fait qu'elle soit corrélée avec les polyphénols.

Les réponses (couleur, aspect, et odeur) sont éliminées, alors que l'acceptabilité est maintenue, car si la boisson est acceptée lors de l'analyse sensorielle cela veut dire qu'elle possède de bonnes propriétés gustatives (couleur, saveur, odeur, et aspect).

On remarque aussi que les deux réponses acceptabilité et teneur en flavonoïdes sont dépendants, nous éliminons donc les flavonoïdes.

La réponse Vitamine c, polyphénols et Activité antioxydante sont dépendante on se propose de garder la première réponse. Le brix est dépendant de la réponse Vitamine c, ce qui nous permet de l'éliminer tout en gardant la réponse vitamine C.

- Modélisation en surface de réponse

Au terme de la modélisation, on se propose de présenter les paramètres conditionnant la qualité au sens statistique des résultats de la modélisation en surface de réponses (Figure 5.19).

La modélisation en surface de réponse pour l'EST ( $R^2= 0,31$ ,  $Q^2= 0,05$ ) et les cendres ( $R^2=0,17$ ,  $Q^2= 0,04$ ) est médiocres au sens statistique car le pouvoir prédictif  $Q^2$  est trop bas et  $R^2$  est inférieur à 0,70.

Les coefficients inconnus du modèle ont été calculés pour chacune des réponses à l'aide de la régression PLS exécutée par le logiciel MODDE 6.

Les modèles mathématiques obtenus peuvent s'écrire donc de la manière suivante :

$$\text{Vitamine C} = 21,463 + 4,485x_1 - 0,071x_2 - 4,480x_3 + 0,585x_1^2 - 0,118x_2^2 + 0,592x_3^2 + 0,115x_1x_2 - 0,590x_1x_3 - 0,113x_2x_3 \quad (5.11)$$

$$\text{Saveur} = 4,204 + 0,023x_1 + 0,480x_2 - 0,039x_3 - 0,405x_1^2 - 0,106x_2^2 - 0,397x_3^2 + 0,072x_1x_2 + 4,02x_1x_3 - 0,069x_2x_3 \quad (5.12)$$

$$\text{Acceptabilité} = 3,873 + 0,295x_1 - 0,042x_2 - 0,297x_3 - 0,251x_1^2 - 0,083x_2^2 - 0,249x_3^2 + 0,006x_1x_2 + 0,250x_1x_3 - 0,004x_2x_3 \quad (5.13)$$

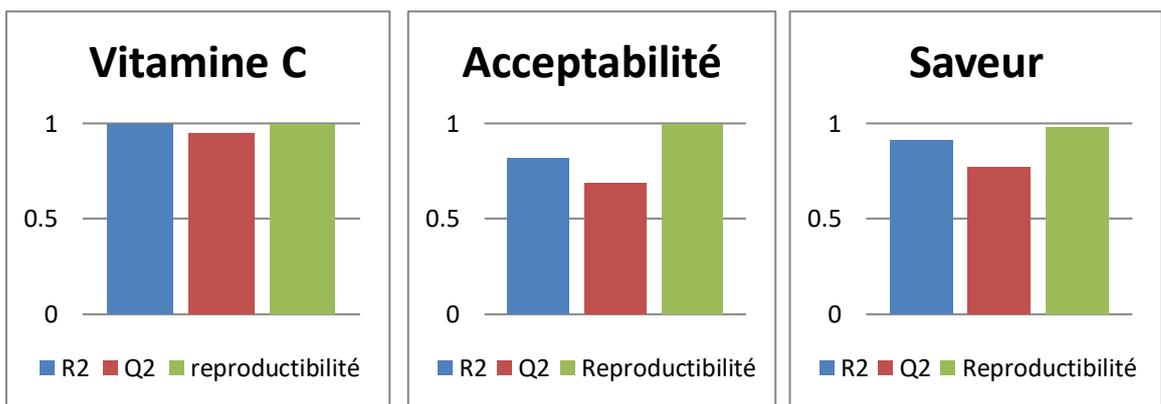


Figure 5.19: Les paramètres conditionnant la qualité au sens statistique des résultats de la modélisation en surface de réponses (Vitamine c, Saveur et Acceptabilité)

- Effet des facteurs sur les réponses

Les modèles mathématiques sont ensuite représentés graphiquement (Figure 5.20, et Figure E.2 en Appendice E) par des courbes qui ont le rôle de représenter les différentes relations entre les facteurs composants un modèle mathématique prédictif dans les limites du domaine d'étude. Ils nous permettent ainsi de comparer plus efficacement les effets des facteurs et leurs impacts sur la réponse et de déceler ainsi le comportement du système étudié.

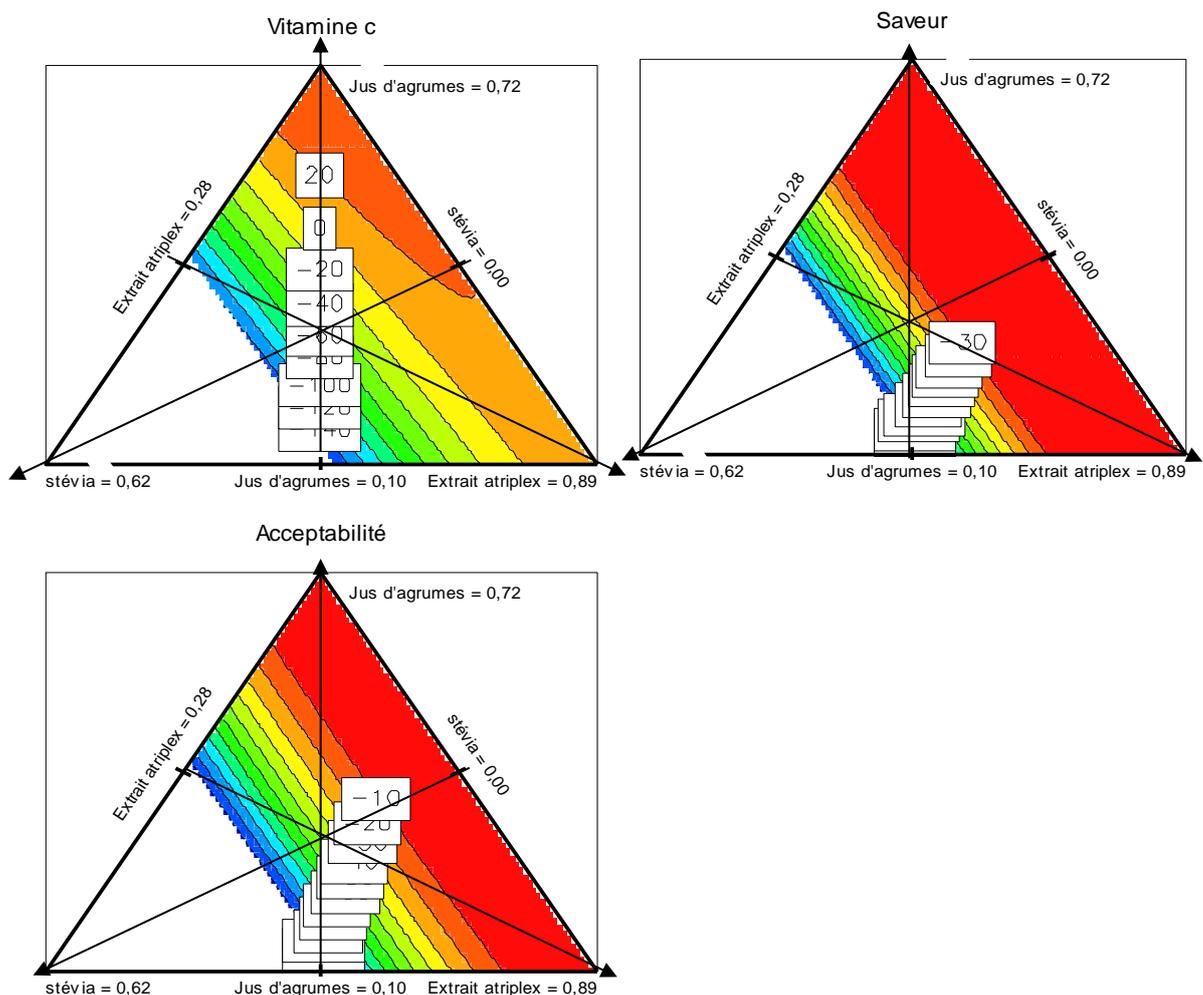


Figure 5.20 : Courbes iso-réponse (vitamine c, saveur et acceptabilité)

En ce qui concerne le jus d'agrumes et l'extrait de *Atriplex halimus*, ils agissent pratiquement de la même manière sur la saveur et l'acceptabilité, les deux facteurs permettent d'améliorer les deux réponses jusqu'à un certain taux puis une fois ce taux dépassé, l'effet devient négatif.

La présence du jus d'agrumes à plus de 50% va entraîner une saveur acide très prononcée affectant ainsi l'acceptabilité de la boisson.

On note également que le jus d'agrumes accentue de façon significative la teneur en vitamine c, alors que l'extrait de *Atriplex halimus* agit de manière négative sur la réponse.

D'autre part la présence de l'extrait de *A. halimus* à plus de 50%, a un effet négatif sur la saveur et l'acceptabilité. Alors que la teneur en Stévia permet d'améliorer légèrement la saveur et l'acceptabilité des boissons grâce au saveur sucré qu'elle apporte.

- Optimisation de la formule

Nous cherchons à ce stade d'obtenir une boisson, contenant un taux satisfaisant en vitamine c, ayant une saveur appréciée, et acceptée du point de vue sensoriel.

On choisit de ce fait : de maximiser toutes les réponses. L'optimum se déduira par dérivation de l'équation du modèle pour trouver les valeurs x des niveaux des facteurs. Ainsi les résultats d'optimisation ont donné la formule retrouvée dans le tableau (5.7).

Tableau 5.7 : Composition de la formule optimale

<b>Facteur</b>	<b>Teneur</b>
<b>Jus</b>	54,73%
<b>Stévia</b>	2,5%
<b>Extrait de <i>A.halimus</i></b>	42,77%

La formule optimale que nous avons obtenue est caractérisée par des propriétés suivantes : une teneur en Vitamine C de 28,24 mg/100ml, la note de 4,27 pour la saveur et 3,85 pour l'acceptabilité.

### 5.2.2. Formulation d'un lait végétal (lait de *Lupinus*) édulcoré aux dattes

Cette partie s'intéresse à la réalisation d'une boisson végétale « lait végétal » similaire au lait de soja, cette boisson est faite à base d'extrait aqueux des graines de *Lupinus albus*, elle est naturellement sucrée aux dattes et aromatisée au caramel. La boisson en question permet de remplacer les boissons commerciales lactées aromatisées.

#### 5.2.2.1. Caractérisation physico-chimique des dattes

Les ingrédients utilisés dans l'élaboration du lait végétal sont : les graines de lupin blanc, les dattes, arôme caramel, et l'eau. Les caractéristiques physicochimiques des graines de *Lupinus albus* sont présentées dans le chapitre 1, alors que celles des dattes sont données dans le tableau (5.8).

La variété Mech Degla étant de consistance sèche présente une teneur en eau de  $14,06 \pm 0,02\%$  ce qui est comparable au résultat obtenu par CHIBI *et al.*, [209] qui est de  $14,30\%$  et légèrement supérieur à celui obtenu par YEFSAH-IDRES *et al.*, [210] qui est de  $12,07\%$ .

La teneur en cendres est en accord avec celle trouvée par CHIBI *et al.*, [209]

La valeur de pH obtenue est comparable à celle obtenue pour la même variété par CHIBANE *et al.*, [211].

Tableau 5.8: Caractéristiques physicochimiques des dattes Mech Degla.

<b>Paramètres</b>	<b>Valeur</b>
<b>Teneur en eau (%)</b>	$14,06 \pm 0,02$
<b>Cendres (%)</b>	$2,35 \pm 0,03$
<b>pH</b>	$5,63 \pm 0,01$
<b>Acidité titrable (%)</b>	$1,24 \pm 0,01$
<b>Sucres totaux (%)</b>	$76,82 \pm 0,02$
<b>Protéines (%)</b>	$2,47 \pm 0,04$
<b>Lipides (%)</b>	$0,31 \pm 0,01$

Le Tableau (5.8) montre que les dattes utilisées dans la formulation de la boisson sont moins acides à ceux rapportés par AL-FARSI *et al.*, [212], qui ont trouvé des teneurs s'étendant de 1,9 à 2,7 %. Comme il a été rapporté par BOOIJ *et al.*, [213], le taux d'acidité de la datte est proportionnel à la teneur en eau et donc inversement proportionnel au degré de maturité.

De nombreux auteurs, s'accordent sur le fait que les teneurs en sucres des dattes varient en fonction de la variété considérée, du climat et du stade de maturation. Néanmoins, tous s'accordent à dire que les teneurs en sucres totaux des dattes sont de l'ordre de 60 à 80%.

Les dattes étudiées révèlent une teneur faible en protéines et lipides qui sont respectivement de  $2,47 \pm 0,04\%$  et  $0,31 \pm 0,01\%$ . Ces valeurs concordent avec les résultats trouvés par CHIBI *et al* [209], avec un taux de protéine estimé à 2,20% alors que celui des lipides est de 0,23%.

#### 5.2.2.2. Etude phytochimique des dattes

Les résultats (Tableau 5.9) trouvés pour les polyphénols totaux sont beaucoup plus élevés que ceux rapportés par MANSOURI *et al.*, [131] concernant les extraits méthanoliques de dattes algériennes de Ghardaïa qui varient de 2,49 à 8,36 mg EAG / 100 g MF.

Tableau 5.9 : Composition en polyphénols totaux et flavonoïdes des dattes Mech-Degla ainsi que son activité antioxydante.

Paramètre	Valeurs
<b>Polyphénols totaux (mg EAG / 100g)</b>	273,42±0,02
<b>Flavonoïdes (mg EQ /100g)</b>	31,46±0,17
<b>Activité antioxydante (%)</b>	62,73±0,10

BENMEDDOUR *et al.*, [214] ont rapporté que les polyphénols totaux varient de 225,57 à 954,59 mg EAG / 100 g MF dans dix cultivars de dattes Algériennes, avec une valeur de 277,26 mg/100g MF pour la variété Mech-Degla.

Les mêmes auteurs indiquent des valeurs de flavonoïdes comprises entre 11,52–225,77 mg EQ / 100 g MF (45,09 mg EQ/100g MS pour la variété Mech Degla). Le cultivar Mech Degla a une capacité de piégeage du radical libre estimée à (60,2%).

LOUAILECHE *et al.*, [215], affirment avoir trouvé des valeurs de phénols totaux entre 127,97 – 334,58 mg EAG/100 g MF pour différentes variétés de dattes Algériennes. Dans la même étude la teneur en flavonoïdes est estimée entre 25,5 à 83,45 mg EQ/100 g MF), et une capacité antioxydante qui varie de 51,26 % (Outkabila) à 89,08 % (Ourrous). Cependant, les dattes ont une forte capacité antioxydante.

### 5.2.2.3. Evaluation sensorielle des boissons formulées

Les figures (5.21, 5.22) montrent que les panélistes préfèrent l'essai 4, cet essai contient 9% de lupin et 15% de dattes, l'acceptabilité est nettement supérieur ( $p < 0,05$ ) aux autres essais; les essais 2 ;3 ;10 et 16 sont également appréciés, ces essais contiennent 14,5% de *Lupinus* et 10% de dattes.

Par ailleurs les essais 1 ;5 ;6 et 13 sont les moins appréciés du fait qu'ils ne contiennent que 5% de dattes, ce qui explique la faible perception de la saveur sucrée. La boisson de soja (BS) n'a pas été acceptée par les panélistes (saveur fade et gout de soja prononcé).

Selon ELSAMANI, *et al.*, [80], les propriétés sensorielles du produit (fromage au *Lupinus*) ne sont pas affectées lorsque la quantité de lupin ajoutée est inférieure ou égale à 25%. Dans notre étude les boissons formulées ne contiennent pas plus de 20% de lupin, de même l'arôme (caramel) ajouté aux boissons permet de masquer le léger gout de lupin.

La saveur sucrée est assurée par l'incorporation des dattes à différentes proportions dans les boissons formulées. Le score le plus élevé pour la saveur a été attribué aux essais 4 ;14 et 15 qui contiennent 15% de dattes, alors que le score le plus bas a été attribué au lait de soja nature (BS), dont le goût est légèrement fade.

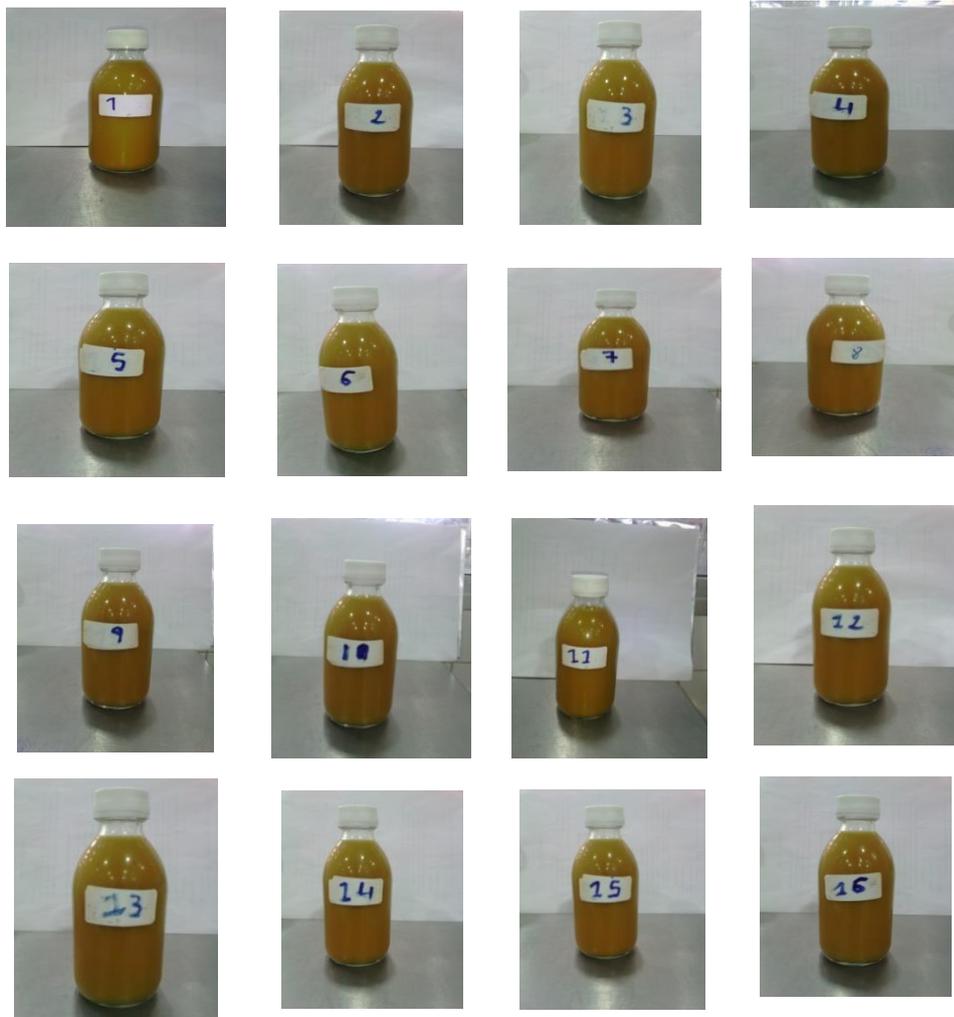


Figure 5.21: Photographies des essais de boisson formulées

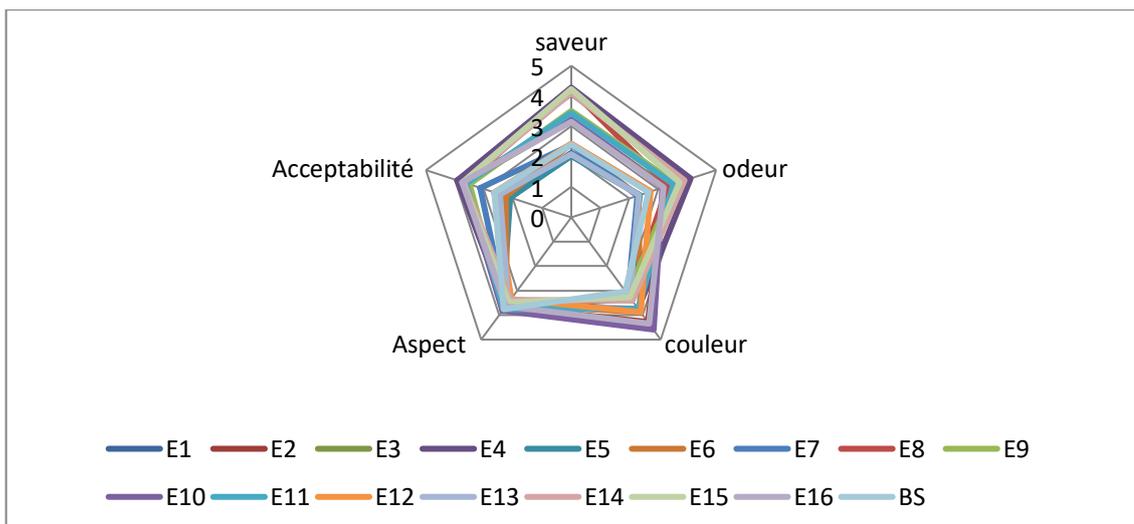


Figure 5.22 : Profil sensoriel des boissons au *L.albus* et la BS.

L'analyse de la variance a montré une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) entre les essais de boissons au *Lupinus* et la boisson au soja, le test de comparaison des moyennes pour la saveur, l'aspect, la couleur, l'odeur et l'acceptabilité a permis de distinguer différents groupes homogènes (Appendice F).

#### 5.2.2.4. Caractéristiques physicochimiques des boissons formulées

##### ▪ Teneur en matière sèche

La figure (5.23) montre que les boissons formulées ont un taux d'extrait sec qui varie significativement ( $p < 0,05$ ) entre  $12,13 \pm 0,04^b$  % et  $17,86 \pm 0,05^o$  %, avec  $11,56 \pm 0,10^a$  % pour la boisson de référence.

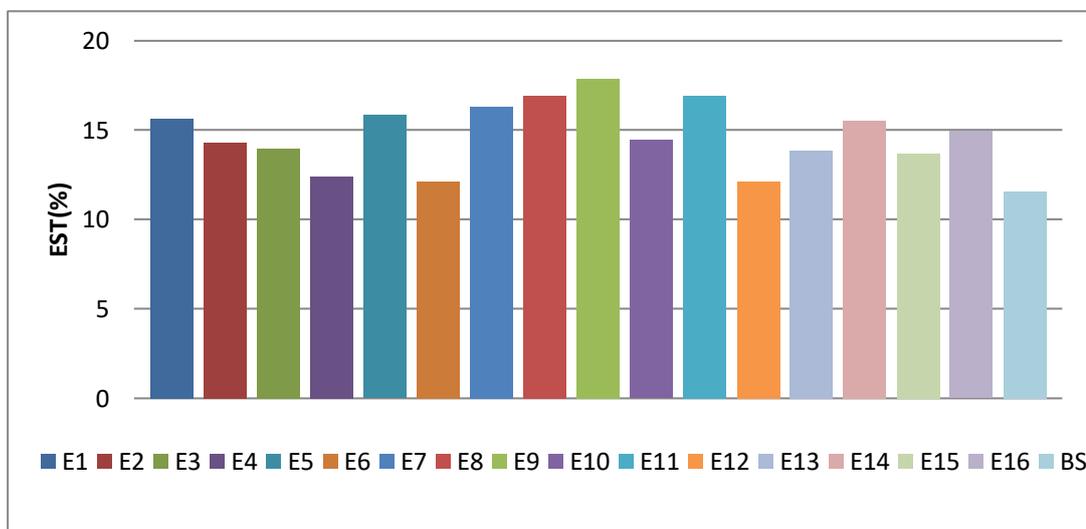


Figure 5.23 : Teneur en matière sèche des boissons formulées, et BS.

KALE *et al*, [216] ont trouvé, que le lait de soja a un taux en extrait sec de 14,3%, dans une autre étude ABDELDAIEM et BLASSY, [153], indiquent une valeur d'EST qui varie entre 21,92 et 23,77% pour un yaourt à boire fait à base de poudre de lupin doux. Cependant lors du développement d'une boisson hyperprotéinée à base de caroube, de lupin et de quinoa destinée à l'alimentation des enfants d'âge préscolaire, CEREZAL MEZQUITA *et al*, [217] ont trouvé entre 16,33-17,41% d'EST.

##### ▪ Teneur en cendre

De la figure (5.24), il ressort que le taux de cendres dans les boissons formulées varie de façon significative ( $p < 0,05$ ) de  $0,69 \pm 0,05^b$  à  $0,91 \pm 0,11^h$ %.

ABDELDAIEM and BLASSY [153], ont trouvé entre 0,76 et 1,07% de cendres dans un yaourt à boire contenant de l'extrait de *Lupinus*. Cependant CEREZAL MEZQUITA *et al.*, [217], ont obtenus un taux de cendres moins important estimé à 0,28-0,29 %, dans une boisson faite à base de *Lupinus*, quinoa et caroube. Nous avons trouvé la valeur de  $0,38 \pm 0,06^a$  %, pour la boisson de référence (lait de soja).

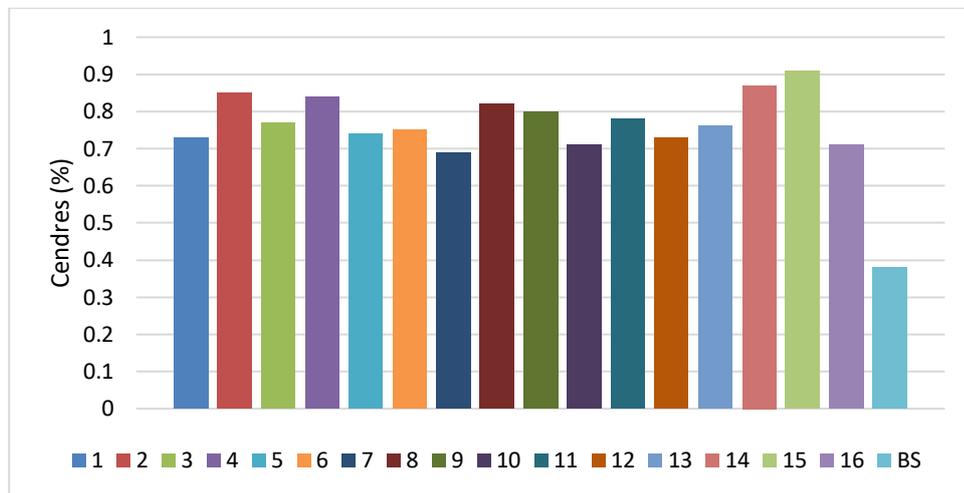


Figure 5.24 : Teneur en cendre des boissons formulées, et BS.

La table de composition nutritionnelle CIQUAL, [78] indique 0,33% de cendres dans une boisson au soja nature et 0,47% dans une boisson au soja, aromatisée sucrée.

Alors que la valeur donnée par EKANAYAKA *et al.*, [218] est plus importante, estimée à 1,04% dans une boisson à base de lait de soja, et de lait coco. La teneur en cendres du lait de *Mucuna* correspond à 0,31-0,92 % [219].

#### ▪ pH et acidité

Le pH et l'acidité font partie des paramètres les plus importants dans l'évaluation de la qualité des denrées alimentaires transformées. La variation de pH de l'ensemble des essais et BS durant 20 jours de conservation à 4-6°C est représentée dans la figure (5.25).

Les boissons élaborées ont un pH qui varie de 5,71 au  $j_0$  à 5,63 au  $j_{20}$  pour l'E5, de 5,98 au  $j_0$  à 5,92 au  $j_{20}$  pour l'E6, et de 5,69 au  $j_0$  à 5,62 au  $j_{20}$  pour BS (lait de soja nature).

Les valeurs de pH retrouvées sont légèrement supérieures à celles données par ROBALINO [220], indiquant une variation de pH de 5,39 à 5,27 (pendant 27 jours de conservation) pour une boisson au lupin aromatisée au chocolat.

KALE *et al.*, [216], ont trouvé un pH de 5,6 dans une boisson faite à partir de jus d'orange et de lait de soja à raison de (10 :90), et un pH de 3,9 dans celle qui en contient (90 :10).

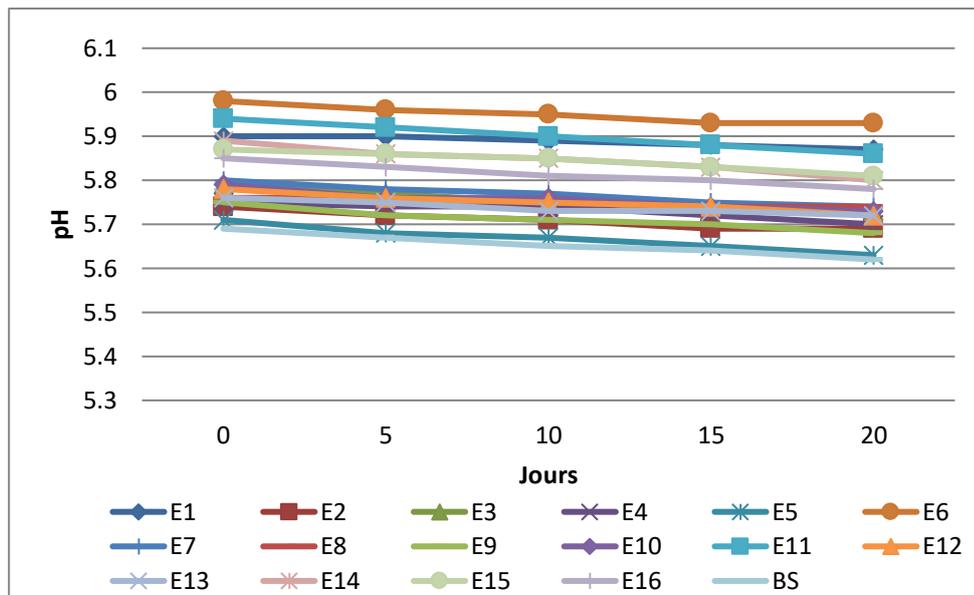


Figure 5.25: Variation du pH des boissons formulées et BS durant la période de conservation 20 jours.

Par ailleurs ANDRES *et al.*, [221], ont mentionné un pH de 4,01 dans une boisson contenant du lait de soja, et du jus de fruits à raison de 3:50.

Ainsi MANG *et al.*, [219] ont constaté que le lait végétal peut posséder des caractéristiques souhaitables en tant qu'ingrédient, que s'il présente un pH de 5,7. Dans la présente étude, nous avons constaté que le pH de la boisson au *Lupinus* (5,63-5,92) est en accord avec la valeur du lait végétal, ce pH est également compris dans la fourchette (6,50- 6,70) indiquée pour d'autres laits végétaux tels que le lait de soja et le lait d'arachide [222,223].

Concernant l'acidité (figure 5.26) une augmentation était notée pour l'E8, allant de 0,325 lors de sa préparation ( $J_0$ ) jusqu'à 0,346 après vingt jours de conservation ( $J_{20}$ ); sachant que cet essai contient la plus importante proportion en dattes (15%), et en farine de lupin (20%).

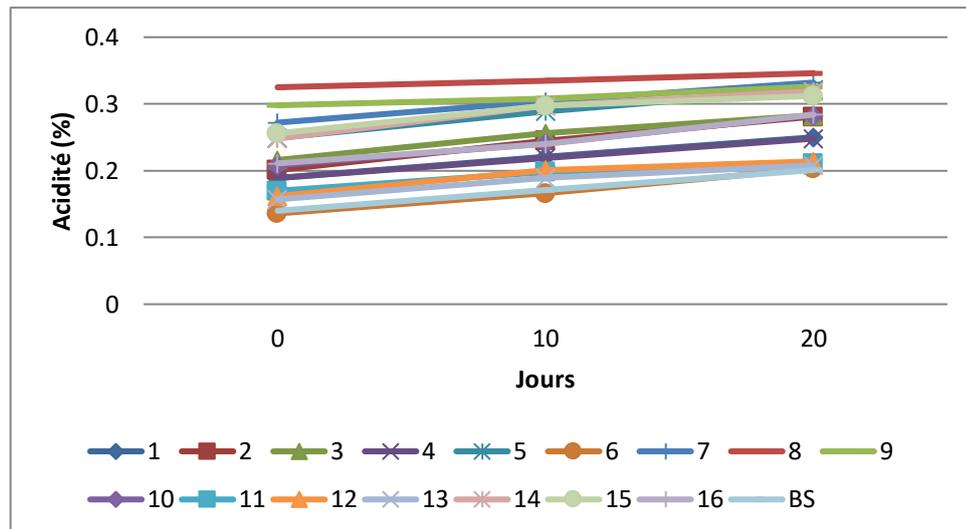


Figure 5.26 : Evolution de l'acidité des boissons formulées, et BS durant 20 jours de conservation.

L'acidité de l'E6 est considérée comme la plus faible en comparaison avec les autres boissons élaborées, du fait qu'elle ne contient que 5% de dattes et 9% de farine de lupin.

Nous avons donc noté la valeur de 0,136% à  $j_0$ , 0,166% à  $j_{10}$  et 0,203% à  $j_{20}$ . Cependant nous avons trouvé 0,14% à  $j_0$ , 0,173% à  $j_{10}$ , et 0,201% à  $j_{20}$  pour la boisson de référence (BS).

Ces résultats d'acidité sont en accord avec ceux retrouvés par certains auteurs qui ont travaillé sur l'élaboration de boisson à partir de légumineuses cas du soja.

KALE *et al.*, [216] ont trouvé une acidité de 0,128% pour le lait de soja nature, et une variation de 0,064 à 0,64% pour différents essais de boisson contenant du jus d'orange en plus du lait de soja.

Par ailleurs ARIF *et al.*, [224], indiquent une variation qui va de 0,06% à  $j_0$ , jusqu'à 0,98% à  $j_{60}$ .

L'analyse statistique (Appendice F) pour les paramètres Acidité et pH indique la présence d'une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) entre les boissons étudiées, ainsi les tests de comparaison permettent de classer ces boissons en différents groupes homogènes ; cette différence est probablement due à la présence de poudre de dattes à différentes proportions dans les boissons qui peut affecter la teneur et la composition en acides organiques.

- Teneur en matière grasse

La teneur en matière grasse des boissons formulées (Figure 5.27) est comprise entre  $3,61 \pm 0,13^b$  % pour le E6 et  $6,12 \pm 0,14^m$  % pour le E8, la boisson de référence (BS) a une teneur de 3,42%. Ces variations sont significatives ( $p < 0,05$ ), et le test de tukey permet de classer les boissons en groupes homogènes.

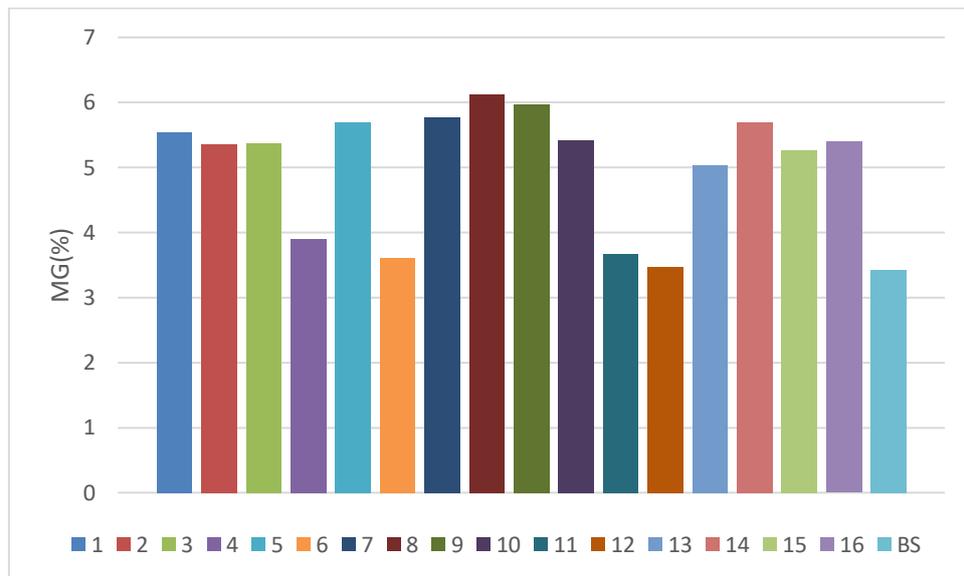


Figure 5.27: Teneur en matière grasse des boissons formulées, et la BS.

Les résultats que nous avons mentionnés sont supérieurs à ceux trouvés par ABDELDAIEM et BLASSY [153], et CEREZAL MEZQUITA *et al.*, [217] dont les teneurs sont de 0,14% et de 0,5 à 0,89% respectivement, cela peut être dû au processus d'élaboration de la boisson, la matière première et l'espèce de lupin utilisées, et surtout le traitement de désamérisation des graines de lupin comme l'extraction chimique qui permet l'élimination des alcaloïdes à l'aide d'un solvant organique, à savoir l'hexane (une grande partie des lipides est donc éliminé). Les boissons élaborées à partir de légumineuses entières et non pas de farine de légumineuses dégraissée peuvent donc être considérées comme plus riche en matière grasse.

De plus, la faible teneur en MG yaourt au lupin s'expliquait par l'activité lipolytique des micro-organismes [153].

Par ailleurs nos résultats concordent avec ceux de ELASAMANI *et al.*, [80] qui ont annoncé la valeur de 5% de lipides dans l'extrait aqueux de lupin.

En revanche, EKANAYAKA *et al.*, [218] dans leur travail sur l'élaboration d'une boisson au lait soja et au lait de coco, la valeur en matière grasse retrouvée est de 7,54%, alors que la table de composition nutritionnelle [78], indique 2,07% de MG pour le lait de soja nature.

- Teneur en protéines

La figure (5.28) représente les différentes teneurs en protéines dans les boissons formulées. Nous pouvons dire que les boissons formulées ont des teneurs significativement ( $p < 0,05$ ) différentes en protéines, ces teneurs varient de  $4,54 \pm 0,07^a$  % pour l'E4 à  $7,31 \pm 0,03^d$  % pour l'E8. Le BS a une teneur en protéines estimée à  $4,5 \pm 0,03^a$  %.

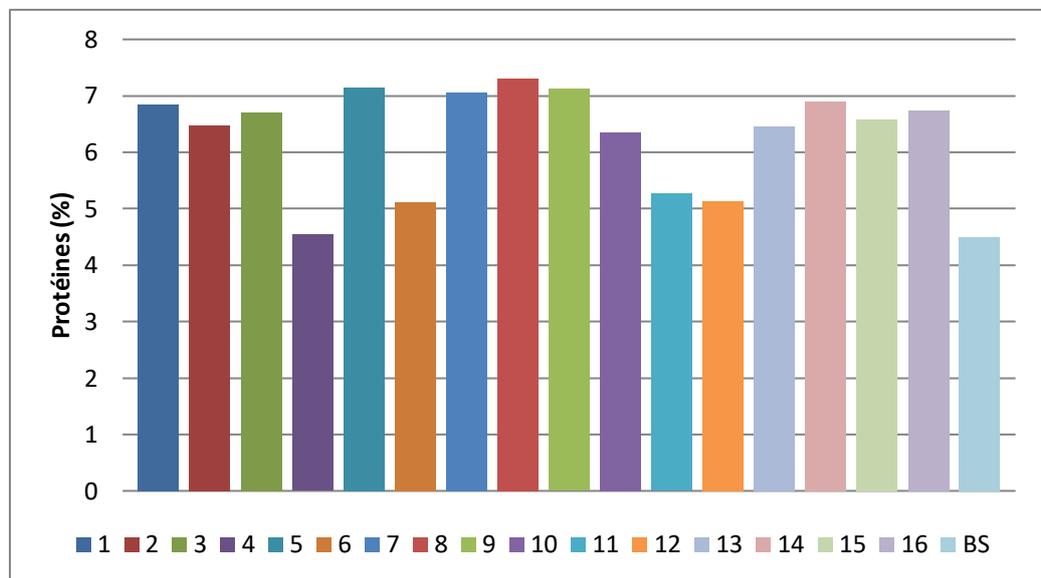


Figure 5.28: Teneur en protéine dans les boissons formulées, et la BS.

En réalité l'augmentation graduelle de la quantité de lupin dans les différents essais permet de faire augmenter la teneur en protéines.

Ces valeurs sont plus importantes par rapport aux résultats d'ABDELDAIEM et BLASSY [153] dont la teneur en protéines varie entre 3,18 à 4,48% dans un yaourt fait à base de lait de lupin.

Par ailleurs la table de composition nutritionnelle [78] indique 3,63% de protéines dans la boisson au soja nature, et 3,25% dans la boisson au soja sucrée aromatisée.

Comparativement, le lait de lupin a une teneur en protéines plus élevée que les laits végétaux courants tels que le soja (2,1 %) et le lait d'arachide (3,1 %) [225].

En comparant aussi avec d'autres travaux, on constate que nos résultats sont proches de ceux obtenus par EKANAYAKA *et al.*, [219], où le taux de protéines est de 7,54% pour le lait de soja, et de 6,40 - 6,80 % pour le lait végétal issu de légumineuses « *Mucuna* » [219].

Pendant selon NAWAZ *et al.*, [226] certaines méthodes de désamérisation ou adoucissement (élimination des alcaloïdes) réduisent le taux de protéines dans le lait de lupin, parmi ces méthodes ; la fermentation et le trempage prononcé à l'eau chaude induisant le phénomène de lessivage (perte d'éléments nutritifs).

- Teneur en sucres totaux

Les différentes teneurs en sucres totaux des boissons formulées, et la boisson de référence sont illustrés dans la figure (5.29).

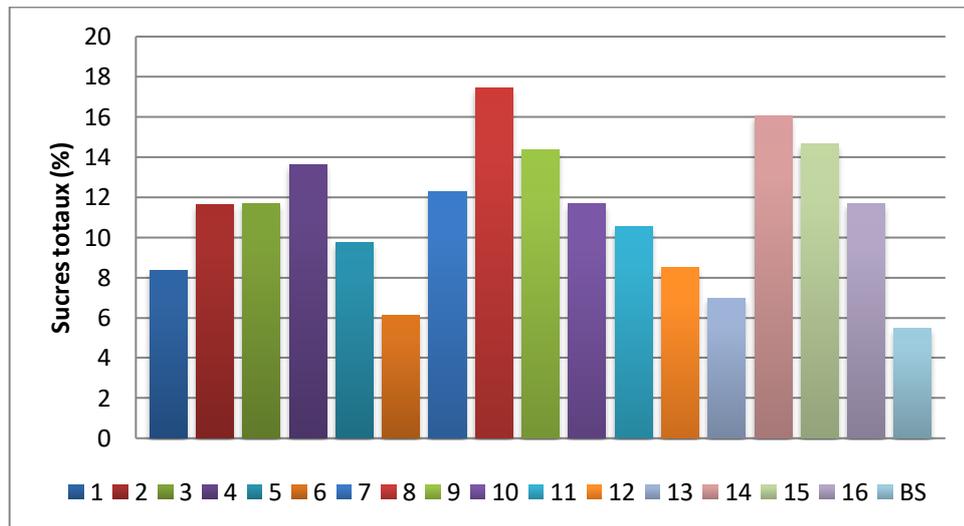


Figure 5.29: Teneur en sucres totaux des boissons formulées, et BS.

La teneur en sucre totaux des boissons formulées varie de manière significative ( $p < 0,05$ ) de  $6,14 \pm 0,06^b$  % (E6) pour la plus faible valeur, à  $17,42 \pm 0,03^o$  % (E8) pour la plus grande valeur. La boisson de référence (BS) possède un pourcentage de sucres totaux de  $5,47 \pm 0,07^a$  %.

EKANAYAKA *et al.*, [219] signalent que le lait de soja a une teneur en sucres totaux estimée à 8,45%, des valeurs similaires ont été données dans la table de composition nutritionnelle [78], à savoir 7,24% pour la boisson au soja aromatisée sucrée, et 9,5% pour la boisson au soja et jus de fruit concentré, une valeur plus faible a été indiquée pour le lait de soja nature (0,7%).

Cependant ROBALINO [220], a mentionné la valeur de 6,4% pour le lait de soja nature, et 10,5% pour le lait de lupin chocolaté. MANG *et al.*, [219], ont cité des valeurs allant de 10,52 à 13,08% pour le lait de *Mucuna pruriens*. Par ailleurs BENCHABANE *et al.*, [191], ont trouvé 11,11 % de sucres totaux dans une formule de boisson lactée à base d'extrait de dattes et de concentré d'orange.

- Teneur en calcium

Le calcium joue un rôle clé dans la santé osseuse. En effet, la figure (5.30) montre que la teneur la plus basse ( $p < 0,05$ ) en calcium est estimée à  $19,03 \pm 0,01^b$  mg/100ml (E6), et la valeur la plus élevée ( $p < 0,05$ ) est de  $34,7 \pm 0,10^p$  mg/100g (E8).

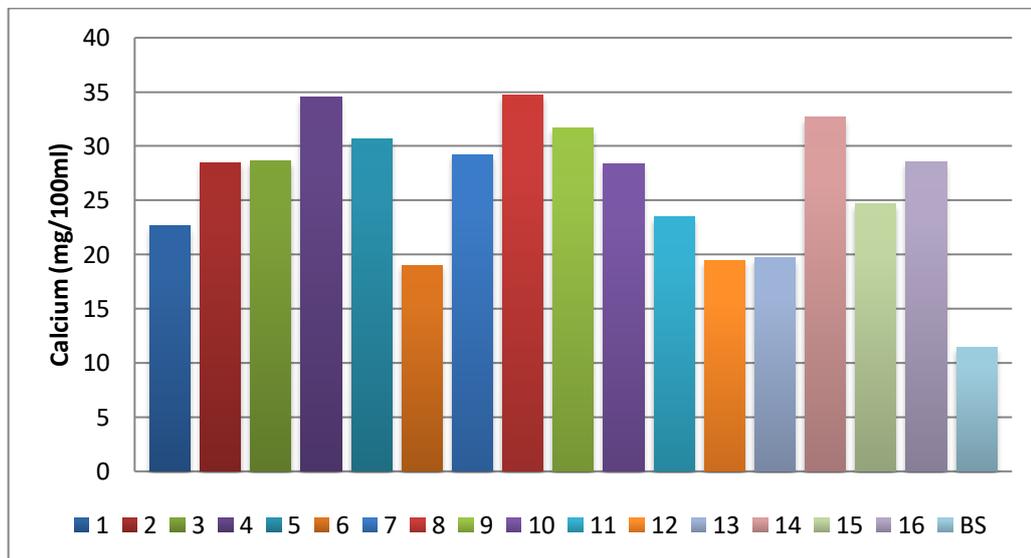


Figure 5.30 : Teneur en calcium dans les boissons formulées et BS

Cette différence entre les valeurs s'explique par le fait que certains essais contiennent des proportions plus importantes en farine de lupin et farine de dattes cas de l'E8 (20% de farine de lupin et 15% de farine de dattes), par rapport aux autres essais cas de l'E6 (9% de farine de lupin et 5% de farine dattes).

La BS a une teneur en calcium de  $11,43 \pm 0,03^a$  mg/100ml.

Les résultats obtenus sont plus importants par rapport à la valeur donnée par ROBALINO [220], qui est de 18 mg dans 100ml de boisson au lupin chocolaté. Cette différence est due probablement à la présence de quantité non négligeable de calcium dans les dattes utilisées dans l'élaboration des boissons au lupin.

Selon CHIBANE *et al.*, [211], la variété de dattes Mech-Degla contient 231,75mg de calcium/100g, AMELLAL-CHIBANE *et al.*, [227], ont trouvé une valeur plus importante 578,9 mg/100g pour la même variété.

La table de composition nutritionnelle [78], indique 12mg de calcium dans 100ml de boisson au soja nature, le même pourcentage est observé pour la boisson au soja aromatisée, sucrée.

#### ▪ Vitamine C

La vitamine C est une vitamine hydrosoluble au fort pouvoir réducteur mais très sensible à la lumière et à la chaleur. Au sein de l'organisme, elle est impliquée dans la synthèse du collagène et des globules rouges et joue un rôle de promoteur de l'absorption du fer [228].

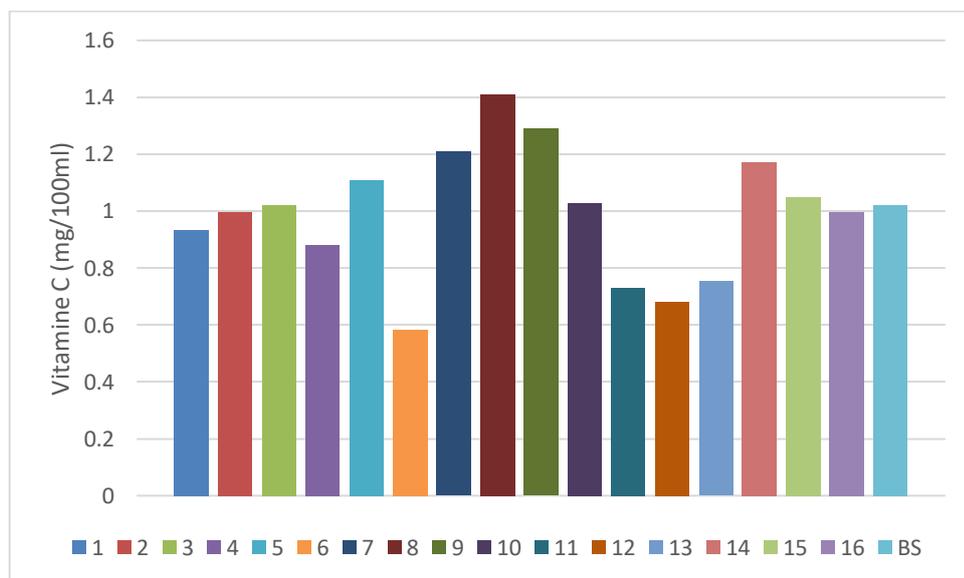


Figure 5.31 : Teneur en vitamine C dans les boissons formulées et BS.

A partir de la figure (5.31) nous pouvons dire que la teneur en vitamine C varie significativement entre  $0,582 \pm 0,02^a$  et  $1,41 \pm 0,03^h$  mg/100ml, la teneur la plus élevée a été observée dans l'E8 car il contient une quantité importante en graines de *Lupinus* et en dattes, à savoir 20% et 15% respectivement. La BS contient  $1,02 \pm 0,06^{de}$  mg de vitamine C/100ml.

ABDELDAIEM et BLASSY [153] indiquent 1,34-1,89mg/100mg de Yaourt au lait de *Lupinus albus*.

Selon la table de composition nutritionnelle CIQUAL, [78] une boisson au soja nature contient 1mg de vitamine C /100ml.

- Teneur en polyphénols totaux et évaluation de l'activité antioxydante

Une consommation régulière de végétaux permet de réduire le risque de maladies, en raison de leur richesse en composés phénoliques, constituant une bonne source d'antioxydants naturels en alimentation humaine [229].

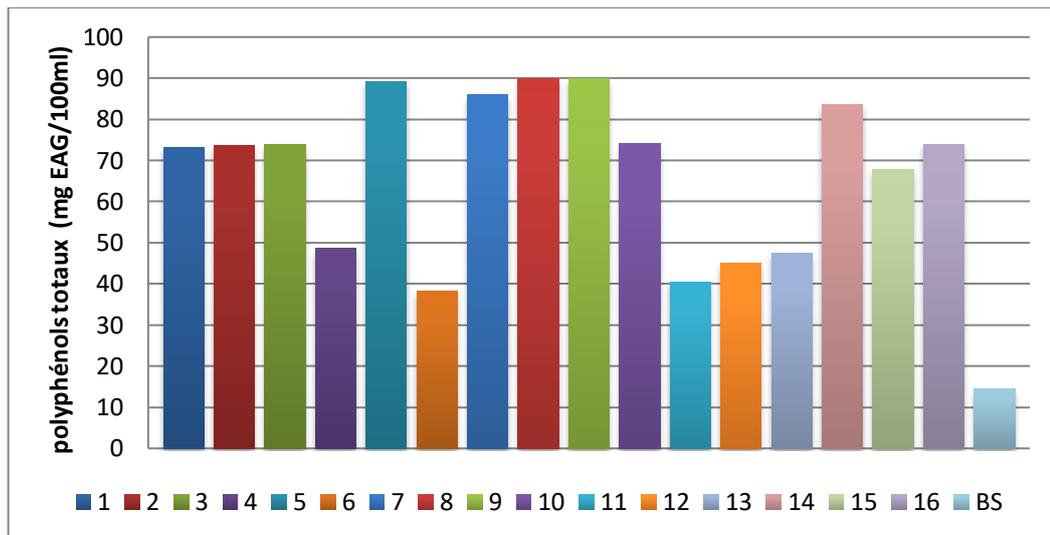


Figure 5.32 : Teneur en polyphénols totaux dans boissons formulées, et BS

Les teneurs en polyphénols totaux des boissons formulées sont de  $38,22 \pm 0,03^b$  mg EAG/100ml pour l'E6, et de  $89,91 \pm 0,06^p$  mg EAG/ 100 ml pour l'E8 (Figure 5.32). En effet, toutes les boissons formulées montrent une augmentation de la teneur en polyphénols totaux, ce qui signifie que les ingrédients ajoutés (farine de dattes et farine de lupin) peuvent modifier la teneur en composés phénoliques du produit formulé.

Selon ABDELDAIEM et BLASSY [153], la farine de *Lupinus albus* permet d'augmenter la teneur en polyphénols totaux. L'ajout de dattes a nettement amélioré la composition phénolique du dessert lacté nouvellement formulé [230]. En effet, ce fruit est une bonne source de molécules bioactives [227,231].

ANDRES *et al.*, [221], dans leurs travaux sur le lait de soja enrichi au jus de fruits ont trouvé les valeurs de 15,16 à 79,09 mg/100ml. Cette différence est due aux quantités de fruits et de légumineuses utilisées pour la réalisation des boissons.

D'autre part, les boissons formulées présentaient une teneur en polyphénols totaux proches des valeurs données par MORALES-DE LA PENA *et al.*, [232] lors de l'élaboration d'une boisson au soja et au jus de fruits, cette teneur varie de 79,88-83,09mg/100ml. MANG *et al.*, [219], ont rapporté un important contenu phénolique de 122,83 à 199,51mg/100ml pour le lait de légumineuse *Mucuna pruriens*.

Les résultats de l'activité antioxydante des boissons formulées et de la boisson de référence (BS) sont présentés dans la Figure (5.33).

Le pouvoir réducteur le plus élevé a été obtenu dans l'E8 ( $32,68 \pm 0,04^l$  %) probablement en raison de la présence de polyphénols totaux, apportés par la farine de dattes ainsi que la farine de *L.albus*. Cependant l'E6 ( $24,12 \pm 0,07^b$  %) représente le plus faible pouvoir réducteur. La boisson de référence a montré un pouvoir réducteur inférieur à celui des boissons formulées ( $18,65 \pm 0,02^a$  %).

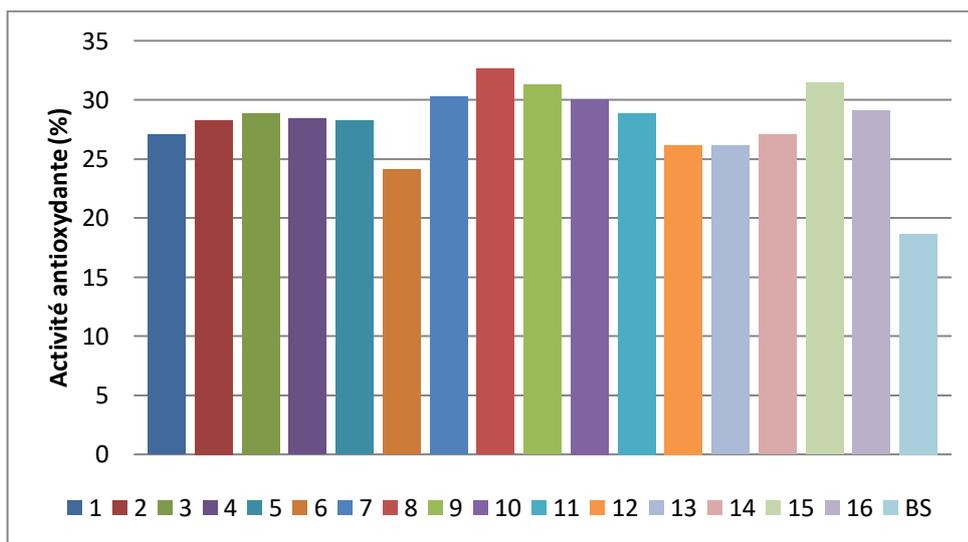


Figure 5.33: Activité antioxydant des boissons formulées et BS

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par ABDELDAIEM et BLASSY [153], où ils ont rapporté une augmentation significative du pouvoir réducteur (23,60 – 31,89%) du yaourt enrichi en lait de *L.albus*.

Selon les mêmes auteurs la farine de *L.albus* a une activité antioxydante estimée à 55,64%. D'un autre côté, MORALES-DE LA PENA *et al.*, [232], ont obtenu des résultats similaires dans leur étude sur une boisson au lait au soja et jus de fruits, caractérisé par une activité antioxydante qui varie de 27,26 à 29,61%.

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par JRIDI *et al.*, [233], TRIGUEROS *et al.*, [234] et AMERINASAB *et al.*, [235], qui ont observé l'enrichissement en polyphénols totaux et l'amélioration de l'activité antioxydante des crèmes desserts au sirop et au poudre de dattes de différentes variétés tunisiennes, du yaourt au sucre liquide de dattes et du yogourt résultant de la combinaison du sirop de palmier dattier et du lait écrémé, respectivement.

L'analyse de la variance pour les deux paramètres polyphénols et activité antioxydante indique la présence d'une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) entre les boissons étudiées, cependant le test de comparaison des moyennes permet de les classer en différents groupes homogènes ( Appendice F).

#### 5.2.2.5. Qualité microbiologique

Après 20 jours de conservation, toutes les boissons demeurent consommables avec une absence de coliformes totaux, coliformes fécaux, les staphylocoques. Cependant, on note la présence de quelques levures (Tableau 5.10) dans les boissons préparées, et BS mais qui restent toujours dans les normes.

Tableau 5.10: Dénombrement de levures dans les boissons formulées et BS.

<b>Essais</b>	<b>Levures (UFC/ml)</b>	<b>Essais</b>	<b>Levures (UFC/ml)</b>
<b>1</b>	9	<b>10</b>	5
<b>2</b>	2	<b>11</b>	8
<b>3</b>	9	<b>12</b>	8
<b>4</b>	5	<b>13</b>	7
<b>5</b>	4	<b>14</b>	5
<b>6</b>	5	<b>15</b>	8
<b>7</b>	6	<b>16</b>	5
<b>8</b>	3	<b>PR</b>	3
<b>9</b>	4	<b>Réglementation [176]</b>	100

Le pH est un paramètre qui détermine l'aptitude à la conservation des aliments.

Il constitue l'un des principaux obstacles que la flore microbienne doit franchir pour assurer sa prolifération. Ainsi, un pH de l'ordre de 3 à 6 est très favorable au développement des levures et moisissures [235]

#### 5.2.2.6. Optimisation de la formule

- Sélection des réponses

Les réponses obtenues ont permis la réalisation d'un plan d'expérience, aboutissant à la réalisation d'une matrice de corrélation réponse-réponse. Grâce à cette matrice nous avons pu détecter les corrélations qui existe entre toutes les réponses, afin d'identifier celles qui sont dépendantes et les écarter de la matrice d'expérience. On concédera que les réponses sont corrélées si  $R \geq 70 \%$ .

La matrice de corrélation établie permet de distinguer la corrélation qui existe entre l'EST et la teneur en Vitamine C, et comme les valeurs de cette dernière ne varient pas beaucoup entre les différents essais, cette réponse est donc éliminée.

L'acidité est corrélée avec plusieurs réponses à savoir : Matière grasse, Sucres totaux, Calcium, Polyphénols totaux et Activité antioxydante. On se propose donc de l'écartier. Une corrélation est également observée entre la teneur en protéines, et la teneur en polyphénols totaux.

La MG, et les polyphénols sont éliminés, alors que la réponse protéine est maintenue car elle est plus intéressante pour l'optimisation (objectif).

Les réponses (sucres totaux, goût et flaveur) sont éliminées, alors que l'acceptabilité est maintenue, car si la boisson est acceptée lors de l'analyse organoleptique ça signifie qu'elle a de bonnes propriétés sensorielles (couleur, goût, flaveur, et aspect).

- Modélisation en surface de réponse

Dans le but de réaliser la modélisation, il est important de présenter les paramètres conditionnant la qualité au sens statistique des résultats de la modélisation en surface de réponses (Figure 5.34).

La modélisation en surface de réponse pour le pH ( $R^2=0,31$  ;  $Q^2=0$ ), l'aspect ( $R^2=0,34$  ;  $Q^2= 0,0008$ ), l'EST ( $R^2= 0,62$  ;  $Q^2= 0,18$ ), la couleur ( $R^2= 0,67$  ;  $Q^2= 0,28$ ) et les cendres ( $R^2=0,68$  ;  $Q^2= 0,31$ ) est médiocres au sens statistique car le pouvoir prédictif  $Q^2$  est trop bas et  $R^2$  est inférieur à 0,70.

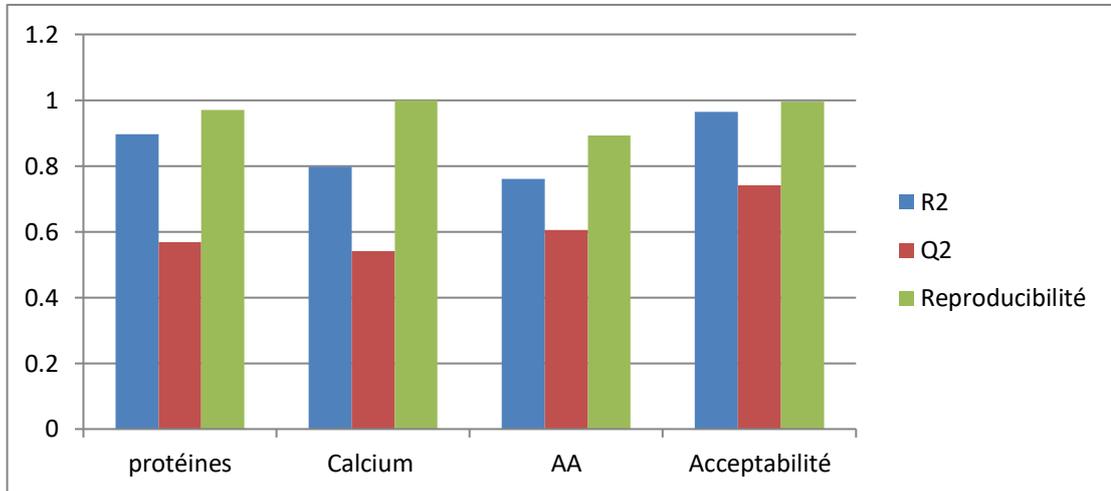


Figure 5.34: Les paramètres conditionnant la qualité au sens statistique des résultats de la modélisation en surface de réponses (Protéines, Calcium, Activité antioxydante et Acceptabilité)

Les coefficients inconnus du modèle ont été calculés pour chacune des réponses à l'aide de la régression PLS exécutée par le logiciel MODDE 6.

Les modèles mathématiques obtenus peuvent s'écrire donc la manière suivante :

$$\underline{\text{Protéines}} = 6,69 + 0,764x_1 - 0,157x_2 - 0,214x_3 - 0,337x_1^2 - 0,01x_2^2 - 0,03x_3^2 + 0,124x_1x_2 + 0,262x_1x_3 - 0,056x_2x_3 \quad (5.14)$$

$$\underline{\text{Calcium}} = 26,94 + 2,217x_1 - 1,07x_2 + 2,47x_3 + 0,63x_1^2 - 0,014x_2^2 - 0,133x_3^2 - 0,131x_1x_2 - 1x_1x_3 + 0,314x_2x_3 \quad (5.15)$$

$$\underline{\text{AA}} = 28,90 + 0,86x_1 - 0,45x_2 + 1,13x_3 + 0,03x_1^2 - 0,015x_2^2 - 0,22x_3^2 + 0,016x_1x_2 - 0,16x_1x_3 + 0,13x_2x_3 \quad (5.16)$$

$$\underline{\text{Acceptabilité}} = 3,64 - 0,07x_1 - 0,082x_2 + 0,51x_3 - 0,11x_1^2 - 0,02x_2^2 - 0,23x_3^2 + 0,04x_1x_2 + 0,07x_1x_3 + 0,07x_2x_3 \quad (5.17)$$

- Effet des facteurs sur les réponses

Les modèles mathématiques sont représentés graphiquement (Figure 5.35, et la Figure E.2 donnée en Appendice E) par des courbes « iso-réponses » qui ont le rôle de représenter les différentes relations entre les facteurs composants un modèle mathématique prédictif dans les limites du domaine d'étude permettant ainsi une meilleure comparaison entre les effets des facteurs et leurs impacts sur la réponse, ainsi que de déterminer le comportement du système étudié.

Le *Lupinus* influe de manière positive sur le taux de protéines, contrairement au facteur (eau) qui a un effet négatif sur la même réponse.

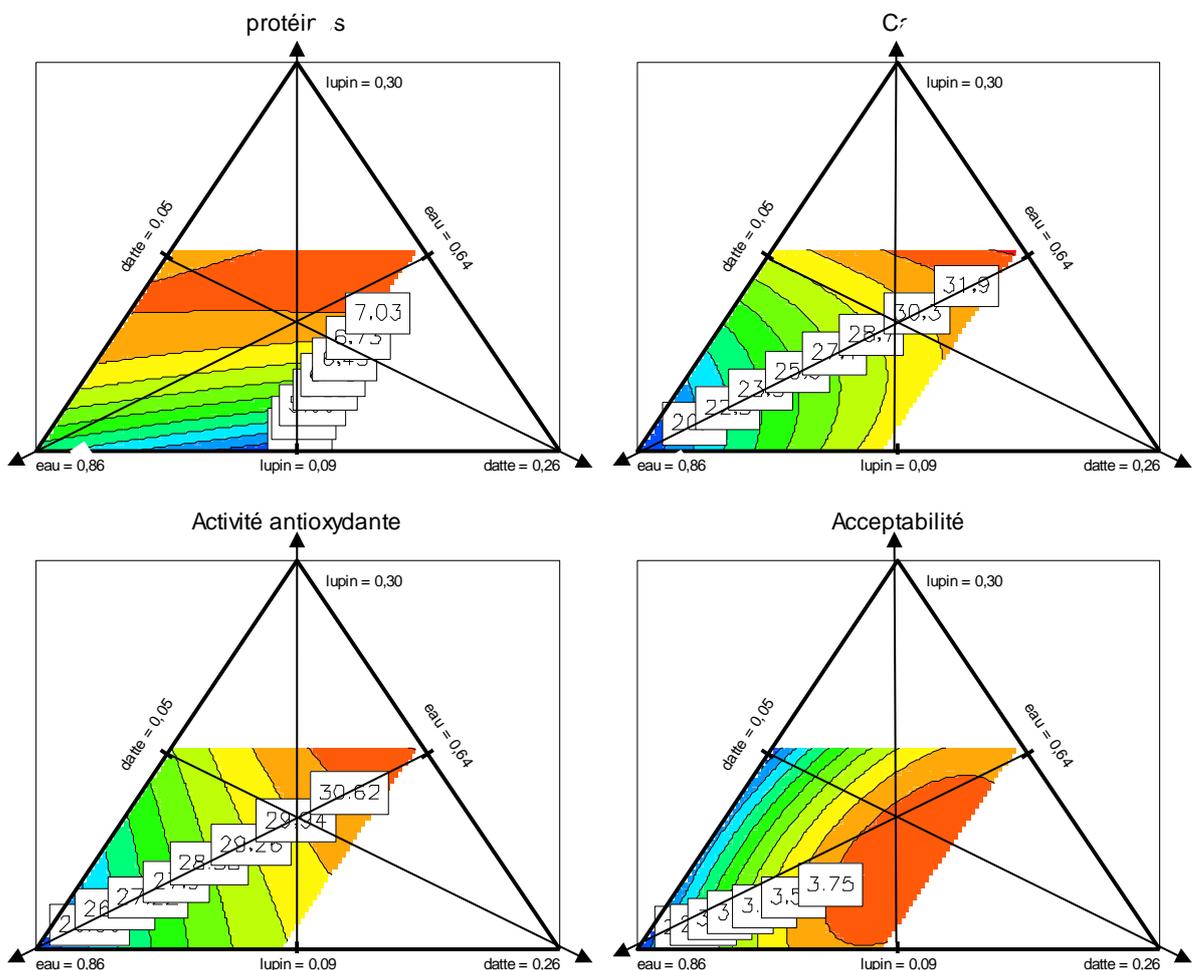


Figure 5.35: Courbes iso-réponse (Protéines, Calcium, AA, et Acceptabilité)

Les deux facteurs, qui sont la farine de *Lupinus* ainsi que la farine de dattes permettent d'améliorer les deux réponses Activité antioxydante et teneur en Calcium.

Ceci concorde avec les résultats trouvés précédemment, les deux facteurs sont d'un apport considérable en calcium et substances bioactives leurs conférant une importante Activité antioxydante (AA).

D'autre part les dattes, ont un effet positif sur la même réponse, du fait qu'elles apportent de la saveur sucrée qui est très appréciée dans les boissons. Alors que l'eau a un effet négatif sur les trois réponses à savoir l'Acceptabilité, AA, et Calcium.

- Optimisation de la formule

Nous voulons avoir une boisson ou bien un lait végétal, ayant de bonnes propriétés nutritionnelles et sensorielles.

De ce fait nous avons maximisé toutes les réponses : Teneur en Protéines, Teneur en Calcium, Activité Antioxydante et Acceptabilité.

L'optimum se déduira par dérivation de l'équation du modèle pour trouver les valeurs x des niveaux des facteurs. Les résultats d'optimisation ont donné la formule donnée dans le tableau (5.11).

Tableau 5.11: composition de la formule optimale.

<b>Facteur</b>	<b>Teneur</b>
<b>Graines <i>Lupinus albus</i></b>	19,37
<b>Eau déminéralisée</b>	65,81
<b>Dattes</b>	14,32

La formule optimale obtenue est caractérisée par des propriétés suivante : une teneur en Protéines de 7,29%, la teneur en Calcium de 33,13 mg/100ml, l'Activité antioxydante est de 31,15 %, et la note de 3,66 pour l'acceptabilité.

## CHAPITRE 6

# FORMULATION DE PRODUITS LAITIERS FRAIS

## CHAPITRE 6

### FORMULATION DE PRODUITS LAITIERS FRAIS

#### 6.1. Matériel et méthodes

Les produits laitiers frais sont considérés comme faisant partie du patrimoine alimentaire alliant fraîcheur, diversité, plaisir, tradition et santé. Ces produits sont riches en protéines et assurent un apport en vitamines et oligoéléments, particulièrement le calcium, tout en ayant un apport énergétique modéré. Toutefois, ils sont pauvres en substances bioactives (antioxydantes, en acides gras insaturés, en fer et vitamine C) [107].

Les légumineuses *Griffonia simplicifolia* et *Lupinus albus* L. peuvent constituer une matrice intéressante, pour enrichir ces aliments en substances actives et minéraux. C'est pourquoi leur incorporation s'avère une alternative intéressante et prometteuse à l'échelle industrielle.

#### 6.1.1. Formulation d'un fromage frais à base d'extrait de graines de *L. albus*

##### 6.1.1.1. Matériel

- Lait cru maigre et crème fraîche

Le lait de vache, est apporté par les collecteurs à la laiterie (ARIB, Ain Defla), où il est d'abord contrôlé puis soumis au processus d'écémage (élimination de la matière grasse), le lait écrémé est ensuite pasteurisé à 90 °C pendant 15 sec, puis conservé à 4°C jusqu'à utilisation ultérieure.

La matière grasse (crème) obtenue à partir du lait est également conservée à 4°C (figure 6.1).

- Les ferments lactiques

Sont des souches industrielles (référence : CHR –Hensen, France) fournies par la laiterie des ARIBS (figure 6.1).

- Présure

CHY-MAX® Powder plus NB, Danemark (figure 6.1). Cette présure contient deux enzymes : la chymosine et la pepsine. Elle est fournie par la laiterie ARIBS.

- Les graines de *Lupinus albus*

Les graines de lupin (figure 6.1) ont été achetées en herboristerie à Khemis Miliana (Ain defla).

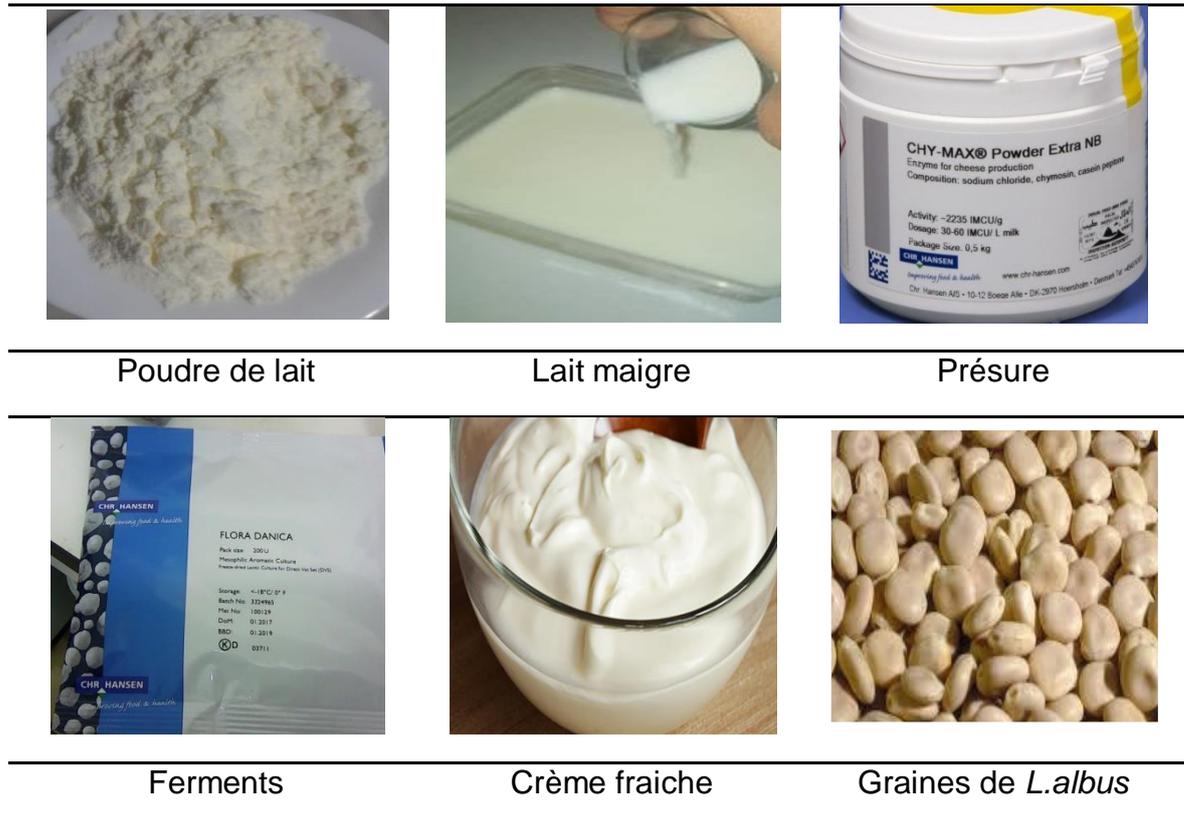


Figure 6.1 : L'ensemble des ingrédients utilisés dans l'élaboration du fromage frais

- Produit de référence (PRf)

C'est un fromage à pâte fraîche fabriqué à partir de lait de vache écrémé pasteurisé, ferments lactiques, présure et crème fraîche. Conditionné dans des barquettes de 90 g ou dans des alvéoles de 30 g en polystyrène.

À conserver entre de 4 à 6 °C, avec une date limite de consommation (DLC) de 21 jours.

### 6.1.1.2. Méthodes

- Réalisation du plan d'expérience

L'optimisation de la formule de production d'un fromage frais de type petit suisse faite à base d'extrait aqueux de *L. albus* a été réalisée à l'aide d'un plan d'expérience « plan de mélange » à trois facteurs : poudre de lait, lait cru, et extrait aqueux de *Lupinus albus*, à deux niveaux, avec trois répétitions du point central. Les facteurs modélisant le système sont représentés dans le tableau (6.1)

Tableau 6.1 : Matrice du plan de mélange « fromage frais à l'extrait de *Lupinus* »

Essais	Ferments et présure	Crème	Extrait	Lait cru	Poudre de lait
1	0,004	4	52,9997	33,9963	9
2	0,004	4	32,1665	56,1628	7,6667
3	0,004	4	32,1665	56,1628	7,6667
4	0,004	4	10	78,996	7
5	0,004	4	10	75,996	10
6	0,004	4	32,1665	56,628	7,6667
7	0,004	4	51,9997	33,9963	10
8	0,004	4	54,9997	33,9963	7
9	0,004	4	32,1665	56,1628	7,6667
10	0,004	4	11	78,996	6
11	0,004	4	23,9999	61,9961	10
12	0,004	4	40,3331	49,6629	6
13	0,004	4	10	76,996	9
14	0,004	4	54,9997	34,9963	6

- Préparation de l'extrait aqueux des graines de *Lupinus albus*

L'extrait est préparé à partir des graines de *Lupinus albus* selon la méthode d'ELSAMANI et *al.*, [80] avec certaines modifications (figure 6.2).

Les graines de lupin ont été nettoyées manuellement pour enlever la poussière, les graines cassées et infectées, puis hydratées dans l'eau distillée bouillie pendant 30 min.

Le tégument est retiré de la graine manuellement. Les cotylédons sont ensuite trempés dans l'eau distillée à raison de 1/8 (cotylédons : eau (p/v)) pendant 3 jours à température ambiante (25°C) avec des changements fréquents de l'eau de trempage, cette opération a pour but d'éliminer les alcaloïdes responsables de la saveur amer. Après égouttage les cotylédons (figure 6.3) sont broyés à l'aide d'un broyeur électrique pendant 5 min à haute vitesse ; de l'eau chaude (40 – 50°C) a été ajoutée progressivement pendant le broyage. Le broyat obtenu est homogénéisé par ultrasons, centrifugé (2600 tours/min ,5 min) et puis filtré (0,5 mm). L'extrait de lupin (figure 3.4) a été traité thermiquement à 100°C pendant 20 min pour inactiver la lipoxygénase, puis stocké à 4 °C.

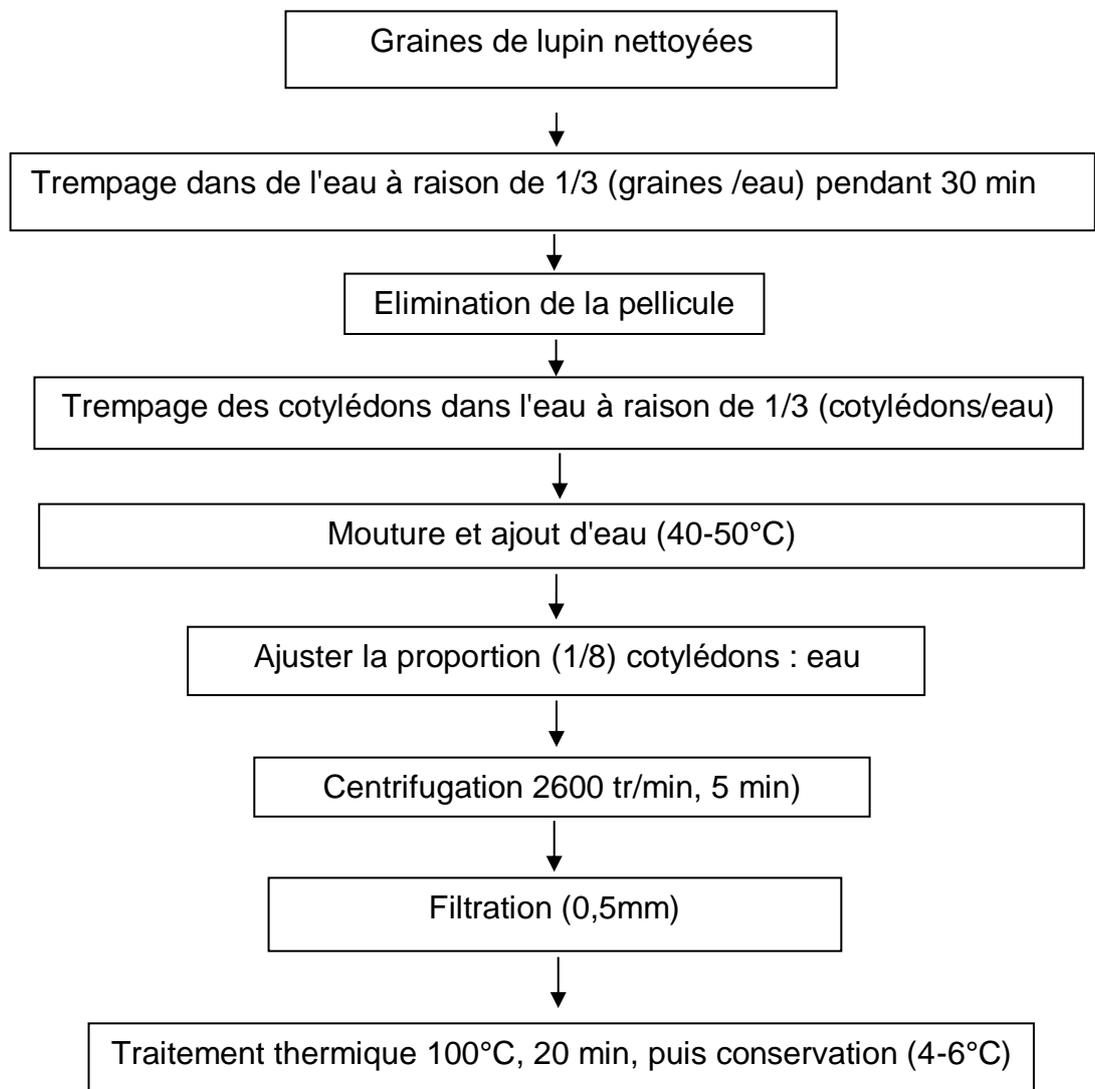
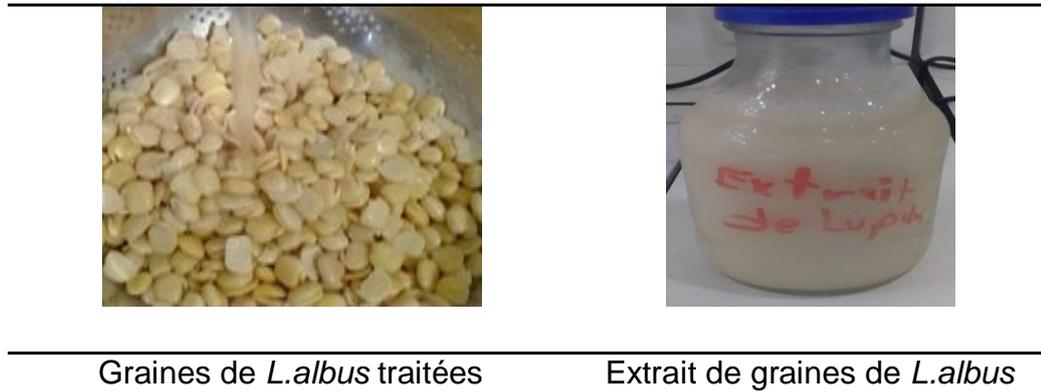


Figure 6.2: Diagramme de préparation de l'extrait de *Lupinus*

Graines de *L.albus* traitéesExtrait de graines de *L.albus*Figure 6.3 : Photographie des graines de *L.albus* après traitement et leur extrait

- Réalisation des différentes formules

Dans un premier temps, on additionne de la poudre de lait à 0% de MG, et l'extrait aqueux de *Lupinus* au lait écrémé et pasteurisé (standardisation). L'ensemble est homogénéisé et maintenu à la température de 35°C, c'est à ce moment-là que se fait l'ensemencement par les ferments lactiques mésophiles et emprésurage (figure 6.4).



Ensemencement

Décaillage

Pâte fraîche

Figure 6.4: Photographie de quelques étapes de fabrication du fromage

Le caillage (maturation) est réalisé à température ambiante (25-30°C) pendant 12 à 16 heures. Après formation d'un coagulum, le caillé lactique est découpé (figure 6.4) en grains de 8 mm environ, puis subit une thermisation à 60°C pour faire remonter le lactosérum mais aussi et surtout pour réduire la flore microbienne.

L'égouttage se fait à travers un tissu filtrant déposé sur une écumoire (figure 6.4) permettant la séparation des deux phases lactosérum et caillé.

La pâte maigre obtenue est additionnée de crème fraîche, la pâte fraîche obtenue est conditionnée dans des pots stériles (figure 6.4) et conservée à 4°C pendant 20 jours. Les 14 essais ont été réalisés en respectant le diagramme de fabrication du fromage frais fabriqué à la laiterie ARIB (Figure 6.5).

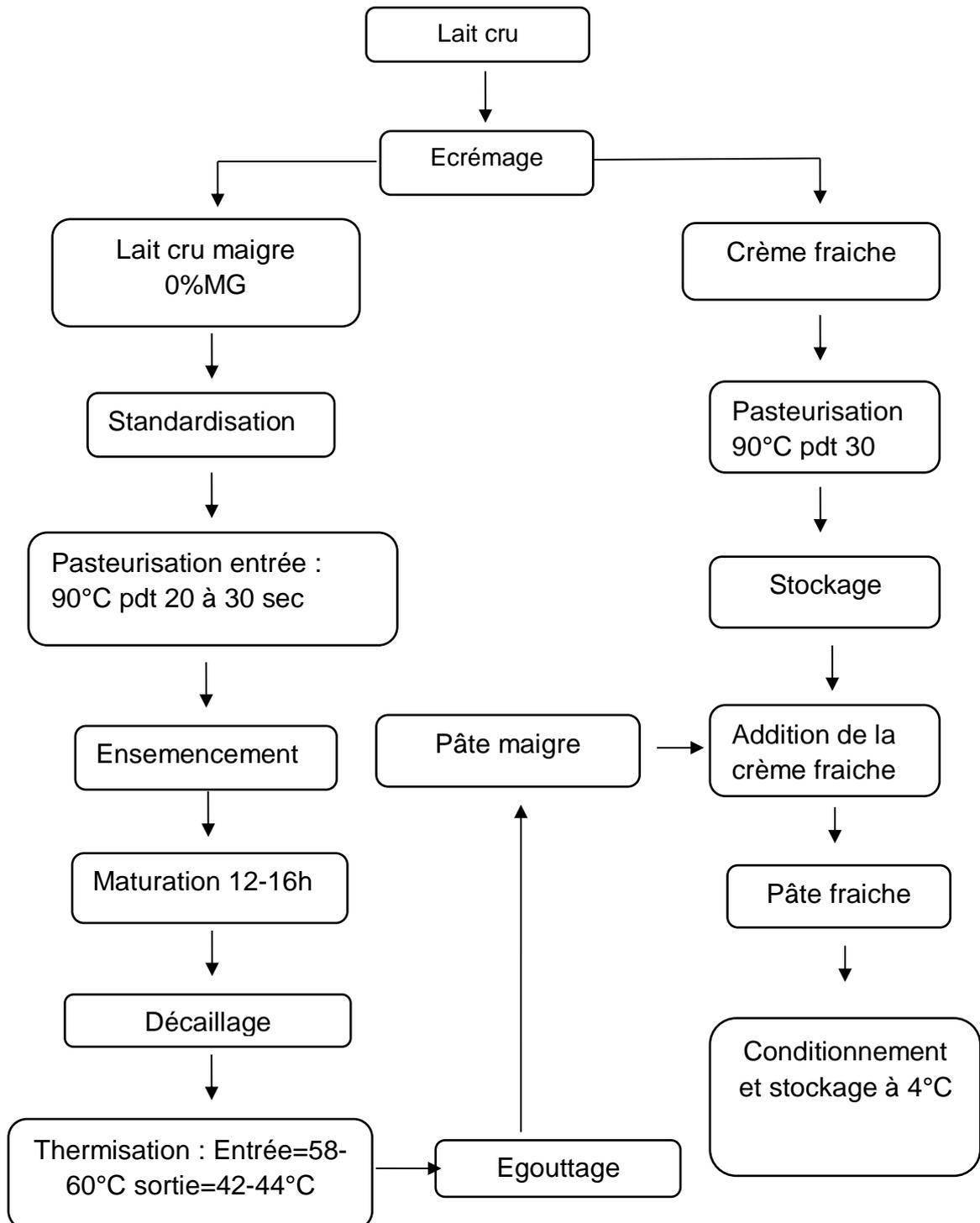


Figure 6.5 : Diagramme de la fabrication du fromage frais (PR) à la laiterie d'ARIB.

### 6.1.2. Formulation de crème de riz à partir de *Griffonia simplicifolia*

Dans cette partie, l'attention s'est portée sur une plante intéressante par sa richesse en précurseurs de neurotransmetteurs, et en éléments nutritifs (acides aminés indispensables et acides gras essentiels). La graine de *Griffonia simplicifolia* renferme du 5-HTP, précurseur direct de la sérotonine [39].

Pour cette raison, nous avons opté pour l'incorporation de cette plante, mais aussi à remplacer le sucre par de la poudre de dattes pour valoriser les dattes de faibles valeurs marchandes de la variété Degla-Beida, dans un dessert lacté de type crème de riz « Mhalbi ».

#### 6.1.2.1. Matériel

Le lait pasteurisé demi-écrémé ainsi que le sucre ont été fournis par la laiterie ARIB, le riz utilisé est un riz dont le grain est rond, SOS Spécial Desserts.

Les dattes sont de variété Degla Beida (figure 6.6), achetées au marché local de Khemis Miliana, elles proviennent de Biskra. L'extrait de fleur d'oranger est produit de manière artisanale, et utilisé pour ses propriétés aromatisantes.

Les graines de *Griffonia simplicifolia* (figure 6.6) sont achetées chez un herboriste en France, elles proviennent du Ghana.

Le produit de référence (PR) de crème de riz (figure 6.6) a été élaboré par la méthode traditionnelle (farine de riz, sucre, lait, extrait de fleur d'oranger, cannelle).



*Griffonia simplicifolia*

Degla Beida

Crème de riz de référence

Figure 6.6 : Ingrédients utilisés pour l'élaboration de la crème de riz à la *Griffonia simplicifolia*

### 6.1.2.2. Pré formulation

Pour pouvoir atteindre l'objectif de réaliser une crème de riz faite à base de graines de *G. simplicifolia*, et de dattes à faible valeur marchande et ayant une grande valeur nutritionnelle, nous avons mis au point une nouvelle formule en utilisant la méthode des plans d'expériences « plan de mélange ». La formule de base utilisée dans ce travail est une crème de riz traditionnelle dont la composition est donnée dans le tableau (6.2).

Tableau 6.2: Composition des deux formules (traditionnelle et nouvelle) de crème de riz

Ingrédients	Formule traditionnelle	Nouvelle formule
<b>Lait</b>	75,5	73
<b>Farine de riz</b>	9	8 -11
<b>Extrait de fleur d'oranger</b>	1	1
<b>Sucre</b>	14	0
<b>Cannelle</b>	0,5	0,5
<b>Farine de dattes</b>	-	11,5-14
<b><i>Griffonia simplicifolia</i></b>	-	0,5-6

### 6.1.2.3. Préparation de la matière première

Les dattes sont d'abord nettoyées, triées, puis découpées en petits morceaux et séchées dans une étuve à 40 °C jusqu'à l'obtention d'un poids constant, puis broyées dans un broyeur électrique pour obtenir une poudre (Figure 6.7).

Ensuite, la poudre a été passée à travers un tamis de 125 µm, la poudre est ensuite stockée dans des boîtes étanches à l'air jusqu'à utilisation.



Figure 6.7 : Farine de dattes

Les graines de *Griffonia simplicifolia* ainsi que les graines de riz ont également été broyées par un broyeur électrique de marque Moulinex puis tamisées à travers un tamis fins (125 µm), elles sont illustrées sur la figure (6.8).



Figure 6.8: Farine de riz et farine de *Griffonia simplicifolia*

#### 6.1.2.4. Réalisation des différents essais

Moyennant le logiciel MODDE 6 dans lequel nous avons introduit les différents niveaux de facteurs (tableau 6.2-6.3), seize formules à réaliser ont été obtenues en variant les trois facteurs : poudre de dattes, poudre de de riz, poudre de *G. simplicifolia*. Les facteurs lait, extrait de fleur d'oranger et cannelle ont été figés.

Tableau 6.3: La matrice du plan de mélange « crème de riz ».

Essais	Farine de dattes	Farine de riz	Lait	Eau de fleur d'oranger	Cannelle	<i>G.simplicifolia</i>
1	13,17	8	73	1	0,5	4,33
2	12,75	9,5	73	1	0,5	3,25
3	14	11	73	1	0,5	0,5
4	11,5	10	73	1	0,5	4
5	12,75	9,5	73	1	0,5	3,25
6	14	10	73	1	0,5	1,5
7	12,75	9,5	73	1	0,5	3,25
8	12,75	9,5	73	1	0,5	3,25
9	12,33	8	73	1	0,5	5,17
10	12,33	11	73	1	0,5	2,17
11	13,17	11	73	1	0,5	1,33
12	14	9	73	1	0,5	2,5
13	11,5	8	73	1	0,5	6
14	14	8	73	1	0,5	3,5
15	11,5	9	73	1	0,5	5
16	11,5	11	73	1	0,5	3

Dans un récipient, on mélange le lait, qui est l'ingrédient de base, avec des proportions différentes de farines de dattes et de riz (tableau 6.3). Le mélange d'ingrédients a été bien homogénéisé, et mis sous agitation dans un bain marie à 80 °C pendant 45 min, puis se fait l'ajout de la cannelle, poudre de *Griffonia simplicifolia* et de l'eau de fleur d'oranger, l'ensemble est ensuite pasteurisé à 90°C pendant 5 min, conditionné dans des pots stériles, refroidit et conservé dans un réfrigérateur à 4±2 °C.

### 6.1.3. Analyses physico-chimiques de la matière première

Les ingrédients (lait, extrait aqueux de lupin et datte Dega Beida) ayant servis à l'élaboration du fromage frais au lait de lupin et crème de riz enrichis en *G. simplicifolia*, ont subi une série d'analyses physico-chimiques, photochimiques et microbiologiques.

Le lait, l'extrait de lupin (lait végétal de lupin) et les dattes sont analysés pour leur contenu en extrait sec total, teneur en cendres, les sucres totaux, protéines (N×6,38 pour le lait et N×5,8 pour le lait végétal de lupin, N×6,25 pour les dattes) [120]. Le pH est déterminé par un pH mètre, et l'acidité est déterminée par titrage au NaOH [158]. La matière grasse est déterminée par la méthode de Soxhlet pour les dattes [158], et par la méthode de Gerber ou méthode acido-butyrométrique [236] pour le lait et le lait végétal.

#### 6.1.3.1. Détermination de la teneur en calcium du lait et de l'extrait de lupin

Après digestion acide des cendres par l'acide nitrique (HNO<sub>3</sub>) et dilution appropriée, le calcium est dosé par spectrométrie d'absorption atomique [120].

#### 6.1.3.2. Analyses phytochimiques des dattes

- Extraction des composés phénoliques

Les composés phénoliques des dattes ont été extraits par agitation selon la méthode [169]. Un gramme de farine de dattes a été extrait avec 20 ml d'éthanol à 50 % (v/v). Le mélange éthanol-échantillon a été maintenu sous agitation magnétique avec un agitateur pendant 24 heures à température ambiante. Les extraits ont ensuite été filtrés sur papier Wattman (n° 4).

Le volume final de la solution a été ajusté par le niveau d'éthanol et stocké à 4 °C pour le dosage des composés phénoliques.

Ces extraits ont été utilisés pour déterminer la teneur totale en phénols, et l'activité antiradicalaire des fruits du palmier-dattier.

- Dosage des composés phénoliques totaux

La teneur en composés phénoliques a été déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu et l'acide gallique comme standard tel que décrit par [170]. 500 µl de chaque extrait ont été ajoutés à 2,5 ml de Folin-Ciocalteu. Après 5 min, 2 ml de carbonate de sodium (75 g/l) ont été ajoutés. Le mélange a été incubé à 50 °C pendant 15 minutes et l'absorbance a été mesurée à 760 nm. La concentration en composés phénoliques a été déterminée par référence à la courbe d'étalonnage tracée avec l'acide gallique et exprimée en mg d'acide gallique équivalent pour 1 g de matière sèche (mg EAG/g MS).

- Activité antioxydante (DPPH)

La capacité de l'extrait à piéger le radical libre DPPH a été déterminée par la méthode de [172]. 100 µl d'échantillons ont été mélangés avec 2,9 ml de DPPH dans le méthanol ( $6.10^{-5}$ M). Après 30 min d'incubation dans l'obscurité à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 515 nm. Le pourcentage d'activité de piégeage a été calculé selon l'équation (6.1).

$$DPPH (\%) = \frac{A_{cont} - A_{ext}}{A_{cont}} \times 100 \quad (6.1)$$

Où  $A_{cont}$  est l'absorbance du contrôle (sans extrait) après 30 min et  $A_{ext}$  est l'absorbance de l'extrait.

#### 6.1.4. Analyse microbiologique de la matière première

Le contrôle de la qualité microbiologique a été effectué sur les matières premières (lait et l'extrait de lupin) à 4 °C d'entreposage à froid. Cette analyse a été entreprise afin d'assurer la qualité hygiénique des matières premières. Elle consiste à rechercher et à dénombrer certaines espèces ou certains groupes de bactéries les plus représentatives.

Dans des conditions d'asepsie, une série de dilutions décimales [177] ont été réalisées en diluant 1 ml de la solution mère (lait et extrait de *Lupinus*) dans 9 ml d'une solution de tryptone sel stérile, ce qui constitue la dilution  $10^{-1}$ . Après homogénéisation à l'aide d'un vortex, la même opération a été répétée pour l'obtention des dilutions successives. Les différents germes recherchés sont la flore totale aérobie mésophile, entérobactéries, levures et moisissures pour le lait l'extrait de lupin leur milieu de culture. Les températures et temps d'incubation sont regroupés dans l'appendice D.

#### 6.1.5. Evaluation sensorielle des produits élaborés

Les propriétés organoleptiques d'un produit jouent un rôle primordial dans sa perception avant usage ou consommation et dans son appréciation lorsqu'il est consommé ou utilisé. Selon DANIEL et ROUDOT [237], elle constitue un véritable outil de mesure fiable et indépendant qui permet d'évaluer, d'une part les préférences des consommateurs et prévoir ce qui motive leurs choix.

Dans l'optique de réaliser l'évaluation sensorielle des deux préparations alimentaires élaborées (fromage au lait de lupin, et crème de riz enrichie en *G. simplicifolia*), nous avons entamé des tests sur 42 individus, certains travaillent à la laiterie d'ARIB, alors que les autres sont des étudiants et enseignants de l'université de Djali Bounaama (Khemis Miliana), leur âge varie entre 21 à 55 ans, (18 femmes et 24 hommes). L'évaluation des produits se fait sur une fiche de dégustation (Appendice C) basée sur toutes les caractéristiques sensorielles selon une échelle de notation structurée de 0 à 5.

Les caractéristiques organoleptiques des produits laitiers comportent : l'apparence (couleur), la texture, et l'ensemble des sensations olfacto-gustatives (l'odeur, la saveur). L'aspect du produit laitier, sa couleur, son odeur, sa consistance, sa saveur, son arôme stimulant les sens ; de la vue, de l'ouïe, du toucher, de l'odorat et du goût et provoquant des réactions plus ou moins vives d'acceptation ou de rejet.

Les séances de dégustation de nos produits préparés (fromage frais et crème de riz) se sont déroulées par groupe de 5 afin de ne pas créer une contrainte trop forte sur les individus.

### 6.1.6. Evaluation physico-chimique des produits finis

#### 6.1.6.1. Détermination de l'extrait sec total (EST)

L'extrait sec total (EST), représente la masse restante après évaporation totale de l'eau. Pour la détermination de l'EST ; 3 g de produit laitiers (fromage, et crème de riz) ont été portés à 105 °C pendant 10 min dans un dessiccateur et la matière sèche a été exprimée en (%) [158].

#### 6.1.6.2. pH et acidité

Le pH a été mesuré à 25 °C en utilisant un pH-mètre (HI 8417, Hanna Instruments, Italie). L'acidité a été évaluée uniquement pour le fromage selon la méthode précédemment décrite [158].

Les deux paramètres ont été déterminés à J0, J10 et J20 et cela en vue d'évaluer la stabilité des fromages formulés. Cependant le pH a été mesuré après 10 jours de l'élaboration des crèmes de riz.

#### 6.1.6.3. Détermination de la teneur en cendres

Initialement, 1,5 à 2,0 g d'échantillons ont été placés dans le creuset (le poids du creuset et des échantillons ont été enregistrés). Après chauffage à 105 °C pendant 2 heures et refroidissement dans le dessiccateur, les échantillons ont été repesés et soumis à un chauffage pendant 5 heures à 550 °C [158].

Les échantillons obtenus ont été conservés dans un dessiccateur, refroidis à température ambiante et pesés à nouveau. Leurs teneurs en cendres ont été déterminées en utilisant l'équation (6.2).

$$Teneur\ en\ cendres\ (\%) = \left[ \frac{S - S_c}{S} \right] \cdot 100 \quad (6.2)$$

Où S est le poids initial de l'échantillon et Sc est le poids de l'échantillon après avoir été soumis à la calcination.

#### 6.1.6.4. Détermination de la teneur en matière grasse

La détermination de la teneur en matière grasse du fromage et de la crème de riz, est basée sur la méthode de Gerber [236].

La matière grasse de l'échantillon est séparée par centrifugation au butyromètre, après avoir dissous les protéines par l'acide sulfurique. La séparation de la matière grasse est favorisée par l'addition d'une petite quantité d'alcool iso amylique. La teneur en matière grasse est obtenue par lecture directe sur l'échelle du butyromètre. Ceci est effectué par un traitement acide approprié (10 ml d'acide sulfurique concentré à 91-92% pour 3g d'échantillon de lait). Déposer le butyromètre dans un bain marie à une température de 65 °C pendant 20 min jusqu'à avoir un produit fondu. L'addition de l'alcool iso amylique (1 ml) favorise une séparation très nette entre les lipides et la solution acide. Les lipides libérés sont ensuite séparés par centrifugation (1040 tr/min pendant 5 minutes). Ensuite on note sur l'échelle du butyromètre le pourcentage du taux de lipides contenus dans le lait. La teneur en matière grasse du produit exprimé en pourcentage massique est déterminée par l'expression (6.3).

$$MG (\%) = B - A \quad (6.3)$$

MG: matière grasse exprimé en (g/100g)

A : valeur correspondante à l'extrémité inférieur de la colonne grasse

B : valeur correspondante à l'extrémité supérieur de la colonne grasse.

#### 6.1.6.5. Les protéines et sucres totaux

La teneur en protéines des fromages, et crèmes de riz formulés et aussi le PRf et PRcr a été déterminée par la Méthode de KJELDAHL. La teneur en matière protéique totale est obtenue en multipliant la teneur en azote total par le coefficient de conversion qui est de 6,38 pour les produits laitiers [120].

Les sucres totaux ont été déterminés (pour les crème de riz) par la méthode de DUBOIS, en présence du phénol et de l'acide sulfurique concentré, les oses donnent une couleur jaune orangé, dont l'intensité est proportionnelle à la concentration des sucres totaux. La densité optique est déterminée à 490 nm. Une gamme étalon est préparée à partir d'une solution de glucose à 0,1% [160].

#### 6.1.6.6. Le calcium

La teneur en calcium a été déterminée pour les fromages formulés et PRf par la même méthode utilisée pour le lait [120].

### 6.1.7. Analyse phytochimique des crèmes de riz

#### 6.1.7.1. Préparation des extraits

Selon la méthode décrite par AMERINASAB *et al.*, [238], 10 mg de chaque échantillon de crème de riz ont été extraits avec 10 ml d'eau distillée à température ambiante en utilisant une plaque agitatrice. Le mélange a été centrifugé à 4000 rpm pendant 20 minutes et le surnageant a été ainsi recueilli. La suspension a été filtrée à travers un papier filtre Wattman n° 4. Le filtrat a été utilisé comme solution mère pour l'analyse des composés phénoliques et l'évaluation de l'activité antioxydante.

#### 6.1.7.2. Dosage des polyphénols totaux

Les teneurs en polyphénols totaux des crèmes de riz ont été déterminées comme décrit par GEORGE *et al.*, [170].

#### 6.1.7.3. Évaluation de l'activité antioxydante (Activité antiradicalaire DPPH)

La capacité des extraits à piéger les radicaux libres DPPH a été déterminée par la méthode de MILARDOVIC *et al.*, [172].

### 6.1.8. Analyse microbiologique des produits finis

Les produits laitiers frais sont un milieu très favorable au développement des microorganismes grâce à leur richesse en lait. La laiterie est un secteur industriel où le contrôle microbiologique (matières première et produit fini) joue un rôle fondamental. La méthode de préparation des dilutions décimales [175], ainsi que les techniques de recherche et dénombrement des différents microorganismes sont décrites en Appendice (D).

### 6.1.9. Analyse rhéologique des crèmes de riz

L'objectif de ce test est de caractériser le comportement rhéologique des crèmes de riz formulées et PRcr, puis de déterminer ensuite le modèle rhéologique auquel elles obéissent. Un deuxième test de la viscoélasticité a été effectué,

L'étude est réalisée à l'aide d'un rhéomètre (figure 6.9) rotatif « ANTON PAAR MCR 302 » muni d'un système de mesure de type « plan-plan » de 20 mm de diamètre.

Le rhéomètre est relié à un thermostat, où la température est fixée à  $10 \pm 1 \text{C}^\circ$ , sélectionnée comme étant la température représentative de consommation habituelle des desserts lactés.



Figure 6.9: Rhéomètre ANTON PAAR MCR302

#### 6.1.9.1. Propriétés de cisaillement à l'état stable

Pour l'obtention des courbes d'écoulement, on fait varier la vitesse de cisaillement de  $0,001-1000 \text{ s}^{-1}$ , avec un nombre de points de mesure (30). Chaque lot a été mesuré en triple pour la reproductibilité, en utilisant un échantillon frais pour chaque mesure. Le rhéogramme obtenu donne la variation de la contrainte de cisaillement  $\tau$  (Pa), et de la viscosité apparente  $\eta$  (Pa.s), en fonction de la vitesse de cisaillement  $\dot{\gamma}$ . Les crèmes de riz sont représentés, par une loi de puissance ou encore loi d'Ostwald.

$$\tau = k\dot{\gamma}^n \quad (6.4)$$

Avec :

$\tau$  : Contrainte de cisaillement en Pa

$\dot{\gamma}$  : Vitesse de cisaillement en  $\text{s}^{-1}$

K : Indice de consistance en  $\text{Pa.s}^n$

n : Indice d'écoulement sans dimension avec  $0 < n < 1$

L'indice d'écoulement ( $n$ ) est choisi car il détermine la façon dont le flux se développe avec précision, si  $n < 1$  les fluides sont appelés pseudo-plastiques, ces fluides circulent plus facilement en augmentant le taux de cisaillement.

D'autre part, lorsque  $n > 1$ , la résistance à l'écoulement augmente avec l'augmentation du taux de cisaillement, et on l'appelle un fluide dilatant (épaississement par cisaillement).

#### 6.1.9.2. Propriétés viscoélastiques

Les crèmes de riz élaborées ont été caractérisées par des mesures de cisaillement oscillatoire de faible amplitude, des balayages de contraintes ont été réalisés entre 0,001 et 1000 %, à une fréquence de 1 Hz, dans tous les systèmes étudiés pour déterminer la zone de viscoélasticité linéaire.

Les paramètres rhéologiques oscillatoires utilisés pour comparer les propriétés viscoélastiques des échantillons étaient le module élastique ( $G'$ ) et le module visqueux ( $G''$ ).

#### 6.1.10. Analyses statistiques

L'analyse de variance (ANOVA) a été réalisée en utilisant SPSS 26 (IBM, France). Le test multiple de Tukey a été utilisé pour comparer les moyennes des paramètres estimés. Les évaluations étaient basées sur le niveau de signification ( $p < 0,05$ ).

## 6.2. Résultats et discussion

### 6.2.1. Formulation de fromage fait à base d'extrait de *Lupinus albus*

#### 6.2.1.1. Caractérisation physico-chimique de l'extrait aqueux de *L.albus* et du lait reconstitué

La composition chimique de l'extrait aqueux des graines de *L. albus* qui a permis la préparation du fromage a été comparée à celle du lait reconstitué. Le tableau ci-dessous représente les résultats trouvés.

Tableau 6.4 : Composition chimique de l'extrait aqueux des graines de *L. albus* en comparaison avec celle du lait reconstitué.

Composition (g/100g)	Extrait aqueux de <i>L.albus</i>	Lait reconstitué
<b>Protéines</b>	7,25 <sup>b</sup> ±0,08	3,51 <sup>a</sup> ±0,09
<b>Matière grasse</b>	6,01 <sup>b</sup> ±0,06	1,50 <sup>a</sup> ±0,10
<b>Sucres totaux</b>	4,14 <sup>b</sup> ±1,03	2,00 <sup>a</sup> ±1,10
<b>Matière sèche</b>	11,34 <sup>b</sup> ±0,07	10,52 <sup>a</sup> ±0,12
<b>Cendres</b>	0,44 <sup>a</sup> ±0,08	1,23 <sup>b</sup> ±0,09
<b>Calcium</b>	0,08 <sup>a</sup> ±0,12	0,12 <sup>b</sup> ±0,09
<b>pH</b>	6,15 <sup>a</sup> ±0,31	6,71 <sup>b</sup> ±0,12

Les valeurs sont présentées sous forme de la moyenne±écart type.

Les valeurs avec des lettres (a-b) étaient significativement différentes (Tukey,  $p < 0,05$ ).

Le lait de lupin présente une teneur en protéines, en matière grasse, et en sucres totaux significativement plus élevée ( $p \leq 0,05$ ) que le lait reconstitué. ELSAMANI *et al.* [80], ont rapporté des résultats différents pour la teneur en protéines des graines (46,3 g / 100 g) et pour l'extrait de lupin (4,9 g / 100 g). Le lait de lupin contient une proportion de 5 g de matière grasse pour 100 ml d'extrait. Toutefois, une partie des protéines et d'autres éléments tels que les glucides, les alcaloïdes et les tanins pourraient être perdus lors du trempage des graines [77].

La teneur en cendres du lait reconstitué est significativement ( $p < 0,05$ ) plus élevée que celle de l'extrait de lupin, ce qui indique que le calcium est plus abondant dans le lait par rapport à l'extrait de lupin. Cette différence est due à la lixiviation des sels minéraux lors des processus de trempage et de rinçage des graines. Les légumineuses sont de bonnes sources de minéraux avec une teneur en calcium plus élevée que celle de la plupart des céréales. La farine de graines de lupin peut être utilisée comme complément à la farine de céréales pour améliorer sa teneur en calcium [137, 239].

La teneur de l'extrait aqueux de lupin en protéines est plus élevée ( $p < 0,05$ ) que le lait reconstitué. Dans le lait de lupin, la quantité des protéines est 6 fois inférieure à celle des graines de lupin, mais elle est encore plus élevée que celle du lait de vache. Selon NALLE *et al.*, [154], cette différence est probablement due à la richesse des graines de *Lupinus* en protéines 30 à 50g/100g. Cependant la diminution de la teneur en protéines dans l'extrait de *Lupinus* par rapport à la graine peut être expliquée par leur déperdition partielle lors des différentes étapes de préparation de l'extrait notamment le trempage des cotylédons [77,80].

La teneur en matière grasse est significativement plus élevée ( $p < 0,05$ ) dans l'extrait de *lupin* que dans le lait de vache. Le résultat retrouvé pour la matière sèche concorde avec celui obtenu par HOURIA [240], qui est de 10,60 g/100 ml.

Le pH de l'extrait aqueux de *Lupinus albus* est de  $6,15 \pm 0,31^a$ , ELSAMANI *et al.*, [80], ont trouvé la valeur de 6,30. Le pH du lait est au voisinage de la neutralité, ce résultat concorde avec celui obtenu par MANSOUR [241], avec un pH compris entre 6,6 et 6,8 du lait à l'état frais.

#### 6.2.1.2. Analyses microbiologiques de la matière première

- Le lait

Le lait constitue la principale matière première utilisée dans la fabrication du fromage et desserts lactés. Le contrôle microbiologique est une étape primordiale pour garantir un produit fini de bonne qualité et sécurisé.

Les charges en différentes microflores dénombrées dans le lait écrémé sont présentées dans le tableau (6.5).

Tableau 6.5 : Résultats de l'analyse microbiologique du lait reconstitué

<b>Germes recherchés</b>	<b>Résultat</b>	<b>Réglementation Algérienne [176]</b>
<b>FTAM</b>	30 UFC/ml	10 <sup>5</sup> UFC/ml
<b>Entérobactérie</b>	Abs	10 <sup>3</sup> UFC/ml
<b>Levure et moisissure</b>	Abs	Abs

Les résultats obtenus montrent que le lait utilisé dans la préparation du fromage (après pasteurisation) présente une flore totale aérobie mésophile (FTAM) assez réduite par rapport aux normes avec une charge microbienne de 30 UFC/ml et une absence totale des entérobactéries et des levures et moisissures.

Cela est dû à la conservation adéquate du lait [242] ainsi qu'à l'efficacité du traitement thermique appliqué. Ces résultats sont conformes à la norme Algérienne JORA, [176], ce qui confirme la bonne qualité microbiologique par l'absence des germes de contamination.

- L'extrait de *Lupinus*

On note la présence de FTAM à raison de 40 UFC/g. Ce taux est réduit par rapport à la norme pour le lait [176]. L'absence des germes recherchés (coliformes totaux et fécaux *Staphylococcus aureus*) dans l'extrait de *Lupinus* est liée à l'efficacité du traitement thermique réalisé (pasteurisation) assurant la garantie hygiénique, ce qui confirme l'absence des germes pathogènes.

#### 6.2.1.3. Caractérisation sensorielle des fromages formulés et produit de référence

Les caractéristiques sensorielles des fromages frais fabriqués à partir de différents teneurs en lait de *Lupinus* et PRf sont présentées dans les figures (3.10, 3.11). Les résultats montrent qu'il existe des différences significatives ( $P \leq 0,05$ ) dans les notes de saveur, et de texture, entre tous les types de fromage, y compris le fromage témoin (PRf). La note de saveur la plus élevée a été obtenue pour le fromage fabriqué avec 10 et 11% de lait de *Lupinus* (E4, E5, E10 et E13) et la plus faible note a été observée pour le fromage contenant près de 55 % (E8, et E14) de lait de *Lupinus*.

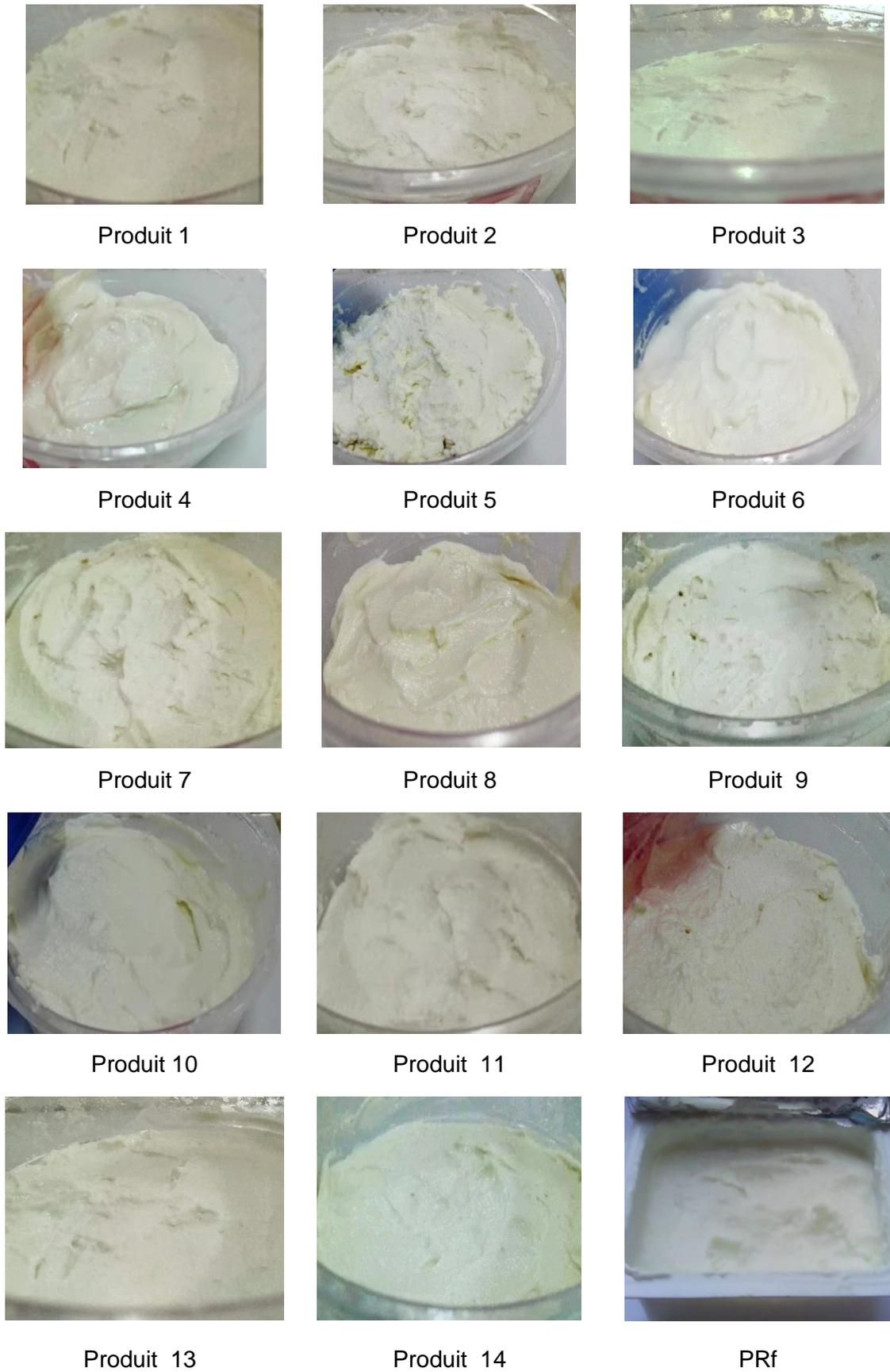


Figure 6.10 : Photographies des fromages formulés et le PRf

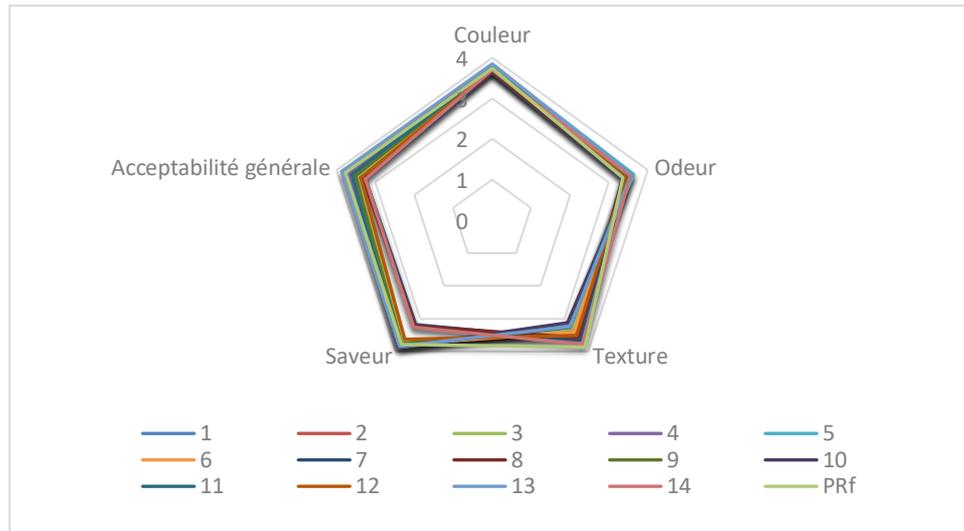


Figure 6.11 : Profil sensoriel des fromages formulés et PRf

En outre, aucune différence significative ( $P > 0,05$ ) n'a été observée dans la couleur de tous les types de fromage. Dans les fromages contenant du *Lupinus*, l'augmentation de la concentration de lait de *Lupinus* dans la préparation a réduit de manière significative ( $P < 0,05$ ) les notes de goût, de texture, d'odeur et d'acceptabilité générale du fromage.

Les scores les plus bas en termes de saveur, d'odeur, de texture, de couleur et d'acceptabilité générale parmi tous les fromages, y compris le fromage témoin, ont été observés dans les fromages fabriqués avec 55 ml/100 ml de lait de *Lupinus*.

Il existe des différences significatives ( $P \leq 0,05$ ) dans l'acceptabilité générale des fromages. Le test organoleptique a montré que les fromages frais contenant 55% de lait de *Lupinus* sont moins acceptables que ceux préparés à partir de lait pur et ceux préparés avec 10% de lait de *Lupinus*.

Selon ELSAMANI *et al.*, [80], l'incorporation de lait de *Lupinus* dans le fromage à faible concentration (25%) ne provoque aucun défaut, et permet même d'améliorer légèrement les caractéristiques sensorielles du fromage frais à pâte molle par rapport au fromage témoin fabriqué à partir de lait de vache pur.

Alors qu'une concentration élevée (75%) de lait de *Lupinus* affectent les caractéristiques sensorielles du fromage frais [80].

Les caractéristiques sensorielles d'un fromage au moment de sa consommation reflètent la qualité du lait à partir duquel il a été produit, les procédés utilisés pour la production et les changements physiques et chimiques qui peuvent se produire pendant la maturation [243].

#### 6.2.1.4. Caractérisation physico-chimique des fromages

- Extrait sec total (EST)

D'après les résultats rapportés dans la figure (6.12), nous pouvons constater que l'extrait sec total (EST) des produits formulés est significativement ( $p \leq 0,05$ ) supérieur à celui du produit de référence (PRf). La teneur la plus élevée de l'EST est estimée à  $47,51 \pm 0,02^n$  (g/100g) pour le produit 14, alors que le produit de référence en contient  $20,06 \pm 0,02^a$  (g/100g).

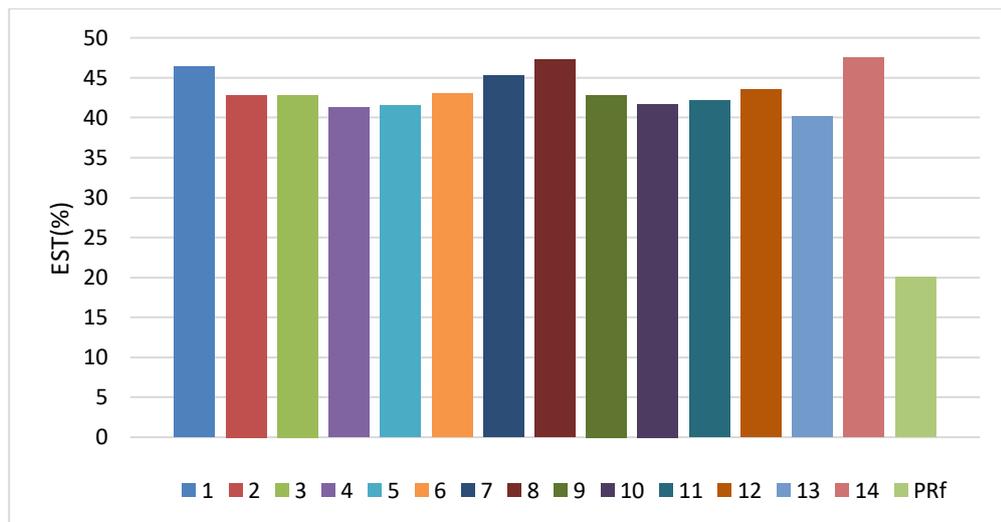


Figure 6.12: Taux de l'extrait sec total des fromages formulés et du PRf

L'EST augmente de manière significative ( $p < 0,05$ ) avec l'augmentation du niveau en extrait aqueux de *Lupinus albus*, incorporé dans le produit fini, ainsi l'augmentation des solides totaux dans le fromage à base de lupin pourrait être attribuée à la teneur plus élevée en protéines et en graisses du lait à base de lupin par rapport au lait reconstitué, ceci est confirmé par ELSAMANI *et al.*, [80].

Selon ADEJUYITAN *et al.*, [244] la teneur en EST d'un fromage fait à partir de soja et lait de coco, varie entre 50,34 et 54,83%. Par ailleurs EM EL ZUBEIR et AKH [245], ont annoncé une teneur en EST plus élevée dans le fromage blanc soudanais (50,17 %) que dans le fromage issu de mélange entre le lait de vache et de soja (47,91 %) et le fromage « tofu » (46,44 %).

Le fromage frais type petit suisse, nature à 10% de MG, contient 24% d'extrait sec total, alors que le même type de fromage à 4% de MG en contient 18,4% [78].

- Teneur en matière grasse (MG)

La figure (6.13) représente les teneurs en matière grasse des différents fromages formulés et le produit de référence. La teneur en matière grasse des fromages formulés varie entre  $8,19 \pm 0,05^b$  et  $11,34 \pm 0,06^l$  %.

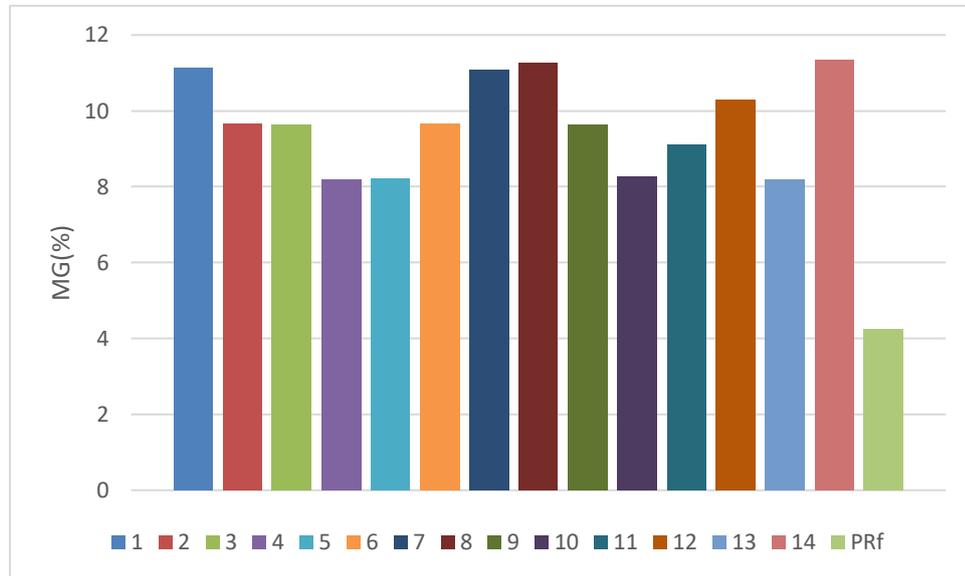


Figure 6.13: Taux de matière grasse des produits formulés et du PRf.

La teneur en matière grasse a augmenté de manière significative ( $P \leq 0,05$ ), avec l'ajout de lait de *Lupinus* dans les formules de fromage par rapport au PRf. Les résultats trouvés sont proches de ceux d'ELSAMANI *et al.*, [80], qui indiquent une variation de matière grasse entre 10,00 et 12,33%. Cependant les résultats retrouvés concordent avec ceux de AHMAD *et al.*, [246] dont les valeurs sont comprises entre 8 et 12%.

Nous avons enregistré la valeur de  $4,26 \pm 0,04^a$  % de matière grasse pour le PRf, ce résultat concorde avec les données de CIQUAL, [78], indiquant un taux de 4g/100g pour le fromage frais de type petit suisse. Cependant CESBRON-LAVAU *et al.*, [106], ont trouvé 1,9% de matière grasse pour le fromage frais classique et entre 7,8 et 10 % pour le fromage frais de type petit suisse.

La matière grasse est connue pour jouer un rôle majeur dans la rhéologie et la texture ainsi que dans la saveur du produit en agissant comme une source d'acides gras [247], ce qui permet donc d'améliorer la qualité du fromage contenant du *Lupinus*.

Nous avons démontré précédemment que la graine de *L. albus* renferme environ 15,88% d'acides gras saturés, 59,34% d'AG monoinsaturés (représenté principalement par l'acide oléique), et 22,37% d'AG polyinsaturés.

ADEJUYITAN et al., [244] ont annoncé une teneur en matière grasse comprise entre 6,67 et 7,15% pour le fromage (préparé de mélange entre lait de soja et lait de coco), et est de 9,8% pour le fromage de soja. Le fromage blanc soudanais contient 29,64 % de MG, suivi du fromage fait de mélange entre lait de vache et lait de soja (16,02 %), et du fromage de soja (10,47 %) [245].

- Le taux de cendres

Les teneurs en cendres dans les produits formulés et le produit de référence sont représentés dans la figure (6.14). Le taux de cendres varie entre  $0,65 \pm 0,05^a$  et  $1,02 \pm 0,01^i$  %. Certaines valeurs sont inférieures par rapport à celle du produit de référence ( $0,67 \pm 0,02^{bc}$  %).

L'augmentation du niveau de lait de lupin dans les différents essais de fromage engendre une réduction significative ( $p \leq 0,05$ ) du taux de cendres. Ce résultat est cohérent avec l'étude d'ELSAMANI et al., [80] qui ont trouvé des teneurs variant de 0,69 à 1,13%.

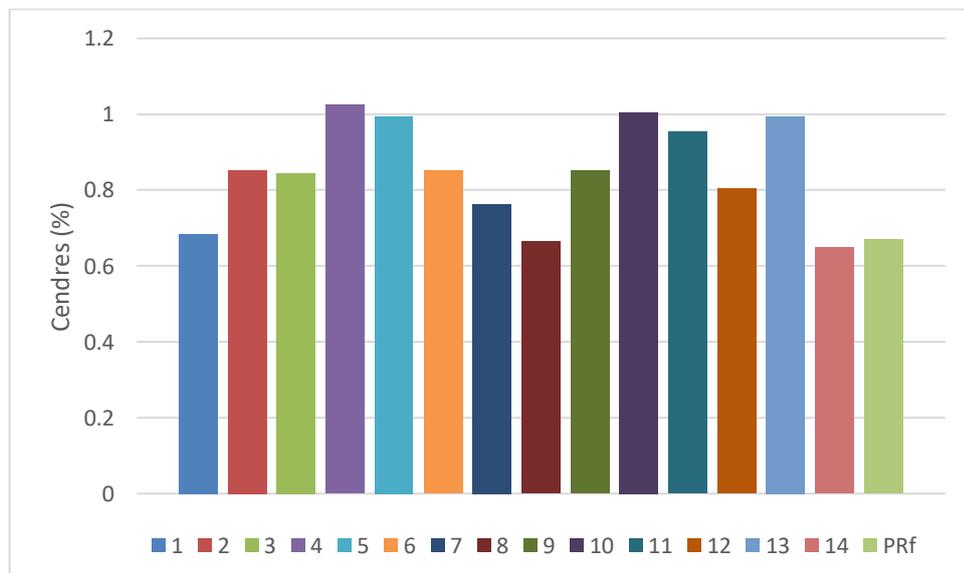


Figure 6.14 : Taux de cendres des produits formulés et du PRf

La table de composition nutritionnelle CIQUAL, [78] révèle la valeur de 0,79%, pour le fromage frais « petit suisse » à 4% de MG, et 0,69 % pour le fromage frais à 10% de MG. Par ailleurs le fromage au lait de soja « tofu » contient 1,05 % de cendres [245].

- Teneur en protéines

Les résultats (figure 6.15), indiquent que l'ajout de l'extrait de lupin, permet de faire augmenter significativement ( $p \leq 0,05$ ) le taux de protéines dans le fromage.

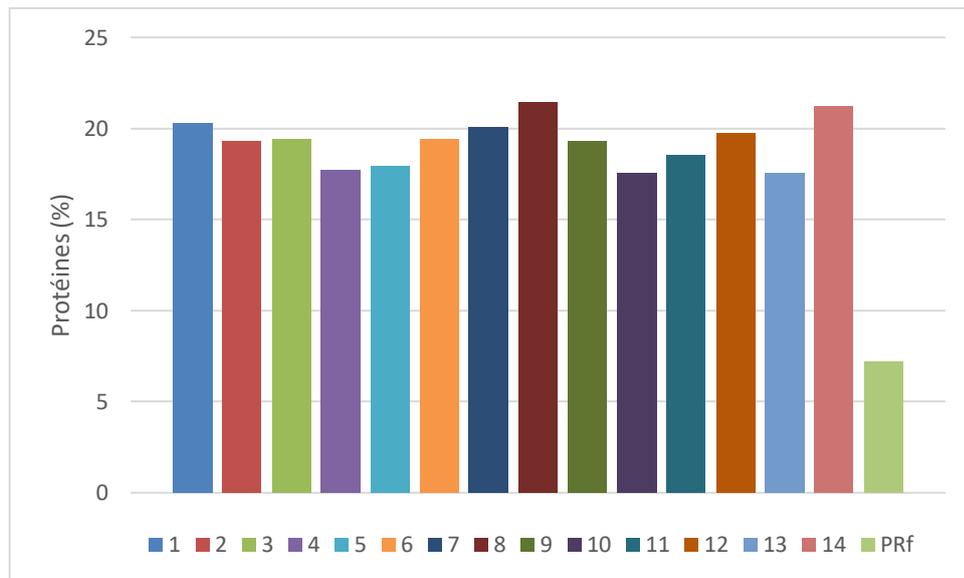


Figure 6.15: Taux de protéines des produits formulés et du PRf

La teneur la plus élevée ( $21,43 \pm 0,05^l$  %) a été observée pour l'essai 8 contenant 55 % de lait de lupin par rapport à celui fabriqué à partir de lait reconstitué (PRf) dont la teneur en protéines est de  $7,22 \pm 0,03^a$  %. Les teneurs en protéines des fromages formulés sont en accord avec la valeur retrouvée pour le fromage de soja traditionnel chinois appelé sufu ou furu [246, 248].

Cependant GIRI *et al.*, [249] ont trouvé 17,60% pour un fromage analogue (lait de vache et lait de soja).

D'après la table de composition nutritionnelle des aliments [78], le fromage frais de type petit suisse à 4% et 10% de MG, contiennent 9,75 et 9,33% de protéines respectivement.

EM EL ZUBEIR et AKH [245] ont trouvé une teneur en protéines légèrement plus élevée dans le fromage à base de mélange (le lait de vache et lait de soja) estimée à 24,06%, par rapport au fromage préparé exclusivement à partir de lait de soja « tofu », qui a révélé une valeur protéique de 18,64%. De même, la fourchette de 12 à 17,6% a été signalée pour le fromage tofu [246, 250]. D'après ADEJUYITAN *et al.*, [245], le taux de protéines est compris entre 16,66 et 19,37% dans un fromage fait à partir d'un mélange entre lait de soja et lait de coco.

Enfin dans cette partie du travail, la complémentarité entre les sources protéiques animales (lait), et végétales (lait de *Lupinus*) a été réalisée à travers les différents fromages formulés. Selon GUEGUEN *et al.*, [251]. Le mélange entre les protéines lactiques avec des protéines de légumineuses permet de compenser le déficit en méthionine de ces dernières.

- Évolution du pH et de l'acidité

L'évolution du pH et de l'acidité des fromages pendant la période de conservation (20 jours) sont représentées sur les figures (6.16, 6.17). A J0, le pH des fromages contenant du lait de *Lupinus* est significativement inférieur ( $p \leq 0,05$ ) à celui du fromage de référence (PRf). Cette différence peut être attribuée au fait que le lait de lupin possède un pH (6,15) inférieur ( $p \leq 0,05$ ) à celui du lait pur (6,71), ainsi la valeur la plus basse du pH a été observée pour les essais contenant le niveau le plus élevé de lait de lupin (E8, E14).

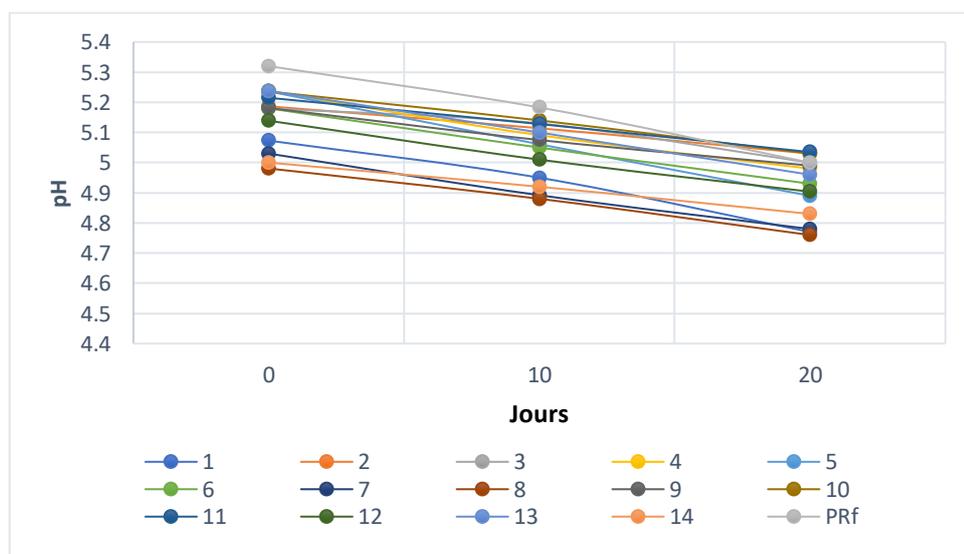


Figure 6.16 : Evolution du pH durant la période de conservation (20 jours).

Le même résultat a été trouvé par AWAD *et al.*, [252], dans une spécialité fromagère enrichie au lait de *Lupinus*, où le pH de ce dernier est de 5,98. ELSAMANI *et al.*, [80] ont également trouvé un résultat comparable avec un pH de 6,43 pour le fromage frais contre 5,16 ; 5,46 ; et 5,23 pour le fromage au lait de lupin à raison de 25 ; 50 et 75 % respectivement.

La figure (6.16) montre que à J10, le fromage de référence (PRf) présente la valeur de pH la plus élevée ( $p \leq 0,05$ ), alors que les fromages enrichis au lait de lupin présentent un pH plus faible (E14, E8) avec  $4,83 \pm 0,04$  et  $4,76 \pm 0,03$  respectivement. La baisse du pH pourrait être attribuée à l'augmentation de l'acidité du fromage avec la transformation des sucres fermentescibles (lactose) en acide lactique par les ferments lactiques utilisés [253].

AHMAD *et al.*, [246] ont trouvé que le fromage de soja présente un pH qui varie entre 5,2 et 7,3, alors que NAZIM *et al.*, [254] ont annoncé la valeur de 4,11 pour le même produit.

La figure (6.17) montre l'évolution de l'acidité du fromage au lait pur (PRf) et de celui fabriqué par addition de lait de *Lupinus*, au cours de la conservation (20 jours à 4-6 C°).

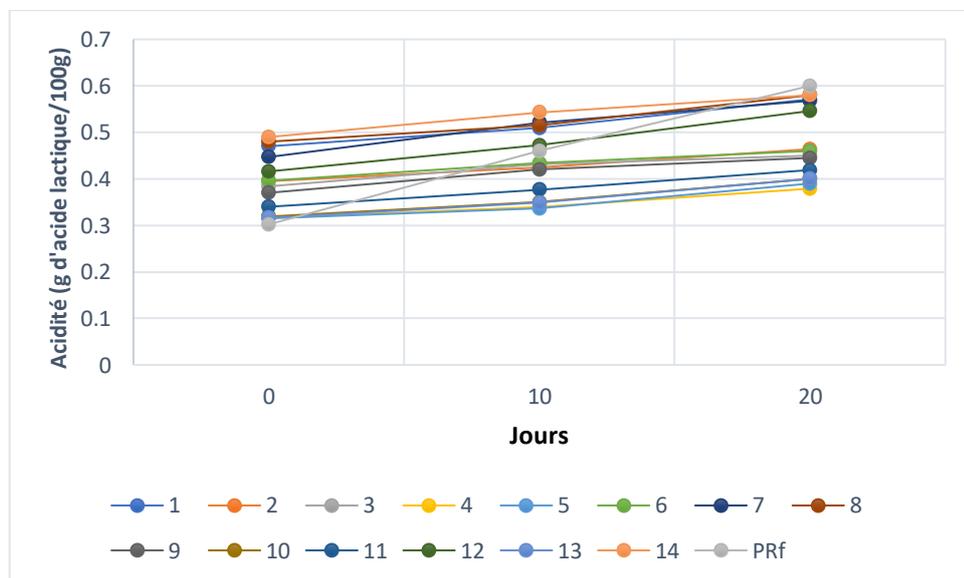


Figure 6.17 : Evolution de l'acidité titrable durant 20 jours de conservation

Les changements d'acidité ont eu une tendance opposée à celle du pH, étant plus élevés dans les fromages contenant du lait de *Lupinus* par rapport au fromage de référence (PRf) avec une légère augmentation proportionnelle pendant la période de stockage.

A J0 une faible valeur d'acidité ( $P \leq 0,05$ ) a été observée dans le fromage frais fabriqué à partir de lait pur (PRf) par rapport à celui obtenu pour le fromage contenant du lait de *L.albus*. Comme nous l'avons déjà souligné pour le pH, l'acidité du fromage frais a augmenté de manière significative ( $P \leq 0,05$ ) lorsque le niveau de lupin a été augmenté (E14, et E8).

A J10 et J20, l'augmentation de l'acidité du fromage au lait pur est significativement ( $P \leq 0,05$ ) plus importante par rapport à celle des fromages contenant du lait de *Lupinus*. L'acidité est développée suite à la formation d'acide lactique par les bactéries lactiques pendant la fermentation du lactose. Cependant, l'ajout de lait de *L.albus* a permis d'avoir une quantité d'acide lactique moins importante par rapport au fromage frais, Cela pourrait être dû à la faible concentration de sucre fermentescible (lactose) dans les fromages contenant du *Lupinus* (les graines de *Lupinus albus* ne contiennent pas de lactose).

D'après GIRI *et al.*, [249], L'acidité titrable retrouvée dans le fromage (frais) de soja est de 0,39 (g d'acide lactique/100g), par ailleurs NAZIM *et al.*, [254], ont trouvé 0,56 g d'acide lactique /100g pour le même produit.

ELSAMANI *et al.*, [80], ont remarqué une augmentation du pH des fromages enrichis au *Lupinus* lors de la conservation (75jours) qui pourrait être attribuée à la formation de composés azotés alcalins (tels que l'ammoniac) et/ou au catabolisme de l'acide lactique et donc à la réduction de l'acidité des fromages.

L'acidité titrable dans le fromage blanc soudanais est de 0,56%, alors que celle du fromage fait avec un mélange de lait de vache et de soja (50/50) est estimée à 0,12%, une valeur moins importante a été observée pour le fromage de soja (0,04%) [245].

- Calcium

La teneur en calcium des fromages est indiquée dans la figure (6.18). Les résultats montrent que les valeurs varient de manière significative ( $p \leq 0,05$ ) entre  $83,32 \pm 0,03^a$  et  $146,01 \pm 0,03^n$  mg/100g (E14, et E5 respectivement) pour les fromages contenant du lait de lupin. Le fromage au lait pur (PRf) contient  $149,87 \pm 0,06^o$  mg/100g.

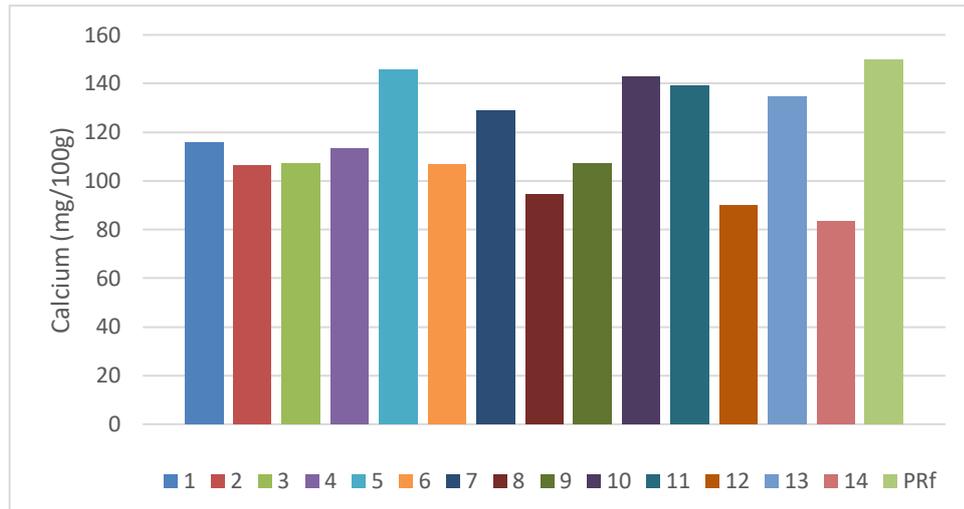


Figure 6.18 : Teneur en calcium des fromages formulés et du PRf.

Nous pouvons dire aussi que le calcium est apporté en grande partie par le lait (reconstitué et la poudre de lait) utilisé dans l'élaboration du fromage, alors que le lait de *Lupinus* n'apporte que 80mg/100ml de calcium.

Le fromage frais contient 190,82 mg de calcium/100g [254]. Par ailleurs, la table de composition nutritionnelle CIQUAL [78] indique la valeur de 127 mg/100g retrouvée dans le fromage frais à 0% de MG, et 110 mg/100g dans le fromage frais à 10% de MG, alors que le tofu (fromage de soja) en contient 100mg/100g.

ARLENE *et al.*, [255] ont trouvé des valeurs en calcium moins importantes dans le fromage au lait de soja (23,05 à 40,05 mg/100g), par rapport au fromage au lait vache (42,1- 62,1 mg/100g), cette différence a été expliquée par la faible teneur en calcium du lait de soja (44 mg/100 ml) par rapport au lait de vache (92 mg/100ml). Selon les mêmes auteurs, le calcium joue un rôle dans le processus de coagulation du lait, plus la teneur en calcium est faible, plus le fromage sera mou et collant.

#### 6.2.1.5. Caractérisation microbiologique des fromages

Nous avons constaté l'absence des germes recherchés dans les fromages formulés et le produit de référence.

Selon la réglementation JORA , [176] qui se manifeste par une absence totale d'*E. Coli*, *Salmonelle*, et *Staphylococcus aureus*. Cela est dû au bon respect des règles d'hygiène lors de la préparation des différents essais.

L'absence de ces micro-organismes dans le lait de lupin et dans le fromage peut être due à la méthode d'extraction utilisée pour la préparation du lait de lupin dans laquelle de l'eau propre a été utilisée pour l'extraction ainsi qu'à la pasteurisation du lait utilisé dans la fabrication du fromage.

D'après Guiraud [208], l'absence de germes pathogènes confirme la maîtrise des risques microbiologiques de la matière première jusqu'au produit fini. Ainsi nos produits ne présentent aucun risque pour la santé du consommateur.

#### 6.2.1.6. Optimisation de la formule

- Sélection des réponses

Les réponses MG, EST, Calcium, texture, saveur, pH, et acidité sont éliminées car des corrélations éventuelles ont été aperçues entre toutes ces réponses (réponses dépendantes).

- Modélisation en surface de réponse

Les réponses couleur et odeur ont également été éliminées de la matrice d'expérience car leurs R2 est inférieur à 0,70 et Q2 (pouvoir prédictif médiocre) est inférieur à 0,40. Les réponses sélectionnées sont le taux de protéines, taux de cendres, et l'acceptabilité générale (figure 6.19).

Les modèles mathématiques (eq 6.5-6.6-6.7) sont représentés graphiquement par des courbes iso réponses (figure 6.20 et figure E.3 donnée en Appendice) qui illustrent les différentes relations entre les facteurs composants un modèle mathématique prédictif dans les limites du domaine d'étude.

$$\begin{aligned} \text{Protéines} = & 19,23 + 0,62x_1 - 0,61x_2 - 0,14x_3 + 0,036x_1^2 - 0,075x_3^2 - \\ & 0,02x_1x_2 - 0,09x_1x_3 + 0,09x_2x_3 \end{aligned} \quad (6.5)$$

$$\begin{aligned} \text{Cendres} = & 0,85 - 0,06x_1 + 0,06x_2 - 0,01x_3 - 0,004x_1^2 - 0,003x_3^2 + 0,017x_1x_2 \\ & + 0,08x_1x_3 - 0,009x_2x_3 \end{aligned} \quad (6.6)$$

$$\begin{aligned} \text{Acceptabilité} = & 3,5 - 0,10x_1 + 0,10x_2 + 0,02x_3 + 0,01x_1^2 + 0,007x_2^2 + \\ & 0,004x_3^2 - 0,009x_1x_2 - 0,01x_1x_3 + 0,001x_2x_3 \end{aligned} \quad (6.7).$$

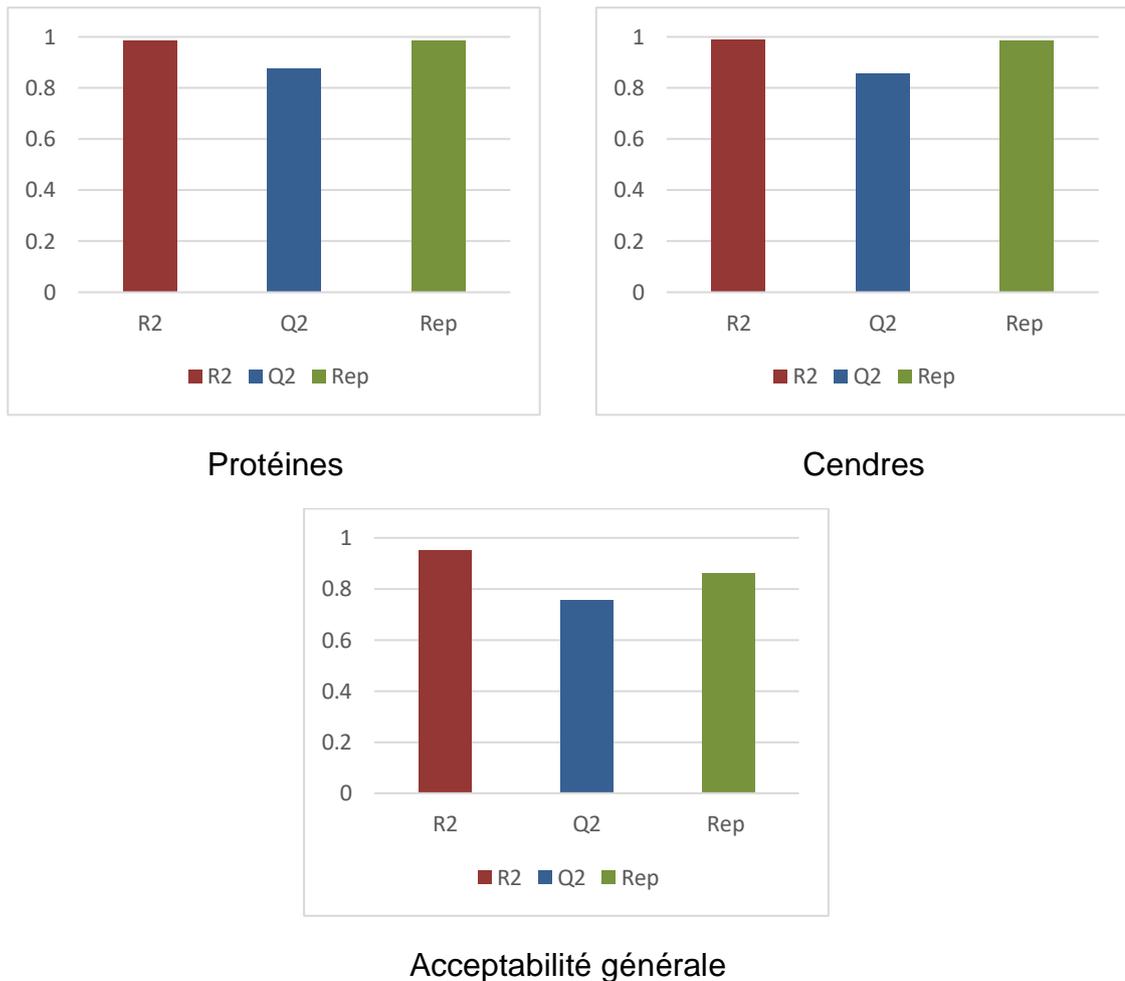


Figure 6.19 : Paramètres conditionnant la qualité au sens statistique des résultats de la modélisation en surface de réponses (Protéines, Cendres et Acceptabilité générale)

A partir des figures (6.20, et E.3), on remarque que l'extrait de graines de *Lupinus albus*, agit de manière positive sur la teneur en protéines, il constitue donc un apport considérable. Par contre un effet négatif a été observé pour l'acceptabilité, le même résultat a été constaté pour les cendres. Il semblerait aussi que le facteur lait exerce un effet positif sur les deux réponses acceptabilité générale et cendres.

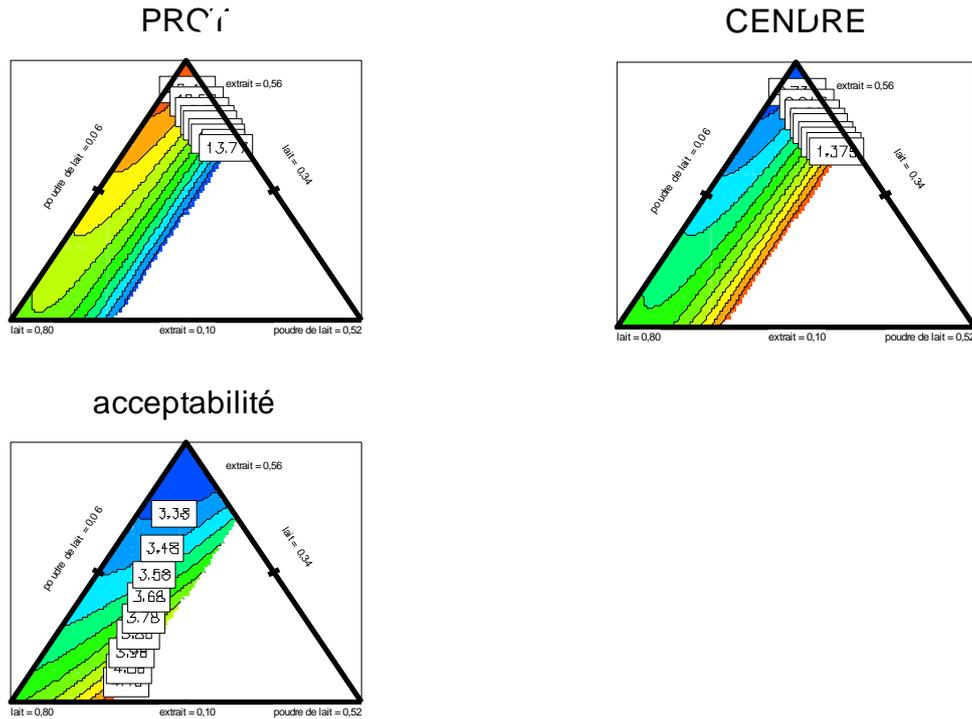


Figure 6.20: Courbes iso réponses du taux de protéines, texture et acceptabilité.

- Formule optimale

On cherche en fait à obtenir un fromage contenant un taux satisfaisant de protéines et de sels minéraux tout en ayant de bonnes propriétés sensorielles (acceptabilité générale). On choisit de ce fait de maximiser les trois réponses. L'optimum se déduira par dérivation de l'équation du modèle pour trouver les valeurs  $x$  des niveaux des facteurs.

Ainsi les résultats d'optimisation ont donné la formule où l'extrait aqueux de *Lupinus albus* est avec un taux de 29,866%, le lait avec une quantité de 58,07%, et 8,06 % de poudre de lait. Les autres composants étant toujours figés. Cette formule est caractérisée par un taux de protéines de 19,07%, un taux de cendre de 0,87%, et une note de 3,70 pour l'acceptabilité générale.

## 6.2.2. Crème de riz à base de *Griffonia simplicifolia*

### 6.2.2.1. Caractéristiques physico-chimiques du Lait partiellement écrémé

A partir des résultats du tableau (6.6), nous remarquons que le lait analysé est caractérisé par un pH proche de la neutralité qui est de 6,76.

En effet, le pH, l'acidité, la teneur en matière grasse et teneur en matière sèche sont conformes aux normes établies par JORA [256,25].

Tableau 6.6: Résultats des analyses physico-chimiques du lait partiellement écrémé.

Paramètre	Valeur	JORA, [256, 257]
pH	6,76 ± 0,01	6,6 - 6,8
Acidité D°	15,33± 0,12	14-16
Extrait sec total g/l	111,86±0,20	110-112
Matière grasse g/l	15±0,02	15 – 20
Matière protéique g/100ml	3,53±0,10	-

#### 6.2.2.2. Caractéristiques physico-chimiques des dattes

Les valeurs sont représentées dans le tableau (6.7). La teneur en matière sèche des dattes étudiées est proche de celles indiquées par Al EID [258] pour la variété Alkhellas (86,5 %) et MIMOUNI et OUMELKHEIR [259] pour la même variété Degla-Beida (88,18 %). Toutefois, cette valeur est supérieure à celle trouvée par AL-GBOORI et KREPL [260] pour la variété étudiée (80%).

La teneur en cendres des dattes exprimées en pourcentage par rapport à la matière sèche est de 2,32±0,13% (tableau 6.7). Les variétés Saoudiennes et Irakiennes, selon SAWAYA *et al.*, [261] contiennent des teneurs en cendres plus élevées comprises entre 2 et 4 %. La teneur en cendres dépend, entre autres, de l'état de la fertilité du sol et des amendements apportés [262].

Tableau 6.7: Caractéristiques physico-chimiques des dattes

Paramètre	Valeur
matière sèche (%)	88,54±0,10
cendres (%)	2,32±0,13
pH	5,63±0,53
Acidité (g/100g)	1,13±0,08
sucres totaux (%)	68,51±0,07
protéines (%)	2,679±0,21
Polyphénols totaux mg EAG/g	2,05±0,11
Activité antioxydante (%)	62,46±0,04

Le pH de la variété étudiée est de  $5,63 \pm 0,53$ . Des résultats comparables ont été enregistrés par GANBI et HASSAN [263], montrant que la pulpe de dattes à maturité complète présente un pH de l'ordre de 5,65. Quatre variétés Irakiennes (Hallawi, Sayer, Khadrawi et Zahdi) ont des valeurs de pH se situant entre 5,60-6,70 [260].

L'acidité de la datte est inversement proportionnelle au degré de maturité. Les valeurs rapportées par ACOURENE *et al.* [262] sont légèrement supérieures et ne dépassent pas 1,90 % de matière fraîche, cependant celles obtenues par AL-HOOTI *et al.*, [264] sont inférieures, se situant entre 0,67 et 0,77 %. Ces acides influent également sur les propriétés sensorielles du fruit. La présence et la composition des acides organiques peuvent être affectées par divers facteurs tels que la variété, les conditions de croissance, la maturité, la saison, l'origine géographique, la fertilisation, le type de sol, les conditions de stockage, l'exposition au soleil et la période de récolte [264].

En général, les résultats rapportés par différents auteurs dépendent en partie de la méthode d'analyse utilisée. Néanmoins, tous s'accordent à dire que les teneurs en sucres totaux des dattes sont de l'ordre de 60 à 80 % de la pulpe [258,259, 260].

Les dattes contiennent une teneur en protéines de  $2,679 \pm 0,21\%$ . Cette valeur concorde avec celle donnée par les travaux de NOUI [265]. La pulpe de datte renferme une quantité de protéines variant entre 0,38 et 2,5%.

MANSOURI *et al.*, [131], notent que la teneur en composés phénoliques des dattes d'Algérie, varie entre  $2,49 \pm 0,01$  et  $8,36 \pm 0,59$  mg équivalent de l'acide gallique/100g de dattes (MS). HAMAD *et al.*, [231] ont trouvé des teneurs en polyphénols totaux variant entre 10,47 et 22,11 mg/100g du poids frais pour les dattes d'Arabie Saoudite. ALI HAIMOUD *et al.*, [266] estiment des teneurs variant de  $2,06 \pm 0,06$  à  $6,53 \pm 0,18$  mg équivalent de l'acide gallique/100g du poids sec.

Le pourcentage d'inhibition des radicaux libres DPPH était de  $58,72 \pm 0,3$  %, AMELLAL *et al.*, [227] a annoncé la valeur de 61,82%. SINGH *et al.*, [267] ont rapporté un pourcentage d'inhibition estimé à 61,56%. La valeur retrouvée est proche de celle trouvée par LEKBIR *et al.*, [268] qui ont signalé  $62,17 \pm 0,41\%$ .

La comparaison de nos résultats avec ceux rapportés dans la littérature montre que les différences variant d'une étude à l'autre. Cela montre la capacité des fruits de dattes à piéger les différents radicaux libres dans plusieurs systèmes. Ils peuvent être des agents thérapeutiques utiles pour le traitement des lésions pathologiques liées aux radicaux libres [269].

### 6.2.2.3. Analyse microbiologique du lait

Les résultats de l'analyse microbiologique du lait qui, ont montré l'absence totale des germes recherchés à l'exception de la flore mésophile totale, mais à un taux acceptable ce qui révèle que les échantillons analysés répondent aux exigences de la réglementation Algérienne [176].

### 6.2.2.4. Résultat de l'Analyse sensorielle

Les photographies des crèmes de riz formulées et du PRcr, ainsi que les résultats de l'évaluation sensorielle sont présentés dans les figures (6.21, 6.22).

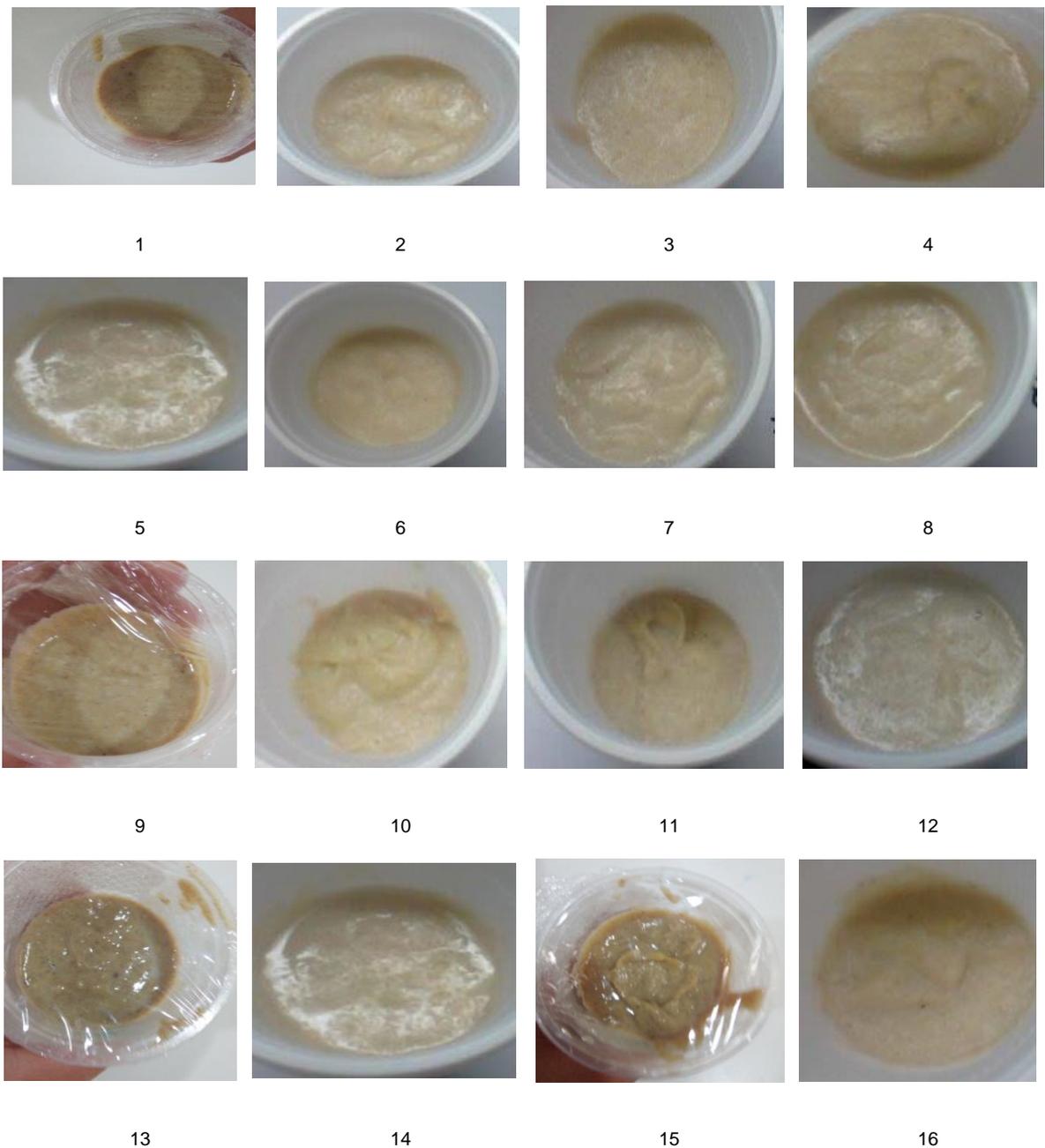


Figure 6.21: Crèmes de riz formulées

Les scores minimaux ont été attribués à la crème de riz (13) contenant 11,5% de farine de datte, et 6% de Farine de *G.simplicifolia*, apportant une légère d'astringence. Toutefois, la crème de riz (3), faite avec 14% de farine de dattes, et 0,5 % de farine de *G.simplicifolia* a été la plus appréciée par les dégustateurs pour tous les attributs sensoriels.

En comparant les formulations générées par le plan de mélange (crèmes de riz formulées), les essais contenant moins de 4 % de *G. simplicifolia* étaient les mieux notés (Couleur, Sucrosité, Odeur et, Acceptabilité générale) par rapport aux autres essais.

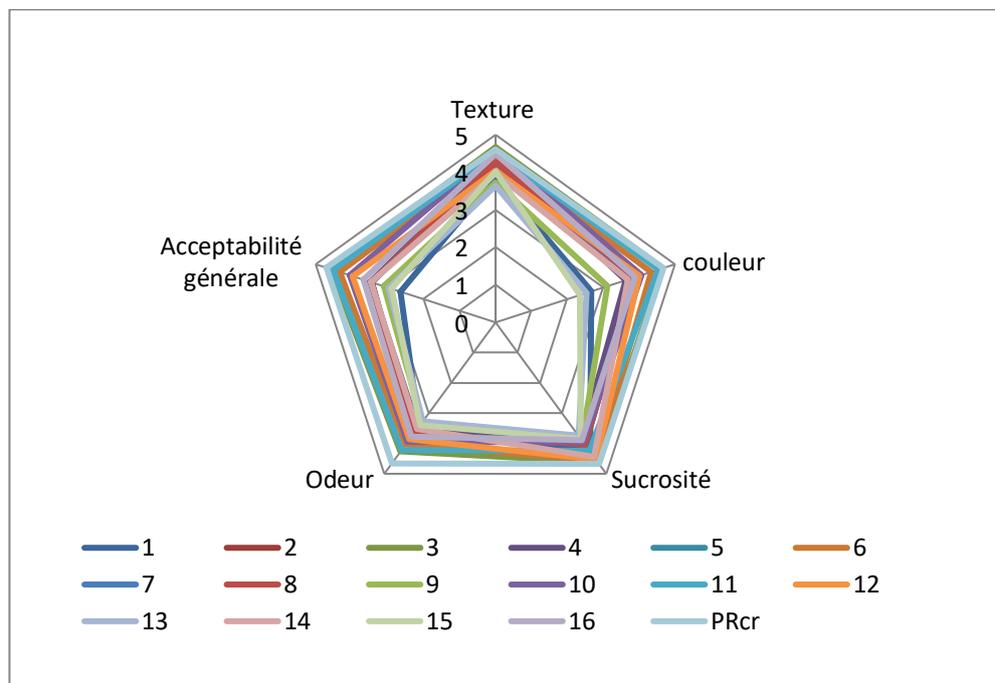


Figure 6.22 : Profil sensoriel des crèmes de riz formulées et du PRcr.

Par conséquent, notre étude démontre qu'il est possible de substituer les 14% de sucre dans les crèmes de riz par la poudre de datte en tant qu'ingrédient édulcorant approprié. Des résultats similaires ont été obtenus par AMELLAL-CHIBANE *et al.*, [227] et DJAOUD [230] pour le yaourt et la crème dessert respectivement naturellement sucrés aux dattes.

Cependant SATTAR *et al.*, [270], ont démontré que l'ajout de légumineuses, de type lentilles (jusqu'à 15 %) ou de lentilles noires (5%) améliorerait en fait la qualité nutritionnelle et l'acceptabilité générale du riz au lait.

### 6.2.2.5. Caractérisation physico-chimique des crèmes de riz formulées et PRcr

- pH

La variation du pH est statistiquement significative ( $p < 0,05$ ) entre les différents desserts lactés formulés (figure 6.23), ceci est dû aux différentes proportions de dattes incorporées.

Le pH des crèmes de riz est de l'ordre de  $6,53 \pm 0,02^a$  à  $6,63 \pm 0,01^f$  alors que celui du produit de référence (PRcr) est de  $6,75 \pm 0,02^g$ . L'addition des dattes a fait baissé légèrement le pH des produits par rapport au PRcr, car le pH des dattes est de  $5,63 \pm 0,53$ .

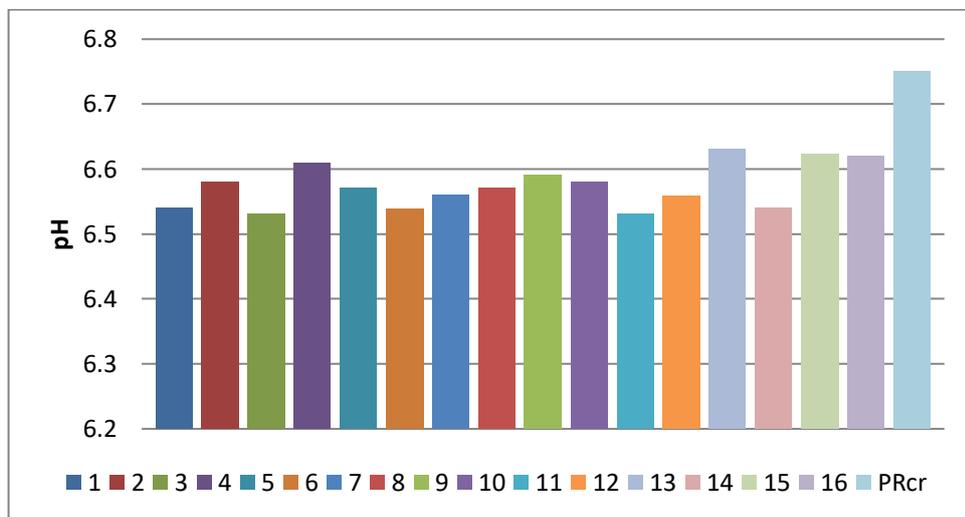


Figure 6.23: Valeur de pH des crèmes de riz formulés et PRcr.

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par DESALE *et al.*, [271] et PHANTUWONG [272] indiquant un intervalle de pH de (6,56 - 7,04) et 6,5 respectivement, pour des formules de riz au lait (produit fonctionnel).

PAPAGEORGIU *et al.*, [273] ont trouvé des valeurs de pH du même ordre (6,60 - 6,67) pour le riz au lait. Cependant ARORA et PATEL [274] ont retrouvé un pH compris entre 6,78 et 7.

- Extrait sec total

L'Extrait sec total des crèmes de riz formulées (figure 6.24) est significativement ( $p \leq 0,05$ ) plus élevé ( $37,44 \pm 0,04^b$  à  $45,98 \pm 0,10^m$  %) que celui du PRcr ( $27,92 \pm 0,05^a$  %).

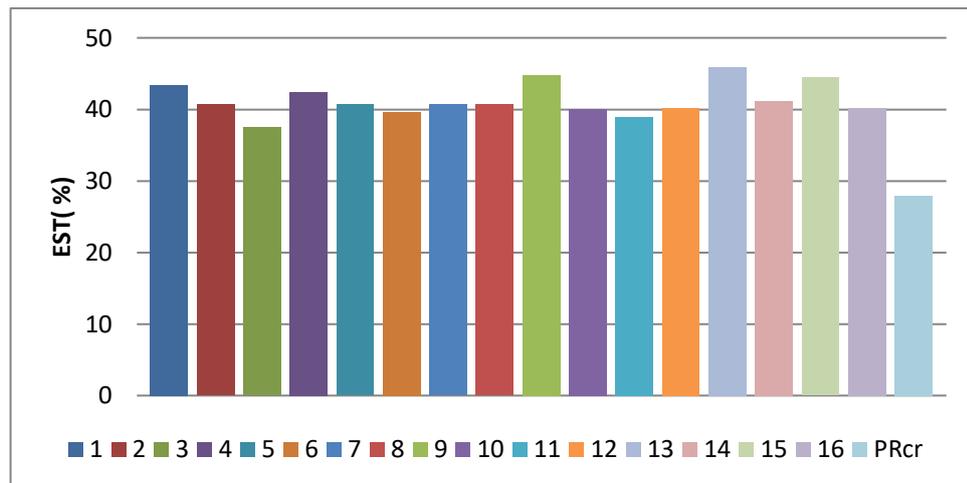


Figure 6.24 : Teneur en extraits secs totaux des crèmes de riz formulées et PRcr

La poudre de datte et la graine de *Griffonia simplicifolia* ajoutées aux crèmes de riz permettent d'apporter plus d'éléments nutritifs (protéines, MG, sels minéraux, hydrates de carbones, et fibres) et donc plus de matière sèche par rapport à la crème de riz classique (PRcr).

La table de composition nutritionnelle [78] indique une valeur d'EST de 28,5% pour le riz au lait. Il a été rapporté que les crèmes de riz blanc présentaient un taux d'humidité moyen de 74,12 %, soit un taux d'extrait sec de 25,88% [273]. SINGHANIA et RAY [275] indiquent 13,9% d'EST pour une préparation de riz au lait (kheer).

Les valeurs retrouvées sont proches de celles annoncées par DESALE *et al.*, [271], qui varient entre 38,85 et 44,98%.

PURI *et al.*, [276], ont trouvé des valeurs plus importantes, la teneur en extrait sec total du riz brun au lait est de 52,72 %, alors que celui du riz blanc au lait est de 51,46 %. Par ailleurs la crème de riz (blanc), contient 69,65% de matière sèche, tandis que la crème de riz (brun) en contient 65,32%.

Selon DJAOUD [230], l'incorporation de sirop et de poudre de dattes dans les crèmes desserts permet d'augmenter leurs teneurs en matière sèche (21,77-23,20%).

Cependant AMELLAL *et al.*, [227] indique des teneurs entre (20,64 et 21,39%), pour des yaourts enrichis en poudre de datte de différentes variétés Algériennes.

- Les Cendres

La teneur en cendres (figure 6.25) varie significativement ( $p < 0,05$ ) entre  $2,15 \pm 0,05^b$  –  $2,36 \pm 0,06^h$  % pour les crèmes de riz formulées et,  $0,78 \pm 0,03^a$  % pour le produit de référence (PRcr). L'ajout de farine de dattes et de graine de *G. simplicifolia* aux crèmes de riz a engendré des modifications importantes de leur teneur en cendres.

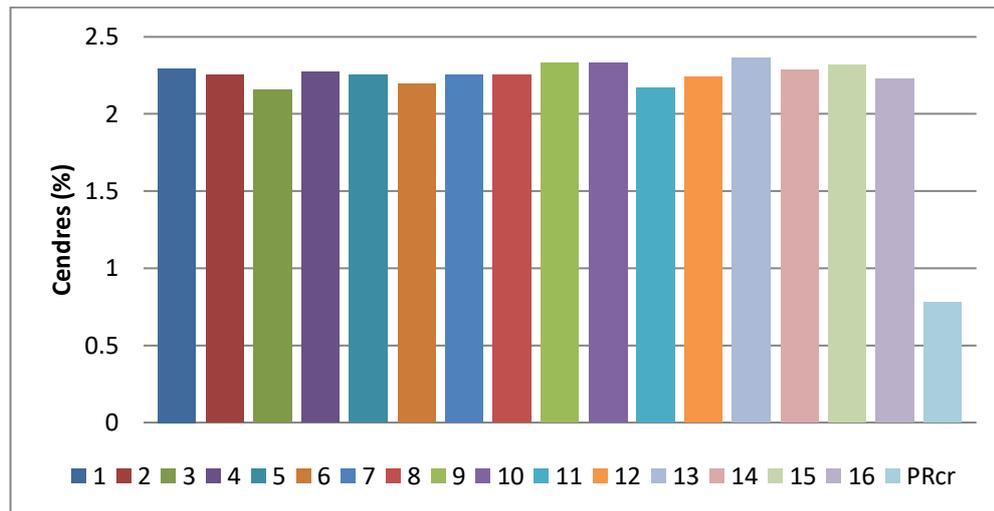


Figure 6.25: Teneur en cendres des crèmes de riz formulées et PRcr

En effet, la teneur en cendre des graines de *G. simplicifolia* est de  $5,07 \pm 0,48^b$  % et celle des dattes est de  $2,32 \pm 0,13\%$ .

Des résultats similaires ont été rapportés par BARELA and SHELKE [277] pour la crème de riz (kheer) à base de mélange entre le lait de vache et de lait de coco.

KOKANI *et al.*, [278] ont également retrouvé des valeurs proches (2,6g/100g), pour une formule de riz brun au lait (Instant Brown Rice Kheer Mix) contenant de la poudre d'amande, poudre de noix de cajou et de la noix de coco.

Par ailleurs PURI *et al.*, [276] ont rapporté des valeurs moins importantes en cendres. La teneur en cendres du lait au riz brun est de 0,95 %, alors que pour celui au riz blanc, il est de 0,76 %. La teneur en cendres de la crème de riz brun est de 1,11 alors que pour celle de riz blanc, elle est de 0,85%.

La table de composition nutritionnelle CIQUAL [78] indique des valeurs entre 0,4 et 0,74% en cendre pour le riz au lait.

ARSLAN and BAYRAKCI [279], ont constaté une diminution de la teneur en cendres des yaourts fortifiés par la marmelade de kaki.

Une autre étude portant sur la composition physicochimique du yaourt nature et de différents types de fruits (Papaya: *Carica Papaya* et Opaltia pica: *Opuntia ficus indica*), n'a pas rapporté des différences significatives entre le yaourt nature et le yaourt aromatisé [280].

- Sucres totaux

Le taux de sucres totaux (figure 6.26) pour les crèmes de riz formulées ( $16,15 \pm 0,25^a$  -  $19,33 \pm 0,03^f$  %) est significativement ( $p \leq 0,05$ ) inférieur par rapport à celui retrouvé pour le produit de référence (PRcr), estimé à  $22,1 \pm 0,10^g$  %.

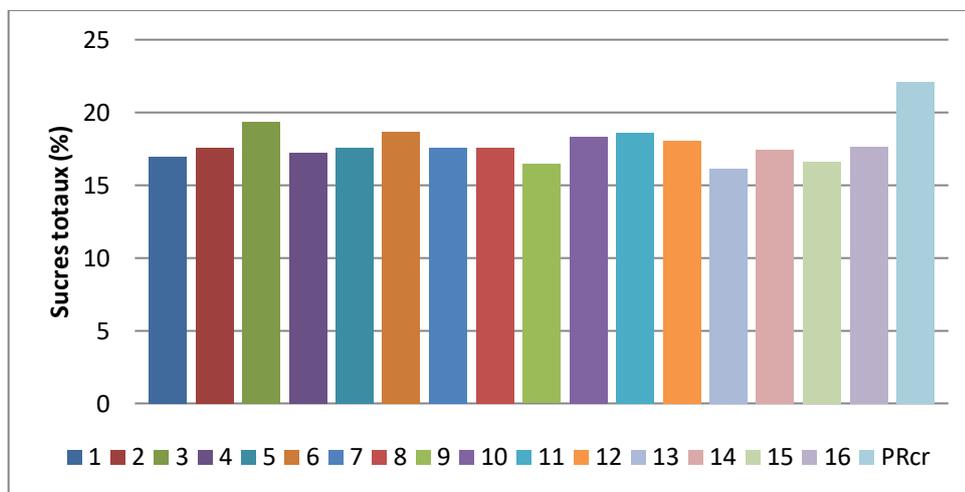


Figure 6.26: Teneurs en sucres totaux pour les crèmes de riz formulées et PRcr

Ce résultat est évident car dans les crèmes de riz formulées, les sucres sont apportés principalement par les deux composants à savoir la farine de dattes sèches (utilisée pour remplacer le saccharose) qui en contient  $68,51 \pm 0,07\%$  de sucre, et la farine de riz qui est riche en amidon  $77,8 \text{ g}/100\text{g}$  [78]. En plus de l'amidon de riz, le PRcr contient  $14 \text{ g}/100\text{g}$  de saccharose.

PAPAGEORGIU *et al.*, [273] ont annoncé la valeur de  $18,75\%$ , pour le riz au lait (kheer).

SINGHANIA and RAY, [275] et PHANTUWONG [272], ont trouvé des valeurs moins importantes estimées à  $15,54 \%$  et  $14\%$  respectivement pour le riz au lait (fonctionnel).

KOKANI *et al.*, [278] ont indiqué une teneur en sucres totaux de  $69,85\%$ , dans une formule de riz brun au lait (Instant Brown Rice Kheer Mix).

La table de composition nutritionnelle CIQUAL [78] indique 21,4 % de sucres totaux, dans un dessert lacté de type riz au lait, cette valeur est proche à celle du PRcr.

- Les protéines

Pour la détermination des protéines (figure 6.27), une différence significative ( $p \leq 0,05$ ) a été observée entre les crèmes de riz formulées ( $7,46 \pm 0,12^b$  à  $9,46 \pm 0,06^c$  %) et le PRcr ( $3,46 \pm 0,11^a$  %).

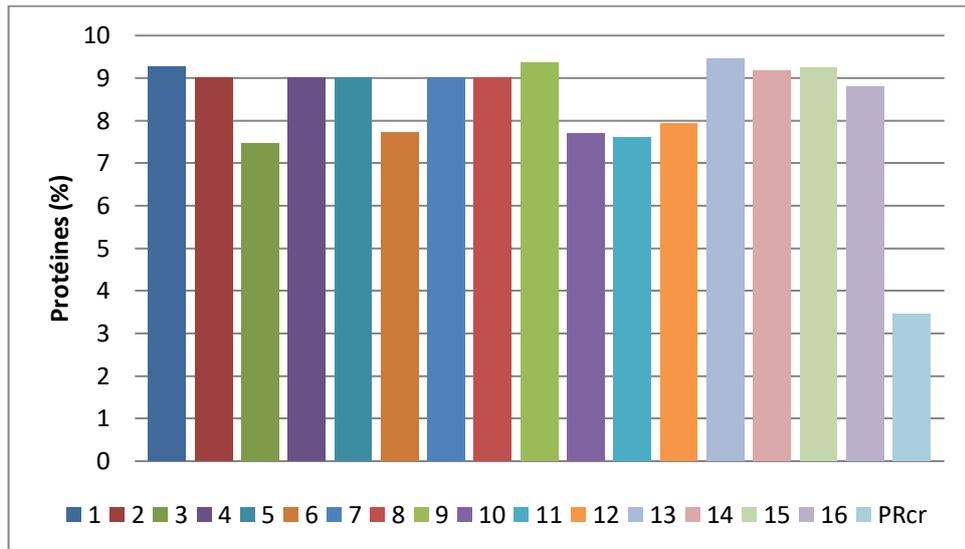


Figure 6.27 : Taux de protéines des crèmes de riz formulées et PRcr

La variation de la teneur en protéines dans les crèmes de riz formulées est fortement influencée par l'incorporation des graines de *G. simplicifolia* qui contient  $22,16 \pm 0,46^b$  % de protéines. En effet la teneur en protéines dans les desserts lactés formulés augmente avec l'ajout de la farine des graines de *G. simplicifolia*.

Des teneurs inférieures ont été observées par DESALE *et al.*, [271] de 5,28 à 5,65 % de protéines pour des crèmes de riz préparées à base de différentes variétés de riz). PURI *et al.*, [276] et BARELA and SHELKE [277], ont déclaré des valeurs situant entre 5,82 et 7,11% et de 6,84 à 7,22% respectivement.

PAPAGEORGIU *et al.*, [273] ont trouvé une valeur moins importante estimée à 3,31% pour le riz au lait. Alors que la table de composition nutritionnelle CIQUAL [78], indique 3,27% de protéines, pour le riz au lait. Ce résultat coïncide avec celui retrouvé pour le PRcr ( $3,46 \pm 0,11$  %).

KOKANI *et al.*, [278], ont indiqué 17,5% de protéines, dans une formule de riz brun au lait (Instant Brown Rice Kheer Mix), alors que PHANTUWONG [272], a trouvé la valeur de 12 % pour le riz au lait (préparation fonctionnelle).

- Matière grasse

Les teneurs en matière grasse des crèmes de riz ont été détaillées dans la figure (6.28), elles vont de  $3,55 \pm 0,05^b$  à  $4,52 \pm 0,02^i$  %. La teneur la plus élevée a été enregistrée pour la crème de riz (E13) enrichie avec 6% de graines de *G. simplicifolia*. Alors que la valeur la plus basse est enregistrée pour l'essai 3 de crème de riz, ne contenant que 0,5% de *G. simplicifolia*. Les valeurs obtenues pour le PRcr ( $2,31 \pm 0,01^a$  %) étaient significativement plus faibles ( $p < 0,05$ ).

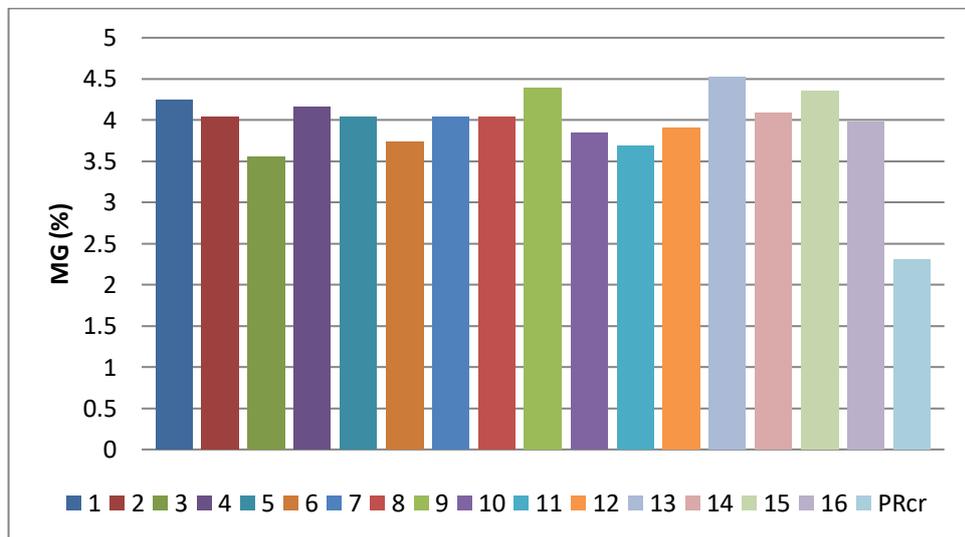


Figure 6.28 : Teneur en matière grasse des crèmes de riz formulées et PRcr.

Ce résultat pourrait être dû à l'incorporation de la farine de graines de *G. simplicifolia* (qui contient  $19,07 \pm 0,23^c$  % de MG) dans la Crème de riz, qui a améliorée légèrement sa teneur en matière grasse.

A des fins de comparaison, nous pouvons dire que nos résultats concordent avec ceux obtenus par PAGEORGIOU *et al.*, [273] et PHANTUWONG [272] qui ont trouvé des valeurs entre 3,05 et 4 % de MG respectivement.

Il a été rapporté par PURI *et al.*, [276] que la teneur en matière grasse du riz blanc au lait était de 6,04%, et celle de la crème de riz blanc est de 5,49%.

KOKANI et al. [278] ont observé 7,6 % de MG pour une formule de riz brun au lait (Instant Brown Rice Kheer Mix).

La crème de riz faite à base de mélange entre le lait de vache et de lait de coco a une teneur en matière grasse qui varie entre 7,69 et 11,75 % BARELA and SHELKE [277], alors que les données retrouvées par DESALE *et al.*, [271], sont comprises entre 1,75 et 2,53 %.

- Polyphénols totaux et activité antioxydante

Les polyphénols sont connus par leur pouvoir antioxydant et leurs vertus biologiques. Ils contribuent à la prévention des maladies dégénératives et les maladies cardiovasculaires [281, 282].

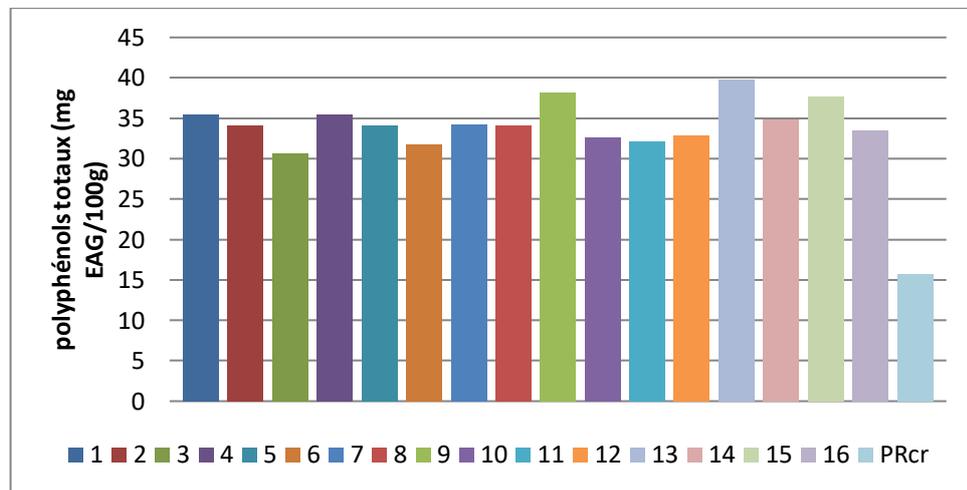


Figure 6.29: Teneur en polyphénols des crèmes de riz formulées et PRcr

En effet, la Figure (6.29) montre que toutes les crèmes de riz formulées, enrichies en dattes et en graines de *G. simplicifolia* (  $30,62 \pm 0,02^b$  –  $39,82 \pm 0,13^l$  mg EAG/100g) montrent une augmentation significative ( $p < 0,05$ ) de la teneur en polyphénols totaux par rapport à la crème de riz nature PRcr ( $15,67 \pm 0,07^a$  mg EAG/100g), ce qui signifie qu'aussi bien les dattes que la farine des graines de *G. simplicifolia* peuvent modifier la teneur en composés phénoliques du produit formulé en améliorant leur activité antioxydante.

La teneur en polyphénols totaux de la farine de dattes est de  $2,05 \pm 0,11$  mg EAG/ g et de  $18,25 \pm 0,27^c$  mg EAG/ g pour la graine de *G. simplicifolia*, ce qui explique la variation de la teneur en polyphénols totaux des différentes crèmes de riz préparées.

Le résultat obtenu est en accord avec ceux rapportés par AMAL *et al.*, [280] et HALAH et MEHANNA [282]. Dans leurs études respectives sur le yaourt enrichi aux fruits de papaye, figue de barbarie et en antioxydants naturels, l'ajout de fruits secs a nettement amélioré la composition phénolique du yaourt nouvellement formulé [283].

D'autre part, l'incorporation du sirop et de poudre de dattes dans les crèmes desserts a amélioré leurs teneurs en composés phénoliques et leur pouvoir réducteur [284]. L'ajout de légumineuses ; lentilles (*Lens culinaris*), et haricot (*Vigna radiata*), (*Vigna mungo*) permet d'améliorer la teneur en polyphénols dans les crèmes de riz [270]. De l'autre côté, OLIVEIRA *et al.* [285] ont signalé une diminution de la teneur en composés phénoliques après l'ajout de la préparation de fraises dans le yaourt.

Une relation proportionnelle a été observée de manière visible entre l'activité antioxydante et la teneur en polyphénols totaux. En fait, les crèmes de riz formulées présentaient (figure 6.30) une activité antioxydante ( $9,41 \pm 0,17^{bc}$  -  $10,92 \pm 0,10^i$  %) plus importante ( $p < 0,05$ ) par rapport au PRcr ( $2,15 \pm 0,19^{a\%}$ ).

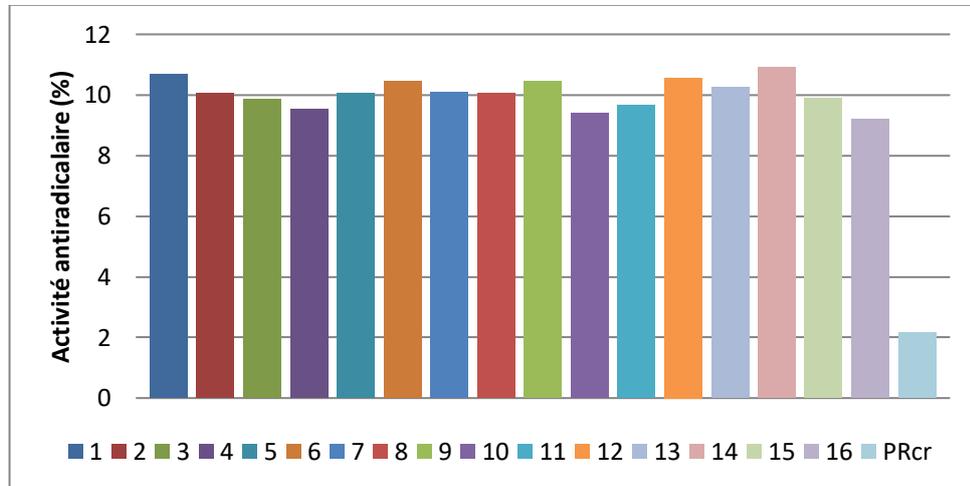


Figure 6.30 : Activités antioxydante des crèmes de riz formulées et PRcr.

Par conséquent, l'ajout de farine de *G. simplicifolia* et farine de dattes dans la crème de riz, permet d'obtenir un produit à haute teneur en composés phénoliques et une activité antioxydante intéressante.

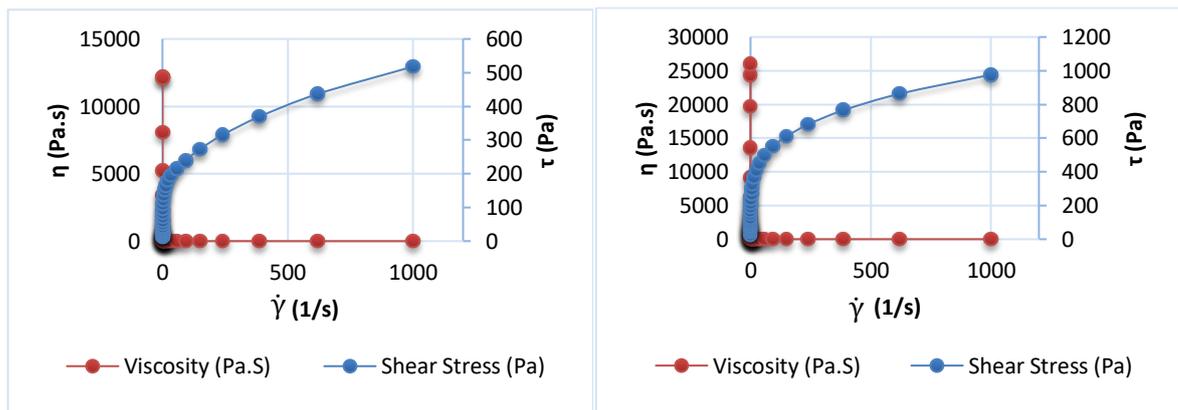
Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par NGUYEN and HWANG [286], où ils ont rapporté une augmentation significative du pouvoir réducteur du yaourt enrichi en *Aronia* par rapport à celui du contrôle (yaourt nature).

La capacité antioxydante des laits fermentés aromatisés était principalement affectée par le type et la qualité (par exemple la concentration de fruits) de la préparation aromatisante ajoutée [287]. D'autre part, de nombreuses études ont signalé l'amélioration du pouvoir antioxydant des produits laitiers enrichis par des fruits et des légumes [284, 288, 289].

#### 6.2.2.6. Caractérisation rhéologique

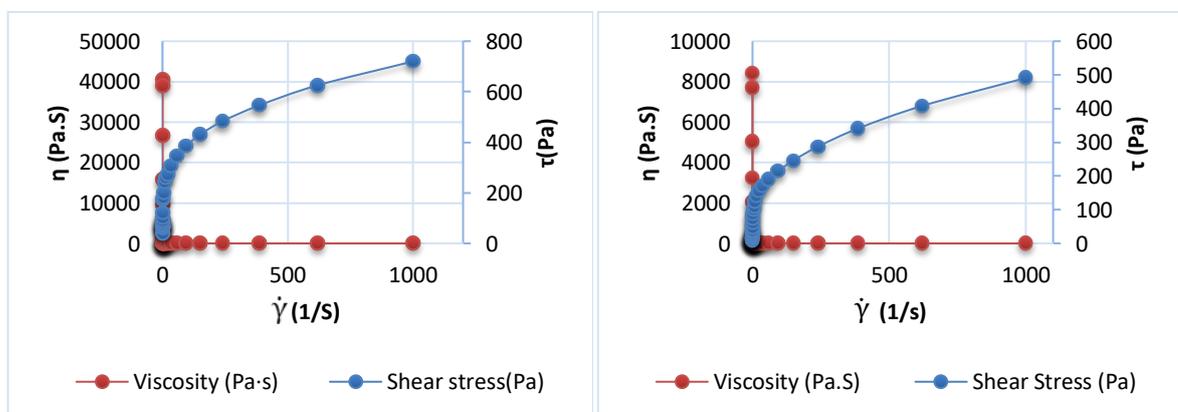
- Courbes d'écoulement

La figure (6.31) montre l'évolution de la contrainte de cisaillement et de la viscosité apparente en fonction de la vitesse de cisaillement.



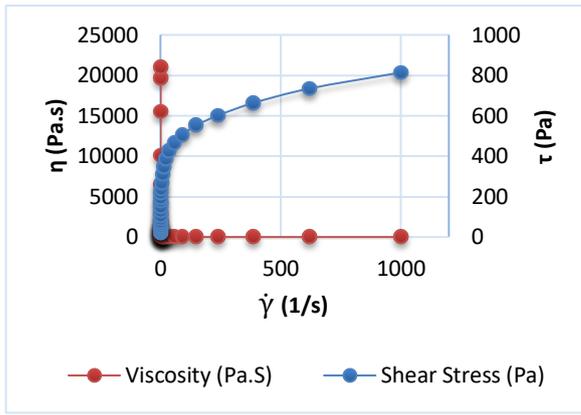
1

2

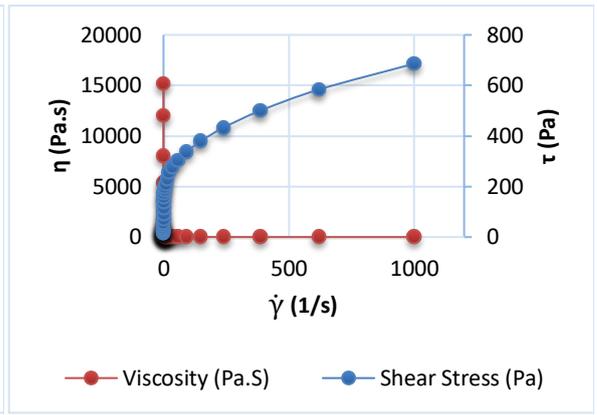


3

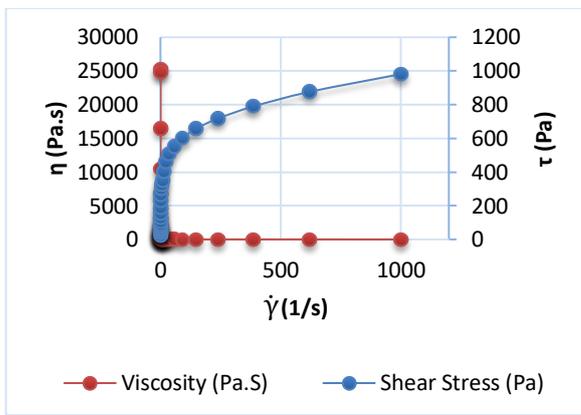
4



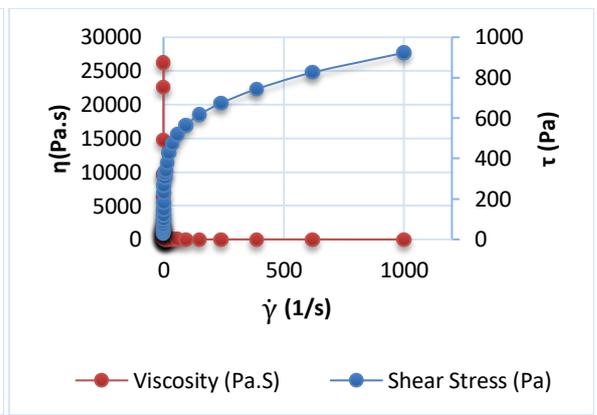
5



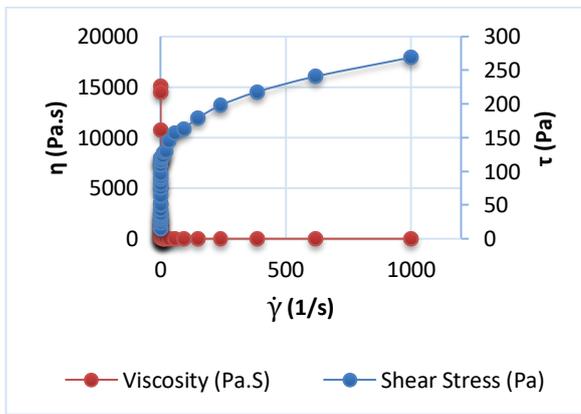
6



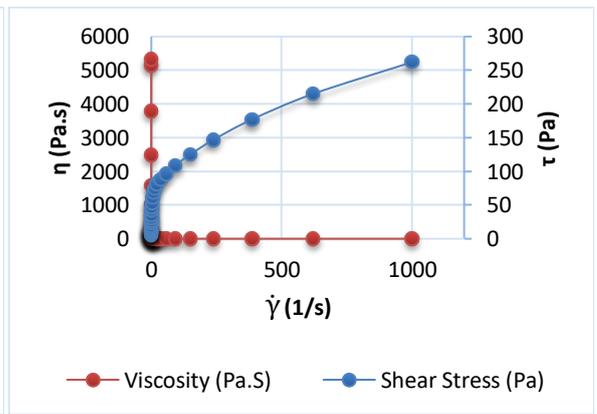
7



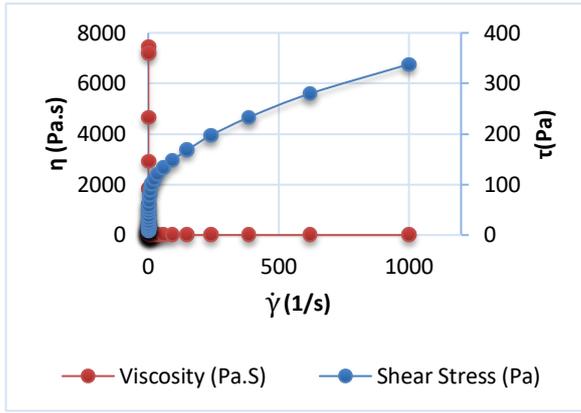
8



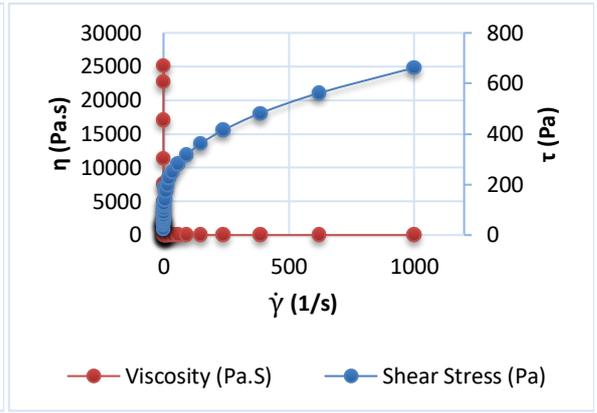
9



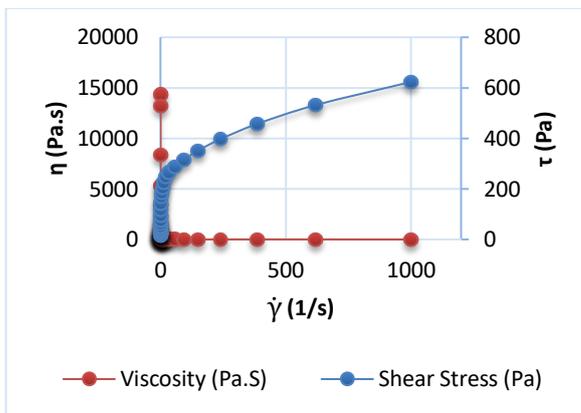
10



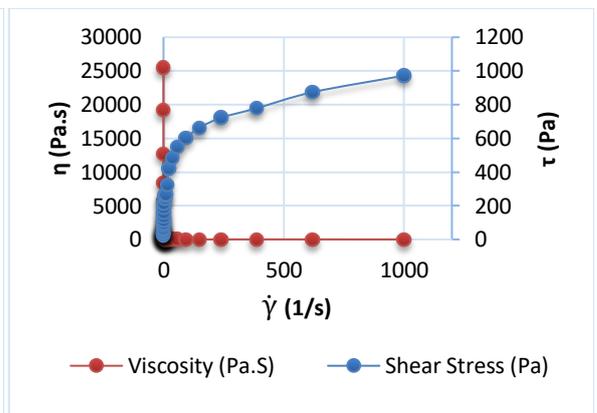
11



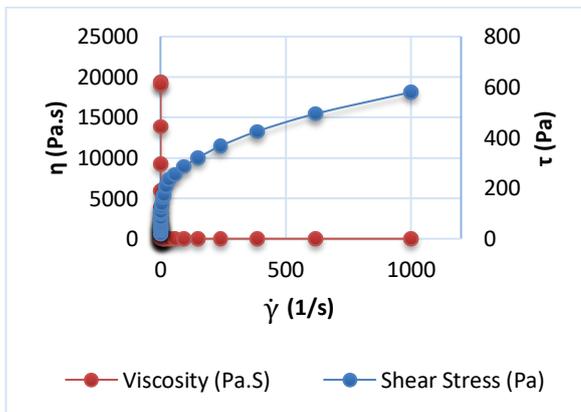
12



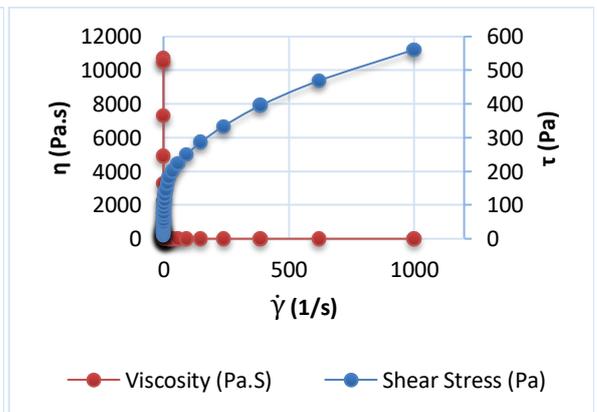
13



14



15



16

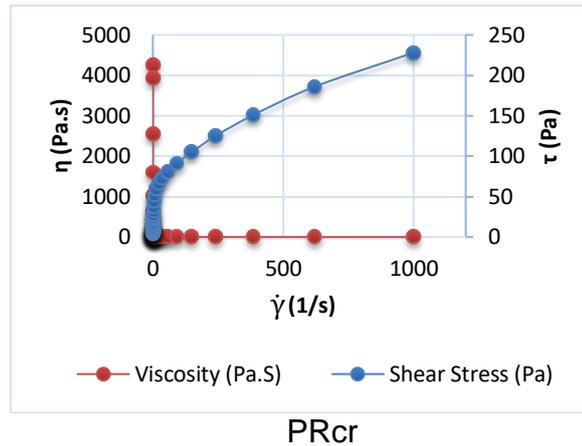


Figure 6.31 : Courbes d'écoulement et de viscosité des crèmes de riz formulées et PRCr

D'après l'allure des courbes, on constate que les crèmes de riz formulées et PRCr présentent des comportements rhéofluidifiants, caractérisés par une diminution de la viscosité apparente lorsque le gradient de vitesse augmente.

En effet, on note que la viscosité diminue lorsque la vitesse de cisaillement augmente pour atteindre finalement une valeur minimale constante à la vitesse élevée. On peut déduire que la déformation commence dès que la contrainte est exercée. La courbe d'écoulement ainsi obtenue n'est pas linéaire. De plus, La contrainte de cisaillement n'est pas proportionnelle à la vitesse de cisaillement. Ce comportement est typiquement rhéofluidifiant [290].

Bien que toutes les crèmes de riz aient montré une diminution de la viscosité avec l'augmentation du taux de cisaillement, des différences claires ont été observées, en fonction des quantités présentes en farine de dattes, de *G. simplicifolia* et de riz.

En fait, la courbe d'écoulement pour tous les essais était correctement ajustée par le modèle Ostwald-de Waele. L'indice de consistance (K) et l'indice de comportement d'écoulement (n) des échantillons de crème desserts ont été calculés et indiqués dans le tableau (6.8). On peut noter que ce dernier varie dans un intervalle compris entre  $[0,19 \pm 0,03^a$  et  $0,29 \pm 0,04^a]$ . Le comportement rhéofluidifiant du produit est confirmé ici également puisque tous les indices d'écoulement sont inférieurs à 1 [291].

Tableau 6.8 : Paramètres rhéologiques de chaque crème de riz formulée et PRcr

Essais	K (Pa.s <sup>n</sup> )	n	R <sup>2</sup>
1	82,12±0,07 <sup>f</sup>	0,26±0,09 <sup>a</sup>	0,9926
2	192,27±0,13 <sup>q</sup>	0,24±0,03 <sup>a</sup>	0,9949
3	150,87±0,10 <sup>l</sup>	0,21±0,02 <sup>a</sup>	0,945
4	60,629±0,17 <sup>d</sup>	0,29±0,04 <sup>a</sup>	0,9887
5	160,73±0,22 <sup>n</sup>	0,26±0,11 <sup>a</sup>	0,9884
6	108,57±0,24 <sup>j</sup>	0,28±0,06 <sup>a</sup>	0,9831
7	180,89±0,16 <sup>p</sup>	0,27±0,16 <sup>a</sup>	0,9879
8	171,84±0,10 <sup>o</sup>	0,27±0,11 <sup>a</sup>	0,9859
9	87,585±0,09 <sup>g</sup>	0,19±0,03 <sup>a</sup>	0,9289
10	36,983±0,10 <sup>b</sup>	0,26±0,13 <sup>a</sup>	0,9911
11	47,055±0,13 <sup>c</sup>	0,27±0,08 <sup>a</sup>	0,9897
12	120,38±0,11 <sup>k</sup>	0,23±0,07 <sup>a</sup>	0,9685
13	95,043±0,09 <sup>h</sup>	0,28±0,19 <sup>a</sup>	0,9849
14	159,35±0,08 <sup>m</sup>	0,28±0,03 <sup>a</sup>	0,9941
15	104,16±0,10 <sup>i</sup>	0,22±0,12 <sup>a</sup>	0,9834
16	79,77±0,09 <sup>e</sup>	0,27±0,09 <sup>a</sup>	0,9949
PRcr	26,86±0,09 <sup>a</sup>	0,28±0,05 <sup>a</sup>	0,9875

Les crèmes de riz formulées présentait une similarité dans les courbes d'écoulement contrairement au PRcr, dont la viscosité était nettement inférieure (26,86±0,09<sup>a</sup> Pa.s ; p<0,05). Cependant, dans la gamme des taux de cisaillements évalués, les crèmes de riz formulées présentent des viscosités plus élevées (2 ; 5 ; 7 et 8) probablement dues à la texture moins influencée par la déformation. Par conséquent, la présence de *G. simplicifolia* et la poudre de datte conduit à des crèmes de riz présentant une viscosité plus élevée mais plus sensibles sous l'effet du cisaillement.

Ces comportements peuvent être liés aux modifications de la microstructure en raison des composants. En d'autres termes, l'augmentation de la viscosité est due à la composition complexe des dattes et graines de *G. simplifolia*, y compris la présence de fibres alimentaires ; cas de la pectine et de sels minéraux.

L'indice de consistance  $k$  varie entre 4,64 et 13,30 (Pa.s), et l'indice d'écoulement  $n$  est de l'ordre de 0,52 à 0,73 pour différentes crèmes de riz à base de protéines de soja [290].

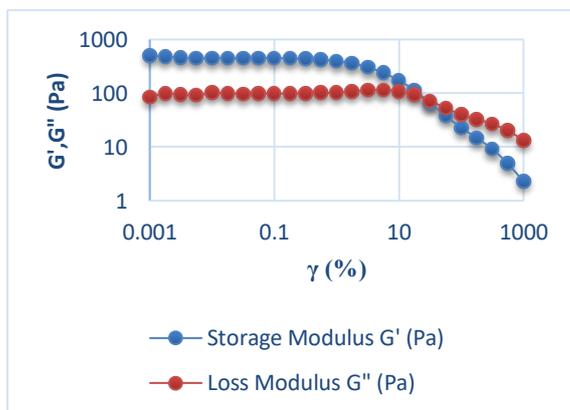
Par ailleurs BARNWA *et al*, [292] ont trouvé que l'indice de consistance varie de 1,3574 à 2,168 Pa.s, tandis que l'indice de d'écoulement variait entre 0,4368 et 0,5297 pour le riz au lait . L'indice de consistance augmente avec l'augmentation de la température et des solides totaux.

Afin de comparer la viscosité des différents essais formulés, on introduit ainsi l'indice de consistance et d'écoulement de chaque essai choisi en tant que réponse au niveau du plan d'expérience.

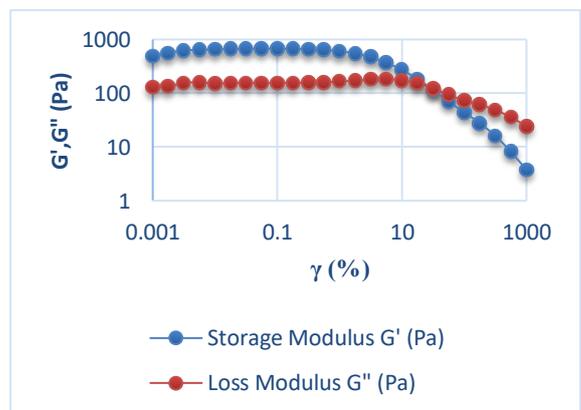
- Propriétés de viscoélasticité

Les courbes de viscoélasticité (Figure 6.32) montrent que les crèmes de riz présentent un comportement élastique ( $G'$  supérieur à  $G''$ ), et lorsque la contrainte augmente, le matériau quitte son régime linéaire,  $G'$  diminue et  $G''$  croît. Le module  $G'$  est un paramètre important pour un échantillon de prédominance élastique ou fortement structuré.

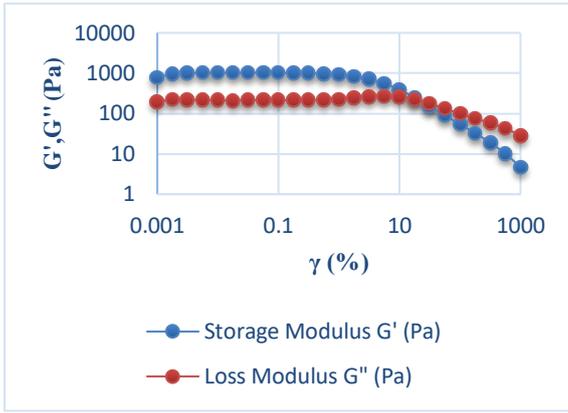
La valeur de  $G''$  est importante pour un échantillon à prédominance visqueuse. A une contrainte donnée, parfois identifiée avec la contrainte seuil,  $G'$  et  $G''$  se croisent. Ce croisement correspond approximativement à un maximum de  $G''$ , qui décroît ensuite lorsque la contrainte appliquée croît. On observe ensuite que  $G'' > G'$ , en accord avec le fait que le matériau est à l'état liquide.



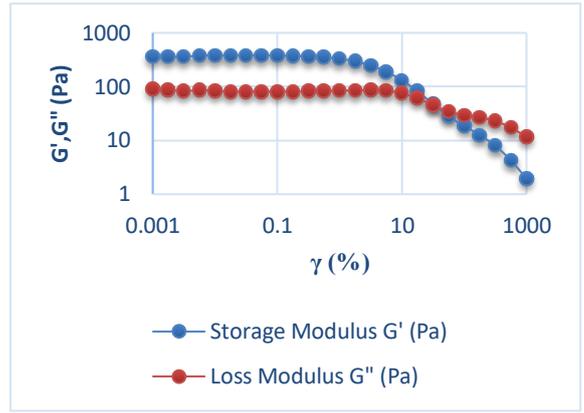
1



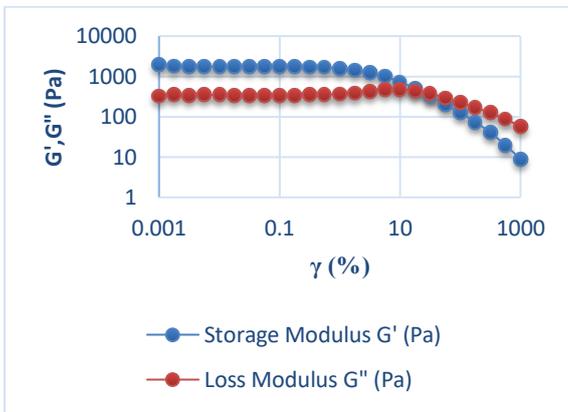
2



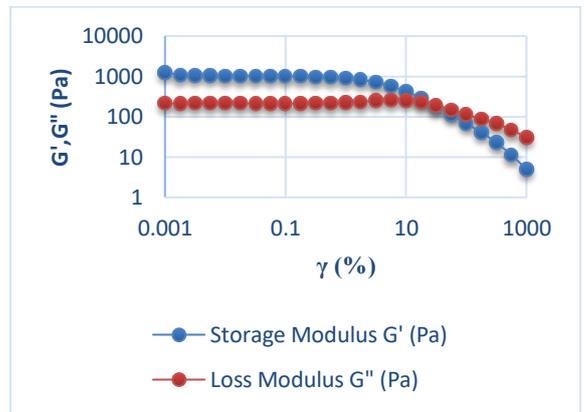
3



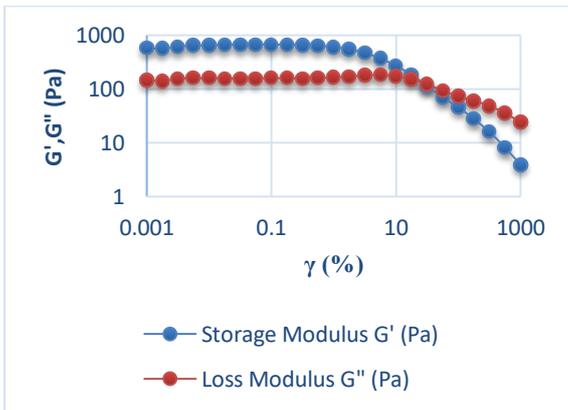
4



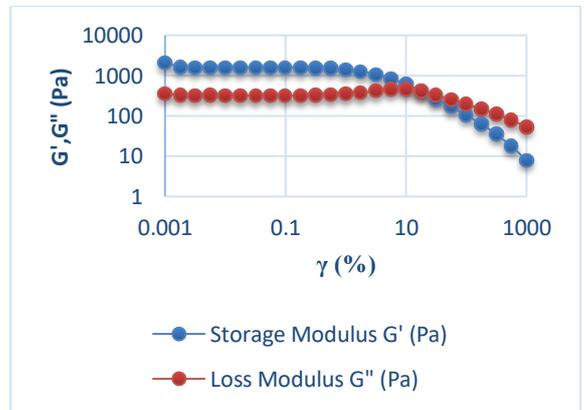
5



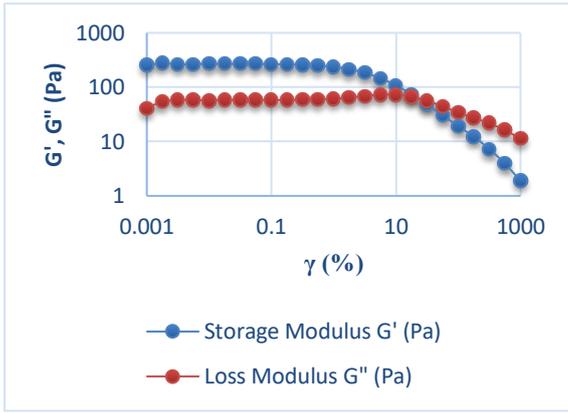
6



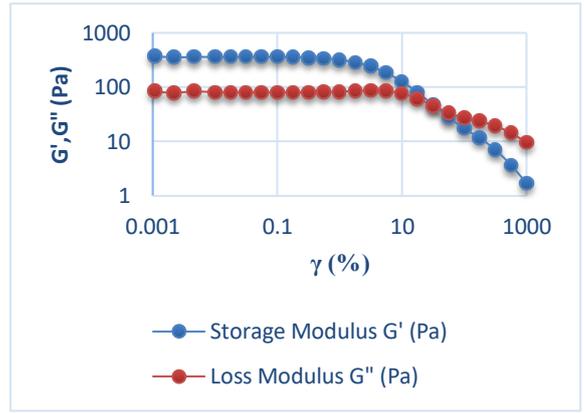
7



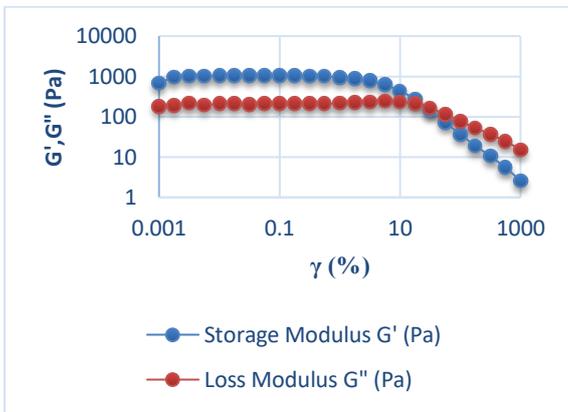
8



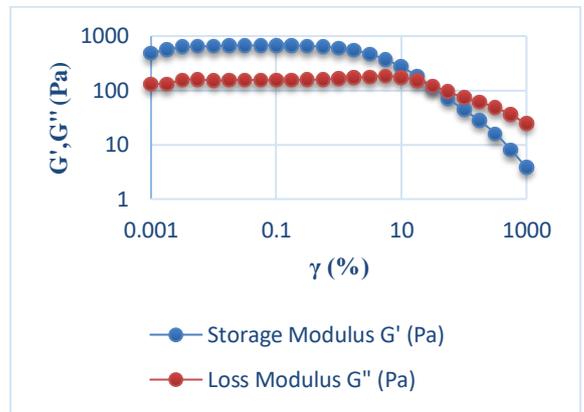
9



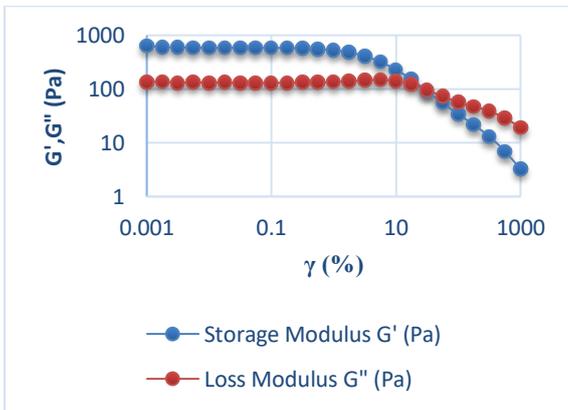
10



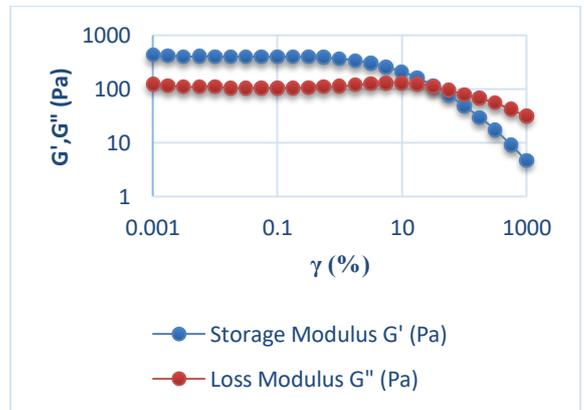
11



12



13



14

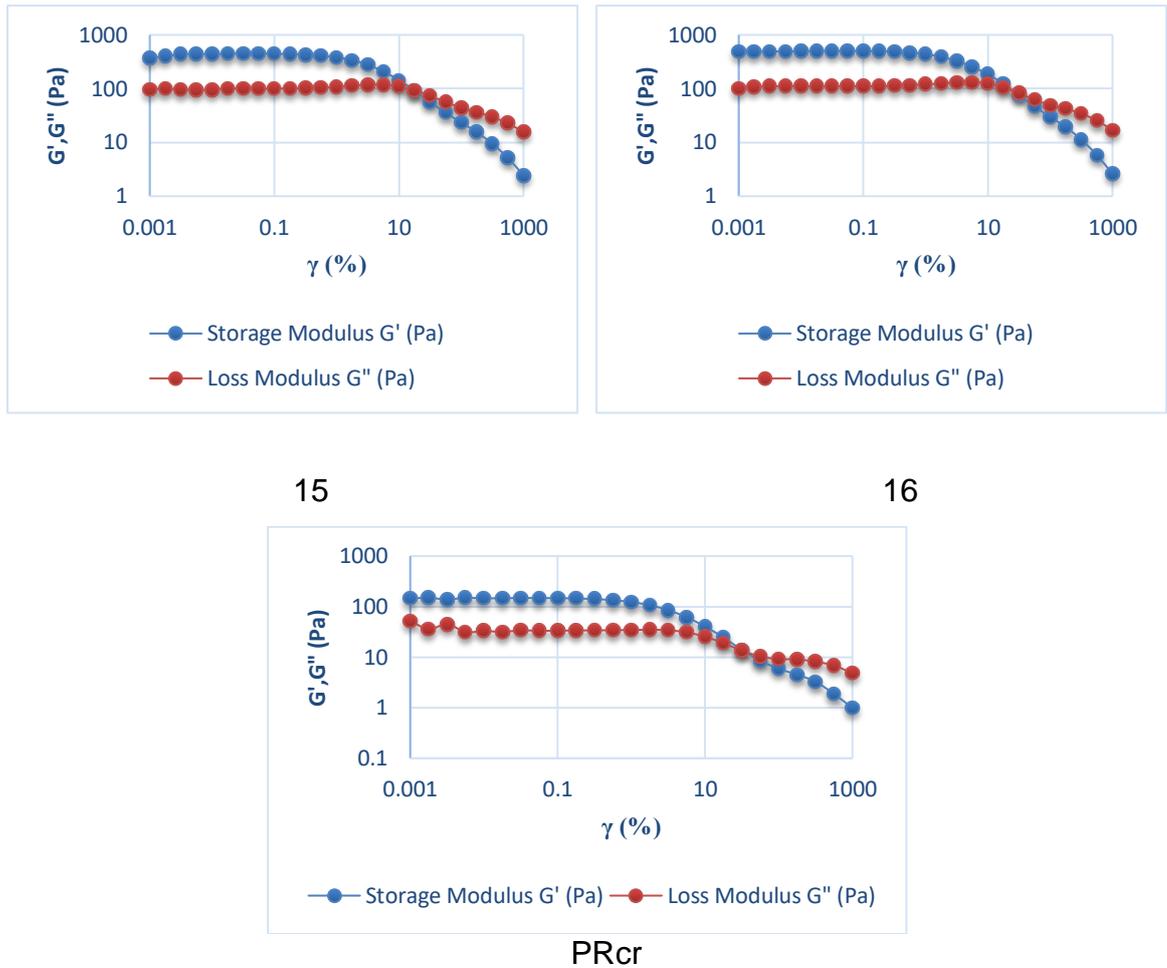


Figure 6.32: Courbes de viscoélasticité des crèmes de riz formulées et PRcr.

Les crèmes de riz formulées ont une pâte plutôt à tendance élastique avec une composante visqueuse non négligeable ( $G''$ ), correspondant ainsi à un gel viscoélastique faible avec un comportement élastique prédominant, c'est-à-dire un gel pseudoplastique ou non Newtonien. Cela correspond aux travaux de LIM & NARSIMHAN [290] et de ALAMPRESE & MARIOTTI [293].

Les valeurs de  $G'$  sont supérieures à celles de  $G''$  et les deux modules présentant une légère variation de fréquence. Ces résultats indiquent que les interactions entre les ingrédients ont influencé les caractéristiques rhéologiques des crèmes de riz. Ces dernières contiennent de la farine de graines de *G. simplicifolia*, et poudre de dattes et montrent un système plus structuré par rapport au PRcr.

Les variations dans les paramètres dynamiques sont dues aux différences de compositions (teneur en fibres, en amidon de riz, en sucre et en minéraux «  $\text{Ca}^{2+}$  précisément ») entre les crèmes de riz formulées et PRcr.

De plus, NORZIAH *et al.*, [294] ont étudié les effets des interactions pectine-saccharose-Ca<sup>2+</sup> sur les propriétés rhéologiques. Ils ont constaté que l'augmentation de la concentration de Ca<sup>2+</sup>, du saccharose et de la pectine augmente les taux de G' et de G'' et que la pectine joue un rôle important.

L'interaction des protéines du lait avec l'agent de texture dans les crèmes de riz est très probablement à l'origine de ces propriétés rhéologiques [295]. En outre, NOISUWAN *et al.*, [296] ont expliqué que la texture plus dure du gel d'amidon était attribuée aux protéines du lait qui se trouvent dans les espaces vides des réseaux tridimensionnels de gel d'amidon.

#### 6.2.2.7. Analyse microbiologique

L'analyse microbiologique (tableau 6.9), a porté sur la recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux et des germes indicateurs de la contamination fécale tels que les *coliformes totaux et fécaux*, des *Staphylococcus aureus*, et aussi la recherche des levures et des moisissures.

Tableau 6.9 : Germes aérobies mésophiles totaux retrouvés dans les crèmes de riz.

Essais	Germes aérobies mésophiles totaux	Essais	Germes aérobies mésophiles totaux
1	40	10	10
2	30	11	20
3	10	12	30
4	20	13	20
5	30	14	30
6	30	15	50
7	50	16	10
8	50	PR	20
9	40	<b>Normes [176] 10<sup>2</sup> UFC / g</b>	

Pour la FAMT (tableau 6.9), on note une faible présence de germes à raison de 10 à 50 UFC /g de produit après 21 jours de conservation, qui est négligeable et reste conforme à la réglementation Algérienne [176] concernant les laits gélifiés.

Alors que nous avons constaté une absence totale des autres germes (*coliformes totaux et fécaux*, *Staphylococcus aureus*, levures et moisissures), ce qui indique que notre produit est de bonne qualité microbiologique et que les conditions de préparation, et de conservation sont satisfaisantes.

#### 6.2.2.8. Optimisation de la formule

- Sélection des réponses

Une matrice de corrélation a été établie entre l'ensemble des variables (prises deux à deux) en vue de détecter et d'éliminer ainsi les réponses dépendantes.

Selon les coefficients de corrélations obtenus, on remarque que les réponses « texture », « odeur » et « couleur » sont fortement corrélées avec les réponses : odeur, acceptabilité, teneur en sucres totaux, teneur en EST, teneur en protéines, teneur en MG et teneur en polyphénols totaux. On se propose de ce fait de les éliminer.

La réponse « sucrosité » et « pH » sont très dépendantes, on élimine la réponse pH (peu de fluctuations entre les échantillons) et on garde la réponse sucrosité.

Les réponses qui ont été maintenues sont : attribut sucrosité (attribut de choix pour l'appréciation des qualités organoleptiques du produit), teneur en protéines, activité antiradicalaire, K et n.

- Modélisation en surface de réponse

Pour pouvoir effectuer une optimisation, il faut que la qualité de l'ajustement ainsi que la qualité prédictive du modèle soient bonnes. Pour ce faire on a comparé les deux coefficients dont les résultats obtenus sont illustrés dans la figure (6.33).

Manifestement, la qualité de ces trois modèles est plus que satisfaisante, tant que sur le plan ajustement que sur le plan prédiction, au vu des bonnes valeurs affichées des deux coefficients R<sup>2</sup> et Q<sup>2</sup>.

Ainsi, on peut noter que le coefficient R<sup>2</sup> atteint un pourcentage supérieur et/ou égal à 95% quant au Q<sup>2</sup> les valeurs sont supérieures et/ou égal à 79%.

Les tests de reproductibilité des essais ont aussi donné d'excellents résultats consolidant ainsi celles obtenues pour le Q<sup>2</sup> et R<sup>2</sup>.

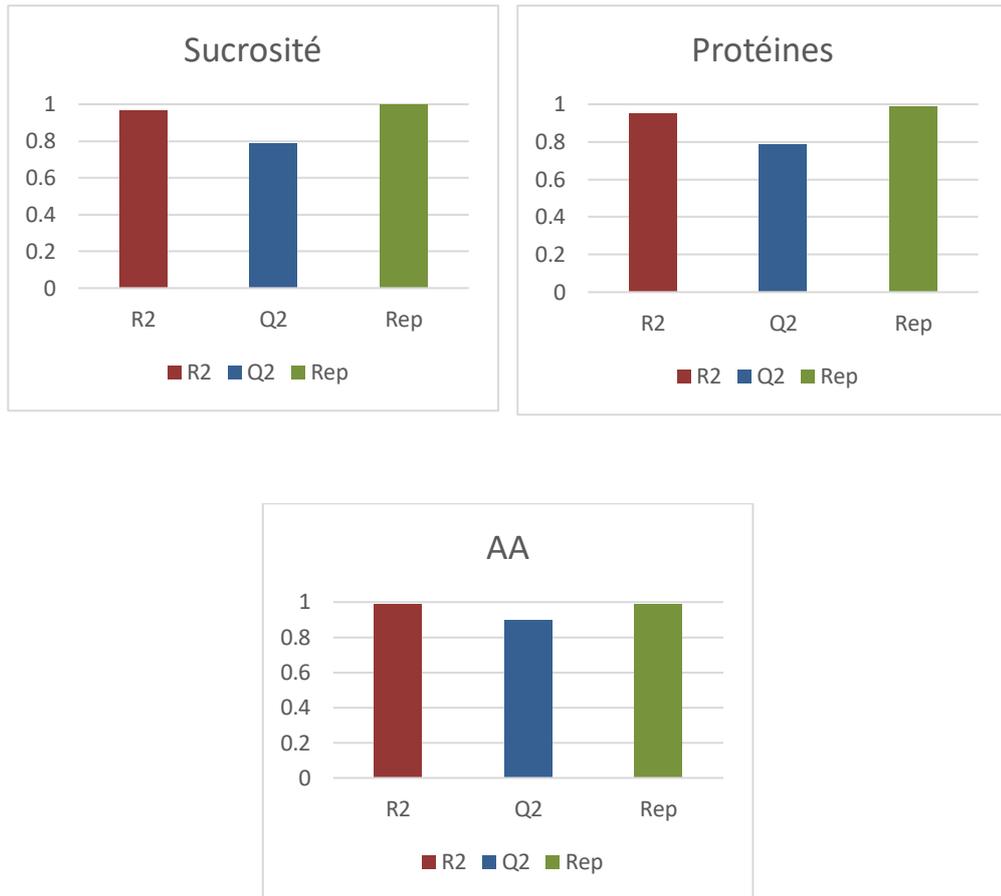


Figure 6.33: Les paramètres conditionnant la qualité au sens statistique des résultats de la modélisation en surface de réponses (Protéines, Sucrosité, et AA)

La modélisation en surface de réponse pour K ( $R^2=0,65$  ;  $Q^2=0,34$ ), n ( $R^2=0,33$  ;  $Q^2= 0,0008$ ), l'EST ( $R^2= 0,62$  ;  $Q^2= 0,18$ ), la couleur ( $R^2= 0,67$  ;  $Q^2= 0$ ) et les cendres ( $R^2=0,65$  ;  $Q^2= 0,32$ ) sont médiocres au sens statistique car le pouvoir prédictif  $Q^2$  est trop bas et  $R^2$  est inférieur à 0,70. Les coefficients inconnus du modèle ont été calculés pour chacune des réponses à l'aide de la régression PLS exécutée par le logiciel MODDE 6 (eq 6.8-6.9-6.10).

$$\text{Protéines} = 8,96 - 0,25 x_1 - 0,35x_2 + 0,25x_3 - 0,11x_1^2 - 0,08x_2^2 - 0,16x_3^2 - 0,13x_1x_2 - 0,06x_1x_3 - 0,06x_2x_3 \quad (6.8)$$

$$\text{Sucrosité} = 4,09 + 0,22x_1 - 0,03x_2 - 0,06x_3 + 0,01x_1^2 + 0,003x_2^2 + 0,033x_3^2 + 0,05x_1x_2 + 0,001 x_1x_3 + 0,06x_2x_3 \quad (6.9)$$

$$\text{AA} = 10,07 + 0,30x_1 - 0,34x_2 + 0,03x_3 - 0,03x_1^2 + 0,012x_2^2 - 0,008x_3^2 - 0,02x_1x_2 - 0,08x_1x_3 + 0,017x_2x_3 \quad (6.10)$$

Une fois validés, ces modèles mathématiques sont ensuite représentés graphiquement par des courbes d'iso-réponses.

Le rôle de ces graphiques étant de représenter les différentes relations entre les facteurs composant un modèle mathématique prédictif dans les limites du domaine d'étude. Ils nous permettent ainsi de comparer plus efficacement les effets des facteurs et leurs impacts sur la réponse et de déceler ainsi le comportement du système étudié.

- Effet des facteurs sur les réponses

Les différentes courbes établies sont illustrées dans les figures (6.34, et E.4 Appendice E).

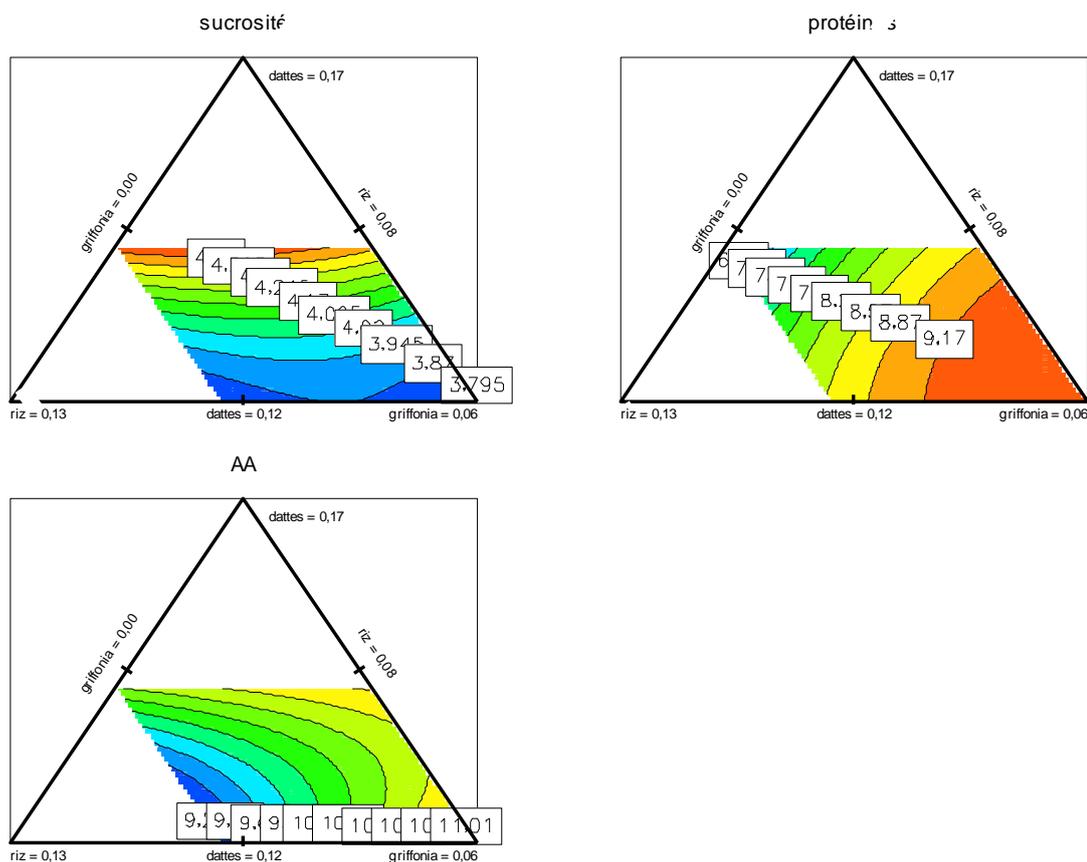


Figure 6.34: Courbes iso réponses du taux de protéines, sucrosité et activité antioxydante.

Selon les graphiques obtenus, on peut noter que les dattes accentuent de façon significative la saveur sucrée ainsi que l'activité antioxydante.

En effet, on remarque un accroissement de l'activité antioxydante ainsi que de la teneur en protéines pour des concentrations élevées.

Concernant le riz par contre, on peut noter que ce facteur a un effet négatif global pour les trois réponses.

Ces résultats prélevés sont confirmés par les courbes d'iso réponses illustrées dans les figures (6.34, appendice E.4).

- Formule optimale

Suivant les résultats prélevés, on peut déduire notre formule optimale. Pour la trouver, il faut préciser ce qu'on désire maximiser ou alors minimiser comme réponse.

Selon notre objectif, on cherche en fait à obtenir un produit riche en protéines, et en substances antioxydantes, avec une saveur sucrée appréciée.

On choisit de ce fait de maximiser toutes les réponses. L'optimum se déduira par dérivation de l'équation du modèle pour trouver les valeurs x des niveaux des facteurs conduisant à l'extremum. Ainsi les résultats d'optimisation ont donné la formule (figure 6.35)



Figure 6.35: crème de riz « formule optimale ».

La formule optimale obtenue est constituée (pour 100g) de 8g de riz, 14 g de farine de datte, et 3,5g de farine de graine de *Griffonia simplicifolia*. Les autres ingrédients sont maintenus figés.

Notre formule optimale (figure 6.35) contient un taux de 8,98 % de protéines, la note attribuée à la sucrosité est de 4,40, et une activité antioxydante estimée à 10,93%.

## CONCLUSION

## CONCLUSION

La demande en aliments diététiques a pris une énorme ampleur ces dernières années compte tenu de la prise de conscience des consommateurs qui ont bien compris que leur bonne santé est fonction de ce que contient leur assiette. Dans cet objectif, la présente étude s'intéresse d'une part à l'étude de trois plantes *Atriplex halimus*, *Griffonia simplicifolia* et *Lupinus albus* dont les propriétés nutritionnelles et thérapeutiques ont été démontrées par plusieurs auteurs, ainsi que leur incorporation dans des préparations alimentaires de grande consommation.

L'analyse physico-chimique et phytochimique des feuilles de *A. halimus* et des graines de légumineuses *G. simplicifolia* et *L. albus* a montré que les critères de composition s'avèrent de bonne qualité.

La caractérisation des matières premières qui ont servi à l'élaboration des cinq formules (le jus d'agrume, les dattes à faible valeur marchande Mech-Degla, et Degla-Beida, et le lait) a mis en évidence leur conformité du point de vue physico-chimique et hygiénique.

Les essais des cinq formules ont été réalisés en utilisant le plan de mélange pour aboutir à la formule optimale en se basant sur les analyses sensorielles, physico-chimique, phytochimique et rhéologique.

De tout ce qui précède, il semblerait que la boisson végétale optimale (à base d'extrait de feuilles de *A. halimus* formulée avec une substitution totale du saccharose avec l'édulcorant naturel de *Stévia rebaudiana*), présente une bonne qualité sensorielle (note attribuée pour l'acceptabilité 3,847 et la saveur 4,274 sur un total de 5), avec un apport en vitamine C estimé à 28,240mg/100ml. Cette boisson peut parfaitement remplacer les boissons commerciales (soda, limonades et jus).

Pour la boisson au lupin « lait de lupin » formulée, le saccharose en totalité a été substitué par des dattes (Mech-Degla), la formule optimale retenue est caractérisée par une teneur en Protéines de 7,287%, une teneur en Calcium de 33,125 mg/100ml, et présente une activité antioxydante estimée à 31,154 %, et la note attribuée à l'acceptabilité générale est de 3,662 (sur un total de 5). La boisson en question constitue un apport supplémentaire en composés bioactifs pour l'organisme, elle peut donc remplacer les boissons lactées aromatisées commerciales dont les propriétés nutritionnelles sont réduites.

La préparation de fromage frais a permis de faire ressortir une formule optimale dont *Lupinus albus* est présent avec un taux de 29,87%, le lait avec une quantité de 58,07%, et 8,06 % de poudre de lait. Les autres composants ont été maintenus figés. Cette formule peut être considérée comme un produit fonctionnel qui présente de bonnes propriétés sensorielles, physico-chimiques et microbiologiques.

L'évaluation des paramètres sensoriels, physico-chimiques, microbiologiques et rhéologiques de la crème de riz formulée avec la farine de graines de *Griffonia simplicifolia* et la datte Degla-Beida a présenté une teneur en protéines de 8,98g/100g, une note de 4,40 attribuée à la saveur sucrée, et une activité antioxydante de 10,93%. Les graines de *G. simplicifolia* et les dattes constituent aussi une bonne source de substances bioactives telles que les composés phénoliques qui améliorent les propriétés nutritionnelles du dessert lacté. De ce fait, cette formule pourrait constituer un atout majeur lors de la commercialisation.

En analysant les caractéristiques des produits, on peut souligner que les cinq formules développées présentent d'autres apports bénéfiques tels que : les fructo-oligosaccharides contenus dans les deux variétés de dattes, les vitamines. L'absence de conservateurs et des sucres ajoutés dans les formulations, en fait un bon choix de consommation pour les personnes soucieuses qui cherchent des produits moins industrialisés, plus sains et plus nutritifs. L'ensemble des avantages démontrés à l'échelle laboratoire méritent d'être vérifiés à l'échelle pilote pour prévoir des transpositions à une échelle industrielle.

Afin de compléter ce travail de thèse, plusieurs études supplémentaires devraient être mise en œuvre, notamment :

- Réaliser un suivi des propriétés physicochimiques et microbiologiques des formules optimales afin de déterminer leur date limite de consommation;
- Entreprendre une étude clinique de confirmation du caractère fonctionnel de toutes les préparations alimentaires réalisées à savoir :
  - Boisson végétale à base de jus d'agrume et d'extrait de *A. halimus*,
  - Boisson au lupin naturellement sucrée par les dattes,
  - Fromage frais à l'extrait aqueux de *L. albus*,
  - Crème de riz enrichi en *G.simplicifolia*et naturellement sucrée par des dattes ;
- Etablir une étude technico-économique sur la valorisation des différentes matières végétales proposées dans ce travail.

Enfin, il serait plus intéressant de faire des études plus approfondies et complètes sur chaque plante prise à part afin d'en tirer profit et de mettre au point des produits diététiques de bonne qualité nutritionnelle et aussi qui sera à la portée des consommateurs qui deviennent de plus en plus soucieux et exigeants.

# APPENDICES

## LISTE DES SYMBOLES ET DES ABREVIATIONS

a: Coefficient du modèle mathématique  
AA: Activité antiradicalaire  
ANOVA: Analyse de la variance (analysis of variance)  
BS: Boisson au soja  
EAG: Équivalent acide gallique  
ES: Essai  
FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations  
FIL: Fédération Internationale de Laiterie  
FTAM : Flore Total Aérobie Mésophile  
JORA : Journal officiel de la république Algérienne  
MG: Matière grasse  
MO : Microorganismes  
MS : Matière sèche  
MSR: Méthodologie des Surfaces de Réponses  
OMS: Organisation Mondiale de Santé  
pH: Potentiel Hydrogène  
Pi : Point isoélectrique  
PLS: Partial Least Squares  
PR : Produit de référence  
PRf : Produit de référence fromage  
PRcr : Produit de référence crème de riz  
Q2 : Coefficient de prédiction  
R2 : Coefficient d'ajustement du modèle  
rpm : rotation par minute  
SM : Suspension mère  
SNC : système nerveux central  
UFC : unité formant colonie  
5-HTP : 5-Hydroxytryptophane

## Aperçu de quelques concepts théoriques sur les plans d'expériences

### 1. Introduction

Afin de pouvoir établir des formulations diététiques, il s'avère indispensable de suivre la méthode des plans d'expériences qui permet de structurer les démarches expérimentales entreprises et donner ainsi de la crédibilité aux informations et résultats prélevés. Les plans d'expériences existent depuis près d'un siècle. Ils étaient à l'origine utilisés par les agronomes pour résoudre les divers problèmes qu'ils rencontraient (paramètres d'intervention multiples, grand nombre d'essais, coût élevé des réactifs, durée, etc). Le plan d'expériences a été utilisé pour la première fois dans les années 1920 par Ronald Aylmer Fisher en Grande-Bretagne, au cours de ses travaux en agronomie [297].

### 2. Notion d'espace expérimental

La compréhension de la méthode des plans d'expériences s'appuie sur deux notions essentielles, celle d'espace expérimental et celle de modélisation mathématique des grandeurs étudiées. Un expérimentateur qui lance une étude s'intéresse à une grandeur qu'il mesure à chaque essai. Cette grandeur s'appelle la réponse, c'est la grandeur d'intérêt. La valeur de cette grandeur dépend de plusieurs variables. Au lieu du terme « variable » on utilisera le mot facteur. La réponse dépend donc d'un ou de plusieurs facteurs. Le premier facteur peut être représenté par un axe gradué et orienté (Figure B.1). La valeur donnée à un facteur pour réaliser un essai est appelée niveau. Lorsqu'on étudie l'influence d'un facteur, en général, on limite ses variations entre deux bornes. La borne inférieure est le niveau bas. La borne supérieure est le niveau haut [298].

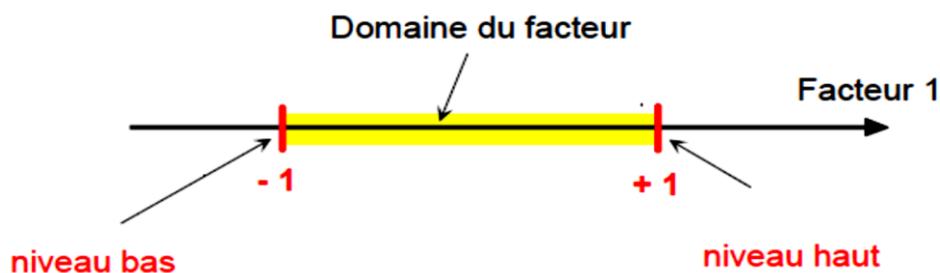


Figure B.1: Le domaine de variation d'un facteur [298]

L'ensemble de toutes les valeurs que peut prendre le facteur entre le niveau bas et le niveau haut, s'appelle le domaine de variation du facteur ou plus simplement le domaine du facteur. On a l'habitude de noter le niveau bas par  $-1$  et le niveau haut par  $+1$ . S'il y a un second facteur, il est représenté, lui aussi, par un axe gradué et orienté. On définit, comme pour le premier facteur, son niveau haut, son niveau bas et son domaine de variation. Ce second axe est disposé orthogonalement au premier. On obtient ainsi un repère cartésien qui définit un espace euclidien à deux dimensions. Cet espace est appelé l'espace expérimental. Le niveau  $x_1$  du facteur 1 et le niveau  $x_2$  du facteur 2 peuvent être considérés comme les coordonnées d'un point de l'espace expérimental (Figure B.2.a). Une expérience donnée est alors représentée par un point dans ce système d'axes. Un plan d'expériences est représenté par un ensemble de points expérimentaux [298].

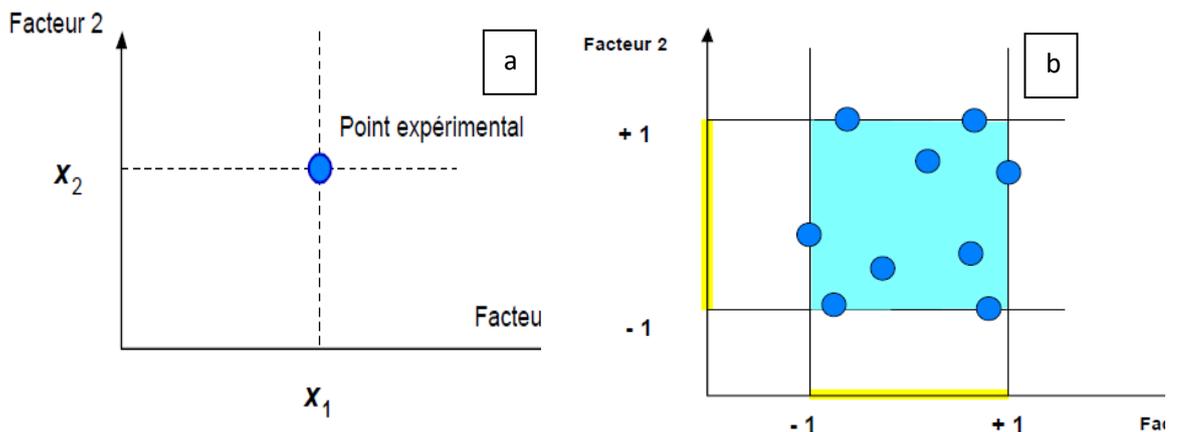


Figure B.2: Représentation d'un point expérimental (a), Représentation géométrique d'une expérimentation (b) [299]

Le regroupement des domaines des facteurs définit le « domaine d'étude ». Ce domaine d'étude est la zone de l'espace expérimental choisie par l'expérimentateur pour faire ses essais. Une étude, c'est-à-dire plusieurs expériences bien définies, est représentée par des points répartis dans le domaine d'étude (Figure B.2.b). Cette façon de représenter une expérimentation par des points dans un espace cartésien est une représentation géométrique de l'étude [298,299].

### 3. Notions de surface de réponse

Les niveaux  $x_i$  représentent les coordonnées d'un point expérimental et  $y$  est la valeur de la réponse en ce point. On définit un axe orthogonal à l'espace expérimental et on l'attribue à la réponse. La représentation géométrique du plan d'expériences et de la réponse nécessite un espace ayant une dimension de plus que l'espace expérimental. Un plan à deux facteurs utilise un espace à trois dimensions pour être représenté : une dimension pour la réponse, deux dimensions pour les facteurs. A chaque point du domaine d'étude correspond une réponse. A l'ensemble de tous les points du domaine d'étude correspond un ensemble de réponses qui se localisent sur une surface appelée la surface de réponse (Figure B.3). Le nombre et l'emplacement des points d'expériences est le problème fondamental des plans d'expériences [298].

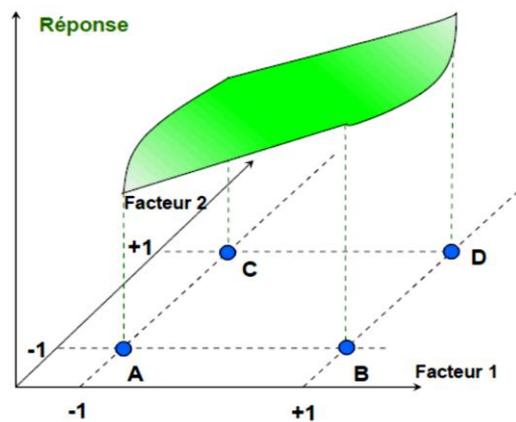


Figure B.3: Représentation d'une surface de réponse [298]

### 4. Matrice d'expériences

La représentation géométrique d'un plan d'expériences est commode pour imaginer la position des points expérimentaux dans le domaine d'étude. Mais elle ne peut plus être employée dès que le nombre de facteurs est supérieur à trois. Pour les espaces multidimensionnels, nous adopterons une représentation en forme de tableau ou matrice d'expériences. Cette dernière comprend une première colonne qui identifie les essais. Les colonnes suivantes indiquent les coordonnées des points représentatifs des expériences prévues. Les expériences géométriques et matricielle sont équivalentes [298].

## 5. Plans mélanges

Les plans mélanges sont une forme particulière des plans factoriels complets ils permettent d'étudier la réponse en fonction des concentrations des divers constituant composant un mélange par rapport à un volume absolu. Généralement les propriétés d'un mélange dépendent de sa composition [300].

Si  $X_i$  est la proportion du constituant « i » dans le mélange à « k » constituants nous avons en chaque point p [301] :

$$\sum_{i=1}^k X_i = 1$$

➤ **Mélange binaire** : (k=2)

Segment de droite

$$X_1 + X_2 = 1$$

➤ **Mélange ternaire** : (k=3)

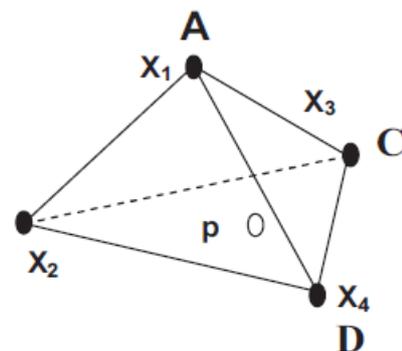
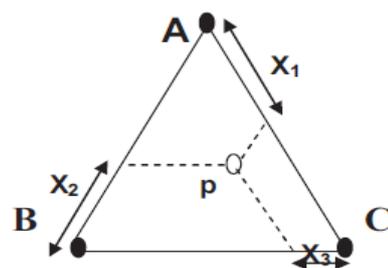
Triangle équilatéral

$$X_1 + X_2 + X_3 = 1$$

➤ **Mélange à quatre constituants** : (k=4)

Tétraèdre

$$X_1 + X_2 + X_3 + X_4 = 1$$



## 6. Les étapes de réalisation d'un plan d'expériences

### 6.1. Etape de préformulation

Il s'agit d'une étude préliminaire permettant de définir les objectifs, les facteurs ainsi que les réponses voulant être mis en évidence par l'étude [299].

### 6.1.1. Observation des faits

Le travail appelé par cette étape consiste à documenter de façon objective l'ensemble des questions appropriées et exhaustives bien connues des animateurs des groupes de résolution de problèmes avec le Q.Q.O.Q.C.P. : Qui (est concerné)? (De) Quoi (s'agit-il ?), Où (ça se manifeste), Quand (ça se manifeste), Comment (ça se manifeste), Pourquoi (ça se manifeste) en s'efforçant [302] :

- D'identifier les faits objectifs, et de préférence documentés associés au "ressenti" du problème, c'est la réponse au Quoi,
- D'identifier les faits réellement gênants et importants sans se polariser sur les faits secondaires,
- De décrire de façon succincte et documentée les faits relatés.

### 6.1.2. La formulation du problème

Elle consiste à exploiter toutes les informations recueillies sur le problème pendant l'investigation préalable. Elle appelle successivement [303]:

#### 6.1.2.1. La définition des objectifs et des contraintes de l'étude

A partir de l'observation des faits et des attentes exprimées, on doit préciser

- ✓ Le thème de l'étude (résumé en une phrase courte).
- ✓ Les objectifs à atteindre en termes non ambigus, sans référence à d'éventuelles solutions, et de préférence quantifiées.
- ✓ Les raisons de l'étude afin de s'assurer de leur caractère prioritaire.
- ✓ Les limites de l'étude pour les remises en question et la recherche de solutions.
- ✓ Les contraintes associées à la réalisation des objectifs telles que délai, planning de mise à disposition des moyens d'essais, coûts.

#### 6.1.2.2. La définition des réponses

Il s'agit de décliner les objectifs de l'étude [299, 303, 304] :

- En grandeurs à optimiser, si le but final est d'assurer une conformité à des spécifications,
- En grandeurs à modéliser, dans le cas où seul le comportement d'un phénomène ou d'un système est à étudier.

Pour la mise au point de produits ou de procédés, il est souhaitable que les grandeurs retenues soient en rapport direct avec les cibles caractérisant la conformité recherchée. A chacune de ces grandeurs pourront ensuite être associées une ou plusieurs réponses:

- Dans le cas où la dispersion est négligeable, on retiendra de préférence comme réponse la valeur moyenne de cette grandeur, mesurée sur un échantillon d'objets réalisés,
- Dans le cas contraire, on prendra, non seulement la valeur moyenne, mais aussi l'écart type de la distribution de celle-ci.

Si la grandeur est qualitative, ses attributs étant par exemple "bon - pas bon", la réponse pourra être le pourcentage de "bon" ou de "pas bon" observé sur un échantillon d'objets répondant à une même définition. Chaque grandeur caractérisant l'objectif est ainsi associée à une réponse qui fera l'objet d'une modélisation en vue de la recherche d'une solution.

Si les réponses sont multiples, on pourra ultérieurement les regrouper, lors de l'analyse du plan d'expériences, en une ou deux réponses principales en utilisant une fonction désirabilité afin de faciliter l'optimisation globale. Les réponses définies doivent être caractéristiques de l'objectif de l'étude, être quantitatives, être économiques, faciles et rapides à mesurer.

#### 6.1.2.3. Le choix de la stratégie d'expérimentation

Il existe en fait plusieurs stratégies, les plus importantes sont : la stratégie **Q**, **stratégie P** Pour choisir un des deux types, il est nécessaire d'avoir une connaissance préalable du phénomène étudié, et en particulier de savoir si les facteurs sur lesquels on est susceptible d'agir sont nombreux ou non, et si leur influence est certaine ou non. Pour différencier entre les deux stratégies, il est essentiel de définir chacune d'elles [303,304] :

- La stratégie Q: Cette stratégie est qualifiée aussi de screening, débroussaillage ou encore criblage. Elle s'applique surtout pour identifier les facteurs influents et ceux qui ne le sont pas, et si besoin, pour hiérarchiser les facteurs selon l'importance de leur effets moyens.
- La stratégie P: Cette stratégie dite d'optimisation ou méthodologie de surface de réponses permet de déterminer les valeurs des facteurs influents correspondant à une réponse particulière au système. On ne tient compte que des facteurs ayant une influence certaine. On n'aura pas recours à la hiérarchisation qui relève de la stratégie Q.

#### 6.1.2.4. Le recensement et la hiérarchisation des facteurs

On peut répartir ces facteurs au sein de quatre classes [302,303,304]:

- Les facteurs à figer d'emblée dans l'étude

Ce sont les facteurs qui n'auront aucune influence sur les objectifs visés. Ils seront figés, lors de l'étude, à un niveau donné et précisé. Par exemple, en production, les paramètres influents sur la productivité ou le temps de cycle, telle que la vitesse d'injection, dans un processus de moulage par injection, sont difficilement remis en cause et sont donc souvent considérés comme des paramètres hors étude.

- Les facteurs principaux

Ce sont les facteurs recensés sur lesquels on est susceptibles d'agir pour atteindre les objectifs de l'étude.

- Les facteurs de bruit Ce sont des facteurs recensés non maîtrisés, et qui sont susceptibles d'occasionner une variabilité indésirable sur les grandeurs associées aux objectifs de l'étude.
- Les facteurs blocs Ce sont des facteurs liés aux moyens et aux conditions d'expérimentation qui vont varier inévitablement pendant les essais. Ils peuvent être de type espace ou de type temps.

#### 6.1.2.5. Le choix du domaine expérimental et des niveaux

Il faut définir le domaine de variation ainsi que les niveaux correspondants des facteurs quantitatifs retenus. Pour les facteurs à figer, il faudra préciser le niveau constant qui devra leur être attribué. Pour les autres facteurs, le domaine sera défini par ses bornes [304].

#### 6.1.2.6. Le recensement d'éventuelles interactions

A ce niveau, on s'interrogera toujours sur l'existence d'interactions très fortes. En général, c'est une question extrêmement difficile, notamment dans le domaine des processus de production. L'interaction est un phénomène complexe et difficile à pressentir [299].

#### 6.1.2.7. La détermination du type de modèle et de plan.

Dans la majorité des plans d'expériences, le modèle est à la base de la construction de la matrice d'expériences. La démarche des plans d'expériences impose le choix, avant les essais, de ce modèle mathématique nommé aussi modèle a priori ou modèle postulé. Les deux modèles mathématiques très utilisés sont ceux du premier et second degré [299, 304].

- Modèle du premier degré

On suppose dans ce cas que les variations de la réponse sont proportionnelles aux teneurs des constituants du mélange. Les interactions entre facteurs sont négligées. Pour un mélange de trois constituants, le modèle peut s'écrire de la manière suivante [299, 304]:

$$y = A_0 + A_1X_1 + A_2X_2 + A_3X_3$$

Où :

Y est la réponse au point de composition choisi;

$x_1, x_2, x_3$  sont les teneurs respectives des produits A,B et C;

$a_0, a_1, a_2$  et  $a_3$  sont les coefficients inconnus que l'on cherche à déterminer.

- Le modèle du second degré

Le modèle mathématique du second degré est utilisé dans le cas où on tient compte des interactions entre les facteurs. D'une façon générale, ce modèle comprend les termes du premier degré, les termes rectangles et les termes carrés. Pour un mélange de 3 facteurs, le modèle peut s'écrire de la façon suivante [299, 304]: L'écriture de la forme générale du modèle permet de définir le nombre de coefficients à estimer.

$$y = A_0 + A_1 X_1 + A_2 X_2 + A_3 X_3 + A_{12} X_1 X_2 + A_{23} X_2 X_3 + A_{11} X_1^2 + A_{22} X_2^2 + A_{33} X_3^2$$

## 6.2. Construction du plan et réalisation des essais

La construction du plan d'expériences s'effectue à l'aide d'un logiciel nommé MODDE 6.0. Il s'agit d'un logiciel fonctionnant sous Windows permettant de définir des plans d'expériences, de les analyser et de les optimiser. L'expérimentateur mène les expériences en respectant le plan d'expérimentation engendré par le logiciel. Cette étape est très importante, puisque c'est de la bonne réalisation des expériences que l'on pourra tirer les informations capitales qui seront exploitées par la suite. Il est également conseillé de randomiser l'ordre des essais car si le processus subit une dérive, en n'effectuant pas les essais de manière aléatoire, on va amplifier aux effets des facteurs les effets des dérives. Cette randomisation consiste à tirer au hasard l'ordre des essais pour supprimer l'influence des facteurs perturbateurs non identifiés pouvant être corrélés avec l'ordre des essais [305].

## 6.3. Interprétations des résultats

Le calcul des coefficients inconnus du modèle se fait à l'aide des résultats d'expériences obtenues. La méthode de calcul est basée sur la régression dite PLS (partial least squares) en employant le critère d'optimisation des moindres carrés. La régression linéaire classique fournit en fait une seule solution souvent basée sur le critère des moindres carrés. Lorsqu'il y a beaucoup de variables, on risque d'obtenir un modèle surparamétré, c'est-à-dire modélisant les erreurs [306].

Pour éviter cette surparamétrisation, la régression PLS a été introduite car étant une régression séquentielle, elle permet d'arrêter le processus de régression avant de modéliser l'erreur. La régression PLS est une technique récente qui généralise et combine les caractéristiques de l'analyse sur composantes principales et de la régression multiple. Elle est particulièrement utile quand on a besoin de prédire un ensemble de variables dépendantes à partir d'un ensemble très grand de variables explicatives qui peuvent être très fortement corrélées entre elles. La qualité du modèle, par rapport à sa représentativité et sa puissance de prédiction, est liée respectivement au coefficient de détermination expliquant la variance,  $R^2$ , et au coefficient de prédiction  $Q^2$ . Les expressions mathématiques de ces deux coefficients sont [304, 306]:

$$R^2 = \frac{\sum (y_i - \bar{y})^2 - \sum e_i^2}{\sum (y_i - \bar{y})^2} \quad 0 \leq R^2 \leq 1$$

$$Q^2 = \frac{\sum (y_i - \bar{y})^2 - \sum \left[ \frac{y_i - \hat{y}_i}{1 - h_i} \right]^2}{\sum (y_i - \bar{y})^2} \quad 0 \leq Q^2 \leq 1$$

Avec :

$y_i$  : Réponse ( caractéristique) mesurée au point i ;

$\bar{y}$  : Moyenne de l'ensemble des réponses  $y_i$  mesurées;

$e_i$  : Résidu au point i;

$\hat{y}_i$  : Réponse prédite par le modèle au point i;

$h_i$  : La variance de prédiction au point i.









## 1. Préparation des dilutions décimales (cas du fromage et de la crème de riz) [307]

10g de l'échantillon sont mélangés avec 90 ml de tryptone sel. Après homogénéisation, on laisse au repos pendant une vingtaine de minutes pour la revivification des micro-organismes. Cette première dilution constitue la solution mère à  $10^{-1}$ . Par la suite, on effectue les dilutions successives en prélevant 1 ml de cette dernière que l'on ajoute à 9ml de tryptone sel contenue dans un tube à essai (la dilution  $10^{-2}$ ). De la même façon, des dilutions décimales sont effectuées.

## 2. Dénombrement des micro-organismes aérobies à 30°C [308,309]

### 2.1. Mode opératoire :

Transférer en double 1 ml des dilutions retenues dans des boîtes de Pétri stériles de 90 ou 100 mm de diamètre. Couler 12 à 15 ml de milieu Plat Count Agar (PCA), fondu au préalable et refroidi dans un bain d'eau à  $45\text{ °C} \pm 0,5$  (le maintien dans le bain d'eau ne doit pas excéder trois heures). Mélanger soigneusement l'inoculum au milieu. Laisser solidifier en posant les boîtes de Pétri retournées dans une étuve à  $30\text{ °C} \pm 1$  pendant  $72\text{ h} \pm 2\text{ h}$ . Le délai entre la préparation des dilutions et l'introduction de la gélose dans les boîtes ne doit pas excéder 15 minutes.

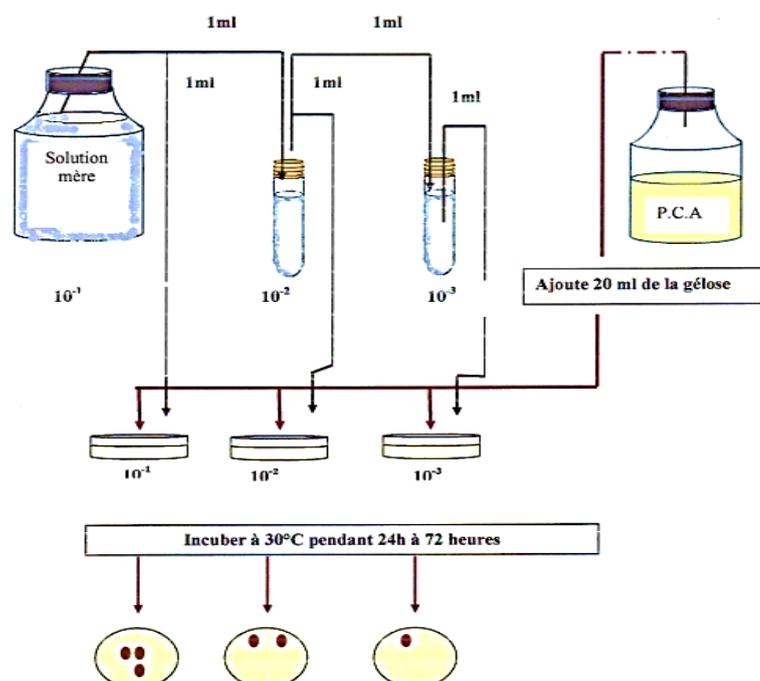


Figure D.1 : recherche et dénombrement des germes aérobie mésophytes totaux

## 2.2. Expression des résultats :

Retenir pour comptage, les boîtes de Pétri contenant un nombre de colonies compris entre 10 et 300.

## 3. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux [308, 310]

Les coliformes totaux sont des bacilles à Gram négatifs, aérobies ou anaérobies facultatifs, non sporules, ne possèdent pas d'oxydase, capables de se multiplier en présence de sels biliaires et capables de fermenter le lactose avec production d'acide et de gaz en 24 à 48 h à une température 37 °C. Les coliformes fécaux ont les mêmes caractères des coliformes totaux, mais ils sont capables de fermenter le lactose avec production d'acide et de gaz en 24 h à une température de l'ordre de 44 °C. Rappelons également qu'*Escherichia coli* est un coliforme thermo tolérant qui produit en plus, de l'indole à 44 °C [208].

### 3.1. Principe

Le milieu utilisé est le VRBL (gélose biliée lactosée au rouge neutre et violet cristal). Sur ce milieu, les coliformes fermentent le lactose en donnant des colonies d'un diamètre de 0,5 à 1 mm. Les coliformes sont recherchés sur gélose VRBL incubée 24 heures à 37°C pour les coliformes totaux et à 44°C pour les coliformes fécaux. L'intérêt de la recherche et le dénombrement des coliformes totaux et fécaux (*E.coli*), est de déterminer pour le produit testé une contamination fécale.

### 3.2. Mode opératoire

Nous avonsensemencé 1ml dans la masse à partir des dilutions  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  et  $10^{-3}$  à raison d'une boîte par dilution. Deux séries sont préparées : 03 boîtes pour les coliformes totaux à 37°C, 03 boîtes pour les coliformes fécaux à incuber à 44°C

### 3.3. Lecture du résultat

La lecture et le dénombrement se font 24 h après incubation, les colonies sont rouges foncées ou violettes de diamètre d'au moins 0,5 mm.

#### 4. Recherche et dénombrement des *Staphylococcus Aureus* à 37°C [308,311]

L'étude des *Staphylococcus aureus* permet de savoir si le produit présente des risques pour le consommateur ils sont les seuls à produire éventuellement une entérotoxine protéique causant l'intoxication alimentaire.

##### 4.1. Mode opératoire

Couler une quantité de milieu gélosé Baird-Parker dans des boîtes de Petri stériles de façon à obtenir une épaisseur de gélose d'environ 4 mm, et laisser se solidifier. Transférer à l'aide d'une pipette stérile, 0.1 ml de la suspension mère à la surface de chacune de deux boîtes de milieu gélosé. Répéter l'opération avec les dilutions  $10^{-2}$  et  $10^{-3}$ . Etaler soigneusement l'inoculum le plus rapidement possible à la surface du milieu gélosé en évitant de toucher les bords de la boîte. Laisser sécher les boîtes environ 15 min. incuber à 35°C ou 37°C pendant 24 à 48 heures.

##### 4.2. Expression des résultats

Il est à noter que les colonies caractéristiques se présentent sous forme de colonies noires ou grises, brillantes et convexes (1 mm à 1.5 mm de diamètre après 24h d'incubation et 1.5 mm à 2.5 mm de diamètre après 48h d'incubation) et entourées d'une auréole d'éclaircissement. Après au moins 24 h d'incubation, un anneau opalescent peut apparaître dans cette zone claire.

#### 5. Recherche des salmonelles: [312,313]

##### 5.1. Mode opératoire

Peser aseptiquement 25 g de l'échantillon pour essai dans un flacon bouché contenant des billes de verre et 225 ml d'un milieu de pré-enrichissement (eau peptonée tamponnée) et agiter pour disperser. Incuber les flacons préparés à 37° C durant 16 à 20 heures. Transférer, à l'aide d'une pipette, 10 ml du milieu de pré-enrichissement incubé (prise d'essai et pré-enrichissement) dans un flacon contenant 100 ml du milieu d'enrichissement sélectif au tétrathionate. Incuber le milieu au tétrathionate inoculé durant 18 à 24 heures à 43° C  $\pm$  0,5.ensemencer avec une anse, à partir de la culture du milieu d'enrichissement, la surface d'une boîte de gélose au vert brillant et au rouge de phénol et d'une boîte de gélose au sulfite de bismuth, de façon à permettre le développement de colonies bien isolées.

Incuber les boîtes (retournées) à  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  durant 20 h. à 24 heures. Après incubation des flacons durant encore 18 à 24 heures, répéter les opérations d'ensemencement et d'incubation décrites précédemment. Examiner les boîtes après incubation afin de rechercher la présence de colonies typiques de *Salmonella*, incuber à nouveau les boîtes à  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  durant 18 à 24 heures et réexaminer les boîtes pour rechercher la présence de colonies typiques de *Salmonella*.

## 5.2. Expression de résultats

Les colonies typiques de *Salmonella* peuvent être caractérisées comme suit: Sur gélose au vert brillant/ rouge de phénol, les colonies typiques de *Salmonella* sont roses bordées de rouge. Sur gélose au sulfite de bismuth, les colonies typiques de *Salmonella* sont brunes ou noires avec un éclat métallique. Certaines souches donnent des colonies vertes. En cas de présence procéder à la confirmation biochimique ou sérologique.

## 6. Recherche et dénombrement des Levures et Moisissures à $22^\circ\text{C}$ [314, 315]

La recherche des levures et moisissures se fait sur gélose OGA ou SABORAUD. Ces deux milieux favorisent la croissance des levures et moisissures en inhibant le développement des bactéries.

### 6.1. Mode opératoire:

A partir des dilutions décimales,  $10^{-1}$  à  $10^{-3}$ , porter aseptiquement 4 gouttes dans une boîte de pétrie contenant de la gélose OGA ou SABORAUD. Étaler les gouttes à l'aide d'un râteau stérile, puis incuber à  $22^\circ\text{C}$  pendant 5 jours. •Opérer de la même façon et dans les mêmes conditions, avec le diluant (TSE), c'est-à-dire qu'il faut prendre quatre gouttes du diluant, les étaler avec un râteau à part et les incuber dans le même endroit que les boîtes tests, cette boîte constitue le témoin diluant. Incuber telle quelle, une boîte de milieu utilisé à savoir OGA ou SABOURAUD, cette dernière sera incubée également telle quelle dans le même endroit et dans les mêmes conditions de température, elle constitue le témoin du milieu. Au moment de la lecture, commencé obligatoirement par les deux boîtes témoin du milieu et le diluant, si l'une d'entre elle est contaminée, l'analyse est ininterprétable donc à refaire.

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, Levures à part et Moisissures à part. Incubation : Incuber à 22°C, pendant 5 jours avec lecture tous les jours.

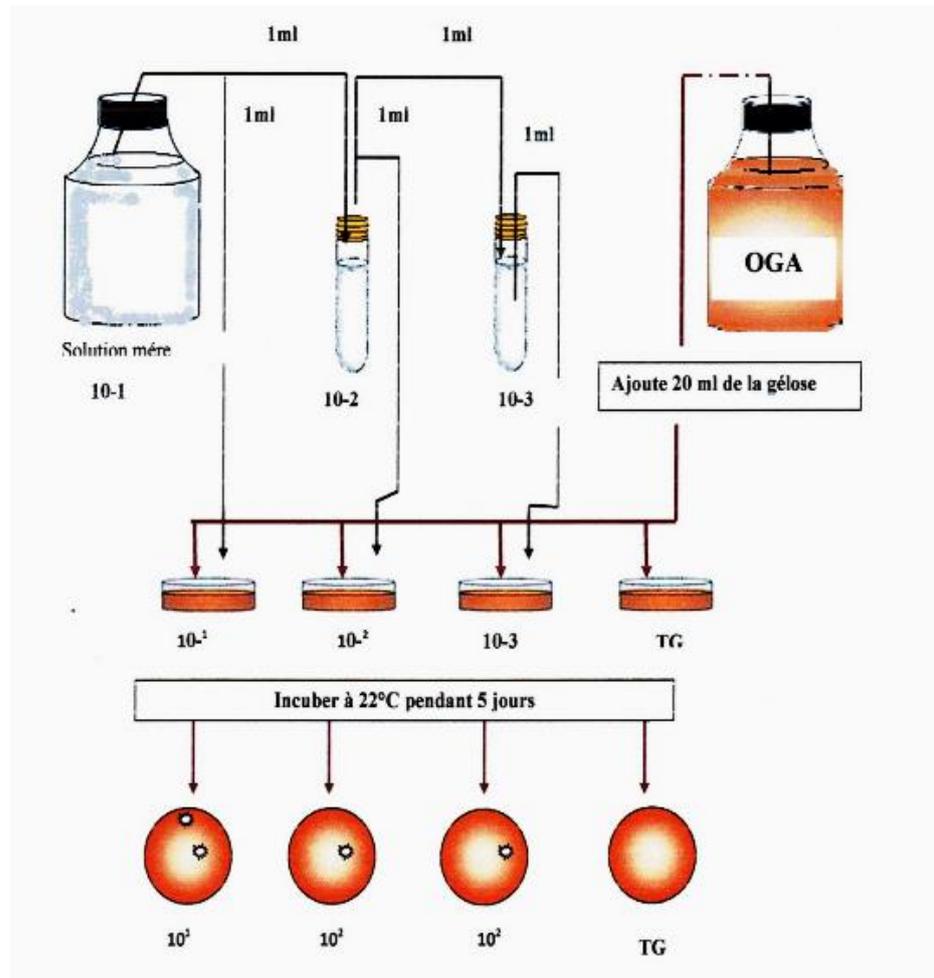


Figure D.2 : Recherche et dénombrement des Levures et Moisissures à 22°C

## 6.2. Lecture

La première lecture doit se faire après 48 heures d'incubation. Les colonies de Levures apparaissent bombées, blanches, rondes, lisses, pigmentées et brillantes. Pour les moisissures les colonies sont filamenteuses, compactes, rugueuses avec des couleurs différents entre le blanc et vert. Les résultats sont exprimés en nombre germes/ml.

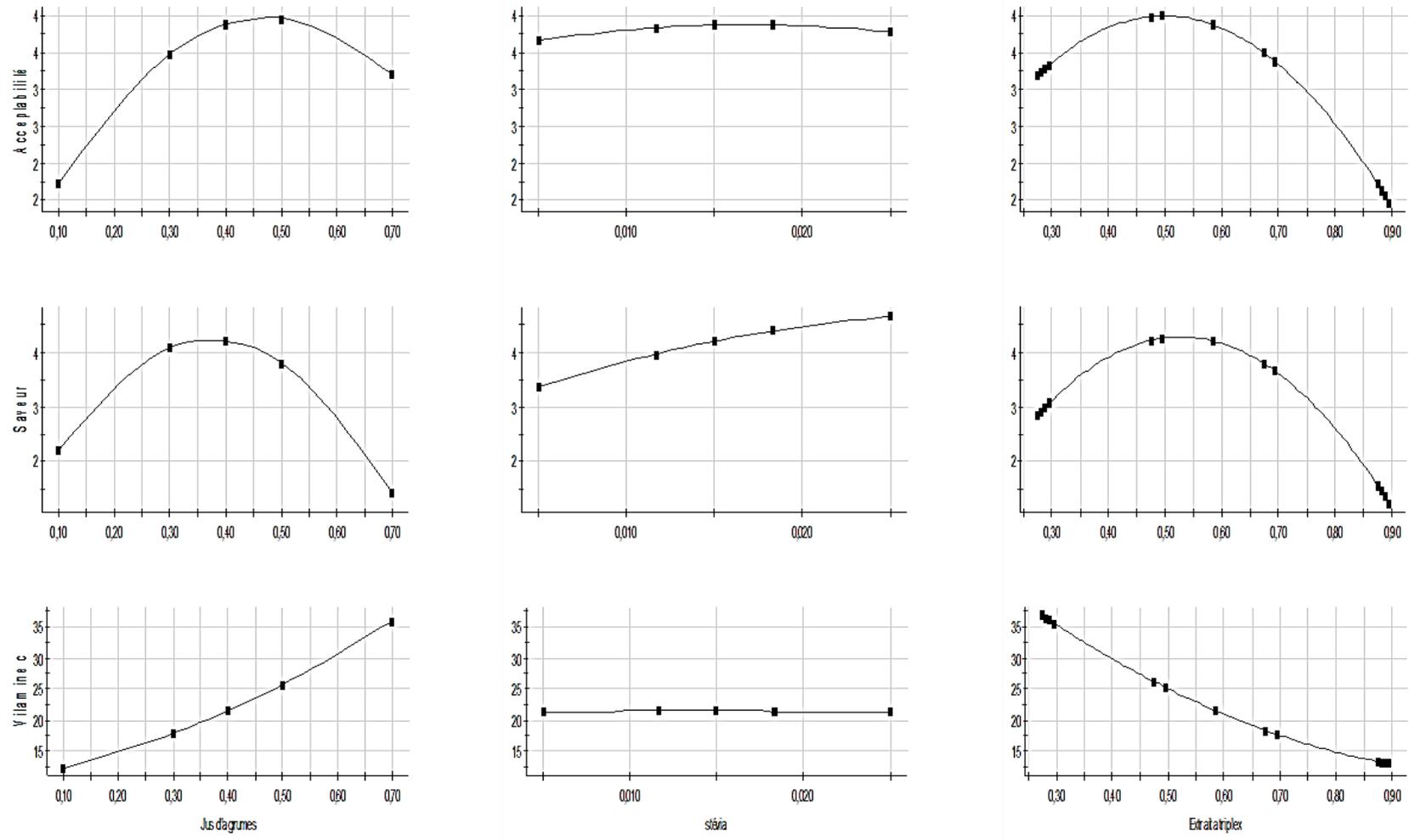


Figure E.1 : Effet des différents facteurs sur les réponses « Boisson à base de feuilles d'*Atriplex halimus* »

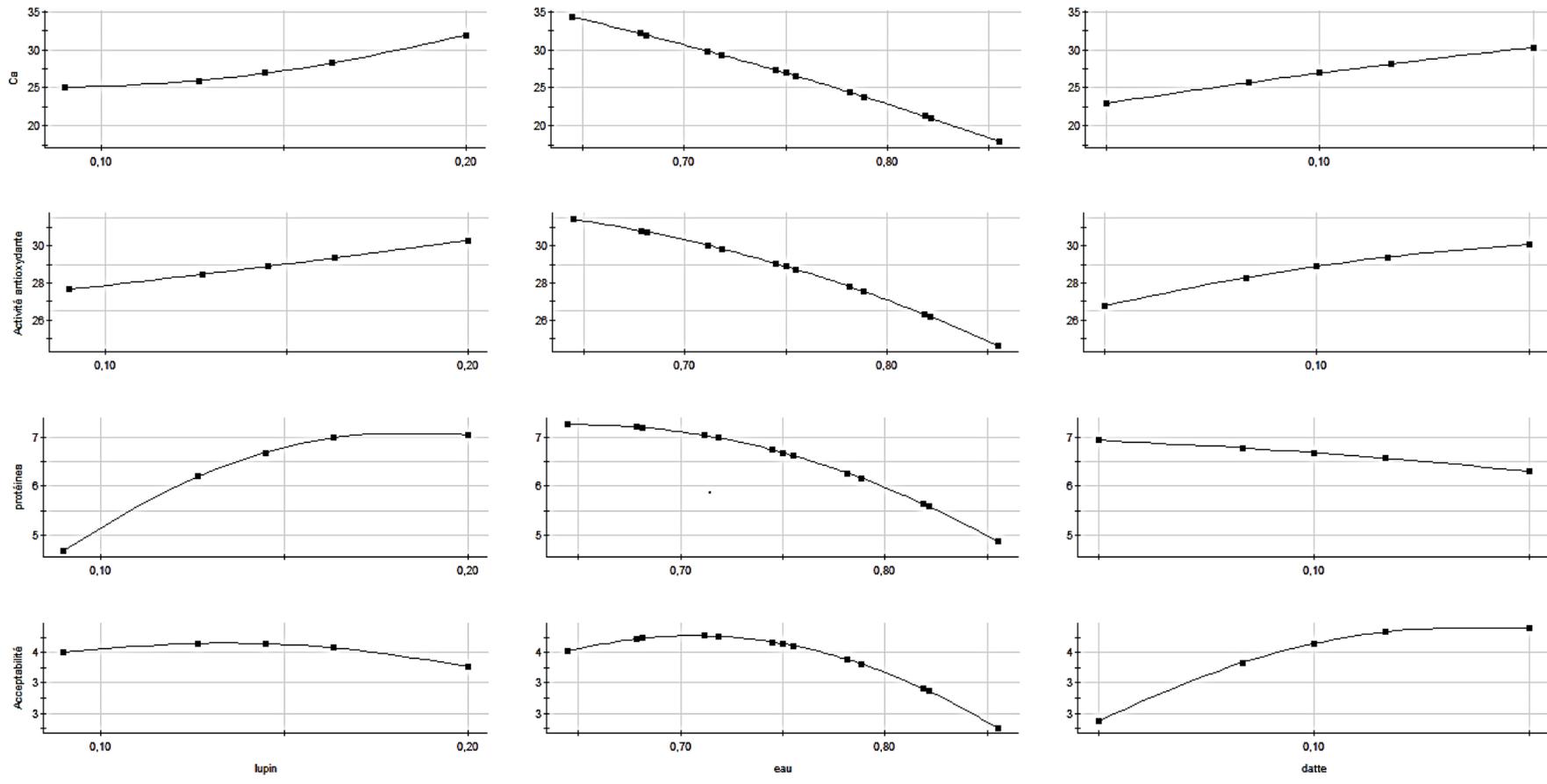


Figure E.2 : Effet des différents facteurs sur les réponses « Boisson à base de graines de *Lupinus albus* »

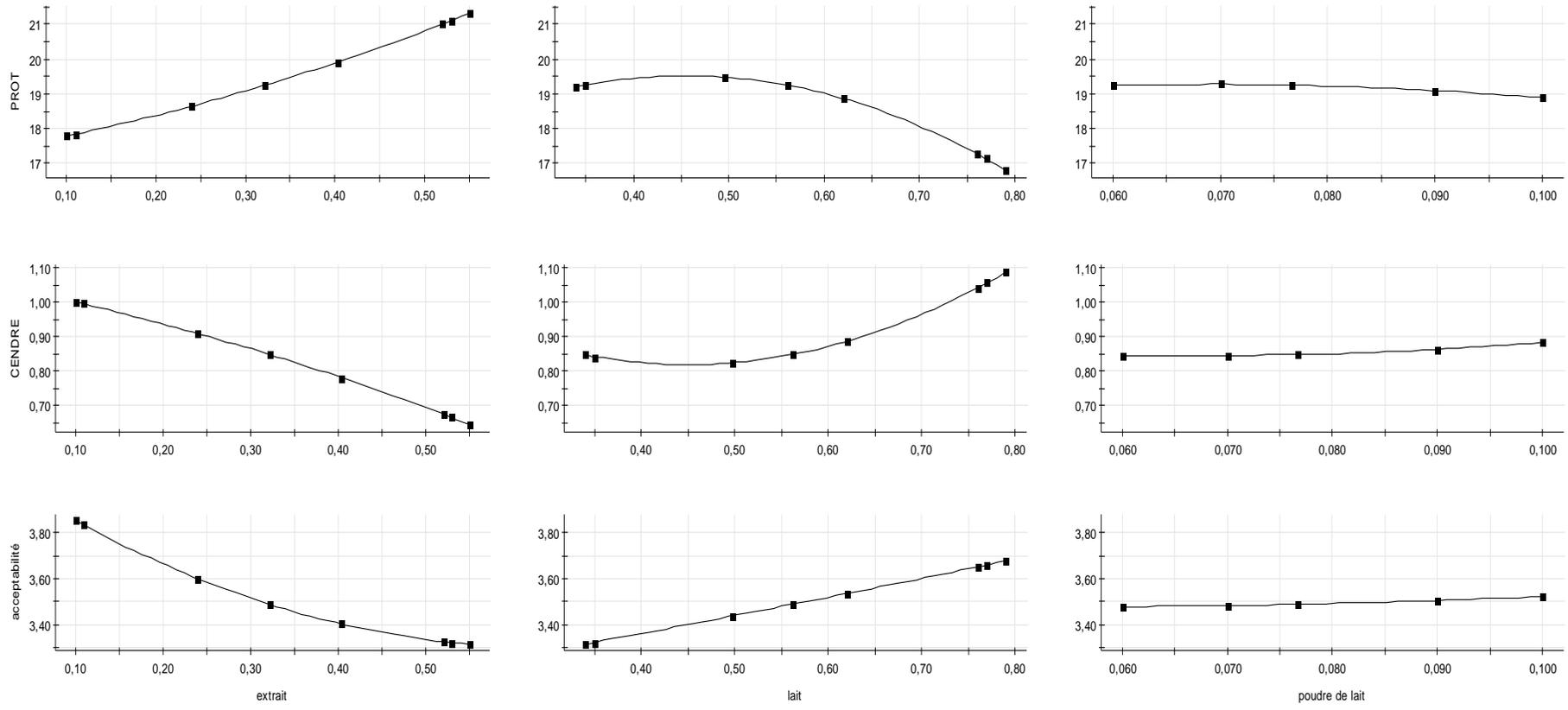


Figure E.3 : Effet des différents facteurs sur les réponses « fromage à base de graines de *Lupinus albus* »

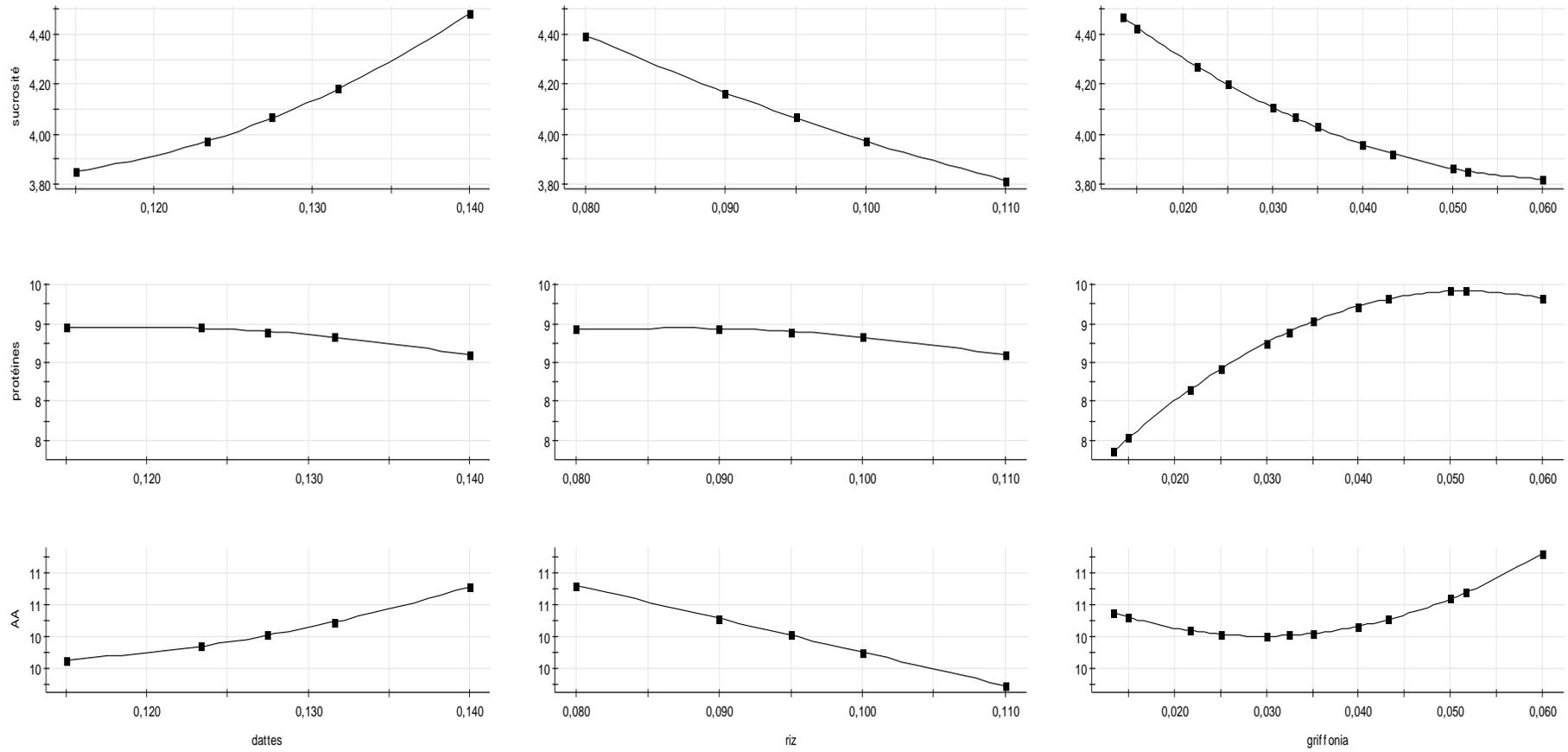


Figure E.4 : Effet des différents facteurs sur les réponses « Crème de riz au graines de *Griffonia simplicifolia* »

Caractéristiques sensorielles de la Boisson à l'extrait de feuilles de *Atriplex halimus*

Essais	Saveur	Aspect	Odeur	Couleur	Acceptabilité générale
1	2,08±0,47 <sup>de</sup>	1,97±0,45 <sup>cd</sup>	1,54±0,51 <sup>b</sup>	1,67±0,38 <sup>a</sup>	2,03±0,66 <sup>c</sup>
2	4,21±0,31 <sup>h</sup>	4,25±0,49 <sup>e</sup>	3,54±0,38 <sup>de</sup>	3,87±0,34 <sup>cd</sup>	3,96±0,65 <sup>hi</sup>
3	2,52±0,44 <sup>f</sup>	4,62±0,52 <sup>fg</sup>	4,87±0,63 <sup>i</sup>	4,48±0,32 <sup>ij</sup>	2,64±0,51 <sup>e</sup>
4	3,04±0,50 <sup>g</sup>	4,67±0,41 <sup>fg</sup>	4,51±0,46 <sup>fg</sup>	4,05±0,65 <sup>ef</sup>	4,12±0,63 <sup>j</sup>
5	2,02±0,63 <sup>de</sup>	4,75±0,26 <sup>gh</sup>	4,8±0,43 <sup>i</sup>	4,51±0,64 <sup>j</sup>	4,1±0,43 <sup>j</sup>
6	4,23±0,49 <sup>h</sup>	4,23±0,22 <sup>e</sup>	3,62±0,76 <sup>e</sup>	3,94±0,37 <sup>de</sup>	4,01±0,36 <sup>ij</sup>
7	1,75±0,65 <sup>b</sup>	1,89±0,31 <sup>bc</sup>	1,7±0,88 <sup>c</sup>	1,75±0,35 <sup>a</sup>	1,77±0,62 <sup>b</sup>
8	1,88±0,62 <sup>bc</sup>	1,75±0,51 <sup>a</sup>	1,32±0,68 <sup>a</sup>	1,64±0,45 <sup>a</sup>	1,6±0,54 <sup>a</sup>
9	4,15±0,43 <sup>h</sup>	4,18±0,37 <sup>e</sup>	3,49±0,63 <sup>d</sup>	3,78±0,73 <sup>c</sup>	3,92±0,50 <sup>h</sup>
10	1,51±0,49 <sup>a</sup>	4,65±0,43 <sup>fg</sup>	4,94±0,51 <sup>i</sup>	4,37±0,32 <sup>hi</sup>	2,86±0,44 <sup>fg</sup>
11	1,97±0,37 <sup>cd</sup>	1,78±0,49 <sup>ab</sup>	1,46±0,53 <sup>b</sup>	1,74±0,61 <sup>a</sup>	1,73±0,44 <sup>b</sup>
12	4,77±0,79 <sup>j</sup>	4,54±0,41 <sup>f</sup>	4,46±0,33 <sup>f</sup>	4,11±0,41 <sup>fg</sup>	4,47±0,54 <sup>k</sup>
13	4,54±0,39 <sup>i</sup>	4,2±0,43 <sup>e</sup>	3,51±0,45 <sup>d</sup>	3,82±0,62 <sup>cd</sup>	4,01±0,33 <sup>hij</sup>
14	4,75±0,55 <sup>j</sup>	2,01±0,64 <sup>d</sup>	4,62±0,36 <sup>h</sup>	2,17±0,46 <sup>b</sup>	2,46±0,35 <sup>d</sup>
15	2,17±0,60 <sup>e</sup>	2,04±0,72 <sup>d</sup>	4,57±0,44 <sup>gh</sup>	2,01±0,65 <sup>b</sup>	2,74±0,32 <sup>ef</sup>
16	2,04±0,42 <sup>de</sup>	4,87±0,33 <sup>h</sup>	4,61±0,30 <sup>h</sup>	4,61±0,48 <sup>k</sup>	3,03±0,65 <sup>g</sup>
PR	4,78±0,36 <sup>j</sup>	4,15±0,31 <sup>e</sup>	4,53±0,48 <sup>fg</sup>	4,21±0,29 <sup>gh</sup>	4,22±0,56 <sup>j</sup>

Caractéristiques physico-chimiques de la Boisson à l'extrait de feuilles de *Atriplex halimus*

ES	EST(%)	Cendres (%)	pH	Acidité (%)	Sucres totaux (%)	Brix°	Vit c (mg/100ml)	Polyphénols (ml EAG/l)	Flavonoïdes (mg EQ/100ml)	AA (%)
1	11,44±0,01 <sup>b</sup>	3,04±0,03 <sup>k</sup>	3,57±0,05 <sup>efg</sup>	1,60±0,08 <sup>bc</sup>	4,65±0,09 <sup>c</sup>	8,38±0,12 <sup>a</sup>	12,12±0,12 <sup>b</sup>	2547,10±0,20 <sup>m</sup>	11,29±0,36 <sup>c</sup>	55,27±0,35 <sup>f</sup>
2	15,23±0,04 <sup>l</sup>	1,34±0,11 <sup>c</sup>	3,45±0,02 <sup>bcd</sup>	1,88±0,03 <sup>e</sup>	6,38±0,14 <sup>l</sup>	10,23±0,08 <sup>g</sup>	20,52±0,26 <sup>e</sup>	1912,14±0,23 <sup>h</sup>	21,32±0,24 <sup>fg</sup>	58,47±0,32 <sup>hi</sup>
3	16,35±0,02 <sup>o</sup>	2,84±0,13 <sup>l</sup>	3,31±0,08 <sup>a</sup>	2,54±0,13 <sup>j</sup>	6,6±0,16 <sup>l</sup>	11,2±0,10 <sup>j</sup>	37,48±0,14 <sup>m</sup>	1020,28±0,30 <sup>b</sup>	25,78±0,55 <sup>j</sup>	55,34±0,46 <sup>f</sup>
4	18,24±0,06 <sup>p</sup>	3,08±0,08 <sup>l</sup>	3,45±0,02 <sup>bcd</sup>	1,94±0,05 <sup>g</sup>	6,1±0,10 <sup>j</sup>	9,9±0,10 <sup>f</sup>	26,28±0,09 <sup>l</sup>	2342,18±0,25 <sup>k</sup>	22,61±0,33 <sup>h</sup>	56,18±0,28 <sup>fg</sup>
5	14,83±0,11 <sup>i</sup>	2,38±0,07 <sup>f</sup>	3,33±0,02 <sup>a</sup>	2,52±0,02 <sup>j</sup>	6,52±0,09 <sup>k</sup>	11,78±0,10 <sup>k</sup>	35,92±0,10 <sup>k</sup>	1115,17±0,26 <sup>d</sup>	25,47±0,31 <sup>j</sup>	60,18±0,53 <sup>l</sup>
6	13,71±0,07 <sup>g</sup>	4,26±0,04 <sup>p</sup>	3,39±0,08 <sup>bc</sup>	1,91±0,10 <sup>f</sup>	5,71±0,11 <sup>g</sup>	9,2±0,08 <sup>e</sup>	20,82±0,23 <sup>l</sup>	1875,45±0,19 <sup>g</sup>	21,63±0,26 <sup>g</sup>	57,19±0,27 <sup>gh</sup>
7	11,49±0,07 <sup>c</sup>	3,72±0,05 <sup>n</sup>	3,59±0,04 <sup>fg</sup>	1,59±0,03 <sup>ab</sup>	4,74±0,10 <sup>d</sup>	8,89±0,11 <sup>d</sup>	11,96±0,09 <sup>a</sup>	2485,36±0,23 <sup>l</sup>	10,27±0,29 <sup>b</sup>	59,41±0,20 <sup>ij</sup>
8	12,34±0,04 <sup>d</sup>	1,66±0,15 <sup>d</sup>	3,56±0,04 <sup>efg</sup>	1,61±0,07 <sup>bc</sup>	4,31±0,08 <sup>a</sup>	8,45±0,14 <sup>b</sup>	13,92±0,11 <sup>c</sup>	2664,36±0,31 <sup>o</sup>	10,15±0,28 <sup>b</sup>	51,28±0,35 <sup>d</sup>
9	18,51±0,12 <sup>q</sup>	2,84±0,07 <sup>l</sup>	3,44±0,08 <sup>bcd</sup>	1,87±0,04 <sup>e</sup>	6,61±0,13 <sup>l</sup>	10,18±0,08 <sup>g</sup>	21,64±0,11 <sup>h</sup>	1805,32±0,18 <sup>f</sup>	21,23±0,41 <sup>fg</sup>	59,19±0,33 <sup>ij</sup>
10	15,62±0,08 <sup>m</sup>	3,56±0,08 <sup>m</sup>	3,34±0,01 <sup>a</sup>	2,58±0,06 <sup>j</sup>	6,6±0,15 <sup>l</sup>	11,27±0,11 <sup>j</sup>	35,84±0,09 <sup>k</sup>	1097,18±0,33 <sup>c</sup>	24,52±0,29 <sup>i</sup>	49,04±0,29 <sup>bc</sup>
11	16,29±0,11 <sup>n</sup>	1,28±0,07 <sup>b</sup>	3,62±0,01 <sup>g</sup>	1,59±0,03 <sup>a</sup>	4,51±0,12 <sup>b</sup>	8,47±0,09 <sup>b</sup>	12,16±0,12 <sup>b</sup>	2582,35±0,13 <sup>n</sup>	11,94±0,30 <sup>d</sup>	50,17±0,41 <sup>cd</sup>
12	13,6±0,10 <sup>f</sup>	2,74±0,08 <sup>l</sup>	3,47±0,01 <sup>cde</sup>	1,98±0,10 <sup>h</sup>	6,17±0,12 <sup>l</sup>	9,85±0,08 <sup>f</sup>	26,34±0,16 <sup>l</sup>	2241,19±0,19 <sup>j</sup>	22,63±0,22 <sup>h</sup>	53,47±0,37 <sup>e</sup>
13	12,83±0,09 <sup>e</sup>	4,2±0,09 <sup>o</sup>	3,40±0,01 <sup>abc</sup>	1,87±0,06 <sup>e</sup>	5,8±0,13 <sup>h</sup>	10,35±0,14 <sup>h</sup>	21,4±0,16 <sup>g</sup>	1987,12±0,11 <sup>i</sup>	21,14±0,31 <sup>f</sup>	58,33±0,45 <sup>hi</sup>
14	14,93±0,06 <sup>j</sup>	1,74±0,03 <sup>e</sup>	3,45±0,06 <sup>bcd</sup>	1,62±0,06 <sup>c</sup>	5,2±0,09 <sup>e</sup>	8,78±0,08 <sup>c</sup>	17,76±0,08 <sup>d</sup>	2881,09±0,21 <sup>q</sup>	18,54±0,28 <sup>e</sup>	56,17±0,42 <sup>fg</sup>
15	11,14±0,05 <sup>a</sup>	2,66±0,07 <sup>h</sup>	3,50±0,08 <sup>cdef</sup>	1,65±0,12 <sup>d</sup>	5,58±0,14 <sup>f</sup>	8,83±0,10 <sup>cd</sup>	17,84±0,07 <sup>d</sup>	2817,33±0,26 <sup>p</sup>	18,64±0,19 <sup>e</sup>	59,19±0,37 <sup>ij</sup>
16	15,17±0,04 <sup>k</sup>	2,56±0,05 <sup>g</sup>	3,33±0,02 <sup>a</sup>	2,68±0,02 <sup>k</sup>	6,48±0,11 <sup>k</sup>	11,74±0,13 <sup>k</sup>	36,21±0,10 <sup>l</sup>	1217,37±0,17 <sup>e</sup>	24,84±0,18 <sup>i</sup>	48,23±0,26 <sup>b</sup>
PR	13,89±0,03 <sup>h</sup>	0,8±0,06 <sup>a</sup>	3,35±0,06 <sup>b</sup>	3,01±0,04 <sup>l</sup>	9,18±0,09 <sup>m</sup>	11,1±0,09 <sup>j</sup>	30,12±0,06 <sup>l</sup>	543,32±0,21 <sup>a</sup>	9,33±0,17 <sup>a</sup>	30,38±0,34 <sup>a</sup>

Caractéristiques sensorielles de la Boisson à l'extrait de *Lupinus albus*

Essais	Saveur	Odeur	Couleur	Aspect	Acceptabilité générale
<b>1</b>	2,12±0,26 <sup>b</sup>	2,34±0,36 <sup>b</sup>	3,34±0,52 <sup>e</sup>	3,67±0,37 <sup>ef</sup>	2,25±0,34 <sup>b</sup>
<b>2</b>	3,22±0,38 <sup>de</sup>	3,24±0,64 <sup>g</sup>	4,28±0,37 <sup>i</sup>	3,67±0,43 <sup>f</sup>	3,75±0,64 <sup>i</sup>
<b>3</b>	3,19±0,21 <sup>d</sup>	3,22±0,76 <sup>fg</sup>	4,37±0,32 <sup>j</sup>	3,62±0,63 <sup>de</sup>	3,69±0,38 <sup>gh</sup>
<b>4</b>	4,28±0,37 <sup>i</sup>	4,12±0,53 <sup>m</sup>	3,74±0,43 <sup>g</sup>	3,63±0,40 <sup>cd</sup>	3,92±0,41 <sup>j</sup>
<b>5</b>	2,02±0,43 <sup>a</sup>	2,37±0,56 <sup>b</sup>	3,22±0,32 <sup>c</sup>	3,83±0,44 <sup>i</sup>	2,1±0,37 <sup>a</sup>
<b>6</b>	2,42±0,51 <sup>c</sup>	2,32±0,45 <sup>ab</sup>	3,87±0,42 <sup>h</sup>	3,57±0,51 <sup>c</sup>	2,25±0,61 <sup>b</sup>
<b>7</b>	2,39±0,26 <sup>c</sup>	2,29±0,31 <sup>a</sup>	3,18±0,35 <sup>c</sup>	3,65±0,37 <sup>def</sup>	3,13±0,54 <sup>e</sup>
<b>8</b>	4,21±0,34 <sup>i</sup>	3,34±0,48 <sup>h</sup>	3,26±0,54 <sup>d</sup>	3,79±0,64 <sup>gh</sup>	3,65±0,23 <sup>g</sup>
<b>9</b>	3,51±0,49 <sup>g</sup>	3,61±0,63 <sup>j</sup>	3,14±0,41 <sup>b</sup>	3,75±0,65 <sup>g</sup>	3,5±0,42 <sup>f</sup>
<b>10</b>	3,27±0,61 <sup>e</sup>	3,15±0,70 <sup>e</sup>	4,59±0,43 <sup>k</sup>	3,81±0,66 <sup>hi</sup>	3,67±0,47 <sup>gh</sup>
<b>11</b>	3,44±0,34 <sup>f</sup>	3,53±0,33 <sup>i</sup>	3,75±0,47 <sup>g</sup>	3,76±0,33 <sup>g</sup>	3,62±0,36 <sup>g</sup>
<b>12</b>	2,43±0,44 <sup>c</sup>	2,74±0,27 <sup>d</sup>	3,88±0,50 <sup>h</sup>	3,34±0,53 <sup>a</sup>	2,65±0,34 <sup>d</sup>
<b>13</b>	2,08±0,37 <sup>ab</sup>	2,34±0,46 <sup>b</sup>	3,28±0,56 <sup>d</sup>	3,51±0,42 <sup>b</sup>	2,45±0,63 <sup>c</sup>
<b>14</b>	4,11±0,37 <sup>h</sup>	3,91±0,47 <sup>l</sup>	3,41±0,63 <sup>f</sup>	3,37±0,47 <sup>a</sup>	3,7±0,64 <sup>hi</sup>
<b>15</b>	4,23±0,62 <sup>i</sup>	3,74±0,64 <sup>k</sup>	3,27±0,60 <sup>d</sup>	3,48±0,36 <sup>b</sup>	3,74±0,61 <sup>i</sup>
<b>16</b>	3,15±0,34 <sup>d</sup>	3,19±0,47 <sup>ef</sup>	4,35±0,54 <sup>j</sup>	3,64±0,29 <sup>def</sup>	3,75±0,55 <sup>i</sup>
<b>BS</b>	2,4±0,46 <sup>c</sup>	2,67±0,43 <sup>c</sup>	3,04±0,49 <sup>a</sup>	3,76±0,25 <sup>g</sup>	2,64±0,43 <sup>d</sup>

Caractéristiques physico-chimiques de la Boisson à l'extrait de *Lupinus albus*

Essais	EST (%)	Cendres (%)	pH	Acidité (%)	MG (%)	Protéines (%)	Sucres totaux (%)	Ca (mg/100ml)	Polyphénols (mg EAG/100ml)	Vit c (mg/100ml)	AA%
1	15,61±0,11 <sup>k</sup>	0,73±0,06 <sup>cd</sup>	5,88±0,01 <sup>gh</sup>	0,22±0,06 <sup>cd</sup>	5,54±0,06 <sup>i</sup>	6,85±0,02 <sup>d</sup>	8,36±0,04 <sup>d</sup>	22,66±0,03 <sup>e</sup>	73,13±0,07 <sup>h</sup>	0,933±0,02 <sup>cd</sup>	27,01±0,03 <sup>d</sup>
2	14,3±0,07 <sup>g</sup>	0,85±0,03 <sup>g</sup>	5,71±0,03 <sup>bc</sup>	0,24±0,08 <sup>d</sup>	5,35±0,05 <sup>g</sup>	6,48±0,03 <sup>bcd</sup>	11,65±0,03 <sup>h</sup>	28,5±0,04 <sup>i</sup>	73,67±0,03 <sup>i</sup>	0,996±0,10 <sup>de</sup>	28,3±0,05 <sup>e</sup>
3	13,99±0,04 <sup>f</sup>	0,77±0,04 <sup>e</sup>	5,76±0,02 <sup>de</sup>	0,25±0,03 <sup>d</sup>	5,37±0,11 <sup>gh</sup>	6,71±0,01 <sup>d</sup>	11,69±0,06 <sup>i</sup>	28,62±0,04 <sup>i</sup>	73,9±0,01 <sup>j</sup>	1,02±0,06 <sup>de</sup>	28,8±0,11 <sup>f</sup>
4	12,41±0,06 <sup>c</sup>	0,84±0,05 <sup>g</sup>	5,73±0,06 <sup>cde</sup>	0,22±0,05 <sup>bc</sup>	3,9±0,09 <sup>d</sup>	4,54±0,07 <sup>a</sup>	13,62±0,10 <sup>k</sup>	34,5±0,07 <sup>o</sup>	48,56±0,04 <sup>f</sup>	0,882±0,13 <sup>c</sup>	28,36±0,06 <sup>e</sup>
5	15,84±0,03 <sup>l</sup>	0,74±0,06 <sup>d</sup>	5,67±0,03 <sup>ab</sup>	0,28±0,06 <sup>e</sup>	5,7±0,06 <sup>l</sup>	7,15±0,04 <sup>d</sup>	9,74±0,05 <sup>f</sup>	30,71±0,03 <sup>l</sup>	89,17±0,06 <sup>n</sup>	1,11±0,04 <sup>f</sup>	28,24±0,07 <sup>e</sup>
6	12,13±0,04 <sup>b</sup>	0,75±0,11 <sup>de</sup>	5,95±0,03 <sup>l</sup>	0,17±0,03 <sup>a</sup>	3,61±0,13 <sup>b</sup>	5,12±0,03 <sup>a</sup>	6,14±0,06 <sup>b</sup>	19,03±0,01 <sup>b</sup>	38,22±0,03 <sup>b</sup>	0,582±0,02 <sup>a</sup>	24,12±0,07 <sup>b</sup>
7	16,32±0,01 <sup>m</sup>	0,69±0,05 <sup>b</sup>	5,77±0,04 <sup>e</sup>	0,30±0,04 <sup>ef</sup>	5,78±0,07 <sup>k</sup>	7,05±0,04 <sup>d</sup>	12,3±0,04 <sup>j</sup>	29,2±0,03 <sup>k</sup>	85,88±0,04 <sup>m</sup>	1,209±0,03 <sup>fg</sup>	30,29±0,05 <sup>i</sup>
8	16,92±0,03 <sup>n</sup>	0,82±0,13 <sup>f</sup>	5,75±0,05 <sup>cde</sup>	0,34±0,07 <sup>g</sup>	6,12±0,14 <sup>m</sup>	7,31±0,03 <sup>d</sup>	17,42±0,03 <sup>o</sup>	34,7±0,10 <sup>p</sup>	89,91±0,06 <sup>p</sup>	1,41±0,03 <sup>h</sup>	32,68±0,04 <sup>l</sup>
9	17,86±0,05 <sup>o</sup>	0,8±0,09 <sup>f</sup>	5,71±0,01 <sup>bcd</sup>	0,31±0,06 <sup>f</sup>	5,97±0,12 <sup>l</sup>	7,12±0,05 <sup>d</sup>	14,35±0,04 <sup>l</sup>	31,7±0,05 <sup>m</sup>	89,76±0,03 <sup>o</sup>	1,29±0,08 <sup>g</sup>	31,28±0,03 <sup>j</sup>
10	14,43±0,03 <sup>h</sup>	0,71±0,03 <sup>bc</sup>	5,76±0,03 <sup>de</sup>	0,24±0,07 <sup>cd</sup>	5,41±0,07 <sup>h</sup>	6,35±0,07 <sup>bcd</sup>	11,67±0,03 <sup>hi</sup>	28,38±0,04 <sup>h</sup>	74,02±0,08 <sup>k</sup>	1,03±0,08 <sup>e</sup>	30,04±0,01 <sup>h</sup>
11	16,9±0,03 <sup>n</sup>	0,78±0,04 <sup>e</sup>	5,90±0,04 <sup>h</sup>	0,19±0,03 <sup>a</sup>	3,67±0,06 <sup>c</sup>	5,27±0,03 <sup>bc</sup>	10,55±0,05 <sup>g</sup>	23,5±0,04 <sup>f</sup>	40,4±0,07 <sup>c</sup>	0,732±0,06 <sup>b</sup>	28,86±0,08 <sup>f</sup>
12	12,14±0,04 <sup>b</sup>	0,73±0,03 <sup>cd</sup>	5,75±0,07 <sup>de</sup>	0,19±0,04 <sup>ab</sup>	3,47±0,03 <sup>a</sup>	5,14±0,04 <sup>ab</sup>	8,5±0,03 <sup>e</sup>	19,45±0,06 <sup>c</sup>	44,93±0,05 <sup>d</sup>	0,681±0,03 <sup>b</sup>	26,17±0,04 <sup>c</sup>
13	13,84±0,06 <sup>e</sup>	0,76±0,09 <sup>de</sup>	5,74±0,06 <sup>de</sup>	0,18±0,03 <sup>a</sup>	5,04±0,03 <sup>e</sup>	6,45±0,06 <sup>bcd</sup>	6,98±0,07 <sup>c</sup>	19,68±0,10 <sup>d</sup>	47,57±0,05 <sup>e</sup>	0,754±0,07 <sup>b</sup>	26,12±0,09 <sup>c</sup>
14	15,55±0,08 <sup>j</sup>	0,87±0,06 <sup>g</sup>	5,85±0,04 <sup>fg</sup>	0,28±0,02 <sup>e</sup>	5,7±0,14 <sup>l</sup>	6,89±0,04 <sup>d</sup>	16,04±0,09 <sup>n</sup>	32,66±0,05 <sup>n</sup>	83,51±0,02 <sup>l</sup>	1,17±0,05 <sup>f</sup>	27,01±0,08 <sup>d</sup>
15	13,71±0,09 <sup>d</sup>	0,91±0,11 <sup>h</sup>	5,84±0,03 <sup>fg</sup>	0,28±0,05 <sup>e</sup>	5,27±0,02 <sup>f</sup>	6,59±0,01 <sup>cd</sup>	14,66±0,07 <sup>m</sup>	24,67±0,04 <sup>g</sup>	67,91±0,11 <sup>g</sup>	1,05±0,09 <sup>e</sup>	31,45±0,03 <sup>k</sup>
16	14,93±0,06 <sup>i</sup>	0,71±0,09 <sup>bc</sup>	5,81±0,01 <sup>f</sup>	0,24±0,06 <sup>d</sup>	5,39±0,03 <sup>gh</sup>	6,73±0,03 <sup>d</sup>	11,68±0,08 <sup>i</sup>	28,51±0,02 <sup>l</sup>	73,86±0,02 <sup>j</sup>	0,999±0,13 <sup>de</sup>	29,1±0,04 <sup>g</sup>
BS	11,56±0,10 <sup>a</sup>	0,38±0,06 <sup>a</sup>	5,65±0,02 <sup>a</sup>	0,17±0,03 <sup>a</sup>	3,42±0,01 <sup>a</sup>	4,5±0,03 <sup>a</sup>	5,47±0,07 <sup>a</sup>	11,43±0,03 <sup>a</sup>	14,5±0,01 <sup>a</sup>	1,02±0,06 <sup>de</sup>	18,65±0,02 <sup>a</sup>

Caractéristiques sensorielles du Fromage à l'extrait de *Lupinus albus*

Essais	Couleur	Odeur	Texture	Saveur	Acceptabilité générale
1	3,71±0,26 <sup>a</sup>	3,53±0,42 <sup>a</sup>	3,78±0,16 <sup>i</sup>	3,22±0,27 <sup>a</sup>	3,28±0,33 <sup>ab</sup>
2	3,68±0,14 <sup>a</sup>	3,46±0,19 <sup>a</sup>	3,32±0,23 <sup>d</sup>	3,78±0,34 <sup>b</sup>	3,54±0,34 <sup>bcde</sup>
3	3,78±0,27 <sup>a</sup>	3,47±0,14 <sup>a</sup>	3,31±0,13 <sup>d</sup>	3,74±0,26 <sup>b</sup>	3,41±0,23 <sup>abcd</sup>
4	3,75±0,31 <sup>a</sup>	3,62±0,25 <sup>a</sup>	3,22±0,43 <sup>b</sup>	3,88±0,29 <sup>b</sup>	3,69±0,43 <sup>efg</sup>
5	3,82±0,34 <sup>a</sup>	3,63±0,52 <sup>a</sup>	3,14±0,37 <sup>a</sup>	3,87±0,31 <sup>b</sup>	3,83±0,29 <sup>fg</sup>
6	3,72±0,21 <sup>a</sup>	3,46±0,27 <sup>a</sup>	3,41±0,21 <sup>e</sup>	3,78±0,22 <sup>b</sup>	3,56±0,20 <sup>cdef</sup>
7	3,63±0,40 <sup>a</sup>	3,34±0,24 <sup>a</sup>	3,65±0,13 <sup>h</sup>	3,17±0,41 <sup>a</sup>	3,26±0,29 <sup>a</sup>
8	3,66±0,23 <sup>a</sup>	3,36±0,27 <sup>a</sup>	3,57±0,11 <sup>g</sup>	3,21±0,37 <sup>a</sup>	3,32±0,30 <sup>abc</sup>
9	3,76±0,18 <sup>a</sup>	3,48±0,31 <sup>a</sup>	3,25±0,10 <sup>c</sup>	3,76±0,33 <sup>b</sup>	3,52±0,39 <sup>abcde</sup>
10	3,82±0,22 <sup>a</sup>	3,55±0,36 <sup>a</sup>	3,12±0,20 <sup>a</sup>	3,86±0,21 <sup>b</sup>	3,77±0,34 <sup>efg</sup>
11	3,76±0,34 <sup>a</sup>	3,49±0,18 <sup>a</sup>	3,25±0,22 <sup>c</sup>	3,84±0,33 <sup>b</sup>	3,61±0,19 <sup>dfg</sup>
12	3,70±0,41 <sup>a</sup>	3,41±0,55 <sup>a</sup>	3,51±0,21 <sup>f</sup>	3,63±0,28 <sup>b</sup>	3,38±0,36 <sup>abcd</sup>
13	3,85±0,11 <sup>a</sup>	3,56±0,32 <sup>a</sup>	3,23±0,13 <sup>bc</sup>	3,84±0,21 <sup>b</sup>	3,86±0,31 <sup>g</sup>
14	3,70±0,19 <sup>a</sup>	3,54±0,31 <sup>a</sup>	3,78±0,14 <sup>i</sup>	3,25±0,19 <sup>a</sup>	3,26±0,26 <sup>a</sup>
PRf	3,74±0,16 <sup>a</sup>	3,36±0,22 <sup>a</sup>	3,86±0,11 <sup>j</sup>	3,78±0,17 <sup>b</sup>	3,77±0,22 <sup>efg</sup>

Caractéristiques physico-chimiques du Fromage à l'extrait de *Lupinus albus*

Essais	EST (%)	MG (%)	Cendres (%)	Protéines (%)	pH	Acidité (g/100g)	Calcium (mg/100g)
1	46,37±0,09 <sup>l</sup>	11,14±0,07 <sup>i</sup>	0,69±0,03 <sup>c</sup>	20,31±0,02 <sup>l</sup>	4,93±0,15 <sup>ab</sup>	0,516±0,05 <sup>ab</sup>	115,60±0,03 <sup>i</sup>
2	42,80±0,04 <sup>g</sup>	9,67±0,10 <sup>fg</sup>	0,85±0,01 <sup>f</sup>	19,33±0,04 <sup>f</sup>	5,10±0,09 <sup>abc</sup>	0,428±0,03 <sup>ab</sup>	106,40±0,02 <sup>d</sup>
3	42,86±0,03 <sup>h</sup>	9,63±0,08 <sup>e</sup>	0,84±0,02 <sup>f</sup>	19,38±0,03 <sup>g</sup>	5,11±0,08 <sup>abc</sup>	0,422±0,03 <sup>ab</sup>	107,01±0,04 <sup>f</sup>
4	41,25±0,01 <sup>c</sup>	8,19±0,05 <sup>b</sup>	1,02±0,01 <sup>i</sup>	17,73±0,04 <sup>c</sup>	5,10±0,13 <sup>abc</sup>	0,345±0,03 <sup>a</sup>	113,30±0,03 <sup>h</sup>
5	41,44±0,01 <sup>d</sup>	8,21±0,13 <sup>b</sup>	0,99±0,03 <sup>h</sup>	17,90±0,01 <sup>d</sup>	5,06±0,17 <sup>abc</sup>	0,347±0,04 <sup>a</sup>	146,01±0,03 <sup>n</sup>
6	43,02±0,02 <sup>i</sup>	9,68±0,08 <sup>g</sup>	0,85±0,04 <sup>f</sup>	19,37±0,02 <sup>g</sup>	5,05±0,12 <sup>abc</sup>	0,43±0,03 <sup>ab</sup>	106,74±0,05 <sup>e</sup>
7	45,26±0,03 <sup>k</sup>	11,07±0,04 <sup>i</sup>	0,76±0,03 <sup>d</sup>	20,05±0,03 <sup>l</sup>	4,90±0,12 <sup>ab</sup>	0,512±0,6 <sup>ab</sup>	129,01±0,04 <sup>j</sup>
8	47,23±0,02 <sup>m</sup>	11,28±0,07 <sup>k</sup>	0,66±0,03 <sup>ab</sup>	21,43±0,05 <sup>l</sup>	4,86±0,11 <sup>a</sup>	0,525±0,05 <sup>ab</sup>	94,50±0,02 <sup>c</sup>
9	42,81±0,01 <sup>g</sup>	9,64±0,04 <sup>ef</sup>	0,85±0,04 <sup>f</sup>	19,32±0,07 <sup>f</sup>	5,08±0,09 <sup>abc</sup>	0,412±0,04 <sup>ab</sup>	107,24±0,06 <sup>g</sup>
10	41,74±0,03 <sup>e</sup>	8,28±0,09 <sup>c</sup>	1,01±0,06 <sup>h</sup>	17,52±0,06 <sup>b</sup>	5,13±0,10 <sup>bc</sup>	0,356±0,04 <sup>ab</sup>	142,80±0,04 <sup>m</sup>
11	42,13±0,02 <sup>f</sup>	9,12±0,05 <sup>d</sup>	0,95±0,04 <sup>g</sup>	18,51±0,03 <sup>e</sup>	5,12±0,11 <sup>abc</sup>	0,378±0,04 <sup>ab</sup>	139,40±0,03 <sup>l</sup>
12	43,55±0,02 <sup>j</sup>	10,3±0,09 <sup>h</sup>	0,80±0,03 <sup>e</sup>	19,73±0,04 <sup>h</sup>	5,02±0,12 <sup>abc</sup>	0,48±0,06 <sup>ab</sup>	90,01±0,02 <sup>b</sup>
13	40,15±0,03 <sup>b</sup>	8,2±0,10 <sup>b</sup>	0,99±0,03 <sup>h</sup>	17,51±0,03 <sup>b</sup>	5,10±0,14 <sup>abc</sup>	0,355±0,04 <sup>ab</sup>	134,70±0,05 <sup>k</sup>
14	47,51±0,02 <sup>n</sup>	11,34±0,06 <sup>l</sup>	0,65±0,05 <sup>a</sup>	21,20±0,02 <sup>k</sup>	4,91±0,07 <sup>ab</sup>	0,537±0,04 <sup>b</sup>	83,32±0,03 <sup>a</sup>
<b>PRf</b>	20,06±0,02 <sup>a</sup>	4,26±0,04 <sup>a</sup>	0,67±0,02 <sup>bc</sup>	7,22±0,03 <sup>a</sup>	5,20±0,14 <sup>c</sup>	0,47±0,17 <sup>ab</sup>	149,87±0,06 <sup>o</sup>

Caractéristiques sensorielles de la Crème de riz à base de *Griffonia simplicifolia*

Essais	Texture	couleur	Sucrosité	Odeur	Acceptabilité générale
1	3,86±0,26 <sup>c</sup>	2,67±0,23 <sup>c</sup>	4,26±0,26 <sup>e</sup>	3,44±0,22 <sup>d</sup>	2,64±0,13 <sup>a</sup>
2	4,26±0,34 <sup>f</sup>	3,87±0,19 <sup>f</sup>	4,03±0,53 <sup>d</sup>	3,64±0,20 <sup>g</sup>	3,44±0,19 <sup>e</sup>
3	4,67±0,41 <sup>k</sup>	4,66±0,26 <sup>i</sup>	4,61±0,34 <sup>hi</sup>	4,27±0,27 <sup>p</sup>	4,57±0,27 <sup>k</sup>
4	4,38±0,43 <sup>g</sup>	3,63±0,22 <sup>e</sup>	3,87±0,33 <sup>b</sup>	3,48±0,33 <sup>e</sup>	3,48±0,28 <sup>e</sup>
5	4,28±0,23 <sup>f</sup>	3,88±0,17 <sup>f</sup>	4,01±0,27 <sup>cd</sup>	3,66±0,37 <sup>h</sup>	3,44±0,25 <sup>e</sup>
6	4,43±0,29 <sup>h</sup>	4,34±0,31 <sup>h</sup>	4,56±0,31 <sup>gh</sup>	4,03±0,20 <sup>m</sup>	4,33±0,21 <sup>i</sup>
7	4,26±0,37 <sup>f</sup>	3,86±0,28 <sup>f</sup>	4,03±0,25 <sup>d</sup>	3,68±0,21 <sup>i</sup>	3,46±0,36 <sup>e</sup>
8	4,27±0,30 <sup>f</sup>	3,87±0,25 <sup>f</sup>	4,04±0,40 <sup>d</sup>	3,67±0,25 <sup>h</sup>	3,45±0,30 <sup>e</sup>
9	3,73±0,34 <sup>b</sup>	3,12±0,24 <sup>d</sup>	3,9±0,28 <sup>b</sup>	3,3±0,36 <sup>b</sup>	3,1±0,26 <sup>d</sup>
10	4,58±0,19 <sup>j</sup>	4,07±0,37 <sup>g</sup>	3,96±0,13 <sup>c</sup>	3,95±0,23 <sup>l</sup>	4,05±0,42 <sup>h</sup>
11	4,53±0,20 <sup>i</sup>	4,54±0,22 <sup>h</sup>	4,24±0,35 <sup>e</sup>	4,21±0,16 <sup>o</sup>	4,51±0,23 <sup>j</sup>
12	4,04±0,33 <sup>e</sup>	4,01±0,34 <sup>g</sup>	4,53±0,20 <sup>g</sup>	3,87±0,26 <sup>k</sup>	3,97±0,26 <sup>g</sup>
13	3,64±0,22 <sup>a</sup>	2,54±0,41 <sup>b</sup>	3,74±0,34 <sup>a</sup>	3,27±0,31 <sup>a</sup>	2,97±0,34 <sup>c</sup>
14	3,97±0,29 <sup>d</sup>	3,69±0,32 <sup>e</sup>	4,44±0,26 <sup>f</sup>	3,52±0,34 <sup>f</sup>	3,46±0,40 <sup>e</sup>
15	4,02±0,26 <sup>e</sup>	2,36±0,31 <sup>a</sup>	3,85±0,24 <sup>b</sup>	3,39±0,24 <sup>c</sup>	2,89±0,29 <sup>b</sup>
16	4,5±0,17 <sup>i</sup>	3,89±0,26 <sup>f</sup>	3,89±0,33 <sup>b</sup>	3,77±0,28 <sup>j</sup>	3,67±0,34 <sup>f</sup>
PRcr	4,61±0,12 <sup>j</sup>	4,68±0,21 <sup>i</sup>	4,67±0,37 <sup>j</sup>	4,65±0,22 <sup>q</sup>	4,70±0,26 <sup>l</sup>

Caractéristiques physico-chimiques de la Crème de riz à base de *Griffonia simplicifolia*

Essais	pH	EST (%)	Cendres (%)	Sucres totaux (%)	Protéines (%)	MG (%)	Polyphénols (mgEAG/100mg)	AA (%)	K (Pa.s <sup>n</sup> )	n
1	6,54±0,03 <sup>ab</sup>	43,49±0,04 <sup>i</sup>	2,29±0,02 <sup>efgh</sup>	16,95±0,05 <sup>abc</sup>	9,27±0,07 <sup>c</sup>	4,24±0,04 <sup>fg</sup>	35,57±0,07 <sup>i</sup>	10,7±0,05 <sup>hi</sup>	82,12±0,07 <sup>f</sup>	0,26±0,09 <sup>a</sup>
2	6,58±0,03 <sup>abcde</sup>	40,7±0,10 <sup>e</sup>	2,26±0,04 <sup>def</sup>	17,58±0,08 <sup>bcde</sup>	9,01±0,03 <sup>c</sup>	4,04±0,04 <sup>def</sup>	34,12±0,02 <sup>g</sup>	10,06±0,06 <sup>ef</sup>	192,27±0,13 <sup>q</sup>	0,24±0,03 <sup>a</sup>
3	6,53±0,02 <sup>a</sup>	37,44±0,04 <sup>b</sup>	2,15±0,05 <sup>b</sup>	19,33±0,03 <sup>f</sup>	7,46±0,12 <sup>b</sup>	3,55±0,05 <sup>b</sup>	30,62±0,02 <sup>b</sup>	9,87±0,07 <sup>de</sup>	105,87±0,10 <sup>l</sup>	0,21±0,02 <sup>a</sup>
4	6,61±0,01 <sup>cdef</sup>	42,45±0,02 <sup>h</sup>	2,27±0,02 <sup>efg</sup>	17,23±0,03 <sup>abcd</sup>	9,0±0,05 <sup>c</sup>	4,16±0,02 <sup>efgh</sup>	35,57±0,07 <sup>i</sup>	9,54±0,04 <sup>c</sup>	60,62±0,17 <sup>d</sup>	0,29±0,04 <sup>a</sup>
5	6,57±0,01 <sup>abcd</sup>	40,71±0,05 <sup>f</sup>	2,26±0,04 <sup>de</sup>	17,59±0,01 <sup>bcde</sup>	9,02±0,02 <sup>c</sup>	4,04±0,02 <sup>def</sup>	34,11±0,09 <sup>g</sup>	10,06±0,06 <sup>ef</sup>	160,73±0,22 <sup>n</sup>	0,26±0,11 <sup>a</sup>
6	6,55±0,03 <sup>ab</sup>	39,62±0,10 <sup>d</sup>	2,19±0,02 <sup>bcd</sup>	18,7±0,05 <sup>ef</sup>	7,72±0,05 <sup>b</sup>	3,73±0,03 <sup>bc</sup>	31,72±0,14 <sup>c</sup>	10,45±0,12 <sup>gh</sup>	108,57±0,24 <sup>l</sup>	0,28±0,06 <sup>a</sup>
7	6,56±0,03 <sup>abc</sup>	40,72±0,11 <sup>f</sup>	2,26±0,04 <sup>def</sup>	17,57±0,07 <sup>bcde</sup>	9,02±0,02 <sup>c</sup>	4,04±0,04 <sup>def</sup>	34,15±0,11 <sup>g</sup>	10,07±0,15 <sup>ef</sup>	180,89±0,16 <sup>p</sup>	0,27±0,16 <sup>a</sup>
8	6,57±0,03 <sup>abcd</sup>	40,71±0,12 <sup>f</sup>	2,26±0,05 <sup>def</sup>	17,59±0,09 <sup>bcde</sup>	9,01±0,02 <sup>c</sup>	4,04±0,06 <sup>def</sup>	34,14±0,13 <sup>g</sup>	10,06±0,20 <sup>ef</sup>	171,84±0,10 <sup>o</sup>	0,27±0,11 <sup>a</sup>
9	6,59±0,02 <sup>bcdef</sup>	44,76±0,11 <sup>l</sup>	2,34±0,05 <sup>gh</sup>	16,45±0,05 <sup>ab</sup>	9,36±0,05 <sup>c</sup>	4,39±0,09 <sup>gi</sup>	38,2±0,20 <sup>k</sup>	10,46±0,21 <sup>gh</sup>	87,58±0,09 <sup>g</sup>	0,19±0,03 <sup>a</sup>
10	6,58±0,03 <sup>abcde</sup>	40,1±0,12 <sup>e</sup>	2,34±0,07 <sup>gh</sup>	18,345±0,04 <sup>def</sup>	7,7±0,04 <sup>b</sup>	3,85±0,05 <sup>cd</sup>	32,66±0,21 <sup>de</sup>	9,41±0,17 <sup>bc</sup>	36,98±0,10 <sup>b</sup>	0,26±0,13 <sup>a</sup>
11	6,53±0,02 <sup>a</sup>	38,95±0,13 <sup>c</sup>	2,17±0,06 <sup>bc</sup>	18,597±0,29 <sup>ef</sup>	7,60±0,05 <sup>b</sup>	3,69±0,09 <sup>bc</sup>	32,17±0,17 <sup>cd</sup>	9,65±0,23 <sup>cd</sup>	47,05±0,13 <sup>c</sup>	0,27±0,08 <sup>a</sup>
12	6,55±0,02 <sup>ab</sup>	40,12±0,14 <sup>e</sup>	2,24±0,10 <sup>de</sup>	18,07±0,07 <sup>cdef</sup>	7,94±0,02 <sup>b</sup>	3,91±0,01 <sup>cde</sup>	32,83±0,09 <sup>e</sup>	10,57±0,19 <sup>h</sup>	120,39±0,11 <sup>k</sup>	0,23±0,07 <sup>a</sup>
13	6,63±0,01 <sup>ef</sup>	45,98±0,10 <sup>m</sup>	2,36±0,06 <sup>h</sup>	16,15±0,25 <sup>a</sup>	9,46±0,06 <sup>c</sup>	4,52±0,02 <sup>i</sup>	39,82±0,13 <sup>l</sup>	10,24±0,11 <sup>fg</sup>	95,04±0,09 <sup>h</sup>	0,28±0,19 <sup>a</sup>
14	6,54±0,04 <sup>ab</sup>	41,24±0,07 <sup>j</sup>	2,28±0,07 <sup>efg</sup>	17,44±0,14 <sup>bcde</sup>	9,17±0,05 <sup>c</sup>	4,09±0,09 <sup>defg</sup>	34,92±0,09 <sup>h</sup>	10,92±0,10 <sup>i</sup>	159,35±0,08 <sup>m</sup>	0,28±0,03 <sup>a</sup>
15	6,62±0,01 <sup>ef</sup>	44,4±0,05 <sup>k</sup>	2,32±0,05 <sup>fgh</sup>	16,6±0,16 <sup>ab</sup>	9,25±0,07 <sup>c</sup>	4,35±0,05 <sup>ghi</sup>	37,67±0,10 <sup>l</sup>	9,89±0,07 <sup>de</sup>	104,16±0,10 <sup>i</sup>	0,22±0,12 <sup>a</sup>
16	6,63±0,02 <sup>f</sup>	40,17±0,10 <sup>f</sup>	2,23±0,04 <sup>cde</sup>	17,66±0,14 <sup>bcde</sup>	8,80±0,10 <sup>c</sup>	3,98±0,08 <sup>cdef</sup>	33,47±0,09 <sup>f</sup>	9,20±0,20 <sup>b</sup>	79,77±0,09 <sup>e</sup>	0,27±0,09 <sup>a</sup>
PRcr	6,75±0,02 <sup>g</sup>	27,92±0,05 <sup>a</sup>	0,78±0,03 <sup>a</sup>	22,1±0,10 <sup>g</sup>	3,46±0,11 <sup>a</sup>	2,31±0,01 <sup>a</sup>	15,67±0,07 <sup>a</sup>	2,15±0,19 <sup>a</sup>	26,86±0,09 <sup>a</sup>	0,28±0,05 <sup>a</sup>

## REFERENCES

## REFERENCES

1. Weststrate, JA., Van Poppel, G. and Verschuren, PM., "Functional foods, trends and future", *British journal of nutrition*, V. 88, n S2, (2002), 233-235.
2. Alian, B., Marie-Madeleine, R. and Sebastien R., « Alimentation et sécurité et contrôle microbiologique », Educ agri édition, (2007), 208p.
3. Ameenah, G. F., "Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow", *Molecular Aspects of Medicine*, V.27, (2006), 1-93.
4. Bruneton, J., « Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales », Editions Tec & Doc, Paris, (1999), 207-211.
5. Groff, J., and Gropper, S., "Advanced Nutrition and human Metabolism", 3<sup>e</sup> Ed. Belmont: Wadsworth, (2000).
6. Mark-Herbert, C., "Functional Foods for Added Value. Developing and marketing a new product category", Doctoral dissertation, Swedish University of Agricultural Sciences, (2002).
7. Menrad, K., "Market and Marketing Functional Foods in Europe", *Journal of Food Engineering*, V.56, (2003), 181-188.
8. Roux, D., « Les nouvelles plantes qui soignent », Ed. S.a.m, (2005), 31p.
9. Emam, S.S., "Bioactive Constituents of *Atriplex halimus* plant", *Journal of Natural Products*, V.4, (2011), 25-41.
10. Nabi, S. A., Kasetti, R. B., Sirasanagandla, S., Kumar, M. V. and Rae, C. A., « Activité antidiabétique et hypolipémiant de *Piper longum* racine extrait aqueux dans STZ induit rats diabétiques », *BMC Complément Altern Med*, (2013),13-37.

11. Lemaire, P. A., Adosraku, R. K., "An HPLC method for the direct analysis of the serotonin precursor 5-hydroxytryptophan, in seeds of *Griffonia simplicifolia*", *Phytochemical analysis*, V.13, n° 6 (2002), 333-337.
12. Kim, K., Juliani, H. R., Bucuk, M., Acquaye, D., Asante-Dartey, J., Wu, Q., Simon J., "Quality control and 5-HTP (5-Hydroxy-L-tryptophan) analysis of griffonia (*Griffonia simplicifolia* (DC.) Baill.) Seed accessions collected in Ghana". In *African Natural Plant Products: Discoveries and Challenges in Quality Control*. American Chemical Society Symposium Series; American Chemical Society: Washington D.C., (2009), 381-390.
13. Lang, R., Dieminger, N., Beusch, A., Lee, Y., Dunkel, A., Suess, B., Skurk, T., Wahl, A., Hauner, H. and Hofmann, T., "Bioappearance and pharmacokinetics of bioactives upon coffee consumption", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, V.405, n° 26, (2013), 8487-8503.
14. Zhou, J., Chan, L. and Zhou, S., "Trigonelline: a plant alkaloid with therapeutic potential for diabetes and central nervous system disease", *Current Medicinal Chemistry*, V.19, N) 21, (2012), 3523-3531.
15. Guillon, F., and Champ, M. M. J., "Carbohydrate fractions of legumes: uses in human nutrition and potential for health", *British Journal of Nutrition*, V.88, n°3 (2002), 293-306.
16. Arnoldi, A., Boschini, G., Zanoni, C., Lammi, C., "The health benefits of sweet lupin seed flours and isolated proteins", *Journal of Functional Foods*, V.18, (2015), 550–563.
17. Villarino, C. B. J., Jayasena, V., Coorey, R., Chakrabarti-Bell, S. and Johnson, S. K., "Nutritional, health and technological functionality of lupin flour addition to bread and other baked products: Benefits and challenges", *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, V.56, (2016), 835–857.
18. Maalem, S., « Etude écophysiological de trois espèces halophytes du genre *Atriplex* (*A. canescens*, *A. Halimus* et *A. nummularia*) soumises à L'engraisement phosphaté ». Thèse en physiologie végétale et applications biotechnologiques. Université Baji Mokhtar, Annaba, Algérie, (2002).

19. Hcini, K., David, J., Enrique, C. and Sadok, B., "Estimation of nuclear DNA content in population of *Atriplex halimus* L. (Chenopodiaceae) by flow Cytometry", V. 61, n° 2, (2008), 160-163.
20. Ortiz-Dora, J., Martinez-Mora, C., Correal, E., Simon, B. and Cenis, J.L., "Genetic structure of *Atriplex halimus* populations in the Mediterranean basin", Ann.Bot, V.95, (2005), 827-834.
21. Brinis. A. and Belkhodja. M., « Salinity effect on physiological and biochemical parameters of *Atriplex halimus* L. », Rev. Sci. Technol, V.31, (2015), 42 -51
22. Ozenda, P., « Flore et végétation du Sahara », 3<sup>ème</sup> édition, CNRS Editions, Paris, (2004).
23. Quezel, P., and Santa, S., « Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales », Editions du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, Tome I, (1962), 565 p.
24. Dupont, F. and Guignard, J.L., « Abrèges botanique systématique Moléculaire ». 14-ème édition, Masson, (2007).
25. Otal, J., Orengo, J., Quiles María, A., and Hevia, L. and Fuentes, F., "Characterization of edible biomass of *Atriplex halimus* L. and its effect on feed and water intakes, and on blood mineral profile in non-pregnant Manchega-breed sheep", Small Ruminant Research, V.91, Issues 2–3, (July 2010), 208-214.
26. Abbad, A., El Hadrami, A., El Hadrami, I., Benchaabane, A., « Composition chimique saisonnière des feuilles de trois populations naturelles d' *Atriplex halimus* (Chenopodiaceae) cultivées dans un jardin commun », Pakistan J. Biol. Sci., V. 7, n°2, (2004), 203-208.
27. Bylka, W., Stobiecki, M. and Frahski, R. "Sulphated flavonoid glycosides from leaves of *Atriplex hortensis*", Acta Physiol, Plant, V.233, (2001), 285-290.
28. Bylka, W., "A new acylated flavonol diglycoside from *Atriplex littoralis*", Acta. Physiol Plant, V.264, (2004), 393-398.

29. Abd El-Rahman, H. H., Mohamed, M. I., Gehad, A.E.A. and Awadallah I.M., "Ameliorating the Anti-nutritional factors effect in *Atriplex halimus* on sheep and goats by ensiling or polyethylene glycol supplementation", *Int. J: Agr Biol*, V.8, n°6, (2006), 766–769.
30. Benhammou, N., Bekkara, F.A. and Panovska T.K., "Antioxidant activity of methanolic extracts and some bioactive compounds of *Atriplex halimus*", *Comptes Rendus Chimie*, V.12, n°12, (2009), 1259-1266.
31. Abou El Nasr, H.M., Kandil, H.M., El Kerdawy, A., Dawlat, Khamis, H.S. and El-Shaer, H.M., "Value of processed saltbush and acacia shrubs as sheep fodders under the arid conditions of Egypt", *Small Ruminant Research*, v.24, (1996), 15-20.
32. Niekerk, W.A., Sparks, C. F., Rethman, N.F. G. and Coertze, R. J., "Miniral composition of certain *Atriplex* species and *Cassia Sturtii*", *South African Journal of Animal Science*, V.34, (supplement 1), (2004), 105-107.
33. Halimi, A.K., « Les plantes médicinales en Algérie », Editions BERTI, Alger, (2004), 156-157.
34. Mirsky, N., Aharoni, A., Sussan, S. and Margalit, A., "Naturally extracted and synthetic hypoglycemic or hypolipidemic compositions", Application N°.US 09/842971, (2001).
35. Ghourri, M., Zidane, L. and Douira A., « Catalogue des plantes médicinales utilisées dans le traitement de la lithiase rénale dans la province de Tan-Tan (Maroc saharien) », *Int. J. Biol. Chem. Sci*, V.7, n°4, (2013), 1688-1700.
36. Chikhi, I., Allali, H., Dib, M.E.A., Merghache, D., Mejdoub, H. and Tabti, B. "Antidiabetic activity of aqueous aerial part extract of *Atriplex halimus* L.(Chenopodiaceae) in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats", *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, V.4, n°3, (2014), 181–184.
37. Day, L., Atele, A. and Yaun C., " Altérative therapies for type 2 Diabetes", *Alternative Medicine Review*, V.7, n°1, (2002), 45-58.
38. Institut Européen des Substances Végétales, La Rhodiola, (2012).

39. Espitalier, X., « Interet de griffonia simplicifolia, mucuna pruriens et rhodiola rosea dans le traitement de la depression », thèse de doctorat en pharmacie, Université de Lorraine Faculté de Pharmacie, (2014).
40. Brendler, T., Eloff, J. N., Gurib-Fakim, A. and Phillips, L. D., "African Herbal Pharmacopoeia", Graphic Press Ltd: Baie du Tombeau, Mauritius, (2010), 121-126.
41. Giurleo, D. J., "A phytochemical exploration of *Griffonia simplicifolia* seeds and leaves", thesis, The State University of New Jersey, (2017).
42. Pelagio-Flores, R., Ortiz-Castro, R., Mendez-Bravo, A., Macias-Rodriquez, L. and Lopez-Bucio, J., "Serotonin, a tryptophan-derived signal conserved in plants and animals, regulates root system architecture probably acting as a natural auxin inhibitor in *Arabidopsis thaliana*", *Plant Cell Physiology*, V.52, n°3, (2011), 490-508.
43. Hendler, S. S. and Rorvik, D., "PDR for Nutritional Supplements". Ninth edition, Medical Economics Company Inc. Montvale, NJ, (2001), 3-6p.
44. Kang, S., Kang, K., Lee, K., Back, K., "Characterization of tryptamine 5-hydroxylase and serotonin synthesis in rice plants", *Plant Cell Reports*, V.26, n°11, (2007), 2009-2015.
45. Iovieno, N., Dalton, E. D., Fava, M. and Mischoulon, D., "Second-tier natural antidepressants: review and critique". *Journal of Affective Disorders*, V.130, (2011), 343-357.
46. Peigné, E., « Contribution à l'étude de *Griffonia simplicifolia* ». [Lyon]: Claude Bernard - Lyon I, (2005).
47. Fournier, B., « Utilisations actuelles de *Griffonia simplicifolia* ». [Paris]: Paris Descartes, (2010).

48. Keszthelyi, D., Troost, F. J. and Masclee, A. A. M., "Understanding the role of tryptophan and serotonin metabolism in gastrointestinal function", *Neurogastroenterology and mobility*, V.21, n°12, (2009), 1239-1249.
49. Saeed, C.A., Alose de Kaneez, F., Taimur, S., Javed, F. and Umair Khan, M., "Some new prospects in the understanding of the molecular basis of the pathogenesis of stroke", *Exp Brain Res*, V.182, (2007), 1–10.
50. Petkov, G., Ramazanov, Z., "Fatty acids and sterols in *Griffonia* seeds oil", *Grasas y Aceites*, V.54, n°1, (2003), 30-31.
51. Novidzro, K. M., Mamatchi, M., Houndji, Saturnin, H. B. V., Kodjo, W., Kokouvi, D., Koumaglo, K. H. and Elolo, O., "Fatty acids composition of the oil, and quantification of 5-HTP, chlorophylls (a & b) and total carotenoids, of *Griffonia simplicifolia* Seeds". *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, V.8, n°6, (2019), 104-114.
52. Li, X., Kong, W., Shi, W., Shen, Q., "A combination of chemometrics methods and GC-MS for the classification of edible vegetable oils", *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, V.155, (2016), 145-150.
53. Jabeur, H., Zribi, A., Makni, J., Rebai, A., Abdelhedi, R., Bouaziz, M., "Detection of chemlali extra-virgin olive oil adulteration mixed with soybean oil, corn oil, and sunflower oil by using GC and HPLC", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V.62, (2014), 4893–4904.
54. Moruisi, K.G., Opperman, M. and Stonehouse, W., "Phytosterols/Stanols Lower Cholesterol Concentrations in Familial Hypercholesterolemic Subjects: A Systematic Review with Meta-Analysis", *Journal of the American College of Nutrition*, V.25, n°1, (February 2006), 41-8 .
55. Schachtman, D.P., Reid, R.J. and Ayling, S.M. « Absorption du phosphore par les plantes: du sol à la cellule », *Physiol végétal*, V.1, n°16, (1998), 447–453.

56. Lis, H. and Sharon, N., "Lectins: carbohydrate specific proteins that mediate cellular recognition", Chem. Rev. *in press*, V.98, n°2, (1998), 637-674.
57. Del Corral, P. and Pacak, K., "5-Hydroxytryptophan", Encyclopedia of Dietary Supplements, Marcel Dekker, New York, NY, (2005), 349-354p.
58. Pathak, S. K., Tahilani, P., Jain, N. P., and Banweer, J., "A review on *Griffonia simplicifolia* - an ideal herbal antidepressant", IJPLS, V.1, n°3, (2010), 174-181.
59. Birdstall, T. C., "5-Hydroxytryptophan, a clinically effective serotonin precursor", Alternative Medicine Review, V.3, n°4, (1998), 271-280.
60. Smith, S.C., Choy, R., Johnson, S.K. and Welling, G.W., "Lupin kernel fiber consumption modifies fecal microbiota in healthy men as determined by RNA gene fluorescent in hybridization", European Journal of nutrition, V.45, (2006), 335-341.
61. EFSA Journal., "Opinion of the scientific panel on dietetic products, nutrition and allergies on a request from the commission related to the evaluation of lupin for labeling purposes" (2005), 1-3p.
62. Simpson, M.J.A., « Variation géographique de *Lupinus albus* L. II. Le nord-ouest de l'Espagne, la vallée du Nil, les Balkans et la Turquie », ZP flanzenzücht, V.96, (1986), 241–251
63. Huyghe, C. and Papineau, J., « Le lupin doux protéagineux », France agricole, Paris, (2004).
64. Gladstones, J.S., « Distribution, origine, taxonomie, histoire et importance ». Dans: Gladstones JS, Atkins C, Hamblin J (eds) Lupins as crop plants: biologie, production et utilisation. CABI, Wallingford, (1998), 1–39p.
65. Sbabou, L., « Diversité génétique de lupin au Maroc et étude du développement racinaire de lupin blanc sous stress abiotique par des approches de génomique fonctionnelle, Génomique et Biotechnologie », Université Mohamed V-AGDAL Rabat, (2009).
66. Bhardwaj, H.L., A.A. Hamama, and E. van Santen., "White lupin performance and nutritional value as affected by planting date and row spacing", J. of Agronomy, V.96, (2004), 580-583.

67. Swiecicki, W. K., Buirchell, B. J. & Cowling, W. A., "Lupinus ssp. Conserved resources, priorities for collection and future prospects", In R. Knight (Ed.), Linking research and marketing opportunities for pulses in the 21st century, (2000). Proceedings of third international food legumes research conference (pp. 635–644). Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
68. Mulayim, M., Tamkoc, A. and Babaoglu, M., "Sweet lupins versus local bitter genotype: Agronomic characteristic as affected by different planting densities in the Goller region of Turkey", *European Journal of Agronomy*, V.17, (2002), 181– 189.
69. Faluyi, M.A., Zhou, X.M., Zhang, F., Leibovitch, S., Migner, P. and Smith D.L., "Seed quality of sweet white lupin (*Lupinus albus*) and management practice in eastern Canada", *European Journal of Agronomy*, V.13, (2000), 27–37.
70. Dervas, G., Doxastakis, G., Zinoviadi, S. and Triandatafillakos, N., "Lupin flour addition to wheat flour doughs and effect on rheological properties", *Food Chemistry*, V.66, (1999), 67–73.
71. Annicchiarico, P., Harzic, N. and Carroni, A.M., « Adaptation, diversité et exploitation des ressources génétiques globales du lupin blanc (*Lupinus albus* L.) », *Grandes cultures Res*, V.119, (2010), 114–124.
72. Petterson, D. S. and Mac Kintosh, J. B., "The chemical composition of lupin seed grown in Australia", in: Proc, First Australian Lupin Technical Symp. Dept. of Agric, Perth, Western Australia, (1994), 39-48.
73. Moss, A. R., Deaville, E. R. and Givens, D. I. "Short communication. The nutritive value for ruminants of lupin seeds from determinate and dwarf determinate plants", *Animal Feed Science and Technology*, V.94, (2001) 187–198.
74. Vecerek, V., Suchy, P., Strakova, E. and Machacek, M, "Nutritive composition of seeds of the lupin varieties registered in the Czech Republic". In: Lupins for health and wealth proceedings of the 12<sup>th</sup> International lupin conference, International Lupin Association, [Palta, J.A., Berger, J.B. (Eds)], New Zealand. (2008).
75. Ryan, E., Galvin, K., O'Connor, T. P., Maguire, A. R., O'Brien, N. M., "Phytosterol, squalene, tocopherol content and fatty acid profile of selected seeds, grains, and legumes", *Plant Foods for Human Nutrition*, V.62, n°3, (2007), 85-91.

76. Drakos, A., Doxastakis, G. and Klossoglou, V., "Functional effects of lupin protein in comminuted meat and emulsion gels", *Food chem.*, V.100, (2007), 650-655.
77. Erbas, M., "The effects of different debittering methods on the production of lupin bean snack from bitter *Lupinus albus* L. seeds", *Journal of Food Quality*, V.33, (2010), 742-757.
78. Ciqual database (2016). French food composition table. French agency for food, environmental and occupation health and safety. <https://pro.anses.fr/table-ciqual>.
79. Yadav, S. S. ; Bejiga, G., « *Lathyrus sativus* L. » In: Brink, M. ; Belay, G. (Eds). PROTA 1: Cereals and pulses/Céréales et légumes secs. [CD-Rom]. PROTA, Wageningen, Pays Bas. (2006).
80. Elsamani, M.O., Siddig, S.H., Elfadil, E.B., Isam, A.M, "Biochemical, microbial and sensory evaluation of white soft cheese made from cow and lupin milk", *LWT. Food Science and Technology*, V.59, n°1, (2014),553-559.
81. Tabrett, S., Blyth, D., Bourne, N. and Glencross, B., « Digestibility of *Lupinus albus* lupin meals in barramundi ( *Lates calcarifer* ) », *Aquacult*, V.364-365, (2012), 1-5p.
119. AOAC, 2000. Official Methods of Analysis. 17th Edition, The Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD, USA
120. AOAC, 1995. Official methods of analysis 16th Ed. Association of official analytical chemists. Washington DC, USA.
121. Dimova, N., "RP-HPLC analysis of amino acids with UV-detection", *Bulg Acad Sci*, V.56, (2003), 75–78.
122. Shimadzu Corporation, "High Speed Analysis of Amino Acids by Pre-Column Derivatization", Application Data Sheet High Performance Liquid Chromatography, No.7, No.8. (2007).
123. Gheshlaghi, R., Scharer, J.M., Moo-Young, M. and Douglas, P.L., "Application of statistical design for the optimization of amino acids separation by reverse-phase HPLC", *Analytical Biochemistry*, V.383, (2008), 93–102.

124. Zhang, J.Z., Xue, X.F., Zhou, J.H., Chen, F., Wu, L.M., Li, Y., Zhao, J., "Determination of tryptophan in bee pollen and royal jelly by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection", *Biomedical Chromatography*, V.23, n°9, (2009), 994–998.
125. Saglik, S., Alpınar, K. and Imre, I., « Fatty acid composition of the seed oil of *arum italicum miller* », *Journal of Food Lipids*, V.9, (2002), 95-103.
126. Bohui, P. S. G., Adima, A.A., Niamké, F.B. and N'Guessan, J.D., "Comparative study of three methods for extracting total flavonoids from the leaves of medicinal plants: *Azadirachta indica* and *Psidium guajava* », *J. Soc. Ouest-Afr. Chim*, V.46,(2018), 50 - 58
127. Mohammedi Z., *Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen*. Tlemcen: Université Abou Bakr Belkaïd, (2005).
128. Boizot, N., Charpentier, J.-P., « Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier », *Le Cahier des Techniques de l'INRA*, Numéro spécial 2006: Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, (2006), 79-82.
129. Marinova, D., Ribarova, F., Atanassova, M. « Total phenolics in bulgarian Fruits and vegetables ». *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, V.40, n°3, (2005), 255-260.
130. Ba, K., Tine, E., Destain, J., Cissé, N. and Thonart, P., « Étude comparative des composés phénoliques, du pouvoir antioxydant de différentes variétés de sorgho sénégalais et des enzymes amylolytiques de leur malt ». *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, V.14, n°1, (2010), 131-139.
131. Mansouri, A., Embarek, G., Kokkalou, E., and Kefalas, P, « Profil phénolique et activité antioxydante du palmier dattier algérien (*Phoenix dactylifera*) », *Chimie alimentaire*, V89, (2005), 411–420.
132. Arbouche, F., Arbouche, Y., Arbouche, H.S., et Arbouche, R., « Valeur nutritive de l'*Atriplex (Atriplex halimus L.)*, suivant les stades phénologiques, en région steppique (Algerie) », *Recherche AgRoNominque*, N° 26 – (2013).

133. Rahmoun, C., Maâlem, S. et Bennaceur, M., « Etude comparative de rendement en matière sèche et en matière azotée totale de trois espèces de plantes steppiques du genre *Atriplex* », In : Cantero-Martínez C. (ed.), Gabiña D. (ed.). *Mediterranean rainfed agriculture: Strategies for sustainability*. Zaragoza : CIHEAM, V60, 2004. 219-221p.
134. Abu-zanat, M. MW., Al-hassanat, F. M., Alawi, M. and Ruyle, G. B., « Oxalate and tannins assessment in *Atriplex halimus* L. and *A. nummularia* L. », *J. Range Manage*, V.56, n°4, (2003), 370-374.
135. Fontanari, G. G., Batistuti, J. P., Cruz, R. J. Da Saldiva, P. H. N. Arêas, J. A. G., "Cholesterol-lowering effect of whole lupin (*Lupinus albus*) seed and its protein isolate", *Food Chemistry*, V.132, n°3, (2012), 1521-1526.
136. Jayasena, V., Khu, W.S., Nasar-Abbas, S.M., "The development and sensory acceptability of lupin-based tofu", *Journal of Food Quality*, V.33, n°1, (2010), 85-97.
137. Khalid, I. I., Elhardallou, S. B., Gobouri, A. A., "Amino acid composition and physicochemical properties of bitter lupine (*Lupinus termis*) seed flour", *Oriental Journal of Chemistry*, V.32, n°6, (2016), 3175-3182.
138. Yorgancilar, M. and Bilgiçli, N., "Chemical and nutritional changes in bitter and sweet lupin seeds (*Lupinus albus* L.) During bulgur production", *Journal of Food Science and Technology*, V.51, n°7, (2014), 1384-1389.
139. Fleischer, J.E., Sottie, E.T. and Amaning-kwarteng, K., "chemical composition and rumen degradability of brows and shrubs fed to sheep in Ghana", *Ghana jnl agric sci*, V.31, (1998), 93-97.
140. Novidzro, K. M., Wokpor, K., Amoussou fagla, B., Koudouvo, K., Dotse, K., Osseyi, E. et Koumaglo, K.H., "Phytochemical screening, minerals determination and identification of some essential amino acids of *Griffonia simplicifolia* seeds », *Int. J. Biol. Chem. Sci*, V.13, n°4, (2019), 2360-2373.
141. Boussaid, M., Ben fadhel, N., zaouali, Y., Ben salah, A. and Abdelhanafi, A., "Plantes pastorales en milieux arides de l'Afrique du Nord", *Options Médit.*, (2001), 55-59.

142. Benhammou-Belyagoubi, N., Benyagoubi, L. and Atik Bekkara, F., « Phenolic contents and antioxidant activities In vitro of some selected Algerian Plants », *Journal of Medicinal Plant Research*, V.8, n°40, (2014), 1198-1207.
143. Ould Kaddour, A.S., Bouzouina, M. and Lotmani, B. « Phenolics contents and in-vitro evaluation of the antioxidant effects of the aerial parts of three algerian *Atriplex halimus* L. Ecotypes », *Plant Archives*, V.19, n°1 (2019), 1583-1592p.
144. Karamaća, M., Orakb, H.H., Amarowicza, R., Orakc, A., Piekoszewski, W., « Phenolic contents and antioxidant capacities of wild and cultivated white lupin (*Lupinus albus* L.) seeds », *Food Chemistry*, V.258, (2018), 1–7.
90. Wang, S. & Clements, J., « Antioxidant activities of lupin seeds ». In J. A. Palta, & J. B. Berger (Eds.), *Lupins for health and wealth*, Canterbury, New Zealand: International Lupin Association, (2008), 546–551p.
145. Ranilla, L. G., Genovese, M. I., & Lajolo, F. M., « Isoflavones and antioxidant capacity of Peruvian and Brazilian lupin cultivars », *Journal of Food Composition and Analysis*, V.22, (2009), 397–404.
146. Siger, A., Czubiński, J., Kachlicki, P., Dwiecki, K., Lampart-Szczapa, E., & Nogala-Kałucka, M., « Antioxidant activity and phenolic content in three lupin species », *Journal of Food Composition and Analysis*, V.25, n°2, (2012), 190–197.
147. Nyarko, R.A., Larbie, C., Anning, A.K., Baidoo, P.K., « Phytochemical constituents, antioxidant activity and toxicity assessment of hydroethanolic leaf extract of *griffonia simplicifolia* », *International Journal of Phytopharmacology*, V.10, n°1, (2019), 6-18.
148. Muzquiz, M., Cuadrado, C., Ayet, G., Cuadra, C., Burbano, C. and Osagie, A., “Variation of alkaloid components of lupin seed in 49 genotypes of *Lupinus albus* L. from different countries and locations”, *J. Sci. Food Agric*, V.42, (1994), 1447–1450.
149. Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M. and Abdelly C., “Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities”, *C. R. Biologies*, V.331, n°5, (2008), 372-379.

150. Ebrahimzadeh, M. A., Pourmorad, F. and Bekhradnia, A. R., « Iron chelating activity, phenol and flavonoid content of some medicinal plants from Iran », *Afr. J. Biotechnol*, V.7, n°18, (2008), 3188-3192p.
151. Martínez-Villaluenga, C., Frías, J. and Vidal-Valverde, C., « Functional lupin seeds (*Lupinus albus* L. and *Lupinus luteus* L.) after extraction of  $\alpha$ -galactosides », *food chem*, V.98, n°2, (2006), 291-299.
152. Duenas, M., Hernandez, T., Estrella, I. and Fernandez, D., “Germination as a process to increase the polyphenol content and antioxidant activity of lupin seeds (*Lupinus angustifolius* L.)”, *Food Chem*, V.117, n°4, (2009), 599–607.
153. Abdeldaiem, A. M. and Blassy, I.K. “Effect of Replacing Skim Milk Powder by Sweet Lupine Powder on Characteristics of Zebda-Mango Yoghurt Drink”, *Ismailia Journal of Dairy Science & Technology*, V.6, n°1, (2019), 9-17
154. Nalle, C.L., Ravindran, V., Ravindran, G., “Nutritional value of white lupins (*Lupinus albus*) for broilers: apparent metabolisable energy, apparent ileal amino acid digestibility and production performance”, *Animal*, V.6, n°4, (2012), 579-585.
155. Tsaliki, E., Lagouri, V. and Doxastakis, G., « Evaluation of the antioxidant activity of lupin seed flour and derivatives (*Lupinus albus* ssp. *Graecus*) », *Food Chemistry*, V.65, n°1, (1999), 71-75.
156. Uzun, B., Arslan, C., Karhan, M. and Toker, C., « Fat and fatty acids of white lupin (*Lupinus albus* L.) in comparison to sesame (*Sesamum indicum* L.) ». *Food chem*, V.102, n°1, (2007), 45-49.
157. Bagci E, Sahin A. « Fatty acid patterns of the seed oils of some Lathyrus species L. (Papilionideae) from Turkey, a chemotaxonomic approach ». *Pakistan Journal of Botany*, V.36, n°2, (2004), 403-413.
158. Wirasnita, R., Hadibarata, T., Yusoff, A.R.M. & Lazim, Z.M., « Preparation and characterisation of activated carbon from oil palm empty fruit bunch wastes using zinc chloride », *Jurnal Teknologi*, V.74, n°11, (2015), 77 – 81.
82. Benarab, N., « Filière de jus de fruit et boisson gazeuses, la petite bulle fragile », *L'Eco*, N° 92, 1-15, (Juillet 2014), 35-39p.

83. Watson, E., « US retail sales of plant-based milk up 9%, plant-based meat up 24% YoY », FOOD navigator-usa.com, (2018).
84. Krief, S., « Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda », Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées: Museum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS2003
85. CODEX STAN 247-2005 (2005), "Codex Alimentarius - Codex General Standard for Fruit Juices and Nectars ", www.codexalimentarius.net.
86. Virign, E., « Aliment et boisson ; Technologie et Aspects Réglementaires, Science des Aliment », 2<sup>eme</sup> Edition Science et techniques, Paris, France, (2001).
87. Fredot, E., « Connaissance des aliments Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique », Editions Tec et Doc, Lavoisier, Paris, (2005), 352-356 p.
88. Jeske, S., Zannini, E. & Arendt, E. K., « Past, present and future : The strength of plant-based dairy substitutes based on gluten-free raw materials », Food Research International, V.110, (2018), 42–51.
89. Sethi, S., Tyagi, S. K. & Anurag, R. K., « Plant-based milk alternatives an emerging segment of functional beverages: a review ». Journal of Food Science and Technology, V. 53, (2016), 3408–3423.
91. Kim, S.Y., Kim, Y.S., Kim, Y.S., Kim, J.M. and Suh, H.J., « The application of monascus rice in rice beverage preparation », LWT - Food Science and Technology, V.41, n°7, (2008), 1204-1209.
92. Addou, S., Benaissa, Y., Belmokhtar, A., Saidi, D. and Kheroua, O., « Effet du lait de noix de coco sur la réponse immunitaire systémique et sur la muqueuse intestinale des souris Balb/c », Revue Française d'Allergologie, V. 55, n°3, (2015), 224.
93. Wagner, V., « De *Stevia rebaudiana* à la Stévia : Parcours chaotique de l'herbe sucrée parmi les édulcorant », Lorraine, France, Faculty of pharmacy, PhD Thesis, (2012).

158. AOAC, "Official Methods of Analysis", 15<sup>th</sup> Ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA, (1990).
159. Norme française (NF) V05 – 101. (1974). Dosage de l'acidité titrable (Norme Européenne EN 12147).
160. Dubois, M., Gilles, KA., Hamilton, JK., Roberts, PA. and Smith, F., "Colorimetric method for determination of sugar and related substances", *Anal Chem*, V.28, (1956), 350–356.
161. Meléndez-Martínez, A.J., Vicario, I.M. and Heredi, F.J., « Provitamin A carotenoids and ascorbic acid contents of the different types of orange juices marketed in Spain », *Food Chem*, V.101, n°1, (2007), 177-184.
162. Teow, C. C., Truong, V-D., Mc feeters, R. F., Thompson, R. L., Pecota, K. V. and yencho G. C., « Antioxidant activities, phenolic and  $\beta$  carotene contents of sweet potato genotypes with varying flesh colours », *Food Chem*, V.103, (2007), 829–838.
163. Chang, C. C., Yang, M-H., Wen, H-M. and Chern, J-C., « Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods », *Journal of food and drug analysis*, V.10, n°3, (2002), 178-182.
164. Xu, G., Liu, D., Chen, J., Ye, X., Maa, Y. and Shi, J., "Juice components and antioxidant capacity of citrus varieties cultivated in China", *Food Chemistry*, V.106, (2008), 545–551.
165. Serio, L. "La *Stevia rebaudiana*, une alternative au sucre", *Phytotherapie*, V.8, (2010), 26–32.
166. Carbonell-Capella, J.M., Buniowska, M., Esteve, M.J. and Frigola, A., "Effect of stevia rebaudiana on bioaccessibility of bioactive compounds and antioxidant activity of beverages based on exotic fruits mixed with oat following simulated human digestion", *Food Chemistry*, V.184, (2015), 122–130.
167. Vizireanu, C., Dinica, R., Dima, F. and Istrati, D., « Recherches sur le développement des cocktails avec un potentiel antioxydant élevé », *St. Cerc. St. CICBIA*, V.11, n°4, (2010), 469 – 478.

168. Belguedj, M., « Caractéristique des cultivars de dattiers du Sud-Est du Sahara Algérien », Ed. INRA. Alger, V.1, (1996), 67 p.
169. Al-Turki, S., Shahba, M.A. and Stushnoff, C., “Diversity of antioxidant properties and phenolic content of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruits as affected by cultivar and location”, J. Food Agric. Environ, V.8, n°1, (2010), 253-260.
170. Georgé, S., Brat, P., Alter, P. and Amiot, M.J., « Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products », Journal of Agricultural and Food Chemistry, V.53, n°5, (2005), 1370-1373.
171. Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, J. and Pinkas, M., “Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations”, Arzneimittel-forschung, V.46, n°11, (1996), 1086-1089.
172. Milardović, S., Iveković, D. and Grabarić, B.S., “A novel amperometric method for antioxidant activity determination using DPPH free radical », Bioelectrochemistry, V.68, n°2, (2006), 175-180.
173. Benhamed Djilali, A., « analyse des aptitudes technologiques de poudres de dattes (*Phoenix dactylifera* L.) améliorées par la spiruline. Etude des propriétés technologiques, nutritionnelles et microbiologiques », Thèse de doctorat, université m’hamed Bougara- Boumerdes, (2012).
174. Claustrioux, J. J., « Considérations sur l’analyse statistique de données sensorielles », Biotechnol. Agron. Soc. Environ, V.5, n°3, (2001), 155–158.
175. Arrêté du 22 Dhou El Kada 1437 correspondant au 25 août 2016 rendant obligatoire la méthode de préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique des produits autres que les produits laitiers, les produits carnés et les produits de la pêche.
177. Robards, K. and Antolovich, M., « Analytical Chemistry of Fruit Bioflavonoids ». Analyst, V.122, (1997), 11R-34R.
178. Lozano, J.O., « Fruit Manufacturing », Food engineering series, Springer, (2006), 21-54.

179. Saidani, M. and Marzouk, B., « Biochemical Characterization of blood orange, sweet orange, lemon, bergamot and bitter orange », *Phytochemistry*, V.62, n°8, (2003), 1283 -1289.
180. Smati, I., Bettaieb Rebey, I., Hammami, M., Hamdaoui, G. and Saidani Tounsi, M., « Variation of the quality of lemon (*Citrus limon* L.) juice during stage of fruit maturity », *Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology*, V.43, n°1, (2017), 2334-2343.
181. Clotteau, M., « Production d'un jus d'orange par couplage traitement enzymatique et microfiltration tangentielle », Montpellier : ENSIA-SIARC, Thèse de doctorat : Génie agro-alimentaire méditerranéen et tropical : Ecole nationale supérieure des industries agricoles et alimentaires, (2002), 80 p.
182. Ingallinera, B., Barbagallo, R. N., Spagna, G., Palmeri, R. and Todaro, A., "Effect of thermal treatments on pectin esterase activity determined in blood oranges juices", *Enzyme and microbial technologie*, V.36, n°2,3, (2005), 258- 253.
183. Sanchez-Moreno, C., Plaza, L., Elez-Martinez, P., De Ancos, B., Martin-Belloso, O. and Cano M.P., "Impact of high pressure and pulsed electric fields on bioactive compounds and antioxidant activity of orange juice in comparison with traditional thermal processing", *J Agric Food Chem*, V.53, (2005), 4403-4409.
184. Gorinstein, S., Martin-Belloso, O., Yong-Seo, P., Haruenkit, R., Lojek, A. and Milan, C., "Comparison of some biochemical characteristics of different Citrus fruits", *Food Chem*, V.74, n°3, (2001), 309-315.
185. Tounsi, M.S., Wannas, W. A., Ouerghemmi, I., Jegham, S., BenNjima, Y., Hamdaoui, G., Zemnib, H. and Marzouka, B., "Juice components and antioxidant capacity of four Tunisian Citrus varieties," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.91, n°1, (2011), 142–151.
186. Guimaraes, R., Barros, L., Barreira, J.C.M., Sousa, M. J., Carvalho, A.M. and Ferreira, I.C.F.R. « Targeting excessive free radicals with peels and juices of citrus fruits: Grapefruit, lemon, lime and orange », *Food Chem. Toxicol*, V.48, (2010), 99 - 106.

187. Metoui, N., Hamrouni, L., Dhaoudi, F. and Bettaieb, T., « Notes ethnobotanique et phytopharmacologique sur la Maltaise de Tunisie », *Phytothérapie*, V.12, n°2, (2014), 105–108.
188. Guihua, X., Donghong, L., Jianchu, C., Xingqian, Y., Yaqin, M., John, S., « Juice components and antioxidant capacity of *Citrus* varieties cultivated in China », *Food Chem*, V.106, n°2, (2008), 545–551.
189. Gardner, P.T., Tamsin, A.C., Mcphail, D.B., Duthie, G.G., « The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices », *Food Chemistry*, V.68, n°4, (2000), 471-474.
190. Gil-izquierdo, A., Gil, M.I. and Ferreres, F., “Effect of processing techniques at industrial scale on orange juice antioxidant and beneficial health compounds”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V.50, n°18, (2002), 5107-5114.
191. Benchabane, A., Kechida, F., Belaloui, D., Aoudjit, R. and Ould el hadj, M. D., « Valorisation de la datte par la formulation d’une boisson à base de lait et de jus d’orange », *Algerian journal of arid environment*, V.2, n°1, (Juin 2012), 25-35.
192. AFNOR V 76-005, Normes françaises homologuées, NF V 76-005, Produits dérivés des fruits. (2ème ED) AFNOR-Tour Europe, (1986), 81-85.
193. Gunathilake, K.D.P.P., Vasantha Rupasinghe, H.P. and Pitts, N. L., « Formulation and characterization of a bioactive-enriched fruit beverage designed for cardio-protection », *Food Research International* V. 52, n°2, (2013), 535–541.
194. Kim, D. B., Shin, G.H., Kim, J.M., Kim, Y. H., Lee, J.h., Lee, J.S., Song, H.J., Choe, S.Y., Park, I.J., Cho, J.H., and Lee, O.H., « Antioxidant and anti-ageing activities of citrus-based juice mixture », *Food Chemistry*, V.194, (2016) 920–927.
195. Travers, I., « Influence des conditions pédoclimatiques du terroir sur le comportement du pommier et la composition des pommes à cidre dans le Pays d’Auge, Thèse de Doctorat, Université de Caen, Basse-Normandie, (2004), 240p.
196. Hendrix, C. M., Redd, J. B. and Ashurst, P. R., “Chemistry and Technology of Citrus Juices and By-Products”, In: « Production and Packaging of Non-Carbonated Juices and Fruit Beverages », Ed. Blackie Academic & Professional, (1995), 53-87.

197. Lee, S. K. and Kader, A. A., "Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops", *Postharvest Biology and Technology*, V.20, (2000), 207-220.
198. Silva, F. O., "Total ascorbic acid determination in fresh squeezed orange juice by gas chromatography", *Food Control*, V.16, n°1, (2005), 55-58.
199. Loots, D.T., Van Der Westhuizen, F. H. and Jerling, J., "Polyphenol composition and antioxidant activity of kei apple (*Dovyalis caffra*) juice", *Journal of agricultural and food chemistry*, V.54, n°4, (2006), 1271-1276.
200. Buniowska, M., Carbonell-Capella, J.M., Frigola, A. and Esteve, M.J., « Bioaccessibility of bioactive compounds after non-thermal processing of an exotic fruit juice blend sweetened with *Stevia rebaudiana* », *Food Chemistry*, V.221, n°15, (2017), 1834-1842.
201. Amaral, J.S., Valentao, P., Andrade, P.B., Martins, R.C. and Seabra, R.M., "Phenolic composition of hazelnut leaves: influence of cultivar, geographical origin and ripening stage", *Sci. Hortic*, V.126, n°2, (2010), 306–313.
202. Vanamala, J., Leonardi, T., Patil, B. S., Taddeo, S. S., Murphy, M. E., Pike, L. M., Chapkin, R. S., Lupton, J. R. and Turner, N. D., "Suppression of colon carcinogenesis by bioactive compounds in grapefruit", *Carcinogenesis*, V.27, n°6, (2006), 1257-1265.
203. Lu, Y., Zhang, C., Bucheli, P. and Wei, D., "Citrus Flavonoids in Fruit and Traditional Chinese Medicinal Food Ingredients in China", *Plant Foods for Human Nutrition*, V.61, n°2, (2006), 57-65.
204. Melo, E., Lima, V.L.A.G. and Maciel, M.I.S., "Polyphenol, ascorbic acide and total carotenoids contents in common fruits and vegetebales", *Brazilian Journal of Food Technology*, V.9, n°2, (2006), 89-94.
205. Jang, H. D., Chang, K.S., Chang, T.C. and Hsu, C.L. « Antioxidant potentials of buntan pummelo (*Citrus grandis* Osbeck) and its ethanolic and acetified fermentation products », V.118, n°3, *Food Chemistry*, (2010), 554–558.

176. JORA, N°39, (2017), Arrêté interministériel du 2 Moharram 1438 correspondant au 4 octobre 2016 fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires.
206. Larpent, J.P. et Chouette in Larpent, J, P., « Microbiologie alimentaire : Techniques de laboratoire », Ed. Techniques et documentations, Paris, (1997),1073 p.
207. Leyral, G. and Vierling, E., « Microbiologie et toxicologie des aliments », Hygiène et sécurité alimentaires, 2ème Ed.Doin, (2007).
208. Guiraud, J., « Microbiologie Alimentaire ». Ed Dunod. Paris. (1998), 652 p.
209. Chibi S., Rabet S. and El-Hadi D., « Etude des Paramètres Environnementaux sur la Croissance de "Saccharomyces Cerevisiae" Isolée de Rebutts de Dattes, Algerian », J. Env. Sc. Technology, (2016), 2,3, 281-288.
210. Yefsah-idres, A., Benrima, A., Hammouchi, K. and Bennazoug, Y., “Essai de valorisation de la datte mech-degla par sa substitution au sucre blanc dans la formulation d'un biscuit”, Revue Agrobiologia, V.9, n°2, (2019), 1543-1559.
211. Chibane, H., Benamara,S., Noui, Y. and Djouab, A., « Some Physicochemical and Morphological Characterizations of Three Varieties of Algerian Common Dates », V.18, n°1, (2007),134-140.
212. Al-Farsi, M., Alasalvar, C., Al-Abid, M., Al-Shoaily, K., Al-Amry, M. and Al-Rawahy, F, “Compositional and functional characteristics of dates, syrups, and their byproducts”, Food chemistry, V.104, n°3, (2007), 943-947.
213. Booij, I., Piombo, G., Risterucci, J. M., Coupe, M., Thomas, D. and Ferry, M., « Etude de la composition chimique de dates à différents stades de maturité pour la caractérisation variétale de divers cultivar de palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) », journal of Fruits, V. 47, n°6, (1992), 667-677.
214. Benmeddour, Z., Mehinagic, E., Le Meurlay, D. and Louaileche, H., “Phenolic composition and antioxidant capacities of ten Algerian date (*Phoenix dactylifera* L.) Cultivars: a comparative study”, Journal of Functional Foods, V.5, n°1, (2013), 346-354.

215. Louaileche, H., Hammiche, D. and Hamoud, F., «Total Phenolic, Flavonoid Contents and in Vitro Antioxidant Activity of Algerian Date Palm Varieties: A Comparative Study », *American Journal of Food Science and Health*, V.1, n°3, (2015), 63-68.
216. Kale, R.V., Pandhare, G.R., Satwase, A.N. and Goswami, D., « Effect of Different Concentration of Orange Juice on Quality Characteristics of Soya Milk Blended Beverage », *J Food Process Technol*, V. 3, n°2, (2012), 140.
217. Cerezal Mezquita, P., Acosta Barrientos, E., Rojas Valdivia, G., Romero Palacios, N. and Arcos Zavala, R., « Development of a high content protein beverage from Chilean mesquite, lupine and quinoa for the diet of pre-schoolers », *Nutr. Hosp*, V.27, n°1, (2012), 232-243.
218. Ekanayaka, R.A.I., Ekanayaka, N.K., Perera, B. and De Silva, P.G.S.M., « Impact of a Traditional Dietary Supplement with Coconut Milk and Soya Milk on the Lipid Profile in Normal Free Living Subjects », *Journal of Nutrition and Metabolism*, (2013).
219. Mang, Y. D., Njintang, Y. N., Abdou, B. A., Scher, J., Bernard, C. and Mbofung, M. C., « Dehulling reduces toxicity and improves in vivo biological value of proteins in vegetal milk derived from two mucuna (*Mucuna pruriens* L.) seeds varieties », *J Food Sci Technol*, V.53, n°6, (2016), 2548–2557.
220. Robalino, J., “Elaboration, sensorial and nutritional analysis of a vegetable drink (*Lupinus mutabilis* sweet) sweetened with jicam (*Smallanthus sonchifolius*) and flavoured with cocoa powder for sporters pontifical”, *Catholic University of Ecuador School of Nursing Degree in Human Nutrition*, (2020).
221. Andrés, V., Villanueva, M. J., Mateos-aparicio, I. and Tenorio, M. D. « Colour, bioactive compounds and antioxidant capacity of mixed beverages based on fruit juices with milk or soya », *J. Food Nutr. Res*, V.53, n° (2014), 71–80.
222. Wang, Y.C., Yu, R.C., Yang, H.Y. and Chou, C.C., « Sugar and acid contents in soymilk fermented with lactic acid bacteria alone or simultaneously with bifidobacteria », *Food Microbiology*, V.20, n°3, (2003), 333–338.

223. Manhal, M.D.O. and Kamal, A.A.R., « Quality attributes of soy yoghurt during storage periods. Pakistan Journal of Nutrition », V.9, n°11, (2010), 1088 – 1093.
224. Arif, S., Ahmad, A, Masud, T., Khalid, N., Imran, H, Farzana, S. and Muhammad, A., « Effect of flour processing on the quality characteristics of a soy-based beverage », International Journal of Food Sciences and Nutrition, V.63, n°8, (2012), 940–946.
225. Isanga, J. and Zhang, G., « Production and evaluation of some physicochemical parameters of peanut milk yoghurt », LWT- Food Science and Technology, V.42, n°6, (2009), 1132-1138.
226. Nawaz, M.A ., Tan, M., Oiseth, S. and Buckow, R., « An Emerging Segment of Functional Legume-Based Beverages: A Review », Food reviews international, (2020), 1-39.
227. Amellal-Chibane, H., Noui, Y., Djouab, A. and Benamara, S., « Compositional and Morphological Characteristics of the Tissues of Three Common Dates Grown in Algeria », International Scholarly and Scientific Research & Innovation, V.8, n°10, (2014), 1150-1153.
228. Chanforan, C., « Stabilité de microconstituants de la tomate (composés phénolique, carténoïde, vitamine C et E) au cours des procédés de transformation: études en systèmes modèles mis en point d'un modèle stoechiocinétique et validation pour l'étape unitaire de préparation de sauce tomate », Thèse doctorale, (2010).
229. Chun, S. S., Vatter, D.A., Lin, Y.T. and Shetty, K., « Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori* », Process Biochemistry, V.40, n°2, (2005), 809–816.
230. Djaoud, K., « Valorisation d'une variété de datte, de faible valeur marchande, par sa transformation et son incorporation dans un produit laitier », Thèse de doctorat en Sciences biologiques, université A. MIRA-BEJAIA 2018-2019.
231. Hamad, I., AbdElgawad, H., Al Jaouni, S., Zinta, G., Asard, H., Hassan, S., Hegab, M., Hagagy, N. and Selim, S., « Metabolic analysis of various date palm fruit

(*Phoenix dactylifera* L.) cultivars from Saudi Arabia to assess their nutritional quality », *Molecules*, V.20, n°8, (2015), 13620-13641.

232. Morales de la Peña, M., Salvia Trujillo, L., Rojas Graü, M.A., Martín Belloso, O., “Changes on phenolic and carotenoid composition of high intensity pulsed electric field and thermally treated fruit juice soymilk beverage during refrigerated storage”, *Food Chemistry*, V.129, (2011), 982–990.

233. Jridi, M., Souissi, N., Salem, M.B., Ayadi, M., Nasri, M. and Azabou, S., « Tunisian date (*Phoenix dactylifera* L.) by-products : characterization and potential effects on sensory, textural and antioxidant properties of dairy desserts », *Food chemistry*, V.188, (2015), 8-15.

234. Trigueros, L., Sayas-Barberá, E., Pérez-Álvarez, J. and Sendra, E., « Use of date (*Phoenix dactylifera* L.) blanching water for reconstituting milk powder : Yogurt manufacture », *Food and bioproducts processing*, V.90, n°3, (2012), 506-514.

235. Brissonnet, F., Bouix, M., Loiseau, G., Russel, A. and Leveau, J.Y., « Le stress bactérien et ses conséquences en génie de l'hygiène », *Industries Agro-Alimentaires*, V.111, (1994), 106– 114.

94. Dubost, M., « La nutrition », 3<sup>é</sup> édition, Montréal, Édition : Chenelière Éducation, (2006).

95. Jeantet, R., Croguennec, T., Mahaut, M., Schuk, P. and Brulé, G., « Les produits laitiers ». Ed : Lavoisier, Paris, (2008), 57p.

96. Pougheon, S. et Goursaud, J., « Le lait et ses constituants caractéristiques physicochimiques », In : DEBRY, G. Lait, nutrition et santé, Tec & Doc, Paris, (2001), 342 p.

97. Alais, C., « Sciences du lait, Principes de techniques laitières », 3<sup>é</sup>me édition, édition Publicité France, (1984).

98. Amiot, J., Fournier, S., Lebeuf, Y., Paquin, P., Simpson, R., Turgeon, H., « Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique

et techniques d'analyse du lait », In VIGNOLA C.L. Science et technologie du lait - Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, (2002), 600 p.

99. Thapon, J.L., « Science et technologie du lait », Agrocampus-Rennes, France: (2005), 77 p.

100. Gaucheron, F., « The minerals of milk ». *Reproduction Nutrition and Development*, V.45, n°4, (2005), 473-483.

101. Lubrano-Lavadera, A-S., Braesco, V., and Chanson-Rollé, B., « Desserts Lactés frais », *Cahiers De nutrition et de diététique*, V.50, n°2, (2015), 109-116.

102. Gillis, J.C., Ayerbe, A., « Le fromage », 4<sup>e</sup> édition, Lavoisier, Paris, (2018).

103. Mahaut, M., Jeantet, R., Brulé, J. and Schuck, P., « Les produits industriels laitiers », Paris : Tec et Doc Lavoisier, (2000).

104. St- Gelais, D. and Tirard-Collet, P., « Fromage », In : Vignola Carol L.: Science et technologie du lait, Transformation du lait, Presse internationale Polytechnique, Canada, (2002).

105. Benyahia-Krid, F.A., Aissaoui-Zitoun, O., Boughellout, H., Adoui, F. and Harkati, A., « Fresh Cheese Peulh Type: Characterization and Sensory Aspects », *J Adv Dairy Res*, V.4, n°4, (2016), 163.

106. Cesbron-Lavaua, E., Lubrano-Lavadera, A.S., Braesco, V. and Deschamps, E., « Fromages blancs, petits-suisses et laits fermentés riches en protéines », *Cahiers de nutrition et de diététique*, V.52, n° 1, (March 2017), 33-40.

107. Romain, J., Thomas, C., Michel, M., Pierre, S. and Gérard, B., « Les produits laitiers », Paris, Tec et Doc Lavoisier, (2008).

108. Matignon, A., Barey, P., Mauduit, S., Sieffermann, J.M and Michon, C., « Etude des interactions amidon / carraghénane / protéines de lait pour une formulation de crèmes desserts : vers l'ingénierie inverse », *Innovations Agronomiques*, V. 36 (2014), 111-124.

109. Laignelet, B., « Appréciation de la qualité technologique du riz », In, Godon. B. and Loisel. W., « Guide pratique d'analyse dans les industries des céréales », Lavoisier, Tec et Doc, Paris : (1997), 819 p.
110. Centre de recherche pour l'étude et l'observation des conditions de vie (CREDOC), Enquête CCAF (2010), La place des produits laitiers dans l'univers alimentaire des Français, Rapport spécifique réalisé pour le CNIEL, (2012).
111. De Wijk, R. A., Rasing, F. and Wilkinson, C. L., « Texture of semi-solid: sensory flavor-texture interactions for custard desserts », *Journal of Texture Studies*, V.34, n°2, (2003), 131–146.
112. Weenen, H., Van Gemert, J. L., Van Doorn, J. M., Dijksterhuis, G. B. and De Wijk, R. A., « Texture and mouthfeel of semisolid foods: commercial mayonnaises, dressings, custard desserts and warm sauces », *Journal of Texture Studies*, V.34, n°2, (2003), 159–179.
113. Arancibia, C., Castro, C., Jublot, L., Costell, E. and Bayarri, S., « Colour, rheology, flavour release and sensory perception of dairy desserts ». Influence of thickener and fat content », *LWT - Food Science and Technology*, V.62, n°1, (2015), 408-416.
114. Rodd, A. B., Davis, C. R., Dunstan, D. E., Forrest, B. A., and Boger, D. V., « Rheological characterisation of weak gel carrageenan stabilised milks », *Food Hydrocolloids*, V.14, n°5, (2000), 445–454.
115. Wischmann, B., Norsker, M. and Adler-Nissen, J., « Food product models developed to evaluate starch as a food ingredient », *Nahrung/Food*, V.46, n°3, (May 2002), 167-173.
116. Depypere, F., Verbeke, D., Thas, O. and Dewettinck, K., « Mixture design approach on the dynamic rheological and uniaxial compression behaviour of milk desserts », *Food Hydrocolloids*, V.17, (2003), 311–320.
117. Nunes, M.C., Batista, P., Raymundo, A., Alves, M.M. and Sousa, I., « Vegetable proteins and milk puddings », *Food Colloids biopolymers and Materials Special Issue 31*, (2003), 21-29.

118. Barnwal, P., Kavimani, C. and Dodeja, A.K., « Rheological and textural properties of rice pudding », conference: 3rd International Conference on “Impacting Food Value Chain and Leveraging Innovation”, At National Institute of Food Technology Entrepreneurship & Management (NIFTEM), Kundli, Sonapat, Haryana, India.
236. Norme, N. F. V04-287, Lait: Détermination de la teneur en matière grasse, Méthode acido-butyrométrique, Recueil de normes françaises, Contrôle de la qualité de produits alimentaires: Lait et produits laitiers, Analyses physicochimiques, (1990).
237. Daniel, C. and Roudot, A.C., « La terminologie de la texture des aliments », Meta Journal des traducteurs Translators' Journal, V.52, n°2, (juin 2007), 173-389.
238. Amerinasab, A., Labbafi, M., Mousavi, M. and Khodaiyan, F., « Development of a novel yoghurt based on date liquid sugar: physicochemical and sensory characterization », J Food Sci Technol, (2015), 52,10.
239. Levent, H. and Bilgiçli, N., “Utilization of lupin (*Lupinus albus* L.) Flour and bran with xylanase enzyme in cookie production”, Legume Res, V.37, n°3, (2013), 264-271.
240. Houria, M., « Effet de la température sur la production laitière dans la région de Sétif », Université Ferhat Abbas de Sétif 1, (2011).
241. Mansour, L.M., « Etude de l'influence des pratiques d'élevage sur la qualité du lait : effet de l'alimentation », (2018).
242. Yabrir, B., Zobiri, A., Laoun, A., Titouche, Y., Chenouf, N., Ranebi, D., Isselnane, S. and Mati, A., « Comportement bactériologique de lait cru ovin produit en milieu steppique algérien et réfrigéré à 4 C° ou à 7 C° », Livestock Research for Rural Development, V.30, n°2, (2018).
243. Delahunty, C.M. and Drake, M.A., « Caractère sensoriel du fromage et son évaluation », Aspects généraux, (2004), 455–487.

244. Adejuyitan J. A., Olanipekun B. F. and Moyinwin O. A., « Production and evaluation of cheese-like product from the blend of soy milk and coconut milk », Archives of Applied Science Research, V.6, n°4, (2014), 263-266.
245. Em El Zubeir, I. and Akh, E., « Physicochemical, Sensory Characteristics And Cost Of Production Of Soy Milk Cheese, Sudanese White Cheese And Their Mixture During Storage », J Protein Res Bioinform, V.2, (2020).
246. Ahmad, N., Li, L., Yang, X.Q., Ning, Z.X. and Randhawa, A. M., « Soy Cheese Flavour Improvement, Food Technol », Biotechnol, V.46, n°3, (2008),252–261.
247. Collins, Y.F, Mc Sweeney, P.L. et Wilkinson, M.G., « Preuve d'une relation entre l'autolyse des bactéries de démarrage et la lipolyse dans le fromage cheddar pendant l'affinage », Journal of Dairy Research, V.70, n° 1, (2003), 105–113.
248. Deak, N. A. and Johnson, L.A., « Effects of Extraction Temperature and Preservation Method on Functionality of Soy Protein », V.84 , n°3, (2007), 259-268.
249. Giri, S.K., Tripathi, M.K. and Kotwaliwale, N., « Effect of composition and storage time on some physico-chemical and rheological properties of probiotic soy-cheese spread », Journal of Food Science and Technology, V.55, n°5, (2018), 1667–1674.
250. Oboh, G. and Omotosho, O.E., “Effect of types of coagulant on the nutritive value and in vitro of coagulant on the nutritive value and in vitro multi-enzyme protein digestibility of tofu”, J Food Technology, V.3, (2005),182-187.
251. Guéguen, J., Walrand, S. and Bourgeois, O., « Les protéines végétales: contexte et potentiels en alimentation humaine », Cahiers de Nutrition et de Diététique, V.51, n°4, (2016), 177–185.
252. Awad, R.A., Salama, W.M. and Farahat, A.M., « Effect of lupine as cheese base substitution on technological and nutritional properties of processed cheese analogue », Acta Sci.Pol. Technol. Aliment, V.13, n°1, (2014), 55-64.
253. Vignola, C., « Science et technologie du lait: la fraction de technologie laitière de la transformation du lait », Ed école polytechnique de Montréal, (2002),154-175p.

254. Nazim, M. U., Mitra, K., Rahman, M. M., Abdullah, A. T. M. and Parveen, S., « Evaluation of the nutritional quality and microbiological analysis of newly developed soya cheese », *International Food Research Journal*, V.20, n°6, (2013), 3373-3380.
255. Arlene, A., Kristijarti, A.P. and Ardelia, I., « The Effects of the Types of Milk (Cow, Goat, Soya) and Enzymes (Rennet, Papain, Bromelain) Toward Cheddar Cheese Production », *Makara J. Technol*, V.19, n°1, (2015), 31-37
256. JORA, n°35 (1998), Arrêté interministériel du 24 janvier 1998 modifiant et complétant l'arrêté interministériel du 24 août 1997 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires, *Journal Officiel de la République Algérienne*.
257. JORA, N° 69, 1993, Arrêté interministériel de 27 octobre 1993, Relatif aux spécifications microbiologiques et physico-chimiques de certaines denrées alimentaires.
258. Al Eid, S.M., "Chromatographic separation of fructose from date syrup", *International journal of food sciences and nutrition*, V.57, n°(1-2), (2006), 83-96.
259. Mimouni, Y., « Développement de produits diététiques hypoglycémisants à base de dattes molles variété « Ghars », la plus répandue dans la cuvette de Ouargla », Thèse de Doctorat, en sciences biologiques, université de Ouargla, (2015).
260. Al-Gboori, B. and Krepl, V., « Importance of date palms as a source of nutrition », *Journal. Agricultura. Tropicaet. Subtropica*, V.43, n°4, (2010), 341 – 347.
261. Sawaya, W., Khatchadourian, H., Khalil, J., Safi, W. and Al-Shalhat, A., "Growth and compositional changes during the various developmental stages of some Saudi Arabian date cultivars", *Journal of Food Science*, V.47, n°5, (1982), 1489-1492.
262. Acourene, S., Belguedj, M., Tama, M. and Taleb, B., "Characterization, evaluation and identification of date quality of date palm cultivars cultivated in the region of Biskra", *Rev. Alger. Res. Agron*, V.8, (2001), 19-39.

263. Ganbi, A. and Hassan, H., "Production of nutritious high quality date (*Phoenix dactylifera*) fruits syrup (Dibs) by using some novel technological approaches", Journal of Applied Sciences Research, V.8, n°3, (2012), 1524-1538.
264. Al-Hooti, S.N., Sidhu, J.S., Al-Saqer, J.M. and Al-Othman, A., "Chemical composition and quality of date syrup as affected by pectinase/cellulase enzyme treatment", Food chemistry, V.79, n°2, (2002), 215-220.
265. Noui, Y., « Fabrication et caractérisation des produits alimentaires élaborés à base de dattes (*Phoenix dactylifera* L.) », Thèse Doctorat, Université Batna. 2, (2017).
266. Ali haimoud, S., Allem, R. and Merouane, A. « Antioxidant and anti-inflammatory properties of widely consumed date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fruit varieties in Algerian oasis ». Journal of food biochemistry, V.40, n°4, (2016), 463-471.
267. Singh, V., Guizani, N., Essa, M. M., Hakkim, F. L. and Rahman, M. S., « Comparative analysis of total phenolics, flavonoid content and antioxidant profile of different date varieties (*Phoenix dactylifera* L.) from Sultanate of Oman », International Food Research Journal, V.19, n°3, (2012), 1063- 1070.
268. Lekbir, A., Lombarkia, O.A., Haddad, S., Mizane, B., Noui, Y., Abdeddaim, M., Baississe, S. and Ferhat, R., « Phenolic contents and antioxidant activity of six algerian date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars », Annals. Food Science and Technology, V.15, n°1, (2015), 201-206.
269. Tauqeer, M. H., Imran, Q.M., Ahmad, A.M., Khan, B. and Habib, Y., « Ajwa Date (*Phoenix dactylifera*): Une plante émergente dans la recherche pharmacologique », Journal des sciences pharmaceutiques du Pakistan, V. 27, n° 3, (Mai 2014), 607-616.
270. Sattar, D., Ali, TM et Hasnain, A., « Effect of nongerminated and germinated legumes on antioxidant, functional, and sensory characteristics of rice puddings », Cereal Chemistry Journal, V.94, n°3, (2017), 417– 423.

271. Desale, R.J., Shelke, M. and Mukbekar, A., « Studies on physiochemical properties of Rice Kheer », *Recent Trends in Plant Sciences and Agricultural Researches*, V.23, n°3, (2018), 315-317.
272. Phantuwong, N., « Functional and Biological Properties of Sang Yod Rice Bran Hydrolysate Prepared by enzymatic Hydrolysis and Its Application in Rice Pudding Product », Thèse de doctorat, Prince of Songkla University, (2017).
273. Papageorgiou, D., Melas, D., Abraham, A. et Koutsoumanis, K., « Growth and survival of *Aeromonas hydrophila* in rice pudding (milk rice) during its storage at 4°C and 12°C », *Food Microbiology*, V.20, n°4, (2003), 385–390.
274. Arora, S. K, Patel, A. A., « Effect of fiber blends, total solids, heat treatment, whey protein concentrate and stage of sugar incorporation on dietary fiber-fortified Kheer », *J Food Sci Technol*, V.54, n°11, (2017),3512–3520.
275. Singhanian, P. R. and Ray, K.S., "Relative glycemic and insulinemic impact of rice and rice products", *Nutrition & Food Science*, V. 42, n°4, (2012), 231-240.
276. Puri, S., Dhillon, B. and Banur, S., « To Formulate and Analyze Brown Rice Puddings for its Physico-Chemical and Sensory Attributes », *Innovations in Food Science & Technolgy*, 10-12 May (2017).
277. Barela, R. and Shelke,R.R., "Studies on Acceptability, Chemical Composition and Cost Structure of Kheer Prepared from Cow Milk Blended with Coconut Milk", *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, V.6, n°11, (2017), 2527-2532.
278. Kokani, R. C., Gade, S. Y. and Balsaraf, S. S., "Studies on Formulation and Quality Evaluation of Instant Brown Rice Kheer Mix", *IJRST*, V.6, n°5, (2019), 1-5.
279. Arslan, S., Bayrakci, S., "Physicochemical, functional, and sensory properties of yogurts containing persimmon", *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, V.40, n°1, (2016), 68-74.
280. Amal, A., Eman, A., Nahla, S.Z., "Fruit flavored yoghurt: chemical, functional and rheological properties", *International Journal of Environmental & Agriculture Research (IJOEAR)*, V.2, n°5, (2016), 57-66.

281. Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C. and Jiménez, L., « Polyphenols: food sources and bioavailability », *Am J Clin Nutr*, V.79, n°5, (2004), 727–747.
282. Halah, M., Mehanna, N.S., “Use of natural plant antioxidant and probiotic in the production of novel yogurt”, *Journal of Evolutionary Biology Research*, V.3, n°2, (2011), 12-18.
283. Helal, A., Tagliazucchi, D., “Impact of in-vitro gastro-pancreatic digestion on polyphenols and cinnamaldehyde bioaccessibility and antioxidant activity in stirred cinnamon-fortified yogurt”, *LWT-Food Science and Technology*, V.89, (2018), 164-170.
284. Benkerrou- Kermiche, F., « Séchage d’un fruit très abondant en Algérie en vue de sa conservation et de son application dans l’industrie laitière, Etude de cas: Cucumis melo”, Thèse de doctorat en science biologique, Université A.MIRA-BEJAIA, (2018-2019).
285. Oliveira, A., Alexandre, E.M., Coelho, M., Lopes, C., Almeida, D.P. and Pintado, M., “Incorporation of strawberries preparation in yoghurt: Impact on phytochemicals and milk proteins”, *Food chemistry*, V.171, (2015), 370-378.
286. Nguyen, L. and Hwang, E.-S., “Quality characteristics and antioxidant activity of yogurt supplemented with aronia (*aronia melanocarpa*) juice”, *Preventive nutrition and food science*, V.21, n°4, (2016), 330-337.
387. Naigebauer-Lejko, D. and Sady, M., “Estimation of the antioxidant activity of the commercially available fermented milks”, *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, V.14, n°4, (2015), 387-396.
388. Felfoul, I., Borchani, M., Samet-Bali, O., Attia, H. and Ayadi, M., “Effect of ginger (*Zingiber officinalis*) addition on fermented bovine milk: rheological properties, sensory attributes and antioxidant potential”, *Journal of New Sciences*, V.44, n°3, (2017), 2400-2409.

289. Sah, B., Vasiljevic, T., McKechnie, S., Donkor, O., "Effect of refrigerated storage on probiotic viability and the production and stability of antimutagenic and antioxidant peptides in yogurt supplemented with pineapple peel", *Journal of dairy science*, V.98, n°9, (2015), 5905-5916.
290. Lim, H.S. and Narsimhan, G., « Pasting and rheological behavior of soy protein-based pudding », *LWT – Food Science and Technology*, V.39, n°4, (2006), 344–350.
291. Couarraze, G. and Grossiord, J.L., « Initiation à la rhéologie », (3e édition), Éditions Tec et Doc, collection Sciences et Techniques, (2000).
292. Barnwal, P., Kavimani, C. and Dodeja, A.k., « Rheological and textural properties of rice pudding », conference: 3rd International Conference on "Impacting Food Value Chain and Leveraging Innovation", At National Institute of Food Technology Entrepreneurship & Management (NIFTEM), Kundli, Sonipat, Haryana, India.
293. Alamprese, C. and Mariotti, M., « Effects of different milk substitutes on pasting rheological and textural properties of puddings », *LWT-Food Science and Technology*, V.44,n°10, (2011), 2019-2025.
294. Norziah, M.H., Kong, S.S., Abd Karim, A. and Seow, C.C., » Pectin-Sucrose-C2+ interactions : effect on rheological properties », *Food Hydrocolloids*, V.15, (2001), 491-498.
295. Thaiudom, S., and Pracham, S., « The influence of rice protein content and mixed stabilizers on textural and rheological properties of jasmine rice pudding », *Food Hydrocolloids*, V.76, (2018), 204–215.
296. Noisuwan, A., Hemar, Y., Wilkinson, B. and Bronlund, J., « Dynamic rheological and microstructural properties of normal and waxy rice starch gels containing milk protein ingredients », *Starch-Starke*, V.61, n° (3-4), (2009), 214-227.
297. Saporta, G., « Probabilités, analyse des données et statistique », Editions Technip, (2006).
298. Goupy,J., « Plans d'expériences pour surface de réponse », DUNOD, 1999.

299. Goupy, J., "Pratiquer les Plans d'Expériences", Dunod, Paris, (2005), 560 p.
300. SADO, G. et SADO, M. C., « Les plans d'expériences de l'expérimentation à l'assurance », AFNOR, (1991).
301. Rabier, F., « Modélisation par la méthode des plans d'expériences du comportement dynamique d'un module IGBT utilisé en traction ferroviaire », Thèse de doctorat de l'Institut National Polytechnique de Toulouse, (2007).
302. Chauvel, A.M., « Résoudre un problème-Méthodes et outils pour une meilleur qualité », DUNOD, (1992).
303. Schimmerling, P., Sisson, J.C. and Zaidi, A., « Pratique des plans d'expériences », Technique et documentation, (1998).
304. Goupy, J., « Plans d'expériences : les mélanges », DUNOD, (1999).
305. MODDE, Version 6, Umetric, Sweden, (15 Mai 2001).
306. Tenenhaus, M., "La régression PLS. Théorie et pratique », Éditions Technip, Paris, (1998), 254p.
307. Arrêté du Aouel Rabie El Aouel 1439 correspondant au 20 novembre 2017 rendant obligatoire la méthode de préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique des laits et des produits laitiers.
308. Arrêté du 26 Rajab 1425 correspondant au 11 septembre 2004 rendant obligatoire une méthode de contrôle microbiologique pour le lait pasteurisé.
309. ISO 5541/1, Norme internationale ISO 5541/1., Lait et produits laitiers- dénombrement des coliformes – partie1: Technique par comptage des colonies obtenues à 30°C, (1986).
310. ISO 4832, Norme internationale ISO 4832., Microbiologie des aliments- Méthode horizontale pour le dénombrement des coliformes- Méthode par comptage des colonies, (2006).

311. ISO 6888-1., Norme internationale ISO 6888-1., Méthode horizontale pour le dénombrement des Staphylocoques à Coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autres espèces), (1999).
312. ISO 6579., Norme internationale ISO 6579., Méthode horizontale pour la recherche des Salmonelles, (2002).
313. Algérie, Ministère du commerce, Arrêté rendant obligatoire une méthode de recherche des salmonelles dans le lait et les produits laitiers, (Janvier, 2005).
314. ISO 7954., Norme internationale ISO 7954, Microbiologie- directives générales pour le dénombrement des levures et moisissures- Technique par comptage des colonies à 25°C, (Aout, 1988).
315. Arrêté du 23 février 2017 rendant obligatoire la méthode de dénombrement des unités formant colonie de levures et/ou de moisissures dans le lait et les produits laitiers par la technique de comptage des colonies à 25 °C. (Jo n°36 du 14 Juin 2017).