



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Ibn Khaldoun -Tiaret-  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie

# Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique  
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie  
Filière : Sciences Biologiques  
Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté par : BAGHDAD Wafaa  
BELKHADEM Khaoula Ikram  
MEDJADI Iman

*Thème*

Formulation d'une boisson synbiotique à base d'un sous-produit  
laitier enrichi de produit de terroir

Soutenu publiquement le : 02/07/2024

Devant le Jury :		Grade
Président	M. ACEM Kamel	Prof
Encadrant	M. MOUSSAOUI Badreddine	MCA
Co-encadrant	M. HANAFI Tahar	Doctorant
Co-encadrant	M. REGHIOUI Bachir	Invité
Examineur	M. BENBEGUARA Mourad	MCA

Année universitaire 2023-2024

**Remerciements**

*Avant tout, nous remercions **Allah** tout puissant qui nous a donné le courage, la volonté et la force pour accomplir ce modeste travail.*

*Nous voudrions tout d'abord adresser toute notre gratitude à notre promoteur, M. Moussaoui. B pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils et ses encouragements durant l'évolution de ce travail.*

*Une très grande reconnaissance est dédiée à nos co-encadrants, M. Hanafi. T et M. Reghioui. B pour leurs efforts continus, leurs conseils et accompagnement durant notre travail.*

*Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche ; M. Acem. K pour l'honneur qu'il nous a fait en présidant le jury de notre soutenance, et M. Benbeguara. M de bien avoir participé à ce jury et examiner ce modeste travail.*

*Nous tenons à remercier l'ensemble du personnel du laboratoire de technologie alimentaire M. Houari et M. Hmida pour leurs patience, leurs conseils pleins de sens et pour le suivi et l'intérêt qu'ils ont marqué à notre travail.*

*Merci également pour nos familles et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.*

Dédicace

الحمد لله حبا وشكرا وامتنانا على البدء والختام وآخر دعوانا أن الحمد لله رب العالمين

بعد تعب ومشقة في سبيل الحلم والعلم حملت في طياتها أمنيات الليالي، أصبح عنائي اليوم للعين قرّة، ها أنا اليوم أقف على عتبة تخرجني اقطف ثمار تعبي وارفع قبعتي بكل فخر؛ فاللهم لك الحمد قبل أن ترضى ولك الحمد إذا رضيت ولك الحمد بعد الرضا، لأنك وفقنتني لإتمام هذا النجاح وتحقيق حلمي

وبكل حب اهدي ثمرة نجاحي وتخرجني

إلى الذي زين اسمي بأجمل الألقاب، من دعمني بلا حدود وأعطاني بلا مقابل، إلى من علمني أن الدنيا كفاح وسلاحها العلم والمعرفة، داعمي الأول في مسيرتي وسندي وقوتي وملاذي بعد الله، فخري واعتزازي

-والدي العربي-

إلى من جعل الله الجنة تحت أقدامها، واحتضني قلبها قبل يديها وسهلت لي الشدائد بدعائها، إلى القلب الحنون والشمعة التي كانت لي في الليالي المظلمات

سر قوتي ونجاحي، جنّتي

-والدتي عربية-

إلى من ساندوني بكل حب عند ضعفي وازاحوا عن طريقي المتاعب مهديني لي الطريق

زرعوا الثقة والإصرار بداخلي، إلى من شد الله بهم عضدي فكانوا خير معينين لي

-محمد، خالد و حبيبة، جهيدة-

إلى من بصما بإبداعهما ورويتهما الفذة على مسار هذا البحث، لطالما بارعا في قيادة الفوج إلى ما نحن عليه اليوم، متحليان بالحكمة، متميزان بحضورهما القوي ملهمان لنا

الأستاذ موساوي بدر الدين و الأستاذ حنفي الطاهر

إلى زملاء هذا العمل، أعبّر عن امتناني العميق لكل لحظة وكل يوم قضيناه معاً، رغم صعوباتها، في إنتاج هذا العمل المميز. شكراً لكم جزيل الشكر على كل جهد بذلتموه، وأسأل الله أن يجزيكم خيراً ويبارك في كل بذرة علم زرعتموها.

إلى ملائكة رزقني الله بهم لأعرف من خلالهم طعم الحياة الجميلة، تلك الملائكة التي غيرت مفاهيم الحب والصدقة والسند في حياتي

-أحلام، خديجة، مروة-

إلى معلمي الأفاضل الذين لم يبخلوا علينا بالعلم والمعرفة وكانوا قدوة ومثالا يحتذى به في الالتزام والاجتهاد، أقدم شكري وامتناني لكل كلمة حكمة وكل توجيه سديد

إلى كل من وقف بجانبني في رحلتي التعليمية، إلى كل من قدم لي نصيحة أو تشجيعاً، إلى كل من آمن بقدراتي ودعمني حتى وصلت إلى هذا اليوم، إلى جميع من أمدوني بالقوة والدعم

أهديكم ثمرة نجاحي واعتزازي بما حققت. أنتم جزء لا يتجزأ من هذا الإنجاز

Dédicace

(وَآخِرُ دَعْوَاهُمْ أَنِ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ)

ما سلكتنا البدايات إلا بتيسيره وما بلغنا النهايات إلا بتوفيقه

الحمد لله الذي ما تمَّ جُهد ولا خُتم سعي إلا بفضلِهِ، الحمد لله على البلوغ، ثم الحمد لله على التمام

اللهم لك الحمد قبل أن ترضى، ولك الحمد إذا رضيت، ولك الحمد بعد الرضا

أخيراً، ها أنا هنا أجنبي حصاد سنوات طوال، سنوات أعطت لنا بقدر ما أخذت منا. علمتنا أن من قال "أنا لها" نالها، وفعلاً أنا لها، وإن أبت رغباً عنها أتيت بها، نلتها، وعانقت اليوم مجداً عظيماً بعدما كانت دروباً قاسية ولكنني وصلت

بكل ما أتيت به من مشاعر الحب والامتنان، أهدي تخرجي إلى :

من جعل الله طاعتها من طاعته، إلى العطاء الدائم، إلى السند الثابت، نور عمتي، من كانا جزءاً من مسيرتي، من تحملاً تدمري ومسحا دموعي، من أمانا بي ورأيا انني أستحق، من شاطرني لحظات ضعفي وفشلي، حصانتي في الدنيا وجنتي في الآخرة، خلاني وقره عيني، رفقاء الخطوة الأولى والخطوة الأخيرة، إلى من كانوا خلال السنين العجاف سحاباً.

امي الحبيبة & أبي الغالي

إلى من شد الله بهم عضدي، من ساندني بكل حب عند ضعفي، ملجأني وقوتي، رفاقي في السراء والضراء، أحباني

إخوتي

إلى أصحاب الفضل العظيم، قاندي الرحلة، سراج عتمة المشوار، من أشرفوا على هذا النجاح، جزاكم الله خير الجزاء

الأستاذ موساوي بدر الدين & الأستاذ حنفي الطاهر

إلى مؤنستي الدرب، شريكتي السعي الجميل، من قاسمني مشقة هذا المشوار الأكاديمي، من كاتفني ونحن نشق الطريق نحو النجاح، رفقاء الروح

بغداد وفاء & مجادي إيمان

إلى الذين حملوا أقدس رسالة في الحياة إلى الذين مهدوا لنا طريق العلم والمعرفة اساتذتنا الافاضل.

إلى رئيس الاختصاص الأستاذ حسين، بفضل إرشاداتك الحكيمة وتوجيهاتك القيمة، استطعتم تقديم الدعم اللازم وتوجيهنا نحو التميز والإبداع. جزيل الشكر لكم على كل جهودكم المبذولة في خدمة العلم والتعليم

إلى السند المعنوي، زوجة أخي

إلى أغلى من عرفتني بهم المحاضرات "انصاف\_ شريفة\_ فدوى\_ خالدية\_ كريمة\_ عمارية\_ وفاء "

مرة أخرى وليس بأخيرة الحمد لله على التمام ومسك الختام

خولة

Dédicace

من قال انا لها " نالها " وانا لها وان ابنت رغما عنها اتيت بها  
لم تكن الرحلة قصيرة ولا ينبغي لها ان تكون لم يكن الحلم قريبا، لا طريق كان محفوفًا بالتسهيلات لكنني فعلتها فالحمد  
الله على لذة الإنجاز والحمد لله الذي يسر البدايات وبلغنا النهايات  
وبكل حب اهدي ثمرة نجاحي وتخرجي:  
الى من احمل اسمه بكل فخر الذي ساندني وعلمني ان الحياة صراع وسلاحها العلم، الذي علمني الصبر والاستمرار رغم  
كل الصعاب، الذي لطالما حفتني دعواته ابي الغالي "عبادي"  
الى من جعل الله الجنة تحت اقدامها، واحتضنني قلبها قبل يدها وسهلت لي الشدائد بدعائها، الى القلب الحنون والشمعة  
التي تضيء عتمة الليالي المظلمة التي ساندتني طوال مسيرتي وهونت على الطريق ابي الغالية "امينة"  
الى من ساندوني بكل حب عند ضعفي وازاحوا عن طريقي المتاعب ممهدين لي الطريق، زارعين الثقة والإصرار بداخلي  
سندي والكتف الذي استند عليه دائما الى اخوتي " اكرام، يوسف هديل وعائشة"  
الى منارة العلم والعلماء واهل الفضل على لما منحوه لي من وقت وجهد وتوجيه وارشاد وتشجيع أساتذتي الافاضل  
"الأستاذ موساوي بدر الدين والأستاذ حنافي طاهر "  
الى الرجل العظيم الذي شجعني للوصول الى طموحاتي رفيق دربي وقرّة عيني خطيبي الغالي "ناصر"  
الى أصدقاء السنين وأصحاب الشدائد الى من مدوا لي يد العون عند حاجتي صديقاتي الغاليات  
" زينب، خولة وايمان "

وفاء

## Résumé

La versatilité des bienfaits des probiotique/prébiotique incite à leur intégration synergique en un seul nutraceutique par la création de nouveaux aliments novateurs. Ce travail répond ainsi par formulation et caractérisation d'une boisson synbiotique jus de potiron : lactosérum : *Bacillus subtilis*. Les matières premières étaient conformes aux normes. L'analyse sensorielle a permis d'adopter la combinaison lactosérum : jus (C 65/35, v/v) pour ses qualités dégustatives, odorantes et apparentes favorables. En outre, cette boisson était exempte de toute contamination fongique ou bactérienne, avec un pH et une acidité de ( $5.99 \pm 0.08$ ,  $14.86 \pm 0.63\%$ ), une densité et TSS de ( $1.055 \pm 0.00$ ,  $11.99 \pm 0.01^\circ\text{Brix}$ ). La teneur des polyphénols, flavonoïdes et caroténoïdes a touché successivement ( $0.63 \pm 0.006$  mgEAG/ml,  $0.44 \pm 0.006$  mgEQ/ml,  $2.15 \pm 0.007$  mg/ml), ce qui a mené vers une activité anti-radicalaire de 55.49%. La conservation à 4°C pendant 4 semaines n'a abaissé concrètement que les métabolites secondaires. Cependant, le pH, la densité, les TSS restaient presque stables ou peu modifiés. Or, l'activité antioxydante a connu une élévation vers 88.02% au 7<sup>ème</sup> jour de conservation, tout en gardant un effet moins fort que la vitamine C durant le stockage. Similairement, le potentiel probiotique a été bien préservé durant toute cette période au-delà de la dose minimale à effet ( $5.02 \times 10^6$  UFC/ml). La boisson formulée a fait preuve d'une bonne qualité nutritive et fonctionnelle, conformément aux normes courantes.

**Mots clés :** lactosérum, potiron, synbiotique, *B. subtilis*, boisson.

## Abstract

The versatility of probiotic/prebiotic benefits encourages their synergistic integration into a single nutraceutical through the creation of innovative new foods. Thus, this work responds by formulating and characterizing a synbiotic pumpkin juice: whey: *Bacillus subtilis* beverage. Raw materials complied with the standards. The sensorial analysis led to the adoption of the ratio whey: juice (C 65/35, v/v) its favorable taste, smell, and appearance qualities. Furthermore, this drink was free from any fungal or bacterial contamination, with a pH and acidity of (5.99±0.08, 14.86±0.63%), and a density and TSS of (1.055±0.00, 11.99±0.01°Brix). The polyphenols, flavonoids and carotenoids content reached successively (0.63±0.006 mgEAG/ml, 0.44±0.006 mgEQ/ml, 2.15±0.007 mg/ml), leading to an anti-radical activity of 55.49%. Storage at 4°C for 4 weeks reduced only the secondary metabolites. However, the pH, density and TSS remained almost stable or slightly modified. Moreover, the antioxidant activity increased to 88.02% on the 7<sup>th</sup> day of storage, maintaining a weaker effect than vitamin C during storage. Similarly, the probiotic potential was well-preserved throughout this period, remaining above the minimum effective dose (5.02 x 10<sup>6</sup> CFU/ml). The formulated beverage demonstrated good nutritional and functional quality in accordance with customary standards.

**Keywords:** whey, pumpkin, synbiotic, *B. subtilis*, beverage.

## المخلص

تتمتع المعززات الحيوية وغذاؤها (البروبيوتيك/البريبايوتك) بفوائد متنوعة حفزت دمجها بشكل تآزري في منتج غذائي واحد مما فتح الباب لظهور أطعمة جديدة مبتكرة. استجابة لهذا التطور، فإن هذه الدراسة تتناول صياغة وتوصيف مشروب متكامل مصنوع من عصير اليقطين، مصل اللبن والعصوية الرقيقة *Bacillus subtilis*. أظهرت التحاليل مطابقة مواد التحضير الأولية للمعايير، كما أتاح التحليل الحسي إعتقاد مزيج مصل اللبن: العصير (ج 65/35) لجودة مذاقه ورائحته ومظهره. علاوة على ذلك، كان هذا المشروب خالياً من أي تلوث فطري أو بكتيري، مع رقم هيدروجيني وحموضة بقيمة (0.08±5.99، 0.63±14.86 %)، بالإضافة إلى أن الكثافة ونسبة المواد الصلبة الذائبة كانتا (0.00±1.055، 0.01±11.99 درجة برنيس). بلغت محتويات عديدات الفينول، الفلافونويدات والكاروتينات على التوالي (0.006±0.63 ملغ مكافئ حمض الجاليك/مل، 0.006±0.44 ملغ مكافئ الكيرستين/مل، 0.007±2.15 ملغ /مل)، مما أدى إلى نشاط مضاد للجذور الحرة مقدر بـ 55.49%. بالمقابل، فإن التخزين لـ 4 أسابيع عند 4°م أدى إلى انخفاض ملموس في المستقلبات الثانوية فقط، بينما ظل كل من الرقم الهيدروجيني، الكثافة ومعدل المواد الصلبة الذائبة مستقرًا تقريبًا أو لم يتغير الا قليلاً. أما فيما يخص النشاط المضاد للأكسدة، فقط شهد ارتفاعاً خلال سبعة أيام من التخزين إلى 88.02%، مع الحفاظ على تأثير أقل من فيتامين ج لنهاية فترة الحفظ الكلية. وبالمثل، تم الحفاظ على القدرة المعززة الحيوية بشكل جيد طوال هذه الفترة متجاوزة الحد الأدنى للجرعة الفعالة ( 5.02 x 10<sup>6</sup> وحدة تشكيل مستعمرات / مل). أثبت المشروب المصمم جودته الغذائية والوظيفية الجيدة وفقاً للمعايير المتعارف عليها.

**الكلمات الرئيسية:** مصل اللبن، اليقطين، تآزري، العصوية الرقيقة، مشروب.



*Liste des abréviations*

<b>%</b>	Pourcentage
<b>°C</b>	Degré Celsius
<b>°D</b>	Degré Dornic
<b>T</b>	Température
<b>µg</b>	Microgramme
<b>µl</b>	Microlitre
<b>AFNOR</b>	Association Française de Normalisation
<b>AlCl<sub>3</sub></b>	Chlorure d'aluminium
<b>AOAC</b>	Association of Official Analytical Chemists
<b>CF</b>	Coliformes fécaux
<b>CT</b>	Coliformes totaux
<b>DPPH</b>	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil
<b>DBO</b>	Demande biochimique en oxygène.
<b>DCO</b>	Demande chimique en oxygène.
<b>EST</b>	Extrait sec total
<b>FAO</b>	Food Agriculture Organisation
<b>FOS</b>	Fructo-oligosaccharides
<b>FTAM</b>	Flore Totale Aérobie Mésophile
<b>g</b>	Gramme
<b>GOS</b>	Galacto-oligosaccharides
<b>h</b>	Heure
<b>ISO</b>	Internationale Organisation of normalisation
<b>L</b>	Litre
<b>mg</b>	milligramme
<b>min</b>	Minute
<b>ml</b>	Millilitre
<b>NMDA</b>	N-méthyl-D-aspartate
<b>OMS</b>	Organisation Mondiale de la Santé
<b>PCA</b>	Plate count agar
<b>PDA</b>	dextrosée à la pomme de terre
<b>pH</b>	Potentiel Hydrogène
<b>TSA</b>	Trypticase de soy agar

<b>TSE</b>	Tryptone-Sel-Eau
<b>TSS</b>	Taux de solides solubles
<b>UFC</b>	Unité formant colonie
<b>Uv</b>	Ultraviolet
<b>Vis</b>	Visible
<b>VRBL</b>	Gélose lactosée biliée au vert brillant et au rouge de phénol

*Liste des tableaux*

**Tableau 1.** Principales espèces microbiennes utilisées comme probiotiques (**Bernier, 2010**)  
.....03

**Tableau 2.** Différence entre probiotique, prébiotique et synbiotique (**Kouadria et al., 2022**)  
.....07

**Tableau 3.** Classification classique de la *Cucurbita maxima* (**Caili et al., 2006**).....07

**Tableau 4.** Composition du lactosérum doux et du lactosérum acide (**Yadav et al., 2015**)...09

**Tableau 5.** Matériel et réactifs utilisés. ....11

**Tableau 6.** Caractéristiques physico-chimiques des matières premières. ....21

**Tableau 7.** Caractéristiques de la boisson synbiotique.....24

**Tableau 8.** Activité antioxydante maximale pendant 28 jours de stockage à 4°C .....32

**Tableau 9.** Résultats des analyses microbiologiques de la boisson synbiotique. ....34

*Liste des figures*

<b>Figure 1.</b> Schéma montrant les principaux effets des probiotiques (Maftei et al., 2024) .....	04
<b>Figure 2.</b> Illustration schématique des sources et des fonctions des prébiotiques (Kaur et al., 2021).....	06
<b>Figure 3.</b> Diagramme du protocole expérimental de l'étude. ....	13
<b>Figure 4.</b> Questionnaire d'évaluation hédonique de la boisson jus de potiron : lactosérum doux. ....	15
<b>Figure 5.</b> Les formules de boisson préparées. ....	23
<b>Figure 6.</b> Radar des propriétés organoleptiques des boissons A, B, C et D de jus de potiron : lactosérum. ....	24
<b>Figure 7.</b> Courbe de l'évolution A) du pH et B) de l'acidité titrable de la boisson synbiotique pendant 28 jours de stockage à 4°C. ....	25
<b>Figure 8.</b> Evolution de la densité de la boisson synbiotique pendant 28 jours de stockage à 4°C.....	26
<b>Figure 9.</b> Evolution des A) solides solubles totaux (°Brix) et de B) l'indice de réfraction de la boisson synbiotique pendant 28 jours de stockage à 4°C.....	27
<b>Figure 10.</b> Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour dosage des composés phénoliques. ....	28
<b>Figure 11.</b> Evolution de la concentration des polyphénols de la boisson synbiotique pendant 28 jours de stockage à 4°C. ....	28
<b>Figure 12.</b> Courbe d'étalonnage de la quercétine pour dosage des flavonoïdes. ....	29
<b>Figure 13.</b> Evolution de la concentration des flavonoïdes de la boisson synbiotique pendant 28 jours de stockage à 4°C. ....	30
<b>Figure 14.</b> Courbe d'étalonnage de la $\beta$ -carotène pour dosage des caroténoïdes.....	30
<b>Figure 15.</b> Evolution de la concentration des caroténoïdes de la boisson synbiotique pendant 28 jours de stockage à 4°C. ....	31
<b>Figure 16.</b> Séparation de la phase organique contenant les caroténoïdes de la phase aqueuse .....	31
<b>Figure 17.</b> Courbe d'étalonnage du piégeage du radical DPPH (vitamine C).....	33

<b>Figure 18.</b> Evolution de l'IC50 de la boisson synbiotique pendant 28 jours de stockage à 4°C. .....	33
<b>Figure19.</b> Dénombrement de la FAMT sur un milieu PCA. ....	35
<b>Figure 20.</b> Dénombrement des coliformes fécaux et totaux sur un milieu VRBL. ....	35
<b>Figure 21.</b> Dénombrement des levures et moisissures sur un milieu PDA. ....	36
<b>Figure 22.</b> Colonies de <i>Bacillus subtilis</i> . ....	37
<b>Figure 23.</b> Survie de <i>Bacillus subtilis</i> dans la boisson synbiotique pendant 28 jours de stockage à 4°C. ....	37

**Remerciements**

**Dédicace**

**Résumé**

**Abstract**

**المخلص**

**Liste des abréviations**

**Liste des tableaux**

**Liste des figures**

*Table des matières*

Introduction ..... 1

**PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

I.1. Les aliments fonctionnels ..... 3

I.1.1. Les probiotiques ..... 3

I.1.1.1. Impact sur la santé humaine ..... 4

I.1.2. Les prébiotiques ..... 5

I.1.2.1. Les bienfaits des prébiotiques ..... 5

I.1.3. Synbiotiques ..... 6

I.2. Potiron (*cucurbita maxima*) ..... 7

I.2.1. Valeur nutritionnelle ..... 8

I.2.2. Utilisation ..... 8

I.2.2.1. Sur le plan nutritionnel ..... 8

I.2.2.2. Sur le plan thérapeutique ..... 8

I.3. Le lactosérum ..... 8

I.3.1. Types de lactosérum ..... 9

I.3.1.1. Lactosérum doux ..... 9

I.3.1.2. Lactosérum acide ..... 9

I.3.2. Composition du lactosérum ..... 9

I.3.3. Valorisation du lactosérum ..... 10

**MATERIEL ET METHODES**

II.1. Objectifs.....	11
II.2. Matériel du laboratoire .....	11
II.3. Matière biologique.....	12
II.4. Protocole expérimental .....	12
II.4.1. Fabrication de jus de potiron .....	12
II.4.2. Optimisation de la boisson lactosérum/jus de potiron.....	14
II.4.3. Évaluation organoleptique .....	14
II.4.4. Inoculation par le probiotique.....	14
II.4.5. Analyses physicochimiques.....	16
II.4.5.1. Potentiel d'hydrogène (pH) et acidité titrable .....	16
II.4.5.2. Détermination de l'extrait sec total (EST) et de la teneur en eau.....	17
II.4.5.3. Détermination des cendres.....	17
II.4.5.4. Détermination des solides solubles totaux (°Brix) et de l'indice de réfraction .....	17
II.4.5.5. Mesure de la densité .....	18
II.4.6. Dosage des composés bioactifs .....	18
II.4.6.1. Dosage des polyphénols totaux .....	18
II.4.6.2. Dosage des flavonoïdes totaux .....	18
II.4.6.3. Dosage des caroténoïdes.....	18
II.4.7. Qualité microbiologique des boissons .....	19
II.4.7.1. La flore aérobique mésophile totale (FAMT).....	19
II.4.7.2. Levures et moisissures .....	19
II.4.7.3. Les coliformes totaux et les coliformes fécaux .....	19
II.4.8. Activité antioxydante.....	20
II.4.9. Dénombrement du probiotique <i>Bacillus subtilis</i> .....	20

## **RESULTATS ET DISCUSSION**

III.1. Caractérisation des matières premières .....	21
III.1.1. Rendement de jus .....	21
III.1.2. Analyses physico-chimiques .....	21
III.1.2.1. Le lactosérum .....	21
III.1.2.2. Jus de potiron .....	22
III.2. Caractérisation de la boisson synbiotique .....	23
III.2.1. Qualité organoleptique .....	23
III.2.2. Qualité physicochimique et nutritionnelle .....	24

III.2.2.1. pH et acidité titrable .....	25
III.2.2.2. Densité.....	26
III.2.2.3. Solides solubles totaux et indice de réfraction .....	26
III.2.2.4. Polyphénols totaux .....	27
III.2.2.5. Les flavonoïdes .....	29
III.2.2.6. Les caroténoïdes .....	30
III.2.2.7. Activité antioxydante (test DPPH) .....	32
III.2.3. Qualité microbiologique.....	34
III.2.3.1. Viabilité du probiotique <i>Bacillus subtilis</i> .....	36
Conclusion.....	38
Références bibliographiques .....	40



# *Introduction*

## *Introduction*

L'évolution industrielle du secteur alimentaire ne reste, vraisemblablement, pas sans risques néfastes pour l'environnement et la santé publique. Une raison pour laquelle les chercheurs tentent incessamment d'innover de nouveaux procédés et techniques qui visent à limiter les conséquences polluantes des sous-produits de ces industries, voire même, d'en tirer profit en les exploitant en tant que matières premières à finalité économique (**Boudjema et al., 2009**).

De par ses émissions massives de lactosérum allant de 4 à 12 kg rejetés pour chaque kilogramme de fromage produit, l'industrie laitière est l'une des plus polluantes, constituant ainsi une menace réelle sur l'environnement, et imposant par conséquent de trouver en urgence des solutions non seulement permanentes, mais aussi efficaces (**Božanić et al., 2014; Juliano et Clarke, 2013**).

Dans ce sens, l'orientation vers l'industrie des boissons pour absorber le lactosérum rejeté est l'une des nouvelles façons prometteuses de valorisation. L'incorporation du lactosérum dans des jus de fruits ou de légumes, additionnés parfois de composants bioactifs et/ou probiotiques, mène vers des nouvelles combinaisons renforçant leurs qualités diététiques et thérapeutiques ; les breuvages nutraceutiques (**Boudjema et al., 2009**).

Sur cette optique, ce travail prévoit de valoriser le lactosérum doux par son additionnement à un jus de potiron, avant de l'inoculer par une souche potentiellement probiotique; *Bacillus subtilis*.

Ce fruit de terroir avec sa chair vibrante d'orange, pas très commun sous forme de jus, se produit récemment en grandes quantités dans les régions voisines, et se consomme localement à fréquence régulière où il s'accompagne avec une richesse en  $\alpha$  et  $\beta$ -carotène, glucides, vitamines et minéraux, mais aussi avec une haute action thérapeutique incluant le renforcement du système immunitaire et de la santé digestive, et du maintien de la vision (**Giampieri et al., 2017; Shukla et al., 2013; Singh, 2012**). Cependant, l'usage du probiotique *Bacillus subtilis* à habilité fermentative impressionnante et stabilité remarquable vis-à-vis de la chaleur ou du pH gastrique bas, confère un avantage technologique et diététique par rapport à d'autres micro-organismes (**Alexopoulos et al., 2004; Caulier, 2019; Mingmongkolchai et Panbangred, 2018**).

Ce mémoire consacre une synthèse bibliographique présentant des généralités sur les aliments fonctionnels, le lactosérum et le potiron (*Cucurbita maxima*). La deuxième partie, appelée expérimentale, récapitule le matériel et les méthodes d'analyses adoptées, ainsi qu'une

illustration des résultats obtenus et de leur discussion. Le manuscrit s'achève par une conclusion incluant les perspectives à envisager.

*Chapitre I*  
*Partie bibliographique*

## I. Partie bibliographique

### I.1. Les aliments fonctionnels

Le concept d'aliment fonctionnel est né au Japon dans les années 1980. Ils sont définis comme étant des produits qui ont été modifiés ou enrichis à l'aide des substances naturelles qui ont des effets préventifs ou avantageux pour la santé (**Butnariu et Sarac, 2019; Díaz et al., 2020**).

Ces aliments jouent un rôle particulier car leur objectif n'est pas seulement d'apaiser la faim et de fournir aux gens les nutriments nécessaires, mais aussi d'améliorer les performances, le bien-être physique et mental des consommateurs et/ou réduire les risques des maladies liées à la nutrition (**Menrad, 2000**).

Ceux-ci peuvent être enrichis en probiotiques, prébiotiques, ou être des synbiotiques. La plupart de ces aliments sont encore des produits laitiers, bien que les produits non laitiers ou céréaliers commencent à se développer (**Salmerón, 2017**).

#### I.1.1. Les probiotiques

Le terme probiotique qui signifie « pour la vie » se définit comme « des micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, exercent des effets bénéfiques sur la santé de l'hôte » (**Argyri et al., 2012; Lopes et al., 2023**).

Pour être considéré comme un probiotique, un micro-organisme doit remplir plusieurs critères (**Picardo et al., 2020; Lopes et al., 2023**):

- Il ne doit pas causer de maladie chez l'hôte ;
- Il doit provenir de la même espèce ;
- Il doit pouvoir survivre au passage dans le tractus gastro-intestinal ;
- Il doit maintenir sa vivacité pendant des périodes de stockage prolongées.

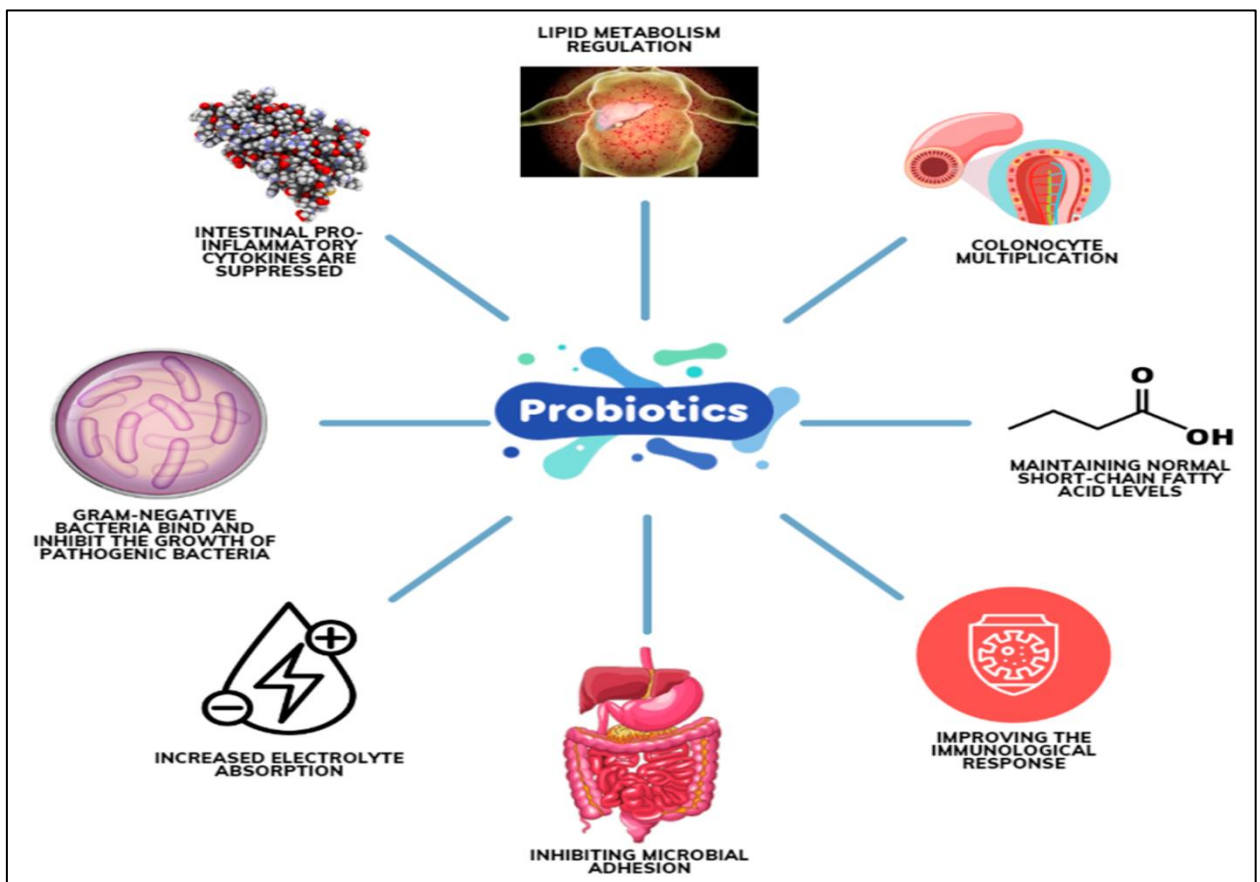
**Tableau 1.** Principales espèces microbiennes utilisées comme probiotiques (**Bernier, 2010**).

Genre	Espèce
<i>Lactobacillus</i>	<i>L. rhamnosus</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>L. gasseri</i> , <i>L. reuterii</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. sporogenes</i>
<i>Bifidobacterium</i>	<i>B. longum</i> , <i>B. breve</i> , <i>B. infantis</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>B. adolescentis</i>
<i>Lactococcus</i>	<i>L. cremoris</i> , <i>L. lactis</i>
<i>Enterococcus</i>	<i>E. faecium</i>
<i>Streptococcus</i>	<i>S. thermophilus</i>
<i>Pediococcus</i>	<i>P. acidilactici</i>
<i>Bacillus</i>	<i>B. subtilis</i> , <i>B. licheniformis</i> , <i>B. megaterium</i> , <i>B. clausii</i> , <i>B. laterosporus</i> , <i>B. pumilus</i>
<i>Saccharomyces</i>	<i>S. cerevisiae</i> , <i>S. cerevisiae var boulardi</i>

Les microorganismes les plus souvent utilisés comme probiotiques sont des bactéries lactiques à l'image de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* et *Pediococcus*, mais il est possible de trouver quand même des bactéries non lactiques (*Escherichia coli* Nissle 1917, *Bacillus*) ou des levures (*Saccharomyces*) (Hammache et Yettou, 2018).

### I.1.1.1. Impact sur la santé humaine

L'efficacité des probiotiques varie d'une souche à une autre et dépend aussi de la quantité des bactéries présentes au site d'action. Parmi ces effets bénéfiques figurent l'amélioration de la digestion du lactose, de la motricité et du transit intestinal, de la prévention contre la constipation et les diarrhées (aiguë infectieuse, du voyageur, due aux antibiotiques). De plus, les probiotiques réduisent le risque des cancers du côlon, du foie et du sein, traitent les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI), apaisent les symptômes allergiques et renforcent les jonctions entre les cellules intestinales, ce qui diminue le risque de contracter COVID-19 (Baud et al., 2020; Guarino et al., 2015; Sánchez et al., 2017).



**Figure 1.** Schéma montrant les principaux effets des probiotiques (Maftei et al., 2024).

### **I.1.2. Les prébiotiques**

Le terme prébiotique est défini comme un ingrédient alimentaire non digestible qui a un effet bénéfique sur l'hôte en stimulant la croissance et/ou l'activité d'une ou d'un nombre limité de bactéries dans le côlon, ce qui peut améliorer la santé de l'hôte (**Zamora-Vega et al., 2012**).

La majorité des prébiotiques est issue de la famille des glucides, tels que le lactulose, l'inuline, les fructo-oligosaccharides, les polydextroses, les amidons résistants ou certaines fibres (**Arnous et al., 2001; Gibson et al., 2004; Roberfroid, 2000**).

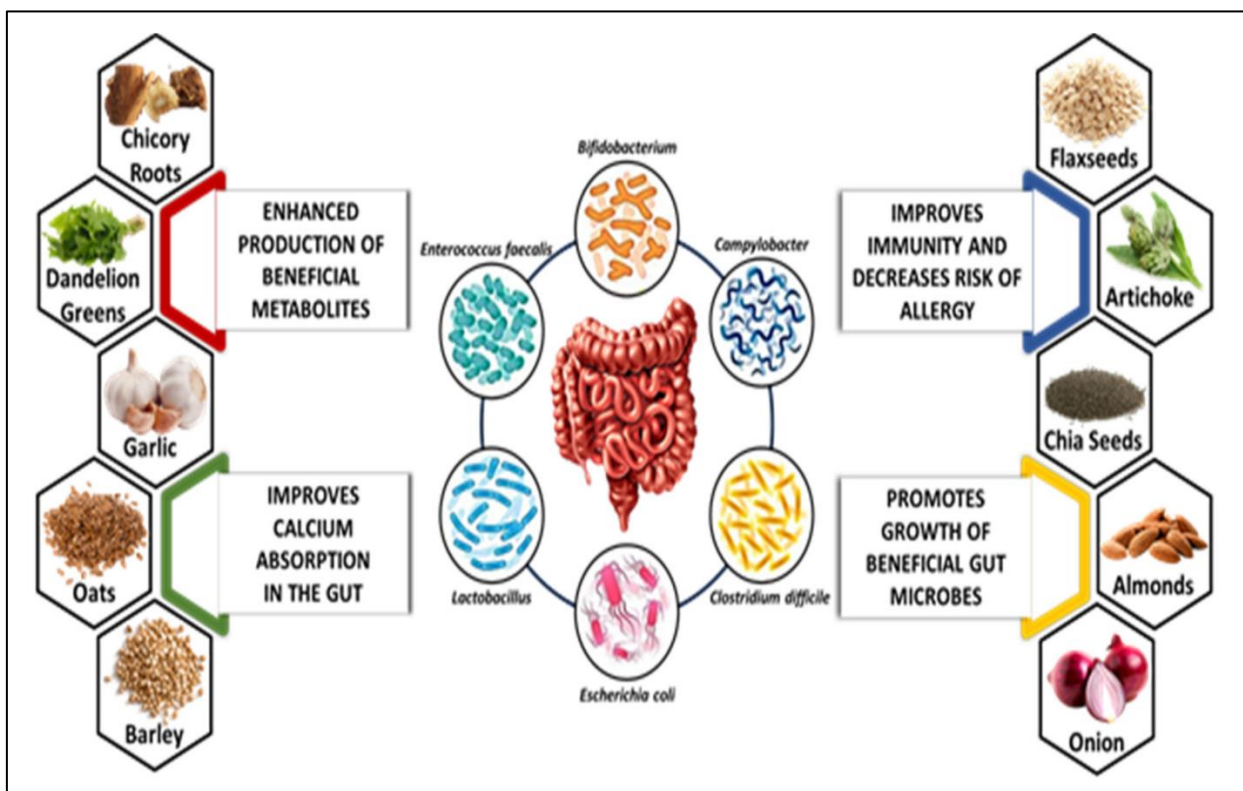
Pour être considérés comme prébiotiques, les composés doivent répondre aux critères suivants (**Wang, 2009**) :

- Ils ne doivent pas être hydrolysés ou absorbés par le tractus gastro-intestinal supérieur.
- Ils doivent modifier positivement la composition et le fonctionnement de la microflore gastro- intestinale.
- Ils doivent être fermentés sélectivement avec une ou un nombre limité de bactéries coliques potentiellement bénéfiques.
- Ils doivent avoir des effets positifs démontrés sur la santé humaine.

#### **I.1.2.1. Les bienfaits des prébiotiques**

La consommation régulière de prébiotiques modifie l'équilibre entre les populations bactériennes dominantes du microbiote colique, ce qui influence favorablement le fonctionnement de l'intestin. Ils peuvent ainsi avoir des effets bénéfiques sur la prévention et le traitement des désordres gastro-intestinaux par réduction de la prévalence et de la durée des diarrhées infectieuses et celles associées à l'utilisation des antibiotiques, réduction de l'inflammation de l'intestin et l'exercice des effets protecteurs pour prévenir le cancer du côlon (**Gibson et al., 2010; Slavin, 2013**).

En plus de cette action immuno-modulatrice intestinale, leur présence améliore la biodisponibilité et l'absorption des minéraux y compris le calcium, le magnésium et le fer, abaisse certains facteurs de risque cardiovasculaire et prévient l'obésité. Biochimiquement, les prébiotiques diminuent le taux de lipides sanguins et régulent la glycémie et les hormones intestinales. À cet égard, ces substances apaisent significativement la diarrhée, le vomissement et la fièvre (**Gibson et al., 2010; Slavin, 2013**).



**Figure 2.** Illustration schématique des sources et des fonctions des prébiotiques (Kaur et al., 2021).

### I.1.3. Synbiotiques

L'utilisation des prébiotiques pour améliorer la survie et la colonisation des bactéries probiotiques ajoutées aux produits alimentaires a suscité un grand intérêt. Les synbiotiques combinent de manière synergique les approches probiotiques et prébiotiques (Tableau 2). Cette combinaison regroupe des micro-organismes vivants accompagnés d'un ou plusieurs substrats spécifiques, lesquels sont sélectionnés par des micro-organismes hôtes pour favoriser la santé de l'hôte. Ces bactéries hôtes comprennent à la fois des micro-organismes autochtones présents naturellement chez l'homme, et des micro-organismes allochtones qui proviennent de l'extérieur par des probiotiques (Swanson, 2020).

Ainsi, la sélection d'une combinaison synbiotique appropriée permet d'évaluer les activités des bactéries probiotiques en présence de divers prébiotiques, tout en améliorant la santé et la nutrition. Par exemple, l'utilisation de l'inuline ou des transgalacto-oligosaccharides (TGOS) en association avec des souches de *L. plantarum*, *L. paracasei*, ou *B. bifidum* inhibe la croissance de plusieurs bactéries pathogènes telles que *E. coli* et *Campylobacter jejuni* (Cibbar et al., 2017; Gibson, 2004; Radha et al., 2016; Saad et al., 2012).



Tableau 2. Différence entre probiotique, prébiotique et synbiotique (Kouadria et al., 2022).

	Probiotique	Prébiotique	Synbiotique
<b>Définition</b>	Microorganismes vivants (bactéries ou levures)	Substrat pour le probiotique	Produit contenant un probiotique et prébiotique
<b>Bienfaits</b>	Syndrome du côlon irritable Cancer du colon Diarrhée Intolérance au lactose	Système immunitaire Absorption des nutriments	Combinent des effets probiotiques et prébiotiques
<b>Exemples</b>	<i>Lactobacillus</i> <i>Bifidobacterium</i> <i>Streptococcus</i> <i>Bacillus</i> <i>Enterococcus</i>	Inuline Fructane FOS GOS	<i>Lactobacillus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Bifidobacterium</i> + FOS
<b>Aliments</b>	Produits laitiers, Kéfir, Dérivés de soja, Levure de Bière,....ect	Artichaut, Poireau, Tomate, haricot rouge, lentille Banane, Pomme, Fruits sec, Amande, Noix, etc.	

I.2. Potiron (*Cucurbita maxima*)

L'espèce *Cucurbita maxima* appartient à la famille des Cucurbitacées, ayant des fruits de taille, de couleur, de forme et de poids variables. Ils ont une écorce modérément dure, avec une chair épaisse et comestible en dessous, et une cavité centrale pour de nombreuses graines généralement dodues et de couleur havane ou blanche tendre. La chair orange de la *Cucurbita maxima* est destinée à la consommation humaine : comme les soupes, les purées, les confitures et les tartes dans le monde entier (Alfawaz, 2004)

Tableau 3. Classification classique de la *Cucurbita maxima* (Caili et al., 2006).

Classification	
<b>Règne</b>	Plante
<b>Division</b>	<i>Spermatophyta</i>
<b>Sous-division</b>	<i>Angiospermae</i>
<b>Classe</b>	<i>Dicotyledonae</i>
<b>Sous-classe</b>	<i>Poly patella</i>
<b>Série</b>	<i>Caliciflorae</i>
<b>Ordre</b>	<i>Passiflorales</i>
<b>Famille</b>	<i>Cucurbitaceae</i>
<b>Genre</b>	<i>Cucurbita</i>
<b>Espèces</b>	<i>Maximus</i>

**I.2.1. Valeur nutritionnelle**

Ce fruit est une source précieuse de nutriments puisqu'il contient une grande quantité de fibres, de vitamines B, C et E, de protéines, de lipides, de minéraux, de stérols, d'acides para-aminobenzoïques, d'acides gras mono et polyinsaturés, ainsi qu'en oligosaccharides et polysaccharides fermentescibles qui ont été démontrés pour enrichir des espèces clés du microbiote intestinal. De plus, son profil phytochimique comprend des caroténoïdes, d'acide  $\gamma$ -aminobutyrique dans les graines et les fruits, des glycosides phénoliques et de l'acide 11E-octadécatriénoïque dans les feuilles et les graines, des flavonoïdes, des alcaloïdes, des dérivés phénoliques, des tanins, des glucides et des saponines (Glew et al., 2006; Liu et al., 2018; Muchirah et al., 2018; Wahid et al., 2021).

**I.2.2. Utilisation****I.2.2.1. Sur le plan nutritionnel**

Le potiron est transformé en divers produits alimentaires, tels que des produits de boulangerie comme le pain aux graines de courge, ainsi que des soupes, des sauces, des produits extrudés et des épices. Sa couleur naturelle est utilisée dans les mélanges de pâtes et de farine. De plus, ses graines fournissent une nourriture sucrée, nutritive, tendre et moelleuse, qui est utilisée sous forme de snacks dans les pays arabes après avoir été salées et rôties. Elles peuvent également être ajoutées à des plats salés et des desserts (Devi et al., 2018).

**I.2.2.2. Sur le plan thérapeutique**

Ce fruit est reconnu pour plusieurs bienfaits pour la santé, tels que la prévention de la croissance de l'hypertrophie bénigne de la prostate, la prévention de certains types de cancer, de maladies cardiovasculaires et de la dégénérescence maculaire, comme il possède des propriétés antioxydantes intéressantes grâce à la désactivation des radicaux libres (Guiné, 2012).

De plus, il a également été signalé comme étant hématinique, analgésique et efficace pour le traitement des brûlures et traditionnellement utilisé pour soulager l'inflammation intestinale, la dyspepsie et les troubles digestifs. Grâce à la présence de magnésium dans les graines, qui agit comme un bloqueur des récepteurs NMDA, les douleurs aiguës et chroniques, notamment les douleurs nerveuses, peuvent être réduites (Guiné, 2012; Wahid et al., 2021).

**I.3. Le lactosérum**

Le lactosérum est un sous-produit issu essentiellement de la fabrication fromagère. Traditionnellement, l'opération qui suit l'étape de coagulation consiste à séparer la phase

coagulée du reste du lait au cours d'une opération d'égouttage, la fraction liquide ainsi recueillie s'appelle le lactosérum (**Bergel et al., 2004**).

Les nutriments du lactosérum les plus abondants sont le lactose, les protéines solubles, et les sels minéraux, mais il contient aussi d'autres composants, tels que l'acide lactique (0.05 %) et l'acide citrique, des matières azotées non protéiques (urée et acide urique), et des vitamines du groupe B (**Bergel et al., 2004**).

### I.3.1. Types de lactosérum

#### I.3.1.1. Lactosérum doux

Le lactosérum doux est obtenu par coagulation enzymatique du lait ou des caséines à un pH d'environ 6.5 (**Yadav et al., 2015**). Le lactosérum doux est moins minéralisé, car lors de la production fromagère, plus de la moitié du phosphore et des cations divalents sont retenus dans le caillé (**Bozanic et al., 2014**).

#### I.3.1.2. Lactosérum acide

Le lactosérum acide (pH inférieur à 5) est obtenu par la coagulation du lait par ajout d'acides forts (phosphorique, hydrochlorique, sulfurique, etc.) ou organiques (lactique, citrique) (**Yadav et al., 2015**). Contrairement au lactosérum doux, lors d'une coagulation acide, la plupart des minéraux colloïdaux (calcium, phosphate, citrate de calcium et magnésium) se solubilisent et se retrouvent dans le lactosérum acide (**Bozanic et al., 2014**).

### I.3.2. Composition du lactosérum

La composition et les caractéristiques du lactosérum peuvent varier selon le type de bétail, le régime alimentaire de l'animal, le lait dont il est issu, les techniques de traitement utilisées et d'autres facteurs environnementaux (**Park et al., 2007**). Le tableau ci-dessous présente les différentes moyennes de la composition du lactosérum doux et acide :

**Tableau 4.**Composition du lactosérum doux et du lactosérum acide (**Yadav et al., 2015**).

Constituants	Lactosérum doux (g/L)	Lactosérum acide (g/L)
Solides totaux	63.0-70.0	63.0-70.0
Lactose	46.0-52.0	44.0-46.0
Protéines	6.0-10.0	6.0-8.0
Lipides	5.0	0.4
Lactate	2.0	6.4
Cendres	5.0	8.0
Calcium	0.4-0.6	1.2-1.6
Phosphate	1.0-3.0	2.0-4.5
Chlorures	1.1	1.1
pH	6.5	4.5

**I.3.3. Valorisation du lactosérum**

Dans l'industrie laitière, le lactosérum a longtemps été perçu comme un déchet encombrant et polluant, rejeté dans les effluents et entraînant une pollution environnementale. Pourtant, ce sous-produit, riche en protéines, lactose et vitamines représente une perte économique importante s'il n'est pas valorisé (**Khodja et Yousfi, 2020**). En outre, sa forte demande biochimique et chimique en oxygène (DBO et DCO élevées) ainsi que ses volumes abondants générés (environ 9 litres par kg de fromage) soulignent la nécessité de le valoriser pour éviter les coûts de traitement ou d'élimination (**Papademas et Kotsaki, 2019**).

Pour atténuer ce risque de pollution et maximiser son potentiel, le lactosérum est désormais utilisé dans diverses bioconversions. Il est transformé en produits alimentaires pour la consommation humaine, tels que le fromage et les boissons à base de lactosérum, y compris des jus de fruits mélangés au petit-lait, et sert de supplément nutritionnel pour animaux ainsi que d'engrais pour les cultures. De plus, il est utilisé comme substrat de culture pour les bactéries lactiques en charcuterie et en confiserie, et valorisé en biotechnologie pour la production de biogaz avec des bactéries méthanogènes anaérobies et pour la production de bioéthanol (**Boudjema et al., 2009; Ryan et Walsh, 2016**).

## *Partie expérimentale*

*Chapitre II*  
*Matériel et méthodes*

## II. Matériel et méthodes

### II.1. Objectifs

Cette étude cherche à :

- Formuler une boisson synbiotique innovante combinant le lactosérum doux, le jus de potiron et *Bacillus subtilis* ;
- Évaluer les aspects sensoriels, physico-chimiques, microbiologiques et fonctionnels de la boisson obtenue ;
- Suivre le comportement de l'ensemble des qualités susmentionnées, y compris la viabilité du probiotique, durant 28 jours de conservation froide à 4 °C.

### II.2. Matériel du laboratoire

Le **tableau 5** réunit les produits chimiques, la verrerie et l'ensemble des équipements employés pour réaliser ce travail :

**Tableau 5.** Matériel et réactifs utilisés.

Appareillage	Ustensiles et verreries	Produits et réactifs
- Agitateur magnétique	- Ampoule à décanter	- Acétone (CH <sub>3</sub> COCH <sub>3</sub> )
- Autoclave	- Anses de platine	- Acide ascorbique
- Bain-marie (memmert)	- Béchers	- Acide gallique
- Balance analytique	- Boîtes de pétri	- Carbonate de sodium (Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> )
- Balance de précision	- Burettes graduées	- Chlorure d'aluminium (AlCl <sub>3</sub> )
- Bec bunsen	- Creusets	- Chlorure de sodium (NaCl)
- Dessiccateur	- Ecouvillons stériles	- DPPH
- Étuves	- Embouts jaunes et bleus	- Eau distillée
- Four à moufle (Heraeus)	- Entonnoirs et fioles jaugées	- Eau physiologique
- Micropipettes	- Éprouvettes graduées	- Ethanol et méthanol
- pH mètre	- Erlenmeyers	- Folin-Ciocalteu
- Plaque chauffante	- Flacons en verre	- Gélose PCA
- Pompe sous vide	- Papier filtre et papier pH	- Gélose PDA
- Réfractomètre	- Pincés	- Gélose TSA
- Réfrigérateur	- Pipettes graduées	- Gélose VRBL
- Spectrophotomètre UV- visible (Jenway)	- Pipettes pasteur	- Hexane
- Stérilisateur	- Pissettes	- NaOH
- Vortex	- Portoirs	- Phénophtaléine
	- Pycnomètre	- Quercétine
	- Spatules	- Tryptone
	- Tubes à essai	- TSE
	- Verres de montre	

### II.3. Matière biologique

Les potirons matures (*Cucurbita maxima*) de couleur orange uniforme et d'une taille moyenne de 10 kg ont été choisis minutieusement à partir du marché local de la Wilaya de Tiaret, au mois de février.

Le lactosérum utilisé est collecté auprès de l'unité laitière El Manbaa, Group Giplait-Saida, où il est issu de la fabrication de fromage à pâte molle. Le lactosérum est prélevé de façon aléatoire après agitation et homogénéisation du contenu de la cuve. Les échantillons ont été recueillis dans des bouteilles stériles puis transportés immédiatement vers le laboratoire dans une glacière portative pour être stockés au congélateur jusqu'à leur utilisation.

La souche bactérienne bénéfique employée *Bacillus subtilis* ATCC 6633 a été offerte en forme liquide commerciale ( $10^9$  UFC/ml) par le laboratoire des Micro-Organismes Bénéfiques, des Aliments Fonctionnels et de la Santé LMBAFS-Mostaganem.

### II.4. Protocole expérimental

Le diagramme de la **figure 3** illustre les différentes étapes de l'expérimentation, dans laquelle chaque analyse est effectuée en triplicata.

#### II.4.1. Fabrication de jus de potiron

La fabrication du jus de potiron nécessite une approche méthodique afin de garantir la reproductibilité d'un produit fini de qualité. Le jus est extrait à partir de fruits mûrs de *Cucurbita maxima*. Les fruits sont préalablement coupés en morceaux de taille appropriée, puis les graines, les tissus placentaires et l'écorce sont retirés. Le mésocarpe résultant est ensuite découpé en morceaux plus petits, à partir desquels le jus est extrait à l'aide d'un presse-agrumes Moulinex, puis filtré à travers une mousseline pour obtenir un jus sans pulpe (**Muntean, 2005**).

Le jus obtenu est ensuite pasteurisé au bain-marie pendant 15 min à 85 °C dans des bouteilles. Enfin, les flacons sont refroidis sous l'eau froide avant d'être conservés à 4 °C pour être analysés ou utilisés le jour même (**Muntean, 2005**).

Le rendement d'extraction est la proportion de jus obtenue après le processus de pressage, exprimée en pourcentage de la masse initiale du produit selon la formule suivante (**Adjou et al., 2013**) :

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{M_J}{M_I} \cdot 100$$

Où :

$M_J$  : masse de jus après pressage,  $M_I$  : masse du potiron avant pressage.



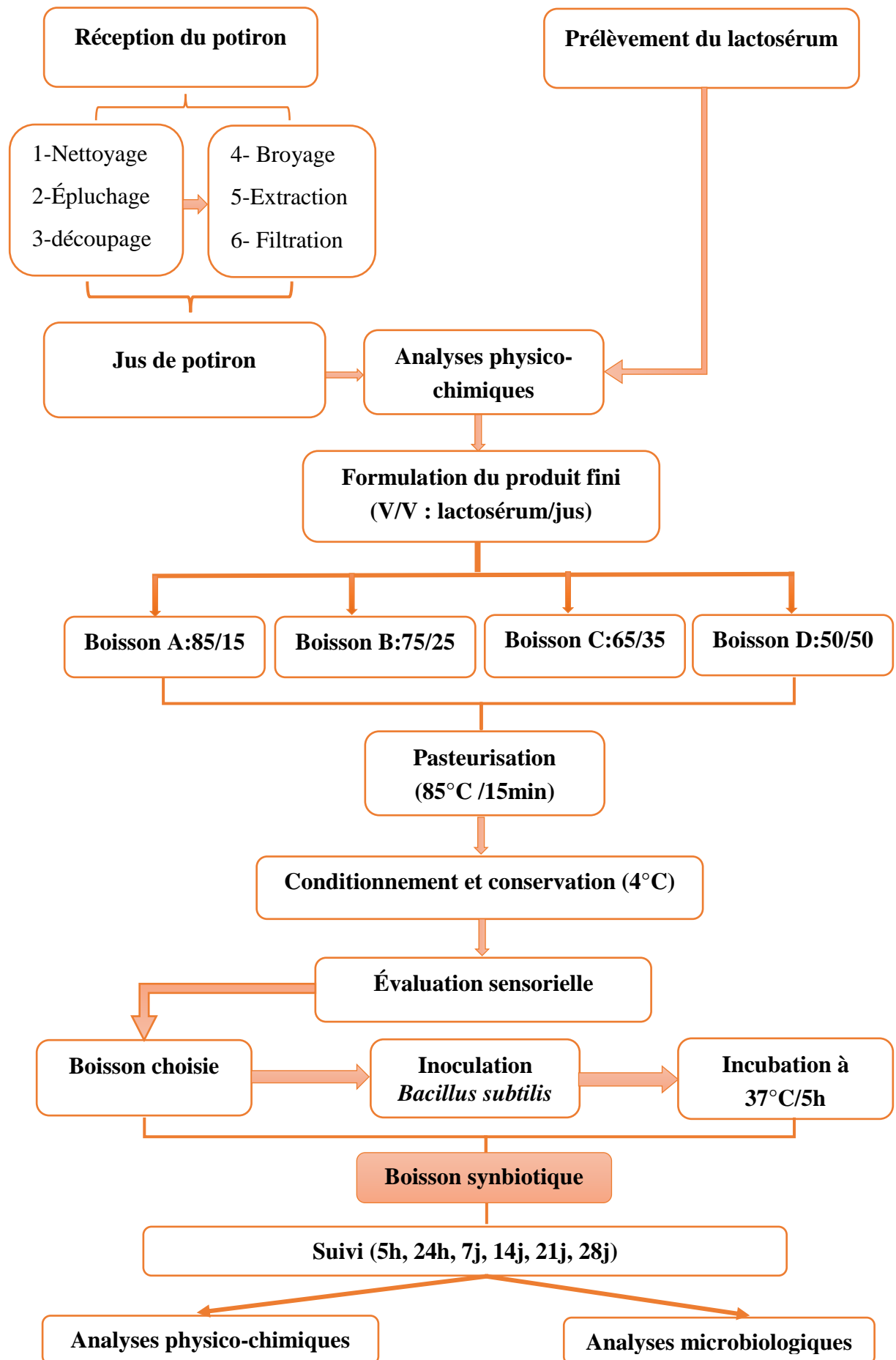


Figure 3. Diagramme du protocole expérimental de l'étude.

#### II.4.2. Optimisation de la boisson lactosérum/jus de potiron

Cette étape passe par la formulation de quatre combinaisons de « jus : lactosérum », en l'occurrence, A (85:15), B (75:25), C (65:35) et D (50:50) en (v/v). Le mélange de lactosérum et de jus a subi une pasteurisation dans un bain-marie à 85 °C/15 min, avant d'être refroidi et homogénéisé à température ambiante. Les quatre boissons ont été édulcorées avec 8 % (m/v) de sucre pour obtenir l'équilibre gustatif souhaité, puis conditionnées dans des bouteilles en verre préalablement étiquetées et conservées au réfrigérateur (4° C) (Chatterjee et al., 2015).

#### II.4.3. Évaluation organoleptique

Les boissons formulées ont fait l'objet d'une évaluation sensorielle de leur couleur, odeur, arôme, texture et acceptabilité globale, par des panelistes volontaires consentants non formés sur une échelle hédonique de 9 points allant de : extrêmement dégoûtant (1), très dégoûtant (2), dégoûtant (3), assez dégoûtant (4), neutre (ni plaisant, ni déplaisant) (5), assez plaisant (6), plaisant (7), très plaisant (8), à extrêmement plaisant (9) (Baba et al., 2016; Zaman et al., 2023).

Le test de dégustation des mélanges maintenus à +6 °C a eu lieu le 06/02/2024 dans une salle de la faculté SNV, en présence d'un groupe d'étudiants en master 2 microbiologie et sciences alimentaires, ainsi que des professeurs et des ingénieurs de laboratoire.

Les participants n'avaient aucune connaissance préalable des produits en question qui ont été servis dans des gobelets en plastique transparents (à raison de 50 ml/gobelet), codés A, B, C et D, et accompagnés d'eau pour rinçage de la bouche lors du passage d'une boisson à l'autre. L'évaluation a été faite en renseignant le questionnaire (Figure 4), en respectant l'ordre de dégustation A, B, C et enfin D.

#### II.4.4. Inoculation par le probiotique

La mixture de choix des jurys a couru une inoculation par *Bacillus subtilis* à raison de 1.5% (v/v), suivie d'une fermentation agitée à 37 °C/5h, dans des flacons individuels correspondant aux intervalles d'analyse (produit fini, 1, 7, 14, 21 et 28 jours d'entreposage post-fabrication froid, 4 °C) (Shukla et al., 2013).

**UNIVERSITE IBN KHALDOUN, TIARET**  
**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Domaine: Sciences de la Nature et de la vie**  
**Filière: Sciences Biologiques**  
**Master 2 : Microbiologie appliquée**

**Questionnaire d'évaluation hédonique d'un jus de potiron à base du lactosérum**

**Nom et Prénom : .....** **Date : ... / ... /....**

**I.1. Préférence générale :**  
 ➤ Choisissez lequel vous préférez par rapport à l'ensemble des caractères organoleptiques :

A          B          C          D   

**II.2. Paramètres ayant motivé la préférence générale :**  
 ➤ Quatre échantillons de jus de potiron à base du lactosérum codé A, B, C, D , vous sont présentés, il vous demandé de les goûter successivement.  
 ➤ Attribuer une note de préférence de 1 à 9 pour chaque échantillon selon votre appréciation comme présenté dans l'échelle ci-dessous :

Echantillons	A	B	C	D	
Descripteurs					
Couleur					
Goût					
Texture					
Arome					
Acceptabilité globale					

**1- Extrêmement dégoûtant**  
**2- Très dégoûtant**  
**3- dégoûtant**  
**4- Assez dégoûtant**  
**5- Ni dégoûtant ni plaisant**  
**6- Assez plaisant**  
**7- plaisant**  
**8- Très plaisant**  
**9- Extrêmement plaisant**

**« Merci pour votre participation »**

**Figure 4.** Questionnaire d'évaluation hédonique de la boisson jus de potiron : lactosérum doux.

### II.4.5. Analyses physicochimiques

La matière première comportant le jus de potiron et le lactosérum, ainsi que la boisson synbiotique ont été testés en matière de :

#### II.4.5.1. Potentiel d'hydrogène (pH) et acidité titrable

La mesure du pH s'effectue selon la méthode **AFNOR (1993)** en introduisant l'électrode du pH-mètre dans un bécher contenant l'échantillon. La valeur du pH est immédiatement affichée sur l'écran du pH-mètre (**Bouizar et al., 2021**).

La détermination de l'acidité titrable de 10 ml de lactosérum a été réalisée par une titration à la soude (0,1 N) en présence de phénolphthaléine comme indicateur coloré, jusqu'au virage de la couleur vers le rose persistant (**Melia et al., 2021**). La formule suivante est employée pour calculer l'acidité du lactosérum et du produit fini :

$$\text{Acidité } (^{\circ}D) = \frac{C \times V_{eq} \times M_{ac}}{0.1 \times V_0}$$

Avec :

**C** : concentration de la solution NaOH (0.1N).

**V<sub>eq</sub>** : le volume de NaOH à la neutralisation.

**M<sub>ac</sub>** : masse molaire de l'acide lactique.

**V<sub>0</sub>** : le volume d'échantillon.

L'acidité titrable du jus de potiron ou de la boisson synbiotique se faisait similairement à la différence près d'utilisation de l'acide citrique comme acide dominant selon l'équation suivante :

$$\text{Acide } (\%) (m/v) = \frac{N \times V_1 \times Eq_{poids}}{V_2 \times 1000} \times 100$$

Avec :

**N** : normalité du titrant, généralement NaOH (mEq/ml).

**V<sub>1</sub>** : volume de réactif (ml).

**Éq<sub>poids</sub>** : Masse équivalente d'acide prédominant (mg/mEq).

**V<sub>2</sub>** : volume d'échantillon (ml).

**1000** : facteur reliant les mg aux grammes (mg/g) (1/10 = 100/1000).

### II.4.5.2. Détermination de l'extrait sec total (EST) et de la teneur en eau

Le taux de matière sèche a été déterminé en utilisant la méthode d'étuvage (AOAC, 1990). Une capsule de masse  $M_0$  contenant 10 g d'échantillon ( $M_1$ ) a été placée à l'étuve à 105 °C. Après cinq heures, la capsule a été refroidie au dessiccateur. Ensuite, la masse  $M_2$  du résidu obtenu a été pesée. La matière sèche exprimée en pourcentage de masse de produit est donnée par la formule suivante :

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

Où :

$M_0$  : La masse de la capsule vide (g).

$M_1$  : La masse de la capsule et la prise d'essai avant la dessiccation (g).

$M_2$  : La masse de la capsule et la prise d'essai après la dessiccation (g).

Cependant, la formule ci-dessous exprime la détermination de la teneur en humidité (H %) en pourcentage :

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

### II.4.5.3. Détermination des cendres

Les taux de cendres ont été déterminés en suivant la méthode AOAC (1995), qui consiste à calciner 10 g d'échantillon dans un four à moufle à 550 °C pendant 5 heures (Ouattara et al., 2016). La formule ci-dessous permet de déterminer la teneur en cendres :

$$\text{Cendres} (\%) = \frac{M_2 - M_0}{M_1 - M_0} \times 100$$

Où :

$m_0$  : Masse du creuset vide en (g).

$m_1$  : Masse du creuset et de la prise d'essai en (g).

$m_2$  : Masse du creuset et des cendres obtenues en (g).

### II.4.5.4. Détermination des solides solubles totaux (°Brix) et de l'indice de réfraction

Le taux de solides solubles (TSS), exprimé en degré °Brix, est déterminé à l'aide d'un réfractomètre préalablement étalonné avec de l'eau distillée. Entre 2 et 3 gouttes de l'échantillon ont été déposées au sein des prismes du réfractomètre. Le degré Brix et l'indice de réfraction ont été lus en trouvant l'intersection de la limite entre la frange claire et la frange foncée sur l'échelle du réfractomètre (Gao et al., 2019).

#### II.4.5.5. Mesure de la densité

La densité du produit a été mesurée selon les méthodes décrites par **Zaman et al. (2023)**. Des pycnomètres déjà calibrés à l'eau distillée ont été remplis avec l'échantillon à analyser pour effectuer cette mesure. Les résultats sont exprimés en utilisant la formule suivante :

$$d = \frac{P_2 - P_0}{P_1 - P_0}$$

Où

**d** : la densité.

**P<sub>0</sub>** : le poids du pycnomètre vide.

**P<sub>1</sub>** : le poids du pycnomètre plein d'eau distillée.

**P<sub>2</sub>** : le poids de pycnomètre plein de l'échantillon.

#### II.4.6. Dosage des composés bioactifs

##### II.4.6.1. Dosage des polyphénols totaux

Une aliquote de 0.3 ml de boisson diluée préalablement 10 fois est mélangée avec 1.5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu dilué à 1/10 et 1.2 ml de carbonate de sodium (7.5 %). Après l'incubation dans l'obscurité pendant 90 minutes, les absorbances sont mesurées à 760 nm. Les teneurs en polyphénols totaux sont calculées en utilisant une courbe d'étalonnage de l'acide gallique (10, 20, 40, 80 mg/ml) et exprimées en milligrammes d'équivalent acide gallique par millilitre d'échantillon frais (mg EAG/ml) (**Haddouchi et al., 2016**).

##### II.4.6.2. Dosage des flavonoïdes totaux

Pour chaque échantillon (jus dilués et solutions de quercétine), 1 ml de boisson diluée à un rapport de 1/10 avec de l'eau distillée est mélangé avec 2 ml d'une solution méthanolique de chlorure d'aluminium à 2 %. Le mélange est ensuite incubé pendant 15 minutes à température ambiante. Les absorbances sont mesurées à une longueur d'onde de 430 nm contre un blanc remplaçant la boisson par l'eau distillée (**Haddouchi et al., 2016**). La teneur en flavonoïdes est calculée par extrapolation sur une courbe d'étalonnage de la quercétine (10, 20, 30, 40, 50 mg/ml), et s'est exprimée en milligrammes d'équivalent quercétine par millilitre de jus frais (mg EQ/ml).

##### II.4.6.3. Dosage des caroténoïdes

10 ml de boisson ont été agités pendant 15 minutes avec 40 ml d'acétone à 40 tours/min. Par la suite, la phase organique a été séparée de la phase aqueuse et ré-extraite à plusieurs reprises avec 40 ml d'acétone jusqu'à ce qu'elle devienne incolore. Les extraits obtenus ont été

combinés puis ajouter de 15 ml d'hexane et 5 ml d'eau distillée dans une ampoule à décanter placée dans l'obscurité, puis laissés pendant 24 h afin d'assurer la séparation de la phase organique de la phase aqueuse (AlJahani & Cheikhousman, 2017).

Les caroténoïdes présents dans la phase organique ont été quantifiés à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS à 430 nm. Les caroténoïdes sont déterminés à l'aide de la courbe d'étalonnage de la  $\beta$ -carotène (5, 10, 15, 20, 25  $\mu\text{g/ml}$ ). Les résultats sont exprimés en équivalent de  $\beta$ -carotène en  $\text{mg/ml}$  d'échantillon (AlJahani & Cheikhousman, 2017).

#### **II.4.7. Qualité microbiologique des boissons**

Ces analyses sont réalisées sur le produit fini où elles incluent l'évaluation de la flore aérobie mésophile totale (F.A.M.T), la détection des coliformes totaux et fécaux, ainsi que la recherche de levures et de moisissures.

##### **II.4.7.1. La flore aérobie mésophile totale (FAMT)**

La flore totale aérobie mésophile est un bon indicateur de la contamination globale des aliments (Labioui et al., 2009). Ce dénombrement a été effectué en utilisant un jus dilué à  $10^{-5}$ . 1 ml de cette dilution est ajouté de manière aseptique dans deux boîtes Pétri vides, puis recouvert de 15 ml de gélose PCA fondue refroidie à  $45 \pm 1$  °C. Afin d'homogénéiser l'inoculum sur la gélose, un mouvement circulaire en forme de huit est réalisé. Les boîtes sont ensuite laissées à solidifier puis incubées à 30 °C/72 h conformément au protocole de Ghazi et Niar (2011).

##### **II.4.7.2. Levures et moisissures**

Le dénombrement de cette flore permet d'évaluer l'efficacité du traitement thermique appliqué ainsi que l'état de conservation de l'aliment (Guiraud., 1998). Selon la norme NF ISO 7954 citée par Adjou et al. (2013), le dénombrement des colonies de levures et de moisissures consiste à étaler 0.1 ml de la dilution 1/10 de l'échantillon sur la surface de gélose PDA (Potato Dextrose Agar). Les boîtes sont ensuite incubées pendant 4 à 5 jours à une température contrôlée de 25-30 °C. Après l'incubation, les colonies de microorganismes sont observées et dénombrées.

##### **II.4.7.3. Les coliformes totaux et les coliformes fécaux**

Le dénombrement des colonies de coliformes totaux et fécaux a été réalisé conformément à la norme française ISO 4832 (2006). Un millilitre de la dilution  $10^{-2}$ , a été ensemencé aseptiquement dans deux boîtes de Pétri stériles. Environ 15 ml de gélose VRBL (Violet Red Bile Lactose) fondue et refroidie à 44-47 °C ont été ajoutés dans chaque boîte, suivis d'un mélange soigneux par des mouvements de rotation. Une fois la gélose solidifiée, une seconde couche de gélose VRBL a été ajoutée. Les boîtes ont été incubées à 37 °C pour les coliformes totaux et à 44 °C pour les coliformes fécaux pendant 24 heures.

#### II.4.8. Activité antioxydante

Cette activité est déterminée par le test du piégeage du radical libre (DPPH°) selon la méthode de **Bentabet et al. (2014)**. 100 µl de boisson (10, 20, 30, 40, 50 et 60 mg/ml) ont été ajoutés à 3,9 ml de la solution méthanolique de DPPH (0,06 mM). Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité, la décoloration a été mesurée à 517 nm par rapport à un témoin contenant le méthanol à la place de l'échantillon. Les pourcentages d'inhibition ont été déterminés en utilisant la formule suivante :

$$AA (\%) = \frac{Abs_{contrôle} - Abs_{échantillon}}{Abs_{contrôle}} \times 100$$

Où :

**AA (%)** : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH.

**Abs<sub>contrôle</sub>** : absorbance du contrôle ou du témoin négatif à 517 nm.

**Abs<sub>échantillon</sub>** : absorbance d'échantillon à 517 nm.

L'IC50, ou la concentration inhibitrice à 50 %, est utilisée pour calculer la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % des radicaux libres DPPH. Elle est déterminée graphiquement sur la courbe d'inhibition  $AA\% = f(C_{échantillon})$  (**Bentabet et al., 2014**).

#### II.4.9. Dénombrement du probiotique *Bacillus subtilis*

La croissance de *Bacillus subtilis* dans la boisson probiotique a été évaluée à différents temps, soit à 5 h et 24, 7, 14, 21 et 28 jours. À partir de chaque échantillon, des dilutions appropriées de  $10^{-1}$  à  $10^{-6}$ , ont été réalisées en utilisant de l'eau peptonée salée. Par ailleurs, 100 µl de chaque dilution ont été ensemencés sur des boîtes de TSA. Les boîtes de Pétri ont ensuite été incubées à 37 °C pendant 24 h. Après l'incubation, les colonies ont été dénombrées et le nombre d'unités formant colonie (UFC/ml) a été calculé selon l'équation suivante :

$$N = \frac{\Sigma \text{colonies}}{V \times (n_1 + 0.1 n_2) \times d_1}$$

Avec :

**N** : nombre d'UFC par ml de produit initial.

**Σ colonies** : sommes des colonies des boites interprétables (entre 30 et 300 colonies).

**V** : volume de l'aliquote (ml).

**n<sub>1</sub>** : nombre de boites considérées à la première dilution retenue.

**n<sub>2</sub>** : nombre de boites considérées à la seconde dilution retenue.

**d<sub>1</sub>** : facteur de la première dilution retenue (dilution à partir de laquelle le premier dénombrement est obtenu).



*Chapitre III*  
*Résultats et discussion*

### III. Résultats et discussion

#### III.1. Caractérisation des matières premières

Le **tableau 6** récapitule l'ensemble des résultats obtenu suite à l'analyse du lactosérum et jus de potiron :

**Tableau 6.** Caractéristiques physico-chimiques des matières premières.

Paramètre	Lactosérum	Jus de potiron
Rendement d'extraction (%)	/	53.77
pH	5.51±0.07	6.30±0.14
Acidité	13.96 ±0.63 °D	0.09±0.01%
Densité	1.024±0.00	1.018±0.00
Humidité (%)	93.74±0.02	95.83±0.02
EST (%)	6.27±0.04	4.16±0.02
Cendres (%)	0.34±0.00	0.27±0.01
TSS (°Brix)	4.5±0.35	3.5±0.35
Indice de réfraction	1.344±0.00	1.342±0.00

##### III.1.1. Rendement de jus

L'optimisation du rendement en jus représente un facteur économique crucial pour l'industrie de la transformation et de la fabrication des jus. D'après le **tableau 6**, le rendement d'extraction du jus de potiron a atteint un taux de 53.77%, ce qui indique que plus de la moitié du poids initial du mésocarpe a été converti en jus. Cette performance témoigne d'une capacité d'extraction efficace comparée au résultat de **Muntean (2005)**, qui était de 44.38% uniquement. Des seuils d'extraction variant entre 50 et 70% ont été rapportés selon les diverses méthodes d'extraction (**Vora, 2001**). La variation des résultats peut être attribuée à la variété de potiron utilisée, au degré de sa maturité et aux méthodes de pressage et d'extraction employées.

##### III.1.2. Analyses physico-chimiques

###### III.1.2.1. Le lactosérum

La détermination du pH est cruciale pour surveiller une fermentation microbienne. Les changements de pH et d'acidité indiquent l'activité métabolique de la microflore (**Ould El Hadj et al., 2001**). Le pH du lactosérum analysé était de 5.51±0.07, une valeur incluse dans l'intervalle (5-7) rapporté par **Pega et al. (2018)**. En outre, son acidité titrable était égale à 13.96 ± 0.63 °D, ce qui est en ligne avec les résultats de **Vierling (2003)**, qui a trouvé que l'acidité titrable du lactosérum doux varie généralement entre 9 et 13 °D. Selon ces auteurs, un lactosérum doux doit

avoir une acidité titrable inférieure à 18 °D. Les résultats confirment que le lactosérum analysé est de type doux et qu'il a été obtenu, transporté et stocké dans des conditions appropriées.

Pour la densité du lactosérum, l'analyse a donné  $1.024 \pm 0.00$ , ce qui est légèrement inférieur à la norme de l'**Association Française de Normalisation (1986)** fixée entre 1.032 et 1.036, mais très proche des valeurs rapportées par **Tayeb (2006)** et **Zaman et al. (2023)**, qui varient entre 1.02 et 1.0293. Cette proximité suggère que la densité du lactosérum dans cette étude est dans la plage attendue.

En plus, la teneur en eau du lactosérum a atteint  $93.74 \pm 0.02\%$ . Un taux légèrement inférieur à celui de 95% mentionné par **Brito (2013)** ou **Castelli et Du Vale (2013)**. Cette différence peut s'expliquer par une teneur plus élevée en extrait sec, donc en richesse compositionnelle du lactosérum.

L'extrait sec total du lactosérum a été mesuré à  $6.27 \pm 0.04\%$ , ce qui est compris dans l'intervalle (5.94 - 6.59%) défini par **Bouazri (2012)**. Cependant, cette valeur représente presque la moitié de celle enregistrée par **Food And Agriculture Organisation (FAO, 1995)**, qui était de 13%.

La teneur en cendres dans le lactosérum ( $0.34 \pm 0.00\%$ ) est aussi dépassée par le résultat ( $0.45 \pm 0.01\%$ ) de **Zaman et al. (2023)**. Cette différence peut s'expliquer par la faible teneur en minéraux du lait utilisé pour la fabrication du fromage. La teneur maximale en matières minérales du lactosérum est directement liée à la richesse en cendres du lait dont il provient (**Boulariah & Boukela, 2019**).

La concentration du lactosérum en solides solubles était de  $4.5 \pm 0.35$  °Brix. **Ismail et al. (2011)** indiquent des teneurs allant jusqu'à 5.46 °Brix. Quant à l'indice de réfraction du lactosérum analysé, la valeur de  $1.344 \pm 0.00$ , similaire à 1.343 d'**Adda (2002)**, a été notée.

### **III.1.2.2. Jus de potiron**

Le jus de potiron dans cette étude était plus acide que celui de **Novelina et al. (2020)** ( $6.30 \pm 0.14$  contre 6.7). Parallèlement, son acidité titrable était de  $0.09 \pm 0.014\%$ . La hausse de la quantité d'acides justifie logiquement la chute du pH vers des valeurs plus basses. La différence entre résultats des différents travaux peut être attribuée aux différentes variétés de potiron et à leur degré de maturité. En général, l'acidité titrable est utilisée pour déterminer la concentration d'acide dans un aliment, en particulier les acides organiques tels que l'acide citrique, malique, lactique, tartrique et acétique (**Sadler & Murphy, 2010**).

Les résultats obtenus mettent en évidence que la teneur en eau du jus de potiron est de  $95.83 \pm 0.02\%$ , ce qui dépasse les 87% obtenus par **Begam et al. (2018)** pour le jus d'orange. Cette différence peut être interprétée comme un indicateur de la fraîcheur des jus de potiron. De plus, la densité marquée pour ce jus de potiron était  $1.018 \pm 0.00$ , vis-à-vis à 1.049 pour celle du jus de carotte acidifié par le citron fabriqué par **Leahu et al. (2013)**.

Ceci peut s'argumenter par la forte teneur en eau présente dans ce jus de potiron, qui a un effet de dilution de la matière dissoute, comme c'est le cas des jus de fruits et de légumes en général. Cette forte quantité d'eau influence également sa teneur en extrait sec, ne dépassant pas  $4.16 \pm 0.02\%$ , et toujours plus basse au contenu sec de jus de Noni ( $9.75 \pm 0.4\%$ ) analysé par **Chunhieng et al. (2005)**. L'extrait sec est un indicateur de la richesse de jus en nutriments (**Bensadon et al., 2010**).

De même,  $0.27 \pm 0.01\%$  était la teneur en cendres de ce jus. Il a été rapporté une teneur de 0.26% de cendres pour un mélange de jus de légumes comprenant de la tomate, du concombre et du potiron (**Habib & Iqbal., 2014**). Ce test dévoile le niveau de minéralisation des jus.

La concentration en solides solubles totaux (TSS) du jus de potiron utilisée dans cette étude était de  $3.5 \pm 0.35$  °Brix et son indice de réfraction était de  $1.342 \pm 0.00$  (**Chunhieng et al., 2005**). Le jus de Noni commercial donne 4.8. La valeur élevée du °Brix des jus est attribuable à leur haute teneur en sucres (**Zernadji et al., 2018**).

## III.2. Caractérisation de la boisson synbiotique

### III.2.1. Qualité organoleptique

Cette étape estime la combinaison jus de potiron : lactosérum la plus acceptée par le consommateur parmi les quatre préexistantes : A (85:15), B (75:25), C (65:35) et D (50:50) (**Figure 5**). Les résultats sont exprimés dans la **figure 6** :



**Figure 5.** Les formules de boisson préparées.



**Figure 6.** Radar des propriétés organoleptiques des boissons A, B, C et D de jus de potiron : lactosérum.

Le diagramme en radar dévoile une préférence des panélistes envers le mélange C (65:35), en montrant les scores les plus élevés pour le goût, la texture, l'arôme et l'acceptabilité générale ( $4.75 \pm 1.61$ ,  $5.65 \pm 1.87$ ,  $4.9 \pm 2.04$  et  $5.2 \pm 2.06$ , respectivement), avec une note moyenne de 5.38.

La note de sa couleur a été légèrement devancée par la formule D (6.65) mais sans conséquence sur le choix final des évaluateurs. Ce constat correspond aux résultats de **Shukla et al. (2013)** pour le jus d'ananas. Par conséquent, ce mélange a été choisi pour recevoir la souche probiotique *Bacillus subtilis* et développer la boisson synbiotique finale.

Qualitativement, le mélange optimal présente une couleur orange attirante, un goût de potiron peu sucré, avec un arôme rafraîchissant caractéristique du potiron. Dans la bouche, il donne une consistance aqueuse légère non visqueuse et non granuleuse.

### III.2.2. Qualité physicochimique et nutritionnelle

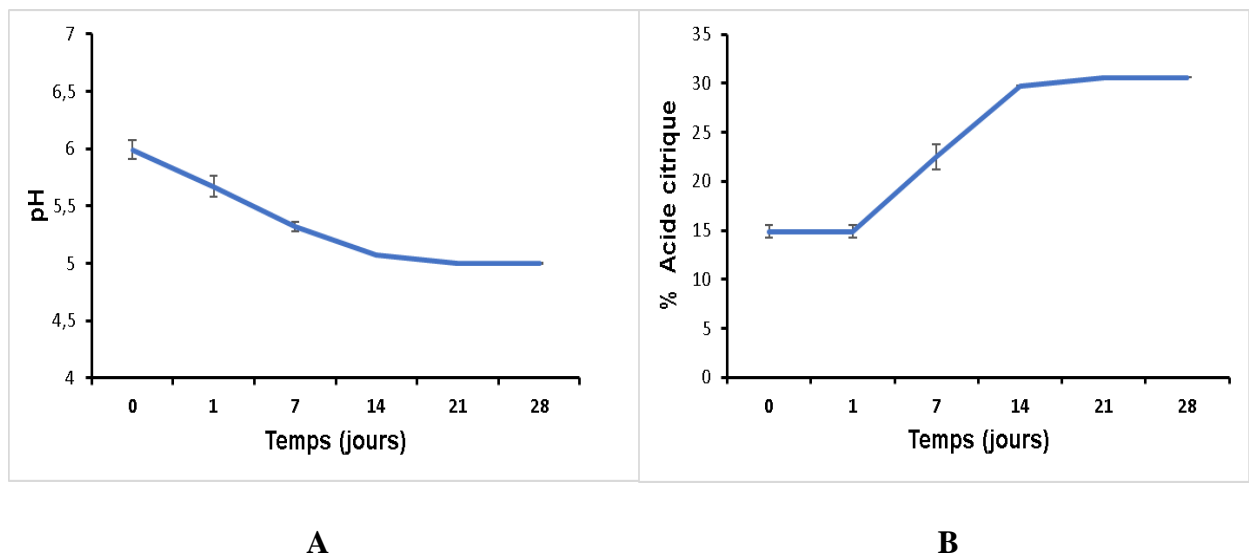
Le **tableau 7** rassemble les résultats des analyses de la boisson synbiotique finale, juste après la fermentation de 5h:

**Tableau 7.** Caractéristiques de la boisson synbiotique

	pH	Acidité (%)	Densité	TSS (°Brix)	Indice de réfraction
<b>Boisson synbiotique</b>	$5.95 \pm 0.077$	$14.86 \pm 0.63$	$1.043 \pm 0.00$	$11.99 \pm 0.01$	$1.35 \pm 0.00$

### III.2.2.1. pH et acidité titrable

Le pH est l'un des autres constituants chimiques importants présents dans les aliments qui influencent la croissance des micro-organismes dans un produit. D'après **Balaji et Prasad (2014)**, Le pH revêt une grande importance pour garantir la stabilité et la conservation à long terme des aliments. De plus, il peut également avoir une incidence significative sur la saveur et les exigences de traitement des boissons.



**Figure 7.** Courbe de l'évolution **A)** du pH et **B)** de l'acidité titrable de la boisson synbiotique pendant 28 jours de stockage à 4°C.

Le mélange de deux solutions naturellement acides ; jus et lactosérum, conduit vers une mixture acide de  $5.99 \pm 0.08$ . Au cours de la période de stockage, la boisson synbiotique a rencontré une diminution substantielle approximative à une unité de pH, avec une valeur passant de  $5.99 \pm 0.08$  à  $5.17 \pm 0.00$  (**Figure 7**). Cette observation est en accord avec les résultats obtenus pour l'acidité titrable, laquelle a connu un dédoublement notable de  $14.86 \pm 0.63$  à  $30.62$  (**Figure 7**).

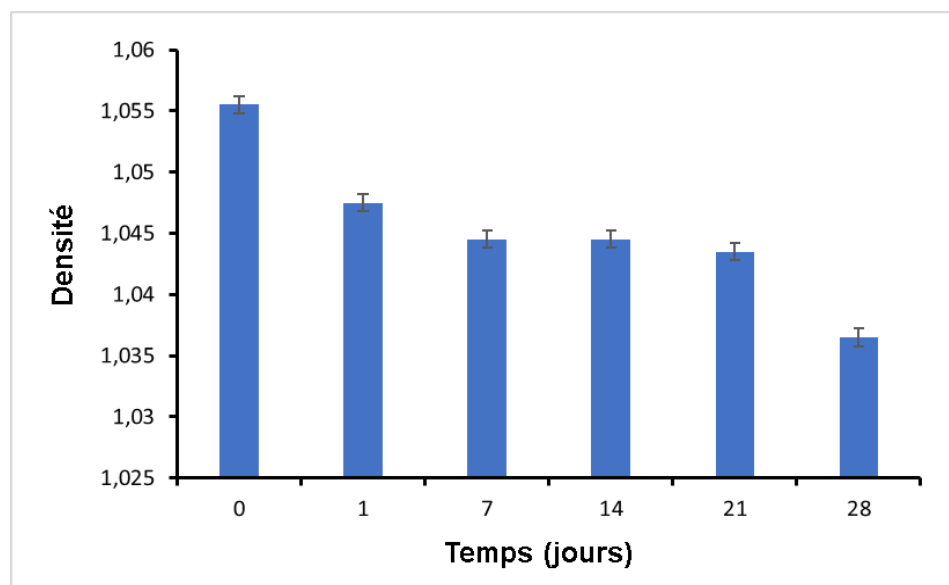
Ces résultats sont en concordance avec ceux rapportés par **Shukla et al. (2013)** sur le jus d'ananas et le lactosérum, notant un pH entre 4.36 et 3.87 pour une acidité de 0.546 à 0.926%. Néanmoins, le pH final de la boisson après séjour froid demeure  $> 5$  et reste toujours dans la zone dégustative tolérable exprimée par un gout doucement acide.

Le pH et l'acidité titrable ont une relation inverse l'un par rapport à l'autre sur la période de stockage de 28 jours à 4°C. L'augmentation de l'acidité alignée à la diminution du pH peut être justifiée par l'activité métabolique des bactéries probiotiques présentes dans la boisson. En effet, ces bactéries probiotiques ont tendance à produire des acides organiques, tels que l'acide lactique par fermentation des sucres contenus dans la boisson (**Singh., 2022**).

### III.2.2.2. Densité

La densité d'une boisson est le rapport entre la masse volumique de la boisson et celle de l'eau distillée utilisée comme substance de référence. La **figure 8** illustre l'évolution de la densité de la boisson fonctionnelle, exhibant une légère diminution de sa valeur, passant de  $1.055\pm 0.00$  à  $1.033\pm 0.00$ .

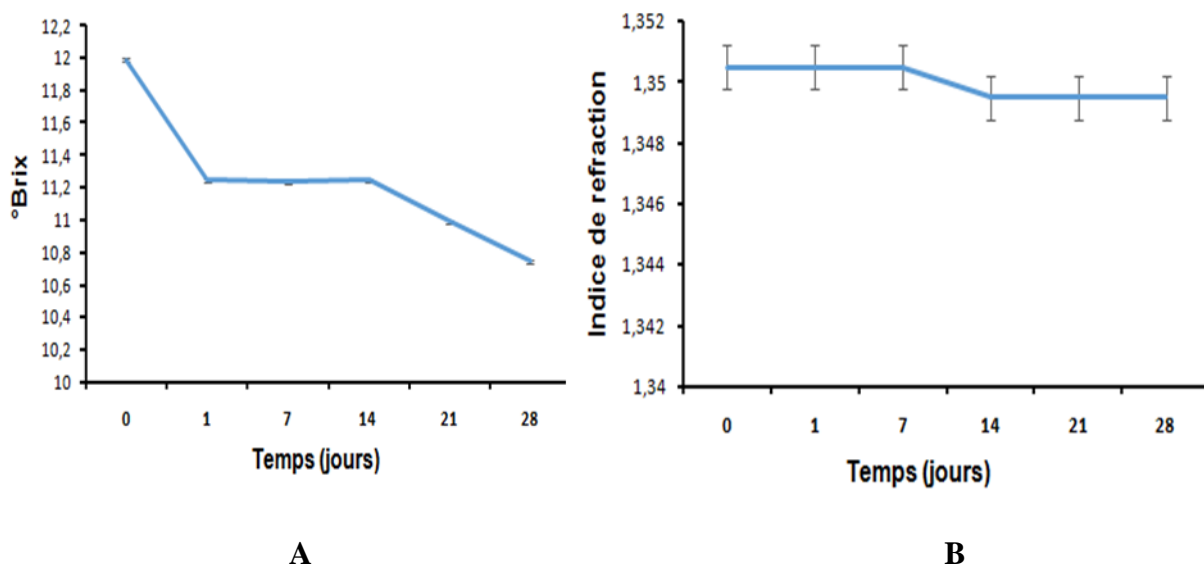
Cette baisse de densité observée au cours de la fermentation peut être expliquée par la transformation des sucres présents dans la boisson, en plus d'autres nutriments, par les bactéries probiotiques, produisant des volatils tels que les acides organiques et le gaz carbonique. Cela entraîne une perte de poids initiale du mélange pour le même volume, aboutissant alors à une chute de la densité.



**Figure 8.** Evolution de la densité de la boisson synbiotique pendant 28 jours de stockage à 4°C.

### III.2.2.3. Solides solubles totaux et indice de réfraction

Lors du suivi des échantillons de boisson, une régression de  $11.99\pm 0.01$  à  $10.47\pm 0.00$  °Brix a été enregistrée pour les TSS, tandis que l'indice de réfraction demeurait pratiquement constant, passant de  $1.350\pm 0.00$  à  $1.349\pm 0.00$  (**Figure 9**). Selon des études antérieures, ce décroissement des TSS est induit par la consommation des sucres suite au métabolisme bactérien lors de la fermentation (**Managa et al., 2021**).



**Figure 9.** Evolution des **A)** solides solubles totaux (°Brix) et de **B)** l'indice de réfraction de la boisson synbiotique pendant 28 jours de stockage à 4°C.

#### III.2.2.4. Polyphénols totaux

Les polyphénols suscitent un intérêt scientifique croissant en raison de leurs effets potentiels bénéfiques sur la santé humaine, tels que leur capacité cardio-protectrice, leur effet anti-cancer, antidiabétique, antiviellissement et neuro-protecteur. Dans les boissons, les polyphénols peuvent contribuer à l'amertume, à l'astringence, à la couleur, à la saveur, à l'odeur et à la stabilité oxydative (**Shewakena et al., 2017**).

De ce fait, nous avons procédé à la mesure de la concentration des composés polyphénoliques dans la boisson formulée. La quantification des polyphénols a été réalisée en utilisant la méthode qui repose sur l'oxydation des composés phénoliques par le réactif Folin-Ciocalteu, un mélange de complexes d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique de couleur jaune. Cette réaction d'oxydation conduit à la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleue, qui absorbe à 760 nm (**Haddouchi et al., 2016**).

Les résultats obtenus sont représentés graphiquement dans la **figure 11**. Une diminution de la concentration initiale des composés phénoliques dans la boisson a été remarquée au cours de la période de stockage. La descente passe de  $0,63 \pm 0,006$  mgEAG/ml de la boisson fraîche à un minimum de  $0,46 \pm 0,002$  mgEAG/ml 28<sup>ème</sup> jour de stockage froid.

L'activité métabolique de *Bacillus subtilis* peut possiblement contribuer à la dégradation des composés phénoliques au fil du temps. La présence d'oxygène et de lumière durant le stockage peuvent favoriser l'oxydation des composés phénoliques, et participer également à leur diminution (**Wang et al., 2017**).



Il est également important de noter que les interactions entre les différents composants de la boisson peuvent faciliter la formation de complexes moins stables, qui sont plus susceptibles de se dégrader avec le temps. Par exemple, les interactions entre les polyphénols et les protéines se produisent principalement de manière non covalente, où les polyphénols sont simplement adsorbés à la surface des protéines (Baba et al., 2016).

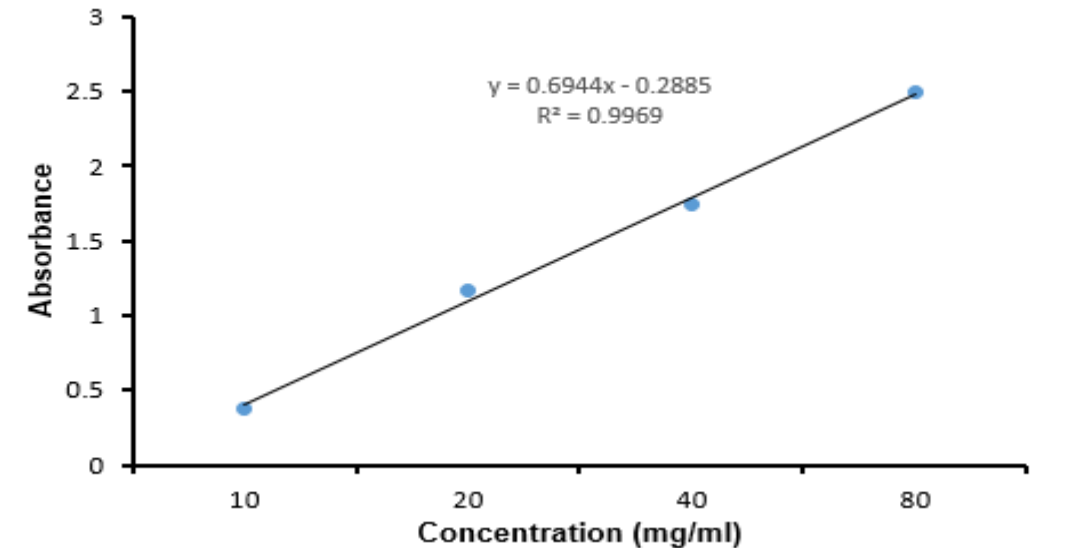


Figure 10. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour dosage des composés phénoliques.

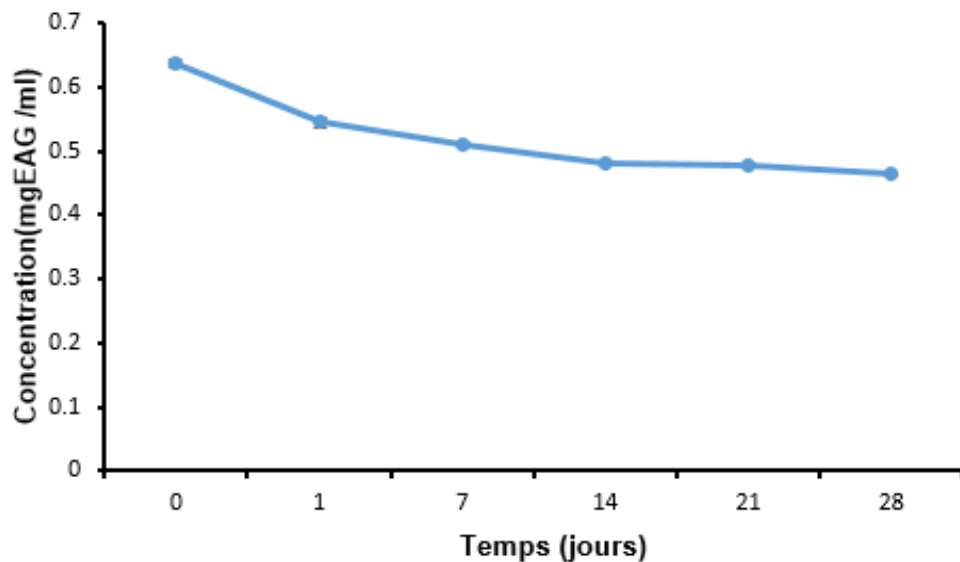


Figure 11. Evolution de la concentration des polyphénols de la boisson synbiotique pendant 28 jours de stockage à 4°C.

Toutefois, la diminution des composés phénoliques peut aussi être stimulée par des facteurs externes tels que le pH de la boisson et la capacité de *Bacillus subtilis* à produire des enzymes lytiques (Kayath et al., 2020).

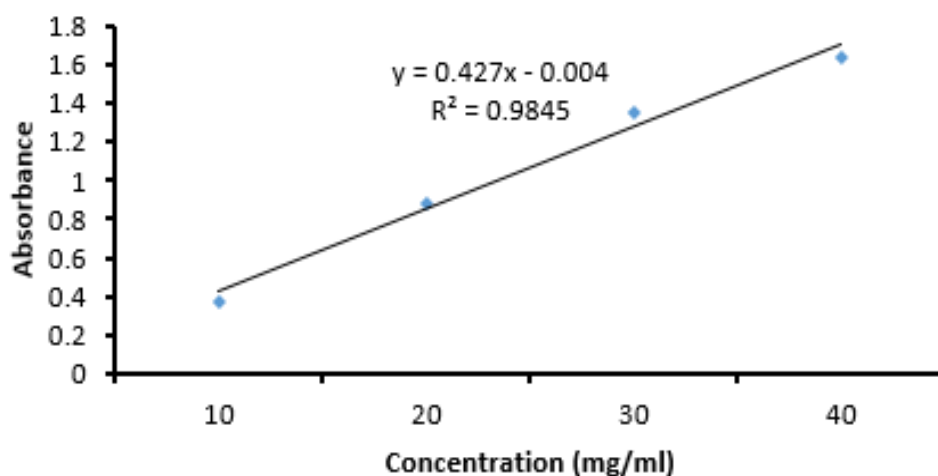
### III.2.2.5. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes, faisant partie des métabolites secondaires végétaux, sont des composés naturels dotés d'une structure polyphénolique, présents de manière répandue dans les fruits et les légumes. Leur vaste spectre d'effets bénéfiques pour la santé inclut des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antimutagènes et anticancéreuses. En raison de ces caractéristiques, les flavonoïdes sont considérés comme des éléments essentiels dans de nombreuses applications nutraceutiques, pharmaceutiques, médicinales et cosmétiques (Panche et al., 2016).

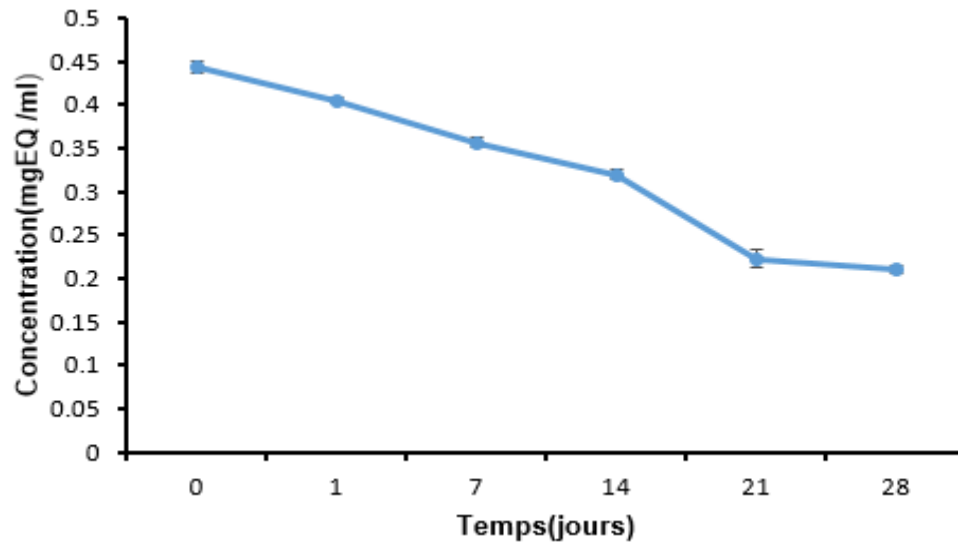
La teneur totale en flavonoïdes a été déterminée à l'aide d'une méthode fondée sur leur oxydation par le chlorure d'aluminium incolore, pour former un complexe brunâtre qui présente une absorption à une longueur d'onde de 430 nm (Shirazi et al., 2014; Haddouchi et al., 2016).

La **figure 13** représente les variations des concentrations en flavonoïdes dans la boisson étudiée. Les résultats révèlent une diminution progressive de la concentration des flavonoïdes dans la boisson au fil du temps. Après 14 jours de stockage, la concentration s'est passée de  $0.44 \pm 0.006$  à  $0.20 \pm 0.004$  mgEQ/ml après 28 jours.

De surcroît, la présence de la souche probiotique *Bacillus subtilis* favorise la biosynthèse des enzymes peroxydase et polyphénol oxydase, qui participent activement au métabolisme des phénols et des flavonoïdes (Chandrasekaran et al., 2019). D'après Chen et al. (2021), la biodisponibilité des flavonoïdes est influencée par divers facteurs, dont leur structure chimique, le pH, la température, les interactions avec les microorganismes, ainsi que les conditions de stockage.



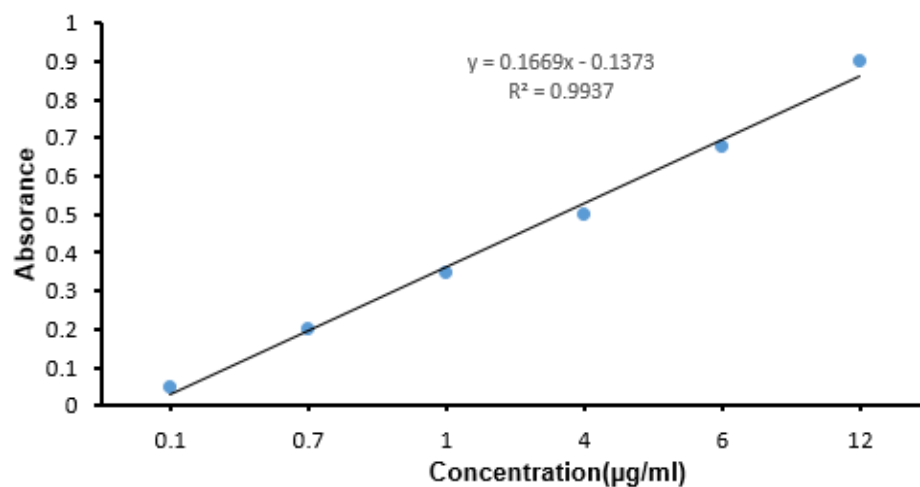
**Figure 12.** Courbe d'étalonnage de la quercétine pour dosage des flavonoïdes.



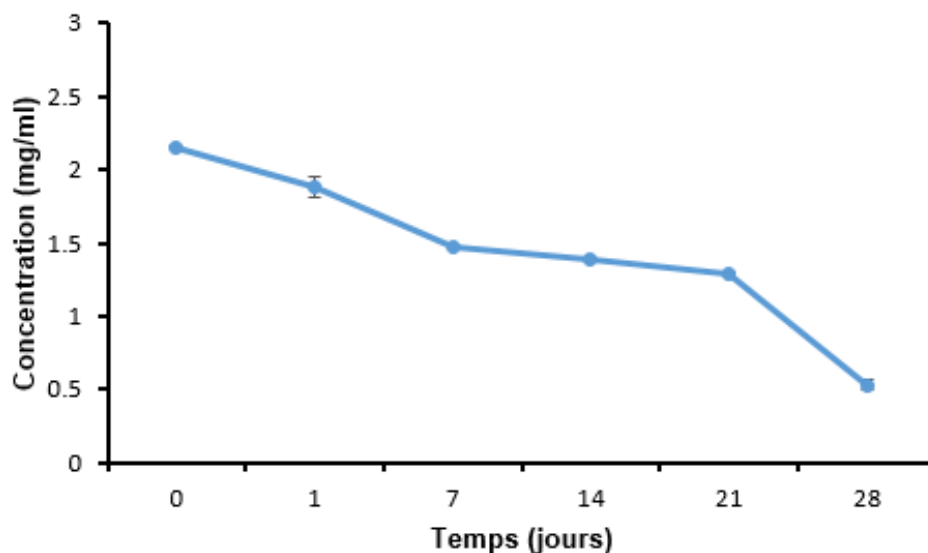
**Figure 13.** Evolution de la concentration des flavonoïdes de la boisson synbiotique pendant 28 jours de stockage à 4°C.

### III.2.2.6. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes se distinguent parmi les composés bioactifs alimentaires en raison de leurs nombreux bienfaits avérés pour la santé humaine. En plus de leur rôle essentiel de précurseurs de la vitamine A, ces molécules lipophiles jouent un rôle crucial en tant qu'antioxydants naturels puissants et servent également de colorants naturels. Présentant des propriétés biologiques favorables, les caroténoïdes renforcent le système immunitaire, préviennent certains cancers, les maladies cardiovasculaires, ainsi que les troubles osseux, cutanés et oculaires (Mapelli-Brahm et al., 2020). Les résultats obtenus pour la détermination de ces pigments dans les boissons jus de potiron et lactosérum sont illustrés de manière graphique dans la **figure 15**.

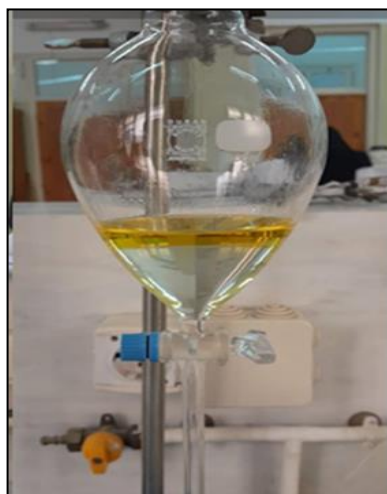


**Figure 14.** Courbe d'étalonnage de la  $\beta$ -carotène pour dosage des caroténoïdes.



**Figure 15.** Evolution de la concentration des caroténoïdes de la boisson synbiotique pendant 28 jours de stockage à 4°C.

Une baisse notable de la concentration initiale de  $\beta$ -carotène dans la boisson a été constatée pendant la période de stockage. Cette diminution palpable a conduit la concentration initiale de  $2.15 \pm 0.007$  mg/ml dans la boisson fraîche à un minimum de  $0.5 \pm 0.03$  mg/ml au 28<sup>ème</sup> jour de stockage à froid. La diminution des caroténoïdes dans les boissons pendant le stockage est principalement due à la présence d'oxygène, de lumière, des métaux, d'enzymes et de peroxydes, qui provoque des réactions d'isomérisation et d'oxydation. De plus, la gestion inadéquate de l'espace libre dans les bouteilles peut entraîner l'incorporation de l'oxygène dans le jus, favorisant ainsi la dégradation des caroténoïdes (Castro-López et al., 2016).



**Figure 16.** Séparation de la phase organique contenant les caroténoïdes de la phase aqueuse.

La stabilité des caroténoïdes dépendait de divers facteurs, qu'ils soient externes comme la sévérité du traitement thermique, la présence ou l'absence de lumière, la température de stockage, l'emballage, ou internes comme les compositions chimiques de la matrice alimentaire,

la quantité d'oxygène dissous dans l'aliment, la taille des particules, et l'état physique des caroténoïdes dans l'aliment (Liu et al., 2019).

### III.2.2.7. Activité antioxydante (test DPPH)

Le test de piégeage du radical libre DPPH a été utilisé pour évaluer l'activité antioxydante d'une boisson probiotique. Le radical libre stable DPPH, de couleur violacée, présente une absorption à 517 nm. En présence de composés antiradicalaires, ce radical subit une réduction entraînant un changement de couleur vers le jaune. Les mesures d'absorbance permettent de quantifier le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, qui est directement lié au pouvoir antiradicalaire de l'échantillon (Bentabet et al., 2014).

L'activité antioxydante de la boisson jus de potiron : lactosérum : *B. subtilis* augmente de 55.49% à un pic de 88.02% au 7<sup>ème</sup> jour de conservation (Tableau 8). Il est intéressant de signaler que l'action antioxydante des boissons a suivi une allure inversement proportionnelle à la dose testée, avec des maximas pour la concentration 10 mg/ml. La richesse initiale de la boisson en composés à caractère antioxydant, à l'image des polyphénols, des flavonoïdes, des caroténoïdes et de la vitamine C, des antioxydants du lactosérum (Lactoperoxydase,  $\alpha$ -lactalbumine et  $\beta$ -lactoglobuline), voire même leur synergie, est potentiellement responsable de cet effet croissant durant les premières deux semaines de conservation.

**Tableau 8.** Activité antioxydante maximale pendant 28 jours de stockage à 4°C.

Temps (jour)	0	1	7	14	21	28
Inhibition (%)	55.49	84.36	88.02	73.38	74.92	73.52

De même, il peut y avoir une activité de la souche probiotique *Bacillus subtilis*, synthétisant des métabolites bioactifs comme les caroténoïdes qui s'accumulent durant la conservation. Plusieurs rapports ont démontré de manière convaincante que les composés phénoliques possèdent de puissantes propriétés antioxydantes, agissant comme capteurs d'oxygène, décomposeurs de peroxydes, agents chélateurs des métaux et inhibiteurs des radicaux libres (Babbar et al., 2015).

Au-delà, les flavonoïdes sont des antioxydants importants en raison de leur potentiel redox élevé, qui leur permet d'agir en tant qu'agents réducteurs, donneurs d'hydrogène et pièges à oxygène singulet (Babbar et al., 2015). Les caroténoïdes sont des composés naturels reconnus pour leurs propriétés antioxydantes. Ils ont la capacité de neutraliser diverses espèces réactives de l'oxygène, telles que l'oxygène singulet et les radicaux peroxydes, en plus de leur efficacité dans le piégeage des radicaux libres (Rasmus et kozłowska, 2023).

Cependant, ce pourcentage maximum d'activité antioxydante a diminué au cours de la dernière quinzaine de jours vers 73.52%. Cette diminution peut être attribuée à l'oxydation des composés antioxydants présents dans la boisson ou à leur dégradation sous l'action de *Bacillus subtilis*.

En comparaison avec la vitamine C comme standard positif, les résultats ont montré que cette dernière était plus avantageuse avec une valeur d'IC50 (0.119 mg/ml) plus basse que la marge obtenue pour la boisson au long du stockage (entre 2.68 et 37.55 mg/ml) (figures 17 et 18). Paradoxalement, les IC50 les plus élevées durant le stockage ont été remarquées où l'effet antioxydant est le plus prononcé, ce qui traduit des degrés contrastés de dissipation de la force anti-radicalaire des boissons en réponse à l'augmentation de la dose employée. Une réactivité améliorée à faibles doses, suite à une meilleure disponibilité des composés bioactifs ou une absence d'antagonisme entre eux, peut se présenter comme clarification possible de cette controverse.

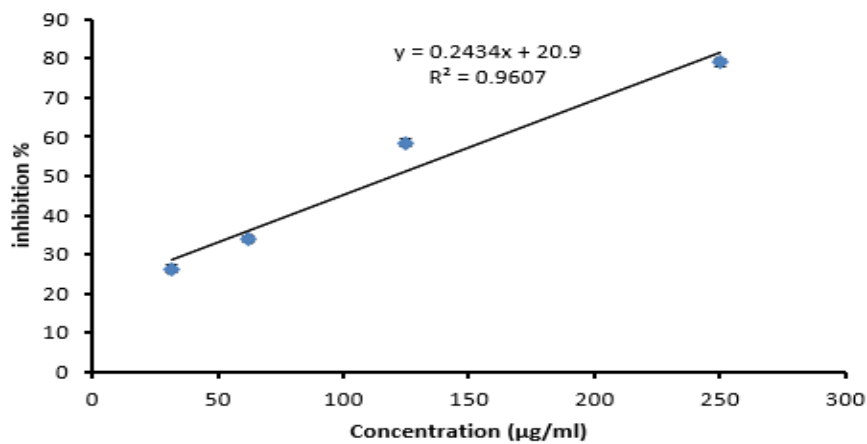


Figure 17. Courbe d'étalonnage du piégeage du radical DPPH (vitamine C).

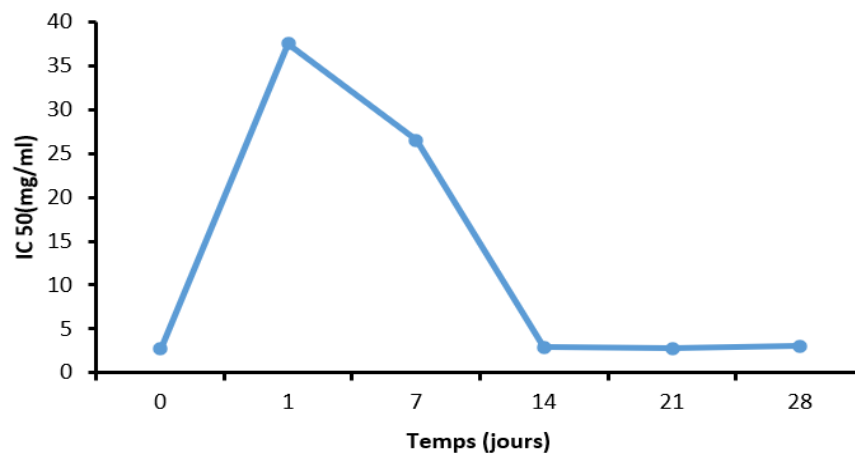


Figure 18. Evolution de l'IC50 de la boisson synbiotique pendant 28 jours de stockage à 4°C.

### III.2.3. Qualité microbiologique

La qualité microbiologique des boissons est affectée par leur composition, le respect des bonnes pratiques d'hygiène durant la chaîne de production, ainsi que les conditions de stockage et de conservation.

Les analyses microbiologiques des boissons ont pour objectif d'évaluer les risques sanitaires pour les consommateurs et de garantir la sécurité alimentaire en détectant la présence des micro-organismes pathogènes tels que les bactéries, les levures et les moisissures. Elles permettent également d'assurer la qualité hygiénique globale afin de prévenir toute contamination et de veiller à la conformité aux normes strictes de qualité et de sécurité alimentaire (**Ouattara et al., 2018**). Le tableau ci-dessous présente les résultats des analyses microbiologiques effectuées sur la boisson synbiotique :

**Tableau 9.** Résultats des analyses microbiologiques de la boisson synbiotique.

	Résultat (UFC/ml)	Norme (UFC/ml)
<b>FAMT</b>	Absent	$< 10^3$
<b>Levures et moisissures</b>	Absent	$< 10^2$
<b>Coliformes totaux</b>	Absent	$< 10^2$
<b>Coliformes fécaux</b>	Absent	$< 10$

Les analyses microbiologiques réalisées sur la boisson synbiotique ont révélé une absence totale de la flore mésophile aérobie totale dans les deux répétitions. Le dénombrement des FAMT atteste que des mesures préventives adéquates ont été prises lors de la préparation de la boisson (**Graça et al., 2017**). Selon la réglementation algérienne, le nombre de FAMT dans les jus à base de fruits et de légumes ne doit pas dépasser  $10^3$  UFC/ml. Par conséquent, la boisson ainsi élaborée respecte parfaitement les normes nationales.

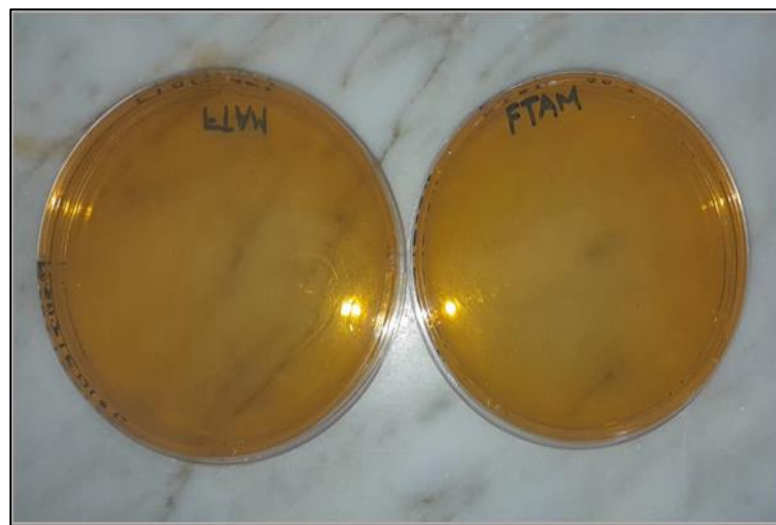
En outre, il a été constaté une absence totale de croissance des coliformes totaux et fécaux, ce qui est en conformité avec les normes établies par le **Journal Officiel de la République Algérienne (JORA, 1998)**. Ces résultats sont également cohérents avec ceux obtenus par **Mwanzia (2022)** lors de la formulation d'un jus probiotique à base de mangue, où aucun coliforme n'a été détecté. Cette conformité aux normes démontre le respect des bonnes pratiques d'hygiène lors de la préparation du produit final et des manipulations effectuées.

Finalement, aucune levure ni moisissure n'a été détectée, ce qui est conforme à la norme établie par le **Journal Officiel de la République Algérienne (JORA, 2017)** fixée à  $10^2$  UFC/ml. Ces résultats témoignent de la bonne qualité de la boisson analysée et des conditions de stockage favorables. Il est donc essentiel de respecter les règlements d'hygiène alimentaire afin

de prévenir toute contamination et infection fongique, dans le but d'assurer la sécurité des aliments (**Ouattara et al., 2018**).

L'innocuité microbiologique des boissons est corrélée à l'efficacité du traitement thermique appliqué et aux bonnes pratiques d'hygiène suivies lors de leur préparation ou même à l'analyse (**Benchabane et al., 2012**)

Toutefois, la réfrigération est l'une des méthodes de conservation les plus couramment utilisées pour prolonger la durée de conservation (**Daneshi et al., 2013**). Il a été démontré que la réfrigération à une température de 4°C du produit fini permet de ralentir la croissance des micro-organismes (**Hsieh et Ko., 2008**).

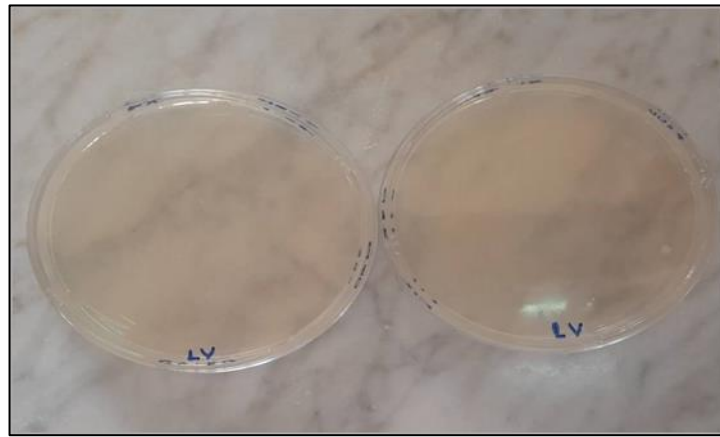


**Figure 19.** Dénombrement de la FAMT sur un milieu PCA.



**Figure 20.** Dénombrement des coliformes fécaux et totaux sur un milieu VRBL.





**Figure 21.** Dénombrement des levures et moisissures sur un milieu PDA.

### III.2.3.1. Viabilité du probiotique *Bacillus subtilis*

La souche *Bacillus subtilis* est généralement reconnue comme sûre (Generally Recognized as Safe) par la FDA, ce qui signifie qu'elle n'est pas nocive pour les animaux ou les humains. En tenant compte de ses propriétés bénéfiques, cette bactérie est un candidat probiotique potentiel à considérer dans les aliments fonctionnels (Olmos, 2014).

Elle forme des colonies rondes de taille moyenne, opaques, de couleur grise-blanche ou légèrement jaune sur le milieu de culture. Les colonies se caractérisent par leur aspect rugueux, opaque et leur surface peut être lisse (Lu et al., 2018).

Dans la présente étude, la survie de la culture probiotique a été surveillée après la fermentation pendant 28 jours à une température de réfrigération de 4°C. La culture probiotique présente dans la boisson a maintenu une bonne viabilité durant le stockage frigorifique, malgré une perte progressive chaque semaine. Le nombre initial de bactéries probiotiques viables était de  $5.02 \times 10^6$  UFC/ml, diminuant à  $2.02 \times 10^6$  UFC/ml au dernier jour de conservation, tout en restant au-dessus de la valeur efficace minimale recommandée ( $10^6$  UFC/ml) pour les probiotiques au moment de la consommation (Commission du Codex Alimentarius, Norme Codex 243).

La diminution de la charge probiotique est identiquement évoquée par les données de Dimitrovski et al. (2021) sur la fermentation du jus de potiron avec la souche probiotique *Lactobacillus casei* 431, ou par les conclusions de Tan et al. (2020) portant sur la fermentation d'une boisson nutritionnelle avec *Bacillus subtilis*.

La souche de *B. subtilis* serait plus avantageuse que d'autres en tant que culture initiale dans le processus de développement de boissons présentant une richesse en activités biologiques (Lee et al., 2016).

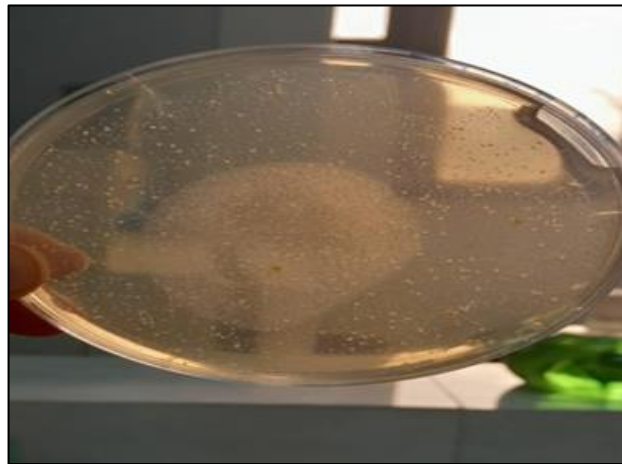


Figure 22. Colonies de *Bacillus subtilis*.

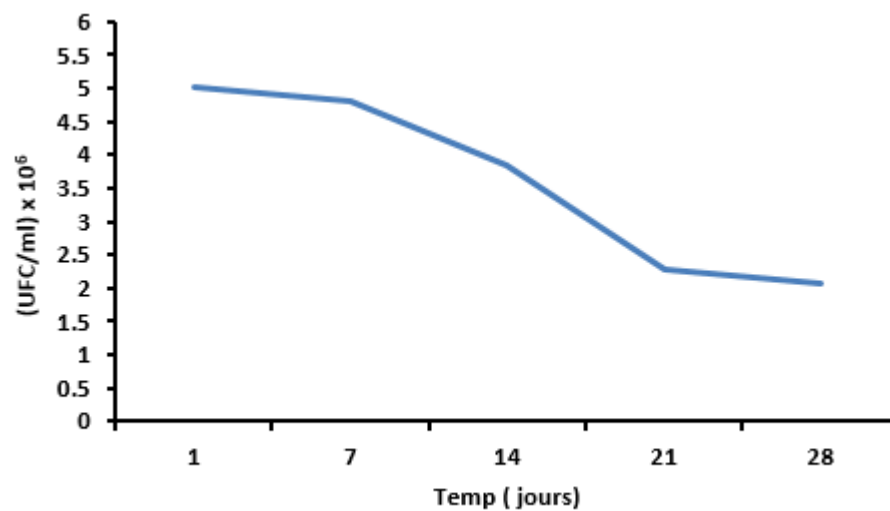


Figure 23. Survie de *Bacillus subtilis* dans la boisson synbiotique pendant 28 jours de stockage à 4°C.

Les principaux facteurs de perte de viabilité des organismes probiotiques sont attribués à la diminution du pH du milieu et à l'accumulation d'acides organiques résultant de la croissance et de la fermentation. Cependant, il convient de noter que la viabilité cellulaire est également influencée par les souches utilisées, les interactions entre les espèces, les conditions de culture, la teneur en oxygène, l'acidité finale du produit, ainsi que la concentration d'acide lactique et acétique (Reddy et al., 2015).

La diminution des niveaux de TSS et de l'extrait sec total peut être considérée aussi comme un facteur à impact dans la réduction de la viabilité de *Bacillus subtilis*, car elle ne dispose plus du même niveau de nutriments essentiels pour maintenir ses fonctions métaboliques et sa croissance.

## *Conclusion*

## *Conclusion*

Les synbiotiques sont une combinaison de probiotiques et de prébiotiques avec une activité potentielle de modulation immunitaire et de restauration de la flore intestinale. L'utilisation d'une telle combinaison de manière préventive ou thérapeutique semble avoir un sens considérable, car l'administration ou le réapprovisionnement d'un microbe biologiquement bénéfique avec sa nourriture pourrait avoir un effet synergique par rapport à chaque composant pris individuellement (Neu, 2021).

Malgré qu'elle représente plusieurs défis à mettre en place, la synbiotisation des boissons novatrices est une tendance croissante dans la recherche et l'industrie agroalimentaire. Dans ce prétexte, cette étude visait principalement à formuler puis qualifier physico-chimiquement, microbiologiquement, et sensoriellement une nouvelle boisson synbiotique fusionnant le lactosérum doux au jus de potiron local et au probiotique *B. subtilis*.

Les résultats des analyses de caractérisation des matières premières menées sur le lactosérum et le jus de potiron ont démontrés une bonne conformité aux critères de qualité souvent requis.

En termes de boisson synbiotique élaborée, une acidité douce, une densité acceptable et un contenu assez satisfaisant en minéraux, sucres et métabolites secondaires (polyphénols et caroténoïdes) constituent de près une qualité nourricière globale intéressante de la formule (65/35) choisie par les panélistes, à côté d'un ensemble d'attributs perceptuels, particulièrement dégustative et olfactive, bien attrayants. Plus loin, la boisson conçue était salubre microbiologiquement sans aucune contamination bactérienne ou fongique.

L'entreposage froid n'avait pas de retentissement dramatique sur les traits notés, avec une diminution non nuisible de l'acidité, une stabilité en TSS et un impact antioxydant tangible mais incessamment au-dessous de la vitamine C. En contrepartie, la perte des polyphénols, flavonoïdes et caroténoïdes est le caractère compromis durant le stockage froid. Tout de même, le probiotique *Bacillus subtilis* diminue guère durant cette période, sans descendre de la barre minimale de charge bénéfique exigée, reflétant l'aptitude de cette souche à s'adapter et persister dans ce type de produit fermenté.

Grosso modo, la boisson synbiotique fabriquée dans cette étude confère un potentiel nutritif et curatif intéressant pour une consommation domestique ou même une commercialisation locale en tant que produit artisanal. En perspective, avant d'envisager un accès potentiel au marché industriel et une exploitation complète de son potentiel, il sera

indispensable d'approfondir la compréhension des bienfaits de ce breuvage sur la santé humaine, tout en travaillant à l'amélioration de ses différentes qualités.

## *Références bibliographiques*

*Références bibliographiques*

- Adda, M. (2002). Contribution à l'étude de la fixation des protéines des lactosérums doux et acide par la bentonite de M'zila brute et traité. Mémoire Magister en science Agronomique, Tiaret, p. 81.
- Adjou, E., Amamion, H., Tchobo, F. P., Aissi, V., & Soumanou, M. (2013). Extraction assistée par enzyme du jus de la pulpe fraîche du rônier (*Borassus aethiopum* Mart.) acclimaté au Bénin : caractérisation physico-chimique et microbiologique. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 7(3), 1135. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v7i3.20>.
- Association Française de Normalisation AFNOR (1986). Recueil des normes françaises. Lait et produits laitiers. Méthodes d'analyses.
- Alexopoulos, C., Georgoulakis, I. E., Tzivara, A., Kyriakis, C. S., Govaris, A., & Kyriakis, S. C. (2004). Field evaluation of the effect of a probiotic-containing *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* spores on the health status, performance, and carcass quality of grower and finisher pigs. *Journal of Veterinary Medicine A*, 51, 306–312.
- Alfawaz, M. A. (2004). Chemical composition and oil characteristics of pumpkin (*Cucurbita maxima*) seed kernels. *Food Science and Agriculture*, 2(1), 5-18.
- AlJahani, A., & Cheikhousman, R. (2017). Nutritional and sensory evaluation of pumpkin-based (*Cucurbita maxima*) functional juice. *Nutrition & Food Science*, 47(3), 346–356. <https://doi.org/10.1108/nfs-07-2016-0109>
- AOAC. (1990). The Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists (15th ed.). Washington, DC
- AOAC. (1995). Official methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists International (16th ed.). Arlington, VA : AOAC International.
- Argyri, A. A., Zoumpopoulou, G., Karatzas, K.-A. G., Tsakalidou, E., Nychas, G.-J. E., Panagou, E. Z., & Tassou, C. C. (2012). Selection of potential probiotic lactic acid bacteria from fermented olives by in vitro tests. *Food Microbiology*.
- Arnous, A., Makris, D. P., & Kefalas, P. (2001). Effect of principal polyphenolic components in relation to antioxidant characteristics of aged red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(12), 5736-5742. <https://doi.org/10.1021/jf010827s>

- Baba, W. N., Din, S., Punoo, H. A., Wani, T. A., Ahmad, M., & Masoodi, F. A. (2016b). Comparison of cheese and paneer whey for production of a functional pineapple beverage: Nutraceutical properties and Shelf life. *Journal of Food Science and Technology/Journal of Food Science and Technology*, 53(6), 2558–2568. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2218-8>
- Babbar, N., Oberoi, H. S., & Sandhu, S. K. (2015). Therapeutic and Nutraceutical Potential of Bioactive Compounds Extracted from Fruit Residues. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(3), 319-337. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.653734>
- Balaji, V., & Prasad, V. M. (2014). Studies on value added kinnow aonla blended RTS beverages. *Food Processing and Technology*, 5(1), 1-4.
- Baud, D., Agri, V. D., Gibson, G. R., Reid, G., & Giannoni, E. (2020). Using Probiotics to Flatten the Curve of Coronavirus Disease COVID-2019 Pandemic. *Frontiers in Public Health*, 8.
- Begam, S., Das, P. C., & Karmoker, P. (2018). Processing of mixed fruit juice from mango, orange and pineapple. *Fundamental and Applied Agriculture*, 1. <https://doi.org/10.5455/faa.289995>
- Benchabane, A., Kechida, F., Belaloui, D., Aoudjit, R., & Ould El Hadj, M. D. (2012). Valorisation de la datte par la formulation d'une boisson à base de lait et de jus d'orange. *Algerian Journal of Arid Environment*, 2(1), 25-35.
- Bensadón, S., Hervert-Hernández, D., Sáyago-Ayerdi, S. G., & Goñi, I. (2010). Byproducts of *Opuntia ficus-indica* as a source of antioxidant dietary fiber. *Plant Foods for Human Nutrition*, 65(3), 210-216.
- Bentabet, N., Boucherit-Otmani, Z., & Boucherit, K. (2014). Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie. *Phytothérapie*, 12(6), 364–371. <https://doi.org/10.1007/s10298-014-0834-x>
- Bergel, D., Feron, A., & Mollica. (2004). CRESO – UMR 6590 CNRS n° 21. Université de Caen, ESO.
- Bernier, L. 2010. Les probiotiques en 2010: une revue de la littérature scientifique. Thèse doctorat, Université d'Angers, France.



- Bouazri, Nour el Houda. (2012). Essai de valorisation du lactosérum en fromagerie : cas d'un fromage fondu à base d'ail et fines herbes. Master académique, Université Saad DAHLAB.
- Boudjema K., Fazouane-Naimi F., Hellal A., Mechakra A. (2009). Optimisation et modèle de production d'acide lactique par *Streptococcus thermophilus* sur lactosérum. *Sciences & Technologie*, 29: 80-90.
- Bouizar R., Mouzai A., Boughellout H. 2021. Impact of milk substitution by sweet whey on chocolate mousse physicochemical, microstructural and sensory properties. *Algerian Journal of Nutrition and Food Sciences*, 1(4), 17–24.
- Boulariah, L., & Boukela, L. (2019). Essai de formulation d'un yaourt à boire à base de lactosérum et de purée de carotte (Mémoire de master, Université Moulou Mammeri).
- Božanić, R., Barukčić, I., & Lisak, K. (2014). Possibilities of whey utilisation. *Austin Journal of Nutrition and Food Sciences*, 2(7), 1-7.
- Brito, P. S. D. (2013). Review of cheese whey recovery technologies. In "Recycling: Technological systems, management practices and environmental impact" (pp.119-144). Nova Science Publishers.
- Butnariu, M., Sarac, I. (2019). Functional Food. *International Journal of Nutrition*. Vol. 3 Issue 3, 7- 16.
- Caili, F. U., Huan, S., & Quanhong, L. I. (2006). A review on pharmacological activities and utilization technologies of pumpkin. *Plant foods for human nutrition*, 61, 70-77.
- Castelli, H., & Duvale, L. (2013). Handbook on cheese: Production, chemistry and sensory properties (pp. 459-502). Nova Science Publishers.
- Castro-López, C., Sánchez-Alejo, E., Saucedo-Pompa, S., Rojas, R., Aranda-Ruiz, J., & Martínez-Avila, G. (2016). Fluctuations in phenolic content, ascorbic acid and total carotenoids and antioxidant activity of fruit beverages during storage. *Heliyon*, 2(9), e00152. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2016.e00152>
- Caulier, S. (2019). Overview of the antimicrobial compounds produced by members of the *Bacillus subtilis* group. *Frontiers in Microbiology*, 10, 302. <https://doi.org/10.3390/>
- Chandrasekaran, M., Chun, S. C., Oh, J. W., Paramasivan, M., Saini, R. K., & Sahayarayan, J. J. (2019). *Bacillus subtilis* CBR05 for Tomato (*Solanum lycopersicum*) Fruits in South

- Korea as a Novel Plant Probiotic Bacterium (PPB): Implications from Total Phenolics, Flavonoids, and Carotenoids Content for Fruit Quality. *Agronomy*, 9(12), 838. <https://doi.org/10.3390/agronomy9120838>
- Chatterjee, G., De Neve, J., Dutta, A., & Das, S. (2015). Formulation and statistical evaluation of a ready-to-drink whey based orange beverage and its storage stability. *Revista Mexicana de ingeniería química*, 14(2), 253-264.
- Chen, L., Cao, H., Huang, Q., Xiao, J., & Teng, H. (2021). Absorption, metabolism and bioavailability of flavonoids: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(28), 7730–7742. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1917508>
- Chunhieng, T., Hay, L., & Montet, D. (2005). Detailed study of the juice composition of noni (Morindacitrifolia) fruits from Cambodia. *Fruits*, 60(1), 13–24. <https://doi.org/10.1051/fruits:2005008>
- Cibbar, R., Alahmadi, A., & Dielema, L. A. (2017). Implications for human health, prebiotics, probiotics, and dysbiosis treatment of inflammatory bowel disease in ulcerative colitis. *The Microbiota in Gastrointestinal Pathophysiology* (p. 343-354).
- Daneshi, M., Ehsani, M. R., Razavi, S. H., & Labbafi, M. (2013). Effect of refrigerated storage on the probiotic survival and sensory properties of milk/carrot juice mix drink. *Electronic Journal of Biotechnology*, 16(5). <https://doi.org/10.2225/vol16-issue5-fulltext-2>
- Devi, N. M., Prasad, R. V., & Sagarika, N. (2018). A review on health benefits nutritional composition of pumpkin seeds. *International Journal of Chemical Studies*, 6(3), 1154–1157.
- Díaz, L. D., Fernández-Ruiz, V., & Cámara, M. (2020). An international regulatory review of food health-related claims in functional food products labeling. *Journal of Functional Foods*, 68, 103896. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103896>
- Dimitrovski, D., Dimitrovska- Vetadjoka, M., Hristov, H., & Doneva- Shapceska, D. (2021). Developing probiotic pumpkin juice by fermentation with commercial probiotic strain *Lactobacillus casei* 431. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(3). <https://doi.org/10.1111/jfpp.15245>
- FAO. (1995). Le lait et produits laitiers dans la nutrition humaine. Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture, Rome.

- Fernandes Pereira, A. L., & Rodrigues, S. (2018). Turning fruit juice into probiotic beverages. In *Fruit Juices* (p.279- 287). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802230-6.00015-1>
- Gao, H., Wen, J. J., Hu, J. L., Nie, Q. X., Chen, H. H., Nie, S. P., Xiong, T., & Xie, M. Y. (2019). Momordica charantia juice with Lactobacillus plantarum fermentation: Chemical influence of storage conditions. *Journal of Food Science*, 68(6), 2111-2116
- Ghazi, K., & Niar, A. (2011). Qualité hygiénique du lait cru de vache dans les différents élevages de la wilaya de Tiaret (Algérie). *Tropicultura*, 29(4), 193-196.
- Giampieri, F., Forbes-Hernandez, T. Y., Gasparri, M., Afrin, S., Cianciosi, D., Reboledo-Rodriguez, P., & Battino, M. (2017). The healthy effects of strawberry bioactive compounds on molecular pathways related to chronic diseases. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1398(1), 62-71.
- Gibson, G. R. (2004). Fibre and effects on probiotics (the prebiotic concept). *Clinical Nutrition Supplements*, 1(2), 25-31.
- Gibson, G. R., Probert, H. M., Van Loo, J., Rastall, R. A., & Roberfroid, M. B. (2004). Dietary modulation of the human colonic microbiota: Updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews*, 17(2), 259-275.
- Gibson, G.R., Scott, K.P, Rastall, R.A, Tuohy, K.M., Hotchkiss, A., Dubert-Ferrandon, A. et al. (2010). Dietary prebiotics: current status and new definition. *Food Science and Technology Bulletin; Functional Foods* 7(1):1-19.
- Glew, R. H., Glew, R. S., Chuang, L. T., Huang, Y. S., Millson, M., Constans, D., & Vanderjagt, D. J. (2006). Amino acid, mineral and fatty acid content of Cucurbita maxima seeds (Cucurbita spp.) and Cyperus esculentus nuts in the Republic of Niger. *Plant Foods for Human Nutrition*, 61, 51–56.
- Graça, A., Esteves, E., Nunes, C., Abadías, M., & Quintas, C. (2017). Microbiological quality and safety of minimally processed fruits in the marketplace of southern Portugal. *Food Control*, 73, 775–783. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.09.046>
- Guarino, A., Guandalini, S., & Vecchio, A. L. (2015). Probiotics for prevention and treatment of diarrhea. *Journal of clinical gastroenterology*, 49, S37-S45.
- Guiné, R. (2012). Food product development: Whey cheese with pumpkin jam. *Academic Research International*.

- Guiraud, J. (1998). *Microbiologie Alimentaire*. Paris : Dunod. 652 p.
- Habib, M. A. B., & Iqbal, A. (2014). Processing of Mixed Vegetable Juice from Tomato, Cucumber and Pumpkin. *Food Science and Technology*, 2(6), 83-91. <https://doi.org/10.13189/fst.2014.020603>
- Haddouchi, F., Chaouche, T. M., & Halla, N. (2016). Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. *Phytothérapie*. <https://doi.org/10.1007/s10298-016-1086-8>
- Hammache, A., Yettou, F. (2018). Étude de quelques propriétés probiotiques de souches de bactéries lactiques locales. (Mémoire de master, Université A. MIRA – Béjaia, Microbiologie appliquée).
- Hsieh, C.-W., & Ko, W.-C. (2008). Effect of high-voltage electrostatic field on quality of carrot juice during refrigeration. *LWT - Food Science and Technology*, 41(10), 1752- 1757. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.01.009>
- Ismail, A. E., Omer, M. O., & Ali, A. A. (2011). Microbial and chemical evaluation of whey based mango beverage. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 3(4), 250-253.
- Juliano, P., & Clarke, P. (2013). Whey utilization in Australia. *AusAID PSLP. Workshop, 1*, 26-31 August 2013.
- Kaur, A. P., Bhardwaj, S., Dhanjal, D. S., Nepovimova, E., Cruz-Martins, N., Kuča, K., ... & Šen, F. Plant prebiotics and their role in the amelioration of diseases., 2021, 11, 440.
- Kayath, C. A., Zamba, A. I., Mokémiabeka, S. N., Opa-Iloy, M., Wilson, P. S. E., Kaya-Ongoto, M. D., Maboulou, R. J. M., & Nguimbi, E. (2020b). Synergic Involvements of Microorganisms in the Biomedical Increase of Polyphenols and Flavonoids during the Fermentation of Ginger Juice. *International Journal of Microbiology*, 2020, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2020/8417693>
- Khodja, Z., & Yousfi, N. (2020). Etude de différentes voies de valorisation du lactosérum dans l'industrie agroalimentaire. Thèse de doctorat, Université Mohamed Boudiaf M'Sila.
- Kouadria, S., Abiza, D., & Benchaa, N. (2022). Rôle des prébiotiques et des probiotiques contre les infections Synthèse Bibliographique. Mémoire Magister en microbiologie appliquée. Djelfa.

- Labioui, H., Elmoualdi, L., Benzakour, A., El Yachioui, M., El Hassan Berny, E.H., & Ouhssine, M. (2009). Etude physicochimique et microbiologique de laits crus. *Bulletin de la Société Pharmaceutique de Bordeaux*, 148, 7-16.
- Leahu, A., Damian, C., Carpiuc, N., Oroian, M., & Avramiuc, M. (2013). Change in colour and physicochemical quality of carrot juice mixed with other fruits. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 19, 241-246.
- Lee, K. H., Kim, S. H., Woo, K. S., Kim, H. J., Choi, H. S., Kim, Y. H., & Song, J. (2016). Functional beverage from fermented soymilk with improved amino nitrogen,  $\beta$ -glucosidase activity and aglycone content using *Bacillus subtilis* starter. *Food Science and Biotechnology/Food Science and Biotechnology*, 25(5), 1399–1405. <https://doi.org/10.1007/s10068-016-0218-0>
- Liu, G., Li, L., Yu, G., & Li, Q. (2018). Pumpkin polysaccharide modifies the gut microbiota during alleviation of type 2 diabetes in rats. *International Journal of Biological Macromolecules*, 115, 711–717. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.04.127>
- Liu, X., Liu, J., Bi, J., Cao, F., Ding, Y., & Peng, J. (2019). Effects of high pressure homogenization on physical stability and carotenoid degradation kinetics of carrot beverage during storage. *Journal of Food Engineering*, 263, 63–69. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.05.034>
- Lopes, S. A., Roque-Borda, C. A., Duarte, J. L., Di Filippo, L. D., Borges Cardoso, V. M., Pavan, F. R., Chorilli, M., & Meneguim, A. B. (2023). Delivery strategies of probiotics from nano and microparticles: Trends in the treatment of inflammatory bowel disease—An overview. *Pharmaceutics*, 15, 2600. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15112600>
- Lu, Z., Guo, W., & Liu, C. (2018). Isolation, identification and characterization of novel *Bacillus subtilis*, *Journal of Veterinary Medical Science*, 80(3), 427–433. <https://doi.org/10.1292/jvms.16-0572>
- Maftai, N. M., Raileanu, C. R., Balta, A. A., Ambrose, L., Boev, M., Marin, D. B., & Lisa, E. L. (2024). The Potential Impact of Probiotics on Human Health: An Update on Their Health-Promoting Properties. *Microorganisms*, 12(2), 234. Mann, E. (1971). Lactalbumin and its uses. *Dairy Industries*, 36(1), 13-15. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12020234>

- Managa, M. G., Akinola, S. A., Remize, F., Garcia, C., & Sivakumar, D. (2021). Physicochemical Parameters and Bioaccessibility of Lactic Acid Bacteria Fermented Chayote Leaf (*Sechium edule*) and Pineapple (*Ananas comosus*) Smoothies. *Frontiers in Nutrition*, 8, 120. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.63736>
- Mapelli-Brahm, P., Barba, F. J., Remize, F., Garcia, C., Fessard, A., Khaneghah, A. M., Sant'Ana, A. S., Lorenzo, J. M., Montesano, D., & Meléndez-Martínez, A. J. (2020). The impact of fermentation processes on the production, retention and bioavailability of carotenoids: An overview. *Trends in Food Science & Technology*, 99, 389–401. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.03.013>
- Melia, S., Juliyarsi, I., Kurnia, Y. F., Pratama, Y. E., & Azahra, H. (2021). Examination of Titratable Acidity, pH, Total Lactic Acid Bacteria and Sensory Properties in Whey Fermented with Probiotic *Pediococcus acid lactic* BK01. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 10(1). <https://doi.org/10.17582/journal.aavs/2022/10.1.114.119>
- Menrad, K. (2000). Markt und Marketing von funktionellen Lebensmittel. *Agrarwirtschaft*, 49(8), 295–302.
- Mingmongkolchai, S., & Panbangred, W. (2018). *Bacillus* probiotics: An alternative to antibiotics for livestock production. *Journal of Applied Microbiology*, 124(6), 1334–1346.
- Muchirah, P. N., Waihenya, R., Muya, S., Abubakar, L., Ozwara, H., & Makokha, A. (2018). Characterization and anti-oxidant activity of *Cucurbita maxima* Duchesne pulp and seed extracts. *Journal of Phytopharmacology*, 7, 134–140.
- Muntean, E. (2005). Quantification of carotenoids from pumpkin juice by HPLC-DAD. Scientific Researches. *Agroalimentary Processes and Technologies*, 11(1), 123–128.
- Mwanzia, M. M. (2022). Formulation of probiotic mango juice and assessment of physicochemical characteristics, nutritive quality, culture viability and storage stability (doctoral dissertation, school of public health and applied human sciences, kenyatta university).
- Neu, J. (2021). Chapter 12 - Microbial therapies in the perinatal and neonatal period, Dans Neu, J. (Eds.), *The Microbiome in Prenatal and Neonatal Life* (PP. 107-115) Academic Press. ISBN 9780128205907, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820590-7.00012-7>.

- Novelina, N., Nazir, N., Fiana, R. M., & Yarni, D. F. (2020). Characteristics of Pumpkin (*Cucurbita moschata*) Fermented Beverage Products with the Addition of a Powder Milk Mixture. IOP Conference Series. *Earth and Environmental Science*, 515(1), 012054. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/515/1/012054>
- Olmos, J. (2014). *Bacillus subtilis* A Potential Probiotic Bacterium to Formulate Functional Feeds for Aquaculture. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, 06(07). <https://doi.org/10.4172/1948-5948.1000169>
- Ouattara, G. S., Soro, D., Chatigre, K. O., & Koffi, E. K. (2017). Caractérisation physico-chimique et sensorielle de diverses formulations de jus à base de pomme de cajou et d'ananas. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 10(6), 2447. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v10i6.4>
- Ouattara, Y., Lassana, B.T. and Mouhamadou, A. (2018) Contrôle de la qualité microbiologique des boissons de fabrication artisanale dans la commune V du District de Bamako. *Symposium Malien sur les Sciences Appliquées*, 7, 228-231.
- Ould El Hadj, M.D., Sebihi, A.H., and Siboukeur, O. (2001).Qualité Hygiénique et Caractéristiques Physico-Chimiques du Vinaigre Traditionnel de Quelques Variétés de Dattes de la Cuvette d'Ouargla. *Production et Valorisation Biomasse*,87-92
- Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*, 5. <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>
- Papademas, P., & Kotsaki, P. (2019). Technological utilization of whey towards sustainable exploitation. *J Adv Dairy Res*, 7(4), 231.
- Park, Y. W., Juárez, M., Ramos, M., &Haenlein, G. F. W. (2007). Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small ruminant research*, 68(1-2), 88-113.
- Pega, J., Denoya, G. I., Castells, M. L., Sarquis, S., Aranibar, G. F., Vaudagna, S. R., & Nanni, M. (2018). Effect of High-Pressure Processing on Quality and Microbiological Properties of a Fermented Beverage Manufactured from Sweet Whey Throughout Refrigerated Storage. *Food and Bioprocess Technology*, 11(6), 1101-1110.
- Picardo, S., Altuwaijri, M., Devlin, S. M., & Seow, C. H. (2020). Complementary and alternative medications in the management of inflammatory bowel disease. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, 13, 175628482092755. <https://doi.org/10.1177/1756284820927550>

- Radha, B., Esfandiari, A., Wang, F. C., et al. (2016). Molecular transport through capillaries made with atomic-scale precision. *Nature*, 538(7624), 222.
- Rasmus, P. ; Kozłowska, E. Effets antioxydants et anti-inflammatoires des caroténoïdes dans les troubles de l'humeur : un aperçu. *Antioxydants* 2023,12, 676. <https://doi.org/10.3390/ntiox12030676>
- Reddy, L. V., Min, J. H., & Wee, Y. J. (2015). Production of probiotic mango juice by fermentation of lactic acid bacteria. *Han'gug Mi'saengmul Saengmyeong Gong Haghoeji/Han-guk Misaengmul Saengmyeong Gonghak Hoeji*, 43(2), 120–125. <https://doi.org/10.4014/mbl.1504.04007>
- Roberfroid, M. B. (2000). Prebiotics and probiotics: Are they functional foods? *American Journal of Clinical Nutrition*, 71, 1682S-1687S.
- Ryan, M. P., & Walsh, G. (2016). The biotechnological potential of whey. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 15(3), 479–498. <https://doi.org/10.1007/s11157-016-9402-1>
- Saad, N., Delattre, C., Urdaci, M., Schmitter, J., & Bressollier, P. (2012). An overview of the last advances in Probiotic and Prebiotic field. *LWT-Food Science and Technology*.
- Sadler, G. D., & Murphy, P. A. (2010). pH and titratable acidity. In *Food Analysis* (pp. 219–238). Springer.
- Salmerón, I. (2017). « Fermented Cereal Beverages: From Probiotic, Prebiotic and Synbiotic towards Nanoscience Designed Healthy Drinks ». *Letters in Applied Microbiology* 65 (2): 11424. <https://doi.org/10.1111/lam.12740>.
- Sánchez, B., Delgado, S., Blanco- Míguez, A., Lourenço, A., Gueimonde, M., & Margolles, A. (2017). Probiotics, gut microbiota, and their influence on host health and disease. *Molecular nutrition & food research*, 61(1), 1600240.
- Shewakena, S., Chandravanshi, B.S., & Debebe, A. (2017). Levels of total polyphenol, flavonoid, tannin and antioxidant activity of selected Ethiopian fermented traditional beverages. *International Food Research Journal*, 24(5), 2033-2040.
- Shirazi, O. U., Khattak, M. M. A. K., Mohd Shukri, N. A., & Nur Nasyriq, M. (2014). Determination of total phenolic, flavonoid content and free radical scavenging activities of common herbs and spices. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 3(3), 104-108.



- Shukla, M., Jha, Y. K., & Admassu, S. (2013). Development of probiotic beverage from whey and pineapple juice. *Journal of Food Processing and Technology*, 4(2), 1-4.
- Singh, B. (2022). Development of fermented probiotic beverage by using cucumber and bottle gourd juice. *The Pharma Journal, SP-11*(7), 4676-4684.
- Singh, K. (2012). Phytochemical determination and antibacterial activity of *Trichosanthes dioica* Roxb (petal), *Cucurbita maxima* (pumpkin), and *Abelmoschus esculentus* (okra) plant seeds. M.Sc. dissertation, Department of Life Science, National Institute of Technology, Rourkela, Odisha.
- Slavin, J. (2013). Fiber and Prebiotics: Mechanisms and health benefits. *Nutrients*, 5(4), 1417–1435. <https://doi.org/10.3390/nu5041417>
- Swanson, K.S., Gibson, G.R., Hutkins, R. et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 17, 687–701 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41575-020-0344-2>
- Tan, Y. X., Mok, W. K., & Chen, W. N. (2020). Potential novel nutritional beverage using submerged fermentation with *Bacillus subtilis* WX-17 on brewers' spent grains. *Heliyon*, 6(6), e04155. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04155>
- Tayeb, K. (2006). Effet des ultrasons sur les propriétés émulsifiantes du lactosérum délactosé. Thèse DES en biochimie.
- Traoré, L. B., Cissé, D., Touré, H. A., Ouattara, Y., Adamou, M., Maiga, F., ... & Kone, A. Z. (2021). Contrôle de la qualité microbiologique des boissons de fabrication artisanale dans la commune v du district de Bamako. *Revue Malienne de Science et de Technologie*, 2(25).
- Vierling, E. (2003). Aliment et boisson-Filière et produit (2e éd.). Doin éditeurs. Centre régional de la documentation pédagogique d'Aquitaine.
- Wahid, S., Alqahtani, A., & Khan, R. A. (2021). Analgesic and anti-inflammatory effects and safety profile of *Cucurbita maxima* and *Cucumissativus* seeds. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(8), 4334-4341.
- Wang, J. (2009). Structure and chain conformation of five water-soluble derivatives of a  $\beta$ -D glucan isolated from *Ganoderma lucidum*. *Carbohydrate Research*, 344, 105–112.

- Wang, L., Bei, Q., Wu, Y., Liao, W., & Wu, Z. (2017). Characterization of soluble and insoluble-bound polyphenols from *Psidium guajava* L. leaves co-fermented with *Monascus anka* and *Bacillus* sp. and their bio-activities. *Journal of Functional Foods*, 32, 149–159. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.02.029>
- Waqas, N. B., Safoora, D., Hilal, A. P., Touseef, A. W., Mudasir, A., & Masoodi, F. A. (2016). Comparaison du fromage et du lactosérum paneer pour la production d'une boisson fonctionnelle à l'ananas : propriétés nutraceutiques et durée de conservation. *Food Science and Technology*.
- Yadav, J. S. S., Yan, S., Pilli, S., Kumar, L., Tyagi, R. D., & Surampalli, R. Y. (2015). Cheese whey: A potential resource to transform into bioprotein, functional/nutritional proteins and bioactive peptides. *Biotechnology advances*, 33(6), 756-774.
- Zaman, Q. U., Sahar, A., Sameen, A., Ahmad, M. H., Muhammad, N., Huma, N., Afzal, M. F., Khalid, W., & Al-Farga, A. (2023). Development and storage stability of whey sugarcane based functional beverage. *International Journal of Food Properties*, 26(1), 752-763. <https://doi.org/10.1080/10942912.2023.2183170>
- Zamora-Vega, R., Montañez-Soto, J. L., Martínez-Flores, H. E., Flores-Magallón, R., Muñoz Ruiz, C. V., Venegas-González, J., & Ariza Ortega, T. D. J. (2012). Effect of incorporating prebiotics in coating materials for the microencapsulation of *Sacharomycesboulardii*. *International journal of food sciences and nutrition*, 63(8), 930-935.
- Zernadji, W., Chebchoub, F., & Dairi, S. (2018). Essai de la fabrication d'une boisson fermentée à base de jus de la fraise et de lactosérum. Retrieved from <http://dspace.univjjel.dz:8080/xmlui/handle/123456789/1759>