



ROYAUME DU MAROC
Université Mohammed V - Rabat
Faculté de Médecine et de Pharmacie
RABAT



Année: 2022

Thèse N°: 37/21/CSVS

CENTRE D'ÉTUDES DOCTORALES DES SCIENCES
DE LA VIE ET DE LA SANTÉ
Formation Doctorale : Biologie Médicale

THÈSE
En vue de l'obtention du
DOCTORAT

FORMULATION GALÉNIQUE ET SENSORIELLE D'UN
ALIMENT FONCTIONNEL À L'HUILE D'ARGAN

Présentée et soutenue publiquement le 26 avril 2022

Par:

Mme Soumaya EL BOUCHIKHI

Devant le jury composé de

Pr Anass KETTANI Faculté des Sciences Ben M'Sik, Université Hassan II, Casablanca.	Président
Pr Azeddine IBRAHIMI Faculté de Medecine et de Pharmacie, Université Mohammed V, Rabat.	Directeur de thèse
Pr Yahya BENSOUDA Faculté de Medecine et de Pharmacie, Université Mohammed V, Rabat.	Codirecteur de thèse
Pr Jaoud EL HARTI Faculté de Medecine et de Pharmacie, Université Mohammed V, Rabat.	Rapporteur
Pr Rachid ELJAUDI Faculté de Medecine et de Pharmacie, Université Mohammed V, Rabat.	Rapporteur
Pr Ahmed ADLOUNI Faculte des Sciences Ben M'Sik, Université Hassan II, Casablanca.	Rapporteur
Pr Anne Marie –Pensé LHÉRITIER Ecole de Biologie Inditruelle, Cergy, France.	Examineur
Pr Zoubida CHARROUF Faculté des Sciences, Université Mohammed V, Rabat.	Examineur

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier Monsieur le Professeur Azeddine IBRAHIMI, mon directeur de thèse, qui a non seulement accepté d'héberger ce travail dans son département, mais m'a fait profiter de ses conseils, de son soutien et aussi des équipements de son laboratoire pour mener à bien une bonne partie de ce travail.

Je remercie le Professeur Yahya BENSOUUDA, initiateur de ce projet de recherche, qui m'a encadré tout au long de cette thèse et qui m'a fait partager ses brillantes intuitions. Qu'il soit aussi remercié pour sa gentillesse, sa disponibilité permanente et pour les nombreux encouragements qu'il m'a prodigués. C'est grâce à lui que j'ai pu concilier avec bonheur, recherche théorique et appliquée pendant cette thèse.

Je remercie le Professeur Anass KETTANI pour l'honneur qu'il m'a fait d'être le président de mon jury de thèse.

J'adresse tous mes remerciements au Professeur Ahmed ADLOUNI, au Professeur Jaouad El HARTI ainsi qu'au Professeur Rachid El JAUDI de l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant d'être rapporteurs de cette thèse.

J'exprime ma gratitude au Professeure Anne marie-Pensé LHÉRITIER et Professeure Zoubida CHARROUF, qui m'ont honoré d'être examinateurs.

Je remercie également Madame Nawal CHRAIBI, directrice générale de la Fondation MAScIR à Rabat de m'avoir permis de mener certains de mes travaux de recherches à la fondation.

Je tiens aussi à remercier le Professeur Qaiss ABOU EL KACEM, qui m'a accueilli au sein du Centre de Recherche de Composites et Nanocomposite à la Fondation MAScIR.

Ce travail n'aurait pu être mené à bien sans l'accueil chaleureux et le support professionnel que m'ont témoignés Professeure Anne marie-Pensé LHÉRITIER et son équipe du pôle formulation et analyse sensorielle à l'EBI, Elodie WALLON CORP, Zeineb GHANEM, Marjorie LASSALLE, le panel leader Laurie BOUFFARD & Jessie EDO et le panel food, qui m'ont aidé et permis d'avancer dans cette recherche.

Merci aussi à Madame Asmaa ELATTAR, directrice commerciale à Trade Bio Industries Maroc, pour son soutien et ses services durant tout le long de ce travail de thèse.

Un grand merci à Madame Meriem BENSAID, directrice générale chez Eurofins SAM Sensory and Marketing Research International pour sa collaboration et sa gentillesse.

Je remercie aussi Mme Iman MARC, Sensory & Consumer manager / founder Sens & Flour pour ses précieux conseils et services.

Je remercie chaleureusement mon cher papa Chahed EL BOUCHIKHI que dieu le protège et mes chers enfants; Mohamed khalil, Adam et Rayane, que j'ai un peu délaissés ces derniers mois pour achever cette thèse; pour leur soutien inconditionnel et leur confiance indéfectible. Leurs attentions et encouragements m'ont accompagnées tout au long de ces années. Une pensée toute particulière et pleine d'amour pour ma défunte maman Rahima EL HAJJAMI « Tu n'es plus où tu étais mais tu es partout où je suis ».

Enfin, je remercie grandement ma famille et mes ami(e) s qui m'ont soutenu toutes ces années de thèse en particulier ma tante Aicha EL HAJJAMI et mon amie Tanae ELAMRANI

RÉSUMÉ

Titre: FORMULATION GALÉNIQUE ET SENSORIELLE D'UN ALIMENT FONCTIONNEL À L'HUILE D'ARGAN

Auteur: SOUMAYA EL BOUCHIKHI

Mots clés : Aliments fonctionnels, Produits laitiers fermentés, Lacto-fermentation, Synérèse, Caséinate de sodium, Amidon, Huile d'argan, Émulsions H/E, Indice de crémage, Analyses sensorielles.

Dans cette recherche une approche intégrée galénique et sensorielle a été mise en œuvre pour la conception d'un produit fonctionnel, un yaourt assimilé à base de l'huile d'argan. Des tests pharmaco-techniques et d'analyse sensorielle ont été réalisés afin d'optimiser sa formulation. La première partie de ce travail a permis de mettre en évidence l'influence du caséinate de sodium, de l'amidon, du lactose et du ferment, sur la formation d'un gel acide et d'évaluer sa stabilité en mesurant sa synérèse. Le niveau de synérèse optimal a été atteint quand les concentrations en caséinate de sodium et en amidon dépassent 5% et 1% respectivement. La deuxième partie, a consisté en la formulation d'une émulsion à base de l'huile d'argan à 20% H/E stabilisée par Lacto-fermentation. Une conception expérimentale a donc été proposée avec un mélange de facteurs sélectionnés: huile d'argan (10-20%), caséinate de sodium (0-2%) et amidon (0-1,5%) ainsi que la vitesse d'homogénéisation (V) (10000-20000 tr / min) et la durée d'homogénéisation (T) (5-20min). Le résultat optimal a été atteint pour l'émulsion préparée avec tous les facteurs à leur maximum, présentant la granulométrie la plus faible (11,27 μm) et l'index de crémage le plus élevé. La troisième et dernière partie de cette recherche a permis de réaliser un ensemble de tests sensoriels, répondant à un protocole spécifique (NF ISO 13299), pour définir le profil sensoriel du produit formulé et optimiser sa formulation. Les conditions appliquées pour optimiser la formulation étaient la réduction de la concentration en caséinate de sodium de 2% à 1% avec une adaptation du processus de production et l'aromatization du produit.

ABSTRACT

Title: GALENIC AND SENSORY FORMULATION OF A FUNCTIONAL FOOD WITH ARGAN OIL

Author : SOUMAYA EL BOUCHIKHI

Keys words: Functional foods, Fermented milk products, Lacto-fermentation, Syneresis, Sodium caseinate, Starch, Argan oil, O/W Emulsions, Creaming index, Sensory analysis.

This research implemented an integrated galenic and sensory approach to design a functional yogurt-like product based on argan oil. Physicochemical and sensory analysis tests were conducted to optimize its formulation. A first study made it possible to highlight the influence of sodium caseinate, starch, lactose, and ferment on the formation of an acid gel and to evaluate its stability by measuring its syneresis. The results showed that in a mixed sodium caseinate-starch system, syneresis was reduced to its optimum level when the concentration of sodium caseinate was greater than 5% and the concentration of starch was more significant than 1%. The second study aimed to formulate an emulsion based on 20% O / W argan oil stabilized by Lacto-fermentation. An experimental design was proposed with a mixture of selected factors: argan oil (10-20%), sodium caseinate (0-2%), and starch (0-1.5%), as well as the homogenization rate. (V) (10,000-20,000 rpm) and the homogenization time (T) (5-20min). The optimum result was achieved for the emulsion prepared with all the factors at their maximum, whose average particle size was 11.27 μm , and creaming index the highest. The third and final part of this research made it possible to carry out a set of sensory tests, responding to a specific protocol (NF ISO 13299), to define the formulated product's sensory profile and optimize its formulation. The conditions applied to optimize formulation were reducing sodium caseinate concentration from 2% to 1% with an adaptation of the production process and the flavoring of the product.

ملخص

العنوان: تركيبة جالينيسية و حسية لطعام وظيفي بزيت الأركان

المؤلف: سمية البوشيخي

الكلمات الدالة: الأطعمة الوظيفية، منتجات الالبان المخمرة، التخمير اللبني، التساحب ، كازينات الصديوم، النشا، زيت

في هذا البحث، تم توظيف نهج جالينيسي وحسي متكامل لتصميم منتج وظيفي "شبيه الزبادي" يعتمد على زيت الأركان، كما تم إجراء اختبارات دوائية وتحليل حسي من أجل تحسين تركيبته. وقد مكن الجزء الأول لهذا العمل من تسليط الضوء على تأثير كل من كازينات الصوديوم والنشا واللاكتوز والتخمير على تكوين هلام حامضي وتقييم ثباته عن طريق قياس التساحب (*Syneresis*). وأظهرت النتائج أن في نظام مختلط لكازينات الصوديوم مع النشا، ينخفض التساحب إلى مستواه الأمثل عندما يكون تركيز كازينات الصوديوم أكبر من 5% ويكون تركيز النشا أكبر من 1%. أما الجزء الثاني فقد استهدف صياغة مستحلب (مباشر) يعتمد على 20% (من الزيت في الماء) من زيت أركان المثبت عن طريق التخمير اللبني. إذ تم اقتراح تصميم تجريبي بمزيج من العوامل المختارة: زيت الأركان (10 - 20%) و كازينات الصوديوم (0 - 2%)، والنشا (0 - 1.5%) وسرعة التجانس (V) (10000 - 20000 دورة في الدقيقة) ووقت التجانس (T) (5 - 20 دقيقة). وبذلك تم تحقيق النتيجة المثلى في المستحلب المحضر الذي بلغت فيه جميع العوامل أقصى حد لها؛ حيث بلغ متوسط حجم الحبيبات فيه 11.27 ميكرومتر وكان مؤشر التقسُّد فيه هو الأعلى. وأما الجزء الثالث والأخير من هذا البحث فقد أتاح إجراء مجموعة من الاختبارات الحسية، استجابة لبروتوكول محدد (NF ISO 13299)، لتحديد البروفيل الحسي للمنتج المركب وتقييم تنكيهه. إذ ميّزت الشاكلة الوصفية الكمية المظهرَ والطعم والملمس وإحساس الفم للمنتجات المصنعة التي تم اختبارها. ووفقاً للنتائج كانت الشروط المطبقة لتحسين المستحضر هي تقليل تركيز كازينات الصوديوم من 2% إلى 1% مع تكييف عملية الإنتاج وتنكيه المنتج.

الكلمات الدالة: الأطعمة الوظيفية، منتجات الالبان المخمرة، التخمير اللبني، التساحب ، كازينات الصديوم، النشا، زيت الأركان، مستحلبات (ز/م)، مؤشر التقسُّد، التحليل الحسي.

TABLE DE MATIERES

ABREVIATIONS ET APPELLATION	8
LISTE DES FIGURES.....	10
LISTE DES TABLEAUX	12
INTRODUCTION GENERALE.....	13
CHAPITRE I. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.....	ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.
TABLE DES MATIERES DU CHAPITRE I.....	21
I.1. LES ALIMENTS FONCTIONNELS	21
I.2. LE LAIT	35
I.3. ÉVALUATION SENSORIELLE.....	64
CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES	72
TABLE DES MATIÈRES DU CHAPITRE II	73
II.1. MATÉRIELS	74
II.2. MÉTHODES	75
CHAPITRE III : RESULTATS	95
TABLE DES MATIÈRES DU CHAPITRE III.....	97
III.1. MISE AU POINT DE LA FORMULATION D'UNE MATRICE MODÈLE.....	ERREUR !
SIGNET NON DEFINI.	
III.2. CONCEPTION D'UN PRODUIT FONCTIONNEL : INTÉGRATION DE L'HUILE	
D'ARGAN DANS LA MATRICE ET STABILISATION PAR FERMENTATION	101
III.3. ÉVALUATION SENSORIELLE DU PRODUIT FERMENTÉ ET FORMULÉ EN VU DE	
SON OPTIMISATION.....	121
III.4. BREVET	143
CHAPITRE IV: DISCUSSION GENERALE	161
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	177
VALORISATIONS SCIENTIFIQUES	182
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE	184

ABRÉVIATIONS ET APPELLATION

AGI : Acides gras insaturés

α -LA : α -lactalbumine

β -LG : β lactoglobuline.

CLA: Acide linoléique conjugué.

DoE : Design experimental.

EPS: Exo-polysaccharides.

E1442 : Hydroxypropyl distarch phosphate.

FOSHU : Food for specified health uses.

FIL: Fédération internationale laitière.

GDL : glucono- δ -lactone.

H/E (O/W) : huile dans eau.

LSD : Les différences les moins significatives.

Lait assimilé : Émulsion formulée ayant la même apparence que le lait naturel. Choisi comme traduction du terme (*milk-like*).

Laits fermentés : L'ensemble des produits laitiers préparés avec des laits écrémés ou non, enrichis ou non en constituants du lait, ayant fait l'objet d'un traitement thermique au moins équivalent à la pasteurisation, et ayant étéensemencés avec des micro-organismes appartenant à l'espèce ou aux espèces caractéristiques de chaque produit.

Produits laitiers frais fermentés : L'ensemble des produits similaires aux yaourts, mais fabriqués avec d'autres ferments ou contenant des additifs tels que la gélatine ou l'amidon.

P1: Produit formulé nature « yaourt assimilé» fabriqué à l'échelle du laboratoire.

PA1: Produit formulé aromatisé à l'amande.

PFO1 : Produit formulé aromatisé à la fleur d'oranger.

pH : Potentiel hydrogène.

pHi : Point isoélectrique.

PLE : Poudre de lait écrémé.

Ratio Cas/WP : Le ratio caséines/protéines sériques correspond au ratio entre la proportion de caséines et la proportion de protéines sériques (WP). Il diminue quand la proportion de WP augmente.

S.T: Solides totaux : L'ensemble des constituants solides du lait (les matières grasses, les protéines, les glucides et les minéraux).

S.N.G: Solides non gras

SH : Groupement thiol.

SMP : Skim milk powder.

Tr/m : Tour par minute (*rotation per minute r/m*).

UFC: Unité formant colonie.

WP : Utilisé pour désigner les protéines sériques (*whey protein*).

WPn : WP natives.

WPd : WP dénaturées par agrégation thermique.

Yaourt : Produit laitier composé exclusivement de matières premières d'origine laitière, et fermenté par la symbiose yaourt (*Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*).

Yaourt assimilé : Émulsion gélifiée par acidification ayant la même apparence que le yaourt.

Choisi comme traduction du terme (*yogurt-like*).

LISTE DES FIGURES

Figure 1. D'une approche pharmacologique réductionniste vers une approche holistique intégrative de la nutrition préventive	24
Figure 2. Les Constituants du lait (A) et des protéines laitières (B) du lait natif (g.L-1), avec les caséines (α S1, α S2, β , et κ) les protéines sériques (α -LA, β -LB), sérum albumine bovine, immunoglobuline et lactoferrine	36
Figure 3. (A) Structures des micelles de caséines du lait natif par microscopie électronique x85000 (à gauche) et par microscopie électronique à balayage x70000 (à droite); (B) Structures tertiaires des protéines sériques majeures β -LG (à gauche) et α -LA (à droite)	38
Figure 4. Les modèles de la structure de la micelle de caséines : (A) modèle submicellaire (a) et (b) , (B) modèle des nanoclusters et (C) modèle réticulé (illustration de la coupe transversale)	39
Figure 5. Structure de la membrane des globules gras : (A) l'organisation latérale des lipides et distribution hétérogène des protéines et (B) la ségrégation des phospholipides de la bicouche extérieure en plusieurs domaines plus ou moins ordonnés (barres d'échelle = 5 μ m)	42
Figure 6. Structure du lactose.....	43
Figure 7. Synthèse des facteurs physico-chimiques impactant les propriétés des micelles de caséines	47
Figure 8. Importance de la quantité de protéines (matériel émulsifiant) pour stabiliser la surface interfaciale créée au moment de l'émulsification : (A) Illustration et exemple d'émulsions (H/E) faites avec des petites protéines flexibles; (B) Exemple d'émulsions (H/E) faites avec des agrégats de protéines sériques plus gros et moins flexibles,	51
Figure 9. Impact de la taille, de la flexibilité et de la concentration des protéines sur la structure d'émulsions H/E (comparaison entre des micelles de caséines plus rigides et plus grosses et des caséinates de sodium flexibles et plus petites),.....	52
Figure 10. La fermentation lactique	59
Figure 11. Représentation simplifiée du lait natif et de ses constituants	61
Figure 12. Représentation du processus de perception	66
Figure 13. Salle d'évaluation sensorielle de l'EBI : Panel food.....	75

Figure 14. Impact du sodium caséinate (facteur A) et du lactose (facteur C) sur la synérèse dans un modèle mixte à 12% en matière sèche (Dry Material =DM).	163
Figure 15. Effet de l'amidon et du lactose sur les profils d'acidification des échantillons à 5% en sodium caséinate et à 0.35g /l en ferment.	165
Figure 16. Monitoring du potentiel zêta des échantillons à 5% en caséinate de sodium et à 0,35g/l en ferment au cours de la fermentation.....	165
Figure 17. Comportement rhéologique des 5 émulsions (a) et leurs matrices (b), qui contiennent de l'amidon, du caséinate de Na à leurs valeurs maximales (M) ou minimales (m).	Erreur ! Signet non défini.
Figure 18. Profil sensoriel du produit Formulé P1	172
Figure 19. Comparaison entre le Profile sensoriel du produit Formulé P1 (Produit 179) et du produit de référence PR (Casino fromage blanc).....	172
Figure 20. Profils sensoriels de P1A et de P1FO	174

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. Synthèse des facteurs pouvant avoir un effet sur les différentes étapes d'installation et de stabilisation de l'interface H/E par des protéines [109, 149, 151] ...	50
Tableau II. Matériels utilisés dans tout le travail.....	74
Tableau III. Limites inférieures et supérieures des composants utilisés pour le design expérimental 1.....	76
Tableau IV. Plan d'expériences 1.....	77
Tableau V. Plan d'expériences 2.....	78
Tableau VI. Plan d'expériences 3.....	79
Tableau VII. Formulations pour les mesures du pH et du potentiel Zeta.....	82
Tableau VIII : Produits du marché et codes associés.....	86
Tableau IX : Les descripteurs générés.....	87
Tableau X: Les descripteurs retenus.....	87
Tableau XII . Les définitions des descripteurs.....	88
Tableau XII. Références du goût.....	90
Tableau XIII. Protocole d'étude.....	91
Tableau XIV. Déroulement de l'étude.....	92
Tableau XV. Descripteur huileux.....	93
Tableau XVI. Codage des produits.....	93
Tableau XVII . Planning des séances.....	94
Tableau XVIII. Taille des gouttelettes, valeur de rendement et indice de crémage.....	170

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), « la santé est un état de complet bien-être physique, mental et social, et ne consiste pas seulement en une absence de maladie ou d'infirmité ». La santé est ainsi prise dans sa globalité, cet élargissement de la définition de la santé nous renvoie vers une approche préventive. Ainsi, la science nutritionnelle a évolué d'une approche préventive des déficiences alimentaires vers la promotion d'une nutrition préventive ayant pour objectif d'optimiser les fonctions physiologiques de façon à garantir un état de bien être et de santé optimal, tout en réduisant le risque de contracter une maladie. Dans cette perspective d'alimentation optimisée, la science des aliments fonctionnels a largement contribué à l'amélioration des directives nutritionnelles en intégrant, en permanence, toutes les connaissances nouvelles relatives aux interactions entre composants alimentaires, fonctions de l'organisme et/ ou processus pathologiques[1].

Les particularités du concept « aliment fonctionnel », selon le « Consensus européen » sur les « Concepts scientifiques pour les aliments fonctionnels » [2, 3], sont les suivantes:

- Être un produit alimentaire traditionnel et courant;
- Être consommé dans l'alimentation normale et habituelle ou ajouté dans des produits alimentaires qui n'en renferment pas naturellement;
- Avoir des effets bénéfiques sur des fonctions cibles, au delà de la valeur nutritive traditionnelle ;
- Avoir la capacité d'entretenir voir d'améliorer l'état de bien être ou de santé ou de minimiser le risque d'une maladie ;
- Avoir la capacité de produire un bénéfice physiologique qui se manifeste par une amélioration de la qualité de la vie y compris les performances physiques ou intellectuelles ou le bien être psychologique et comportemental ;
- Avoir une ou des allégations justifiée(s) scientifiquement et autorisée(s) par une instance reconnue.

Dans notre contexte, De nombreux produits du terroir peuvent être considérées comme aliments fonctionnels. Pour ce travail, nous avons choisi de travailler sur l'huile d'argan qui

répond aux particularités du concept « aliment fonctionnel » cité si dessus. En effet, l'huile d'argan est un produit alimentaire traditionnel et courant. De plus il a été prouvé scientifiquement qu'elle avait des effets bénéfiques sur des fonctions cibles, au delà de sa valeur nutritive traditionnelle [4]. Ses capacités de maintenir voire d'améliorer l'état de bien-être ou de santé ou de minimiser le risque de certaines maladies ont été démontrées scientifiquement avec une dose journalière de 25ml [5]. Cependant, sa consommation reste dépendante d'habitudes alimentaires locales, en rapport vraisemblablement avec sa rareté et sa faible acceptabilité gustative. Afin d'améliorer cette dernière, il a donc été proposé dans ce travail d'introduire la dose recommandée de l'huile d'argan, dans une matrice protéique laitière stabilisée par lacto-fermentation, donnant lieu à un produit innovant, un yaourt assimilé, gustativement plus acceptable que l'huile seule.

Les produits laitiers fermentés occupent une place importante dans le marché mondial, y compris au Maroc. Les effets bénéfiques de ces produits sur la santé sont nombreux et ont été prouvés scientifiquement [6, 7] De nos jours, les procédés de fermentation et la production des ferments utilisés font l'objet d'un contrôle serré pour garantir l'uniformité et l'innocuité du produit. Ainsi, il est impératif de comprendre le rôle des différents composants du lait et l'importance des différents procédés de fabrication du yaourt pour obtenir un produit fini, acceptable et de qualité. Les connaissances scientifiques des constituants du lait et les progrès technologiques ont permis aux industriels de mieux valoriser l'énorme potentiel nutritionnel des produits fermentés et techno-fonctionnel du lait en produisant une multitude de variantes et de produits innovants.

La fermentation lactique est une fermentation où le lactose, seul sucre du lait, est transformé en acide lactique par les bactéries lactiques et ce en condition anaérobie. Les protéines lactières caséines et lactosérum, de part leur coagulation en milieu acide et leur capacité de rétention de l'eau, agissent sur la texture, particulièrement sur la viscosité, la consistance, l'élasticité et la fermeté [8, 9]. La matière grasse du lait a un effet sur l'onctuosité et la palatabilité, elle impacte la perception sensorielle des yaourts [10], et notamment celle de leur texture crémeuse [11]. Elle peut aussi dégrader l'appréciation des consommateurs pour ce genre de produit [12]. Dès lors la question du maintien du crémeux apparaît comme centrale

lorsque l'on cherche à réduire leur teneur en matière grasse ou la substituer par une huile végétale. L'utilisation des hydrocolloïdes comme agents liants, gélifiants ou épaississants, a pour but d'éviter la synérèse et de conférer au produit fermenté la consistance et la viscosité souhaitées [13-15]. Les caractéristiques organoleptiques du yaourt sont des critères déterminants pour son acceptabilité [16]. Elles sont évaluées par des méthodes d'analyse sensorielle ou par des méthodes d'analyse instrumentale [17]. Ces différentes méthodes ont permis justement de montrer que les caractéristiques physico-chimiques des mélanges mis en œuvre et les paramètres technologiques de fabrication, déterminent les caractéristiques texturales des yaourts [18, 19]. Ces derniers sont des paramètres de qualité importants qui jouent un rôle dans la stabilité et l'acceptation par les consommateurs.

Objectif général de la thèse

L'objectif principal de ce travail a été la conception et le développement d'un aliment fonctionnel yaourt assimilé à base d'huile d'argan. Ainsi de proposer aux consommateurs un produit fonctionnel innovant, un yaourt assimilé genre (*yogurt-like*) sans matière grasse laitière et qu'on a substitué par une matière grasse végétale, mais perçu de façon similaire à des produits ayant des caractéristiques organoleptiques gourmandes et une texture crémeuse.

Une première partie a été consacrée à la formulation de la matrice de base en utilisant des leviers de composition et de procédé, et ce, sans ajouter d'additif. L'évaluation de sa synérèse après fermentation nous a permis de comprendre les facteurs et les mécanismes mis en jeu lors de sa gélification.

Une deuxième partie a consisté en l'intégration de l'ingrédient fonctionnel, l'huile d'argan à différentes concentrations, dans différentes matrices et selon différentes conditions d'homogénéisation. La stabilité des différentes émulsions a été évaluée avant et après fermentation. L'émulsion fermentée la plus stable a été retenue.

Une troisième partie a permis l'évaluation sensorielle du produit formulé par analyse descriptive afin d'optimiser sa formulation, tout en développant des outils analytiques et sensoriels d'aide à la décision utiles dans la fabrication de ce genre de produits fonctionnels. Ce projet a donc permis le développement d'un produit yaourt assimilé à base de l'huile d'argan, de définir son profil sensoriel afin d'optimiser sa formulation.

Organisation du manuscrit et précisions concernant sa lecture

Chapitre 1 : Revue Bibliographique
<ul style="list-style-type: none">- Les aliments fonctionnels- Le lait- Les méthodes d'évaluation sensorielle des yaourts
Chapitre 2 : Matériels et Méthodes
<ul style="list-style-type: none">- Fabrication des différents systèmes étudiés selon leur niveau de complexité à l'échelle du laboratoire- Méthodes de caractérisation physico-chimique- Méthodes de caractérisation sensorielle
Chapitre 3 : Résultats
<ul style="list-style-type: none">- Mise au point de la formulation d'une matrice modèle<ul style="list-style-type: none">▪ Article 1: Syneresis investigations of lacto-fermented sodium caseinate in a mixed model system- Intégration de l'huile d'argan dans la matrice et stabilisation par fermentation<ul style="list-style-type: none">▪ Article 2: Creaming behavior prediction of argan oil in water emulsion stabilized by lacto-fermentation: Creaming index.- Évaluation sensorielle du produit formulé en vue de son optimization<ul style="list-style-type: none">▪ Article 3: Evaluation of argan oil yogurt-like formulation by sensory analysis.- Brevet<ul style="list-style-type: none">▪ Produits laitiers fortifiés en lipides et méthodes de fabrications▪ Revendications
Chapitre 4 : Discussion générale
Conclusion Générale et perspectives

CHAPITRE I. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Les aliments fonctionnels occupent une place de plus en plus importante dans le monde de la recherche scientifique. Ils préoccupent les chercheurs, les professionnels de santé et les industriels de l'agro-alimentaire à l'échelle internationale [20, 21]. Cet intérêt est sollicité par l'accroissement de bon nombre de maladies en rapport avec le mode de vie et l'alimentation y compris le cancer. Le développement de produits laitiers fonctionnels constitue l'un des plus importants et prometteur vu l'impact des bienfaits de ces produits sur la santé [22, 23]. Ainsi, le concept d'aliments laitiers fonctionnels peut représenter un marché multi-niche à venir et une tendance durable à exploiter pour une sante durable.

Les caractéristiques texturales des produits laitiers fermentés sont des paramètres de qualité importants qui jouent un rôle déterminant dans leur stabilité et leur acceptation par les consommateurs [24]. Les yaourts sont des systèmes complexes dans lesquels protéines et matière grasse laitières interagissent pour former une structure gélifiée [25, 26]. Sachant que la teneur en matière grasse impacte directement les propriétés texturales à la fois sensorielles et instrumentales, une connaissance approfondie des caractéristiques physico-chimiques des différents composants du lait et une meilleure compréhension de leurs fonctionnalités et interactions dans la structuration du yaourt sont essentielles pour développer de nouvelles formulations.

Dans ce cadre, plusieurs questions se sont naturellement posées:

- Quelles sont les propriétés fonctionnelles des différents composants du lait mis en jeu dans la formation du gel d'un yaourt?
- Comment les yaourts se structurent-ils au cours de la fermentation?
- Existe-t-il une relation entre la composition, la structure et les propriétés sensorielles des yaourts?

Cet état de l'art a pour objectif de voir les réponses que la littérature a apportées à ces questions pour émettre une stratégie expérimentale adaptée aux différents objectifs et une approche pharmaco-technique pour formuler un yaourt assimilé. On y trouvera :

- Les aliments fonctionnels.
- Le lait.
- L' évaluation sensorielle.

TABLE DES MATIERES DU CHAPITRE I

<u>I.1. LES ALIMENTS FONCTIONNELS.....</u>	<u>ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.</u>
I.1.1. FONCTIONNALITE DES ALIMENTS.....	22
I.1.2. SCIENCE DE L'ALIMENT FONCTIONNEL	24
I.1.3. ASPECTS REGLEMENTAIRES.....	25
I.1.3.1. DEFINITIONS	25
I.1.3.2. ALLEGATIONS NUTRITIONNELLES ET DE SANTE	27
I.1.3. DEVELOPPEMENT DE PRODUITS LAITIERS FONCTIONNELS POUR UN SYSTEME SAIN ET DURABLE	28
I.1.4. LES ALIMENTS FONCTIONNELS ISSUS DU TERROIR MAROCAIN.....	29
I.1.4.1. LES PRDUITS DU TERROIR.....	29
I.1.4.2. L'HUILE D'ARGAN	32
<u>I.2. LE LAIT</u>	<u>35</u>
I.2.2. LE LAIT NATUREL	35
I.2.1.1 COMPOSITION ET STRUCTURES DES PRINCIPAUX CONSTITUANTS DU LAIT.....	35
I.2.1.2. PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES ET FONCTIONNALISATION DES PROTEINES LAITIERES.....	44
I.2.2. LE LAIT FERMENTE.....	53
I.2.2.1. APPARITION DU YAOURT	53
I.2.2.2. SPECIFICITES ET FONCTIONNALITES DU LAIT FERMENTE	54
I.2.2.3. PROCEDE DE FABRICATION.....	55
I.2.3. LAIT ASSIMILE.....	61
I.2.2.1. FORMULATION D'UNE EMULSION	62
I.2.2.2 PROCEDE DE FABRICATION D'UNE EMULSION.....	63
<u>I.3. EVALUATION SENSORIELLE</u>	<u>64</u>
I.3.1. LES SENS	65
I.3.2. LE PANEL	66
I.3.3. METHODES D'ANALYSE SENSORIELLE	67
I.3.3.1. L'ANALYSE SENSORIELLE	67
I.3.3.2. LES TESTS CONSOMMATEURS.....	68
I.3.4. L'ATTITUDE DU CONSOMMATEUR MAROCAIN EN MATIERE DES ALIMENTS FONCTIONNELS	69

I.1. LES ALIMENTS FONCTIONNELS

Dans cette partie, nous décrivons le concept de fonctionnalité des aliments et leur potentiel santé. Nous faisons ensuite le point sur les aspects réglementaires des aliments fonctionnels et tous les critères définis par les législations et directives en vigueur. Nous soulignons aussi le rôle de la science et la recherche dans le développement des aliments fonctionnels. Enfin, nous présentons le développement de produits fonctionnels issus du terroir marocain.

I.1.1. Fonctionnalité des aliments

Le concept de fonctionnalité des aliments est un concept intéressant qui a évolué dans le temps, on distingue trois périodes : 1) la période du 'Quantifying Nutritionism' (≈ 1850-1950) où les scientifiques étaient préoccupés par la découverte et la quantification des nutriments dans les aliments, ainsi que les besoins nutritionnels de l'organisme, pour lutter contre les déficiences nutritionnelles ; 2) la période du 'Good-and-Bad Nutritionism' (≈1960) où l'objectif principal était de cibler les nutriments à réduire ou à éviter, et ceux à privilégier, afin de lutter contre le développement des maladies chroniques ; et 3) la période du 'Functional Nutritionism' (du milieu des années 90 à nos jours) où les aliments sont considérés comme fonctionnels et donc capables d'optimiser notre santé ou de rectifier certains déséquilibres [27].

Les aliments fonctionnels sont apparus pour la première fois au Japon où des programmes de recherche avaient été initiés par la communauté scientifique universitaire japonaise au début des années 1980. Les études réalisées ont montré que certains aliments possèdent non seulement des fonctions nutritionnelles et sensorielles, mais qu'ils permettent aussi de contrôler l'homéostasie de l'organisme. Il a été déduit que par le biais de la nutrition il est possible de contrôler et moduler des fonctions de l'organisme en vue de les optimiser. En 1991, le ministère de la Santé, du Travail et du Bien-être a introduit une réglementation sur les aliments fonctionnels appelée « aliments destinés à des usages sanitaires spécifiques » (FOSHU) au Japon. Les produits alimentaires faisant l'objet d'une demande d'approbation par

le FOSHU sont évalués scientifiquement en termes d'efficacité et de sécurité par le Conseil des affaires pharmaceutiques et de l'hygiène alimentaire dans le cadre du ministère de la Santé, du Travail et du Bien-être. Après l'introduction du système d'aliments fonctionnels, de nombreux produits FOSHU cliniquement prouvés et bénéfiques pour la santé ont été développés et lancés sur le marché [28].

L'objectif des aliments fonctionnels est donc de garantir un état de bien-être et de santé en maximalisant les fonctions physiologiques de façon optimale, tout en minimisant le risque de développer une maladie, et cela tout au long de la vie. L'alimentation inclut donc des dimensions à la fois physiologique (y compris les facteurs génétiques), psychologique, socio-économique, culturelle, environnementale, et aussi de plaisir et de bien-être. Le potentiel santé d'un aliment ne peut plus être réduit à sa seule composition nutritionnelle ou densité énergétique, compte tenu des données scientifiques acquises aujourd'hui, [29]. Autrement dit, un aliment est plus que l'ensemble de ses composants. Cette nouvelle vision globale ou holistique de l'aliment est aujourd'hui indispensable, car plus en phase avec la réalité qui par définition est complexe [30]. Deux aspects doivent être pris en compte pour bien comprendre comment un aliment agit sur la santé, l'aspect qualitatif de ce dernier ou effet "matrice" et l'aspect quantitatif qui est sa composition. On ne pourra pas lutter efficacement contre le développement croissant des maladies chroniques en ayant une approche uniquement compositionnelle de l'aliment [31].

Un autre aspect important pour rester en bonne santé et qui a longtemps été négligé dans les recommandations nutritionnelles, c'est celui du degré de transformation des aliments. En effet, il existe une parfaite corrélation entre la consommation d'aliments ultra-transformés (c'est-à-dire fractionnés, raffinés puis recombinaison et additionnés de sucres, sels et matières grasses), et le risque de développer des maladies chroniques [32]. En conséquent Il est nécessaire aujourd'hui de changer l'approche réductionniste de la relation entre alimentation et santé vers une approche plus holistique de la nutrition, via la prise en compte du degré de transformation et de l'effet « matrice » dans le potentiel santé des aliments, et pas seulement l'apport énergétique et la composition en nutriments [33]. L'approche par nutriment est donc partielle et réductionniste, et ne peut pas aboutir à des résultats concluants, contrairement à l'approche holistique ou par effet "matrice" qui elle considère l'aliment dans sa globalité et

peut dès-lors aboutir à de meilleures recommandations nutritionnelles. Cette nouvelle conception de la fonctionnalité des aliments semble très prometteuse pour les années futures. C'est en repensant ce qu'est la fonctionnalité d'un aliment que l'on pourra espérer contraindre le développement toujours croissant des maladies chroniques dans le monde (Figure.1). L'avancée des connaissances dans le domaine de la science de l'alimentation montre que les deux approches réductionniste et holistique, sont indispensables et complémentaires [34].

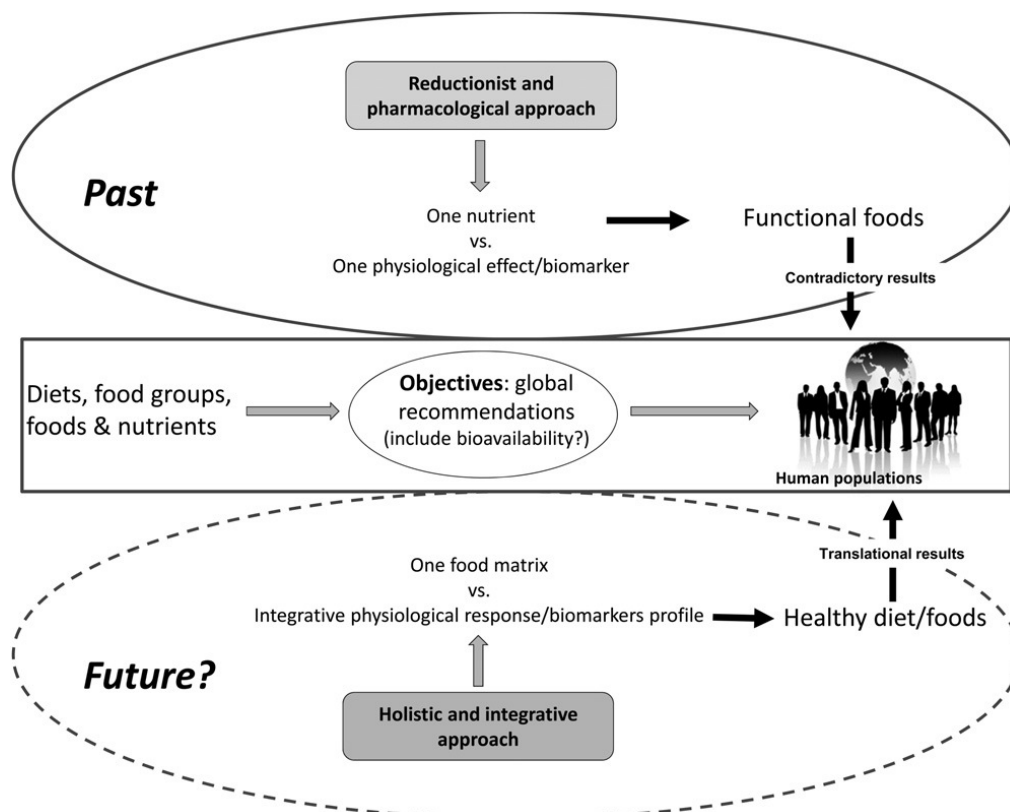


Figure 1. D'une approche pharmacologique réductionniste vers une approche holistique intégrative de la nutrition préventive [30]

I.1.2. Science de l'aliment fonctionnel

La science évolue aujourd'hui vers le concept d'alimentation "optimale", l'accumulation de données fait de l'aliment fonctionnel une science. C'est ainsi qu'il a été décrit dans le document européen de consensus [35]: « la conception et le développement des aliments fonctionnels reste un défi pour la communauté scientifique. Ces approches doivent puiser

leurs racines dans la recherche fondamentale qui s'intéresse aux fonctions cibles et à leur modulation par les aliments ou leurs composants. Les aliments fonctionnels ne sont pas, en tant que tels, applicables universellement car leurs effets peuvent être dépendants d'habitudes alimentaires locales et particulières. C'est pourquoi l'approche proposée est centrée sur les fonctions de l'organisme et leur modulation en vue de progresser dans la connaissance des interactions entre alimentation et santé. En référence à ces concepts nouveaux qui se développent en nutrition, le rôle premier de la science de l'aliment fonctionnel est de stimuler la recherche et le développement de nouveaux aliments fonctionnels ».

Un tel développement suppose :

- la démonstration d'un effet fonctionnel qui servira à formuler des hypothèses susceptibles d'être testés ;
- La réalisation d'études nutritionnelles humaines prouvant que la consommation adéquate (en terme de dose, fréquence de prises, durée) de l'aliment étudié améliore bien, directement ou indirectement, une ou plusieurs fonctions et ce sur la base de la mesure de marqueurs valides d'un état de bien être ou de santé ou d'un risque de maladie ;
- Une surveillance des effets à long terme des interactions entre l'aliment fonctionnel et les fonctions modulées [36].

I.1.3. Aspects réglementaires

Un aliment fonctionnel doit être conforme à tous les critères définis par les législations et directives en vigueur. Dans cette partie, nous faisons le point sur la différence entre les aliments fonctionnels et les autres aliments dits « aliments santé », nous examinons ensuite, le rôle de la science de l'aliment fonctionnel dans son développement. Enfin Nous présentons les différents types d'allégations.

I.1.3.1. Définitions

Il est important de préciser que les aliments fonctionnels se différencient des compléments

alimentaires et des aliments diététiques. L'ensemble des trois fait partie de la catégorie des « aliments santé » :

- a. L'aliment fonctionnel est « un aliment qui affecte les fonctions du corps d'une manière ciblée, de façon à en obtenir des effets positifs sur des fonctions physiologiques, par le fait qu'il contient des ingrédients qui améliorent la santé et qui pourront en temps utiles, justifier des revendications de santé » (selon le consensus européen)
- b. Les compléments alimentaires sont des « produits destinés à être ingérés en complément de l'alimentation courante, afin de pallier à l'insuffisance réelle ou supposée des apports journaliers. Ce sont des gélules, pilules, substrats comestibles contenant des vitamines, des minéraux et d'autres types d'ingrédients et des aliments naturellement porteurs d'effet santé, qui sont des aliments qui n'ont subi aucune modification dans leur composition, ni aucune transformation industrielle visant à leur conférer des propriétés santé. Leur composition de base contient des éléments bons pour la santé » (Selon l'article L 5111-1 du code de la santé publique française).
- c. Les aliments diététiques sont des « Aliments spécialement fabriqués ou formulés pour satisfaire les besoins alimentaires spécifiques dus:
 - soit à une condition physique ou physiologique particulière
 - soit à une maladie ou un trouble spécifique et présentés comme tels.La composition de ces aliments doit se différencier significativement de la composition des aliments ordinaires de même nature, lorsqu'ils existent » (Selon le Codex Alimentarius).

Il en ressort que l'aliment fonctionnel tel qu'il est défini est un aliment qui exerce un ou plusieurs effets bénéfiques sur une ou plusieurs fonctions en dehors de ses effets nutritionnels habituels et devrait faire partie du régime quotidien. Il est important de préciser que tout aliment est « fonctionnel » dans le sens où ses nutriments qui le composent et son effet « matrice » vont participer à un effet sur l'organisme et donc remplir une fonction. L'intégration de cette nouvelle approche par les technologues et les nutritionnistes devrait

permettre de formuler et développer de nouveaux aliments avec de nouvelles fonctionnalités, avec le plus grand « respect » de la matrice naturelle des aliments.

Les aliments fonctionnels peuvent ainsi être regroupés en deux catégories :

- La première catégorie : elle correspond à des aliments traditionnels, utilisés comme supports ou vecteurs, dans lesquels est intégré un ingrédient exogène à une dose nutritionnellement active au moment de la fabrication. C'est le cas par exemple des produits laitiers enrichis en acides gras oméga 3, où le produit laitier est le vecteur et les oméga 3 sont l'ingrédient exogène active.
- La seconde catégorie : elle regroupe des produits naturellement riches en certains nutriments d'intérêt physiologique. Nous pouvons citer ici le cas de l'huile d'argan riche en acides gras et en insaponifiables actifs, et qui peut être présentée comme une combinaison de plusieurs facteurs majeurs de prévention cardiovasculaire, d'hypertriglycéridémie, et bien d'autres maladies [37].

I.1.3.2. Allégations nutritionnelles et de santé

Une allégation est tout message ou représentation, qui révèle, persuade ou implique que le produit ait des caractéristiques particulières. La revendication d'un effet bénéfique d'une denrée alimentaire sur une fonction, au-delà du rôle nutritif traditionnel, nécessite de démontrer cet effet. En ce qui concerne les aliments fonctionnels, les allégations restent les meilleurs moyens d'informer le consommateur. Toute allégation doit être vraie et ne pas induire en erreur. Elle doit être scientifiquement valide et non-ambiguë. D'une manière générale, une allégation est définie comme : « toute représentation qui affirme, suggère ou implique qu'un aliment a certaines caractéristiques concernant son origine, ses propriétés nutritionnelles...ou toute autre qualité » (codex alimentarius 1991). La communication à destination du consommateur se fait donc au travers des allégations nutritionnelles ou de santé, scientifiquement justifiées et autorisées par la réglementation. Deux catégories

d'allégations sont spécifiques aux aliments fonctionnels : les allégations type A et type B. Elles sont définies dans le codex alimentarius (2000):

- **Les allégations Type A :** ce sont des allégations qui concernent des effets bénéfiques spécifiques sur des fonctions physiologiques, psychologiques ou des activités biologiques mais qui sont différents des allégations liées aux fonctions des nutriments. Elles se réfèrent à une contribution positive pour la santé, à l'amélioration d'une fonction ou à une modification ou une préservation de la santé.
- **Les allégations Type B :** ce sont des allégations de réduction du risque d'une maladie. Elles se réfèrent à la consommation d'un aliment ou d'un composant alimentaire qui, dans le cadre de l'alimentation quotidienne, peut minimiser le risque d'une maladie particulière.

Pour faciliter l'évaluation des allégations de santé et garantir aux consommateurs que ces allégations sont soutenues par des données scientifiques bien établies, des critères ont été adoptés « critères de PASSCLAIM » applicables à la justification d'une allégation. Ils fournissent aussi à l'industrie agro-alimentaire un contexte stable pour le développement de nouveaux produits fonctionnels et sont guidés par des critères qui définissent les exigences requises.

I.1.3. Développement de produits laitiers fonctionnels pour un système sain et durable

Les aliments fonctionnels sont de plus en plus reconnus pour leur impact positif sur la promotion de la santé, le maintien du bien-être et la prévention des maladies. En conséquence, les industries alimentaires se sont plus penchées sur le développement de produits alimentaires à valeur ajoutée. Différentes technologies ont été utilisées pour obtenir des ingrédients bioactifs alimentaires cibles et pour assurer une fonctionnalisation efficace des produits fonctionnels [38]. L'un des plus grands domaines d'aliments fonctionnels dans le monde est le marché des produits laitiers. En effet, les probiotiques, les prébiotiques, les

champignons et les extraits bioactifs d'aliments végétaux sont les ingrédients les plus couramment utilisés pour produire des produits laitiers fonctionnels, principalement du lait fermenté, du yaourt et du fromage [39, 40]. Des effets biologiques dynamiques et prometteurs ont été documentés pour ces aliments laitiers fonctionnels, parmi lesquels, immuno-modulateur [41], antimicrobien, antidiabétique [42], anti-inflammatoire[43], antioxydant [44], cardioprotecteur [45], antihypertenseur [46] neuromodulateur [47] et même protection osseuse [48] . D'autres substances qui pourraient jouer un rôle dans les futurs produits laitiers fonctionnels comprennent les protéines de lactosérum pour leurs propriétés immunitaires et anticancéreuses, les sphingolipides pour leur capacité à lutter contre certaines formes de cancer, l'acide linoléique conjugué pour sa composition corporelle et ses bienfaits contre le cancer, et peptides bioactifs pour leurs effets immunitaires [49]. Ainsi, les produits laitiers, considérés comme des aliments naturels et sains, sont utilisés comme des véhicules idéaux d'enrichissement en nutriments ajoutés. Cependant, outre l'impact des bienfaits pour la santé sur l'acceptation par les consommateurs et la consommation ultérieure d'aliments laitiers fonctionnels, d'autres facteurs, tels que la familiarité des consommateurs avec les nouveaux produits et les ingrédients fonctionnels utilisés dans leur formulation, les connaissances et la sensibilisation des consommateurs à la crédibilité des effets santé partagés ; Et enfin l'évaluation organoleptique et sensorielle des aliments laitiers fonctionnels développés, ont également un rôle déterminant [50, 51]. Ainsi, le concept d'aliments laitiers fonctionnels peut représenter un marché multi niche à venir et une tendance durable à exploiter.

I.1.4. Les aliments fonctionnels issus du terroir marocain

I.1.4.1. Les produits du terroir

En règle générale, les produits du terroir sont caractérisés par leur appartenance à un territoire limité et homogène, ce qui les différencie des autres produits de même nature. Ces produits du terroir sont le fruit d'un savoir-faire traditionnel consécutif à une interaction entre la nature et la culture. Selon Le Conseil National des Arts Culinaires (1995), les produits du terroir sont décrits comme étant: « Tous les produits commercialisés quelque soit leur mode de commercialisation dont la fabrication traditionnelle est liée à la transmission de savoir-faire

de génération en génération. Ils sont attachés à une zone géographique quelle que soit l'échelle ou le type de zone (urbain, rural), qui bénéficient d'une certaine notoriété, qui sont stables dans leurs dénominations et techniques de fabrication et qui se caractérisent par un savoir-faire particulier sur au moins un des maillons de la chaîne de fabrication ».

La stratégie du Plan Maroc Vert, notamment la stratégie de développement des produits du terroir, vise à développer l'offre existante, à améliorer la qualité de ces produits afin de répondre aux exigences d'un marché très compétitif, à promouvoir la qualité spécifique et l'authenticité de ces produits afin d'assurer une large promotion des produits du terroir à l'échelle nationale et internationale [52, 53]. De nombreux produits du terroir marocain, ont fait l'objet d'études scientifiques afin de mettre en évidence leurs fonctionnalités et leurs effets bénéfiques pour la santé. Parmi ces produits fonctionnels autres que l'huile d'argan on trouve:

- **L'huile d'olive** (*Olea europea. L*),

Elle possède des effets physiologiques et pharmacologiques, attribués en grande partie à l'activité antioxydante de ses composés phénoliques et polyphénoliques, capables de neutraliser les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène. On distingue : l'hydroxytyrosol, le tyrosol, l'oleuropéine, le verboscoside, le ligustroïde, la diméthyleuropéine. Tous protègent contre la maladie coronarienne [54, 55] ou le cancer [56, 57], et présentent également des effets antimicrobiens et antiviraux [58, 59]. Les effets antioxydants et antiathérogènes des polyphénols de l'huile d'olive, tels que l'hydroxytyrosol et l'oleuropéine, ont été largement confirmés dans la littérature [60].

- **L'huile de grains de figue de barbarie** (*Opuntia ficus-indicaL*),

Ce fruit très présent au Sud-Ouest du Maroc possède de nombreux effets bénéfiques sur la santé. Riche en stérols et en vitamine E, l'huile de grains de figue de barbarie protège la peau contre les effets néfastes des radicaux libres. Elle possède aussi de nombreuses activités biologiques et effets bénéfiques sur la santé. Des études expérimentales ont rapporté une activité antioxydante in vivo [61] et in vitro [62, 63], une activité antimicrobienne [64],

antidiabétique [65], hypolipémiante et in vitro des activités anticancéreuses, anti-inflammatoires et antiulcéreuses [66]. Ces bénéfices et activités rapportés sont dus, principalement aux acides gras polyinsaturés, aux stérols et aux composés à activité antioxydante [67].

- **Le Safran** (*crocus sativus*),

Il est appelé aussi "or rouge" et produit dans la région de "Taliouine", est utilisé depuis des siècles en médecine traditionnelle. Un grand nombre d'applications pharmaceutiques du safran sont citées et documentées dans la littérature. Il semble avoir un impact significatif dans le traitement des troubles anxieux et dépressifs [68]. Ses activités antitumorales et préventives contre le cancer ont aussi été démontrées sur des modèles animaux et des lignées cellulaires malignes humaines cultivées [69, 70].

- **Le cumin** (*Cuminum cyminum* L & *Ammodaucus leucotrichus* L),

Il a un bon potentiel antioxydant et présente de nombreux avantages pour la santé en plus de son utilisation comme agent aromatisant [71]. En effet, ses huiles essentielles ont une activité antioxydante élevée et ses extraits non volatils ont de bonnes propriétés d'inhibition contre les radicaux libres [72]. Des études réalisées au cours des dernières années ont validé ses activités immunostimulantes, gastroprotectrices, hépatoprotectrices, néphroprotectrices et neuroprotectrices [73].

La recherche scientifique continue à déployer de grands efforts, et ceci dans une dynamique innovante évoluant en fonction de la science, la technologie et la culture, afin d'améliorer la qualité de production de ces produits du terroir, d'identifier leurs caractéristiques physico-chimiques, de mettre en valeur leurs qualités nutritionnelles, de démontrer leurs effets pharmacologiques. Ce qui explique l'émergence de produits originaux présentant un véritable bénéfice santé pour le consommateur, adaptés aux besoins spécifiques du consommateur local et international [74].

I.1.4.2. L'huile d'argan

L'huile d'argan est une huile précieuse originaire du sud du Maroc, elle est extraite à partir du fruit de l'arganier (*Argania spinosa*). Elle possède de nombreuses vertus cosmétiques et thérapeutiques [5, 75].

- **Composition chimique**

La composition chimique de l'huile d'argan a fait l'objet de plusieurs analyses, elle est remarquablement stable, permettant ainsi l'établissement d'une norme officielle marocaine. Cette huile est composée de deux fractions, une fraction saponifiable (ou glycéridique) et une fraction insaponifiable (ou composants mineurs). Elle est riche en AGI, notamment l'acide oléique et l'acide linoléique et en antioxydants naturels tels que les tocophérols, les polyphénols, les phytostérols, les caroténoïdes et le squalène [76]. Selon la norme officielle marocaine, l'huile d'argan doit contenir 43 à 49 % d'acide oléique et 29,3 à 36 % d'acide linoléique [77]. Les phytostérols sont des molécules importantes qui participent activement aux propriétés biologiques de l'huile d'argan. Les principaux phytostérols de l'huile d'argan sont le spinastérol (34-44 %) et le schoténol (44-49 %). Le Δ -7-Avenasterol (4-7%) et le stigma-8-22-dien-3 β -ol (3,2-5,7 %), ils sont présents en plus petites quantités [78, 79]. Parmi les composants mineurs de l'huile d'argan, les tocophérols sont considérés comme les plus importants composés bioactifs en raison de leur activité antioxydante élevée. L' γ -tocophérol est le principal tocophérol dans l'huile d'argan, constituant plus de 81 % de la fraction tocophérol [80]. La durée de conservation de l'huile d'argan est bien documentée et est estimée de 6 mois à un an pour la qualité cosmétique [81-83].

- **Propriétés pharmacologiques :**

Les Propriétés pharmacologiques de l'huile d'argan sont une conséquence de la présence des composants mineurs dans sa composition [78, 84]. Des études scientifiques ont montré que la consommation de 25 ml/j de l'huile d'argan a un effet sur l'amélioration de l'élasticité et l'hydratation de la peau chez des femmes ménopausées après une période de 60 jours [85, 86]. Un effet hypocholestérolémiant et antioxydant a également été démontré, les composés

phénoliques de l'huile d'argan améliorent le transport inverse du cholestérol en augmentant la fluidité de la bicouche lipidique des lipoprotéines de haute densité (HDL), et empêchent l'oxydation des lipoprotéines de basse densité (LDL) dans le plasma humain isolé [87, 88]. Les propriétés antiathérogènes de l'huile d'argan chez l'homme ont été aussi mises en évidence, au moyen d'une étude de cohorte sur 60 hommes, par des augmentations significatives de l'activité paraoxonase et une diminution de la formation de lipoperoxyde et de diène conjugué et donc réduire le risque cardiovasculaire [89]. Une étude clinique chez les patients diabétiques de type 2 atteints de dyslipidémie, a aussi montré que la consommation de l'huile d'argan peut avoir un effet antiathérogène en améliorant les lipides, et la susceptibilité des LDL à l'oxydation, et peut donc être recommandée dans la prise en charge nutritionnelle du diabète de type 2 [90]. Il a été prouvé que la consommation d'huile d'argan améliore le bilan lipidique chez les patients dyslipidémiques jamais traités et peut donc être recommandée en prévention nutritionnelle dans la prise en charge des dyslipidémies [91].

D'autres études spécifiques sur des cellules prostatiques ont montré que, in vitro, les polyphénols et les stérols de l'huile d'argan ont des propriétés cytotoxiques et un effet inhibiteur sur la prolifération des lignées cellulaires de cancer de la prostate hormono-indépendantes (DU145 et PC3) ainsi que hormono-dépendantes (LNCaP) [92]. La consommation de l'huile d'argan, avec son profil unique d'acides gras, de tocophérols (surtout en γ tocophérol), de stérols, de squalène et de composés phénoliques devrait attribuer de précieux effets chimiopréventifs du cancer [93]. Selon une autre étude clinique contrôlée randomisée, la consommation d'huile d'argan semble être sûre et efficace pour améliorer les symptômes cliniques de l'arthrose du genou. Une consommation soutenue d'huile d'argan pourrait donc contribuer à réduire le fardeau des maladies dégénératives associées à un état inflammatoire élevé [94, 95].

- **Propriétés organoleptiques**

Les Propriétés organoleptiques de l'huile d'argan dépendent de son mode d'extraction et de son degré de torréfaction [96, 97]. Les huiles d'argan de qualité cosmétique (non torréfiée) et de qualité comestible (torréfiée) sont généralement préparées à partir d'amandes d'argan isolées de fruits dépulvés mécaniquement et pressées à froid [98] . Les huiles issus d'

amendons régurgités de chèvre sont sous-utilisés à cause de leur goût et de leur odeur désagréables [99]. L'effet du procédé d'extraction de l'huile et de la torréfaction des amendons sur la composition de l'arôme de l'huile d'Argan a été étudié [97, 100]. Ainsi, l'élaboration du profil sensoriel de l'huile d'Argan alimentaire sur la base de la norme ISO 11035 a été réalisée, les descripteurs sensoriels obtenus comportent des attributs positifs, qui sont recherchés dans une huile d'argan alimentaire de qualité et des attributs considérées négatifs correspondant à des défauts sensoriels. Les attributs positifs retenus sont : amande grillée, miel, gaufrette, sucré, pain maison et amande. Les attributs négatifs considérés sont : moisi, rance, fumé et cuit/brûlé. D'un point de vue sensoriel, le degré de torréfaction est responsable d'une différence significative au niveau de l'intensité du descripteur cuit/brûlé entre les huiles issues d'une torréfaction normale et celles issues d'une torréfaction poussée [101]. La torréfaction induit la formation de plusieurs composés, notamment ceux de la dégradation de Strecker, de la peroxydation lipidique et de la réaction de Maillard [102]. Le processus de torréfaction des grains d'arganier peut donc être considéré comme une étape cruciale dans l'obtention de l'arôme de l'huile d'argan alimentaire.

La caractérisation sensorielle des principaux odorants de l'huile d'argan alimentaire a été aussi étudiée par analyse de dilution d'extrait d'arôme. Les résultats de cette étude ont montré que le composé aromatique le plus actif de l'huile d'argan s'est avéré être la note d'odeur grasse, la note d'odeur de noisette et la note d'odeur de terre. Les deuxièmes composés aromatiques actifs étaient les notes grillées, de noisette et de fromage [103]. Dans une autre étude comparative, la caractérisation sensorielle des composés odorants des deux huiles cosmétique et alimentaire a été réalisée par Chromatographie en phase gazeuse / Spectrométrie de masse / Olfactométrie. Le profil olfactométrique a montré que fruitées/vertes/herbeuses, tandis que dans celui de l'huile d'argan alimentaire, les notes grillé/toast/noisette et sucre brûlé/caramel dominant. De plus l'arôme de l'huile cosmétique est dominé par les alcools, alors que l'huile d'argan alimentaire a montré un profil aromatique principalement dérivé de la réaction de Maillard, de l'oxydation des lipides, de la dégradation des sucres et/ou de leurs interactions [104]. Dès lors nous avons jugé nécessaire de travailler avec une huile non torréfiée, neutre, pressée à froid, afin de préserver sa composition, ses fonctionnalités et d'éviter toute interférence sensorielle.

I.2. LE LAIT

Dans cette partie, nous faisons le point sur la composition du lait naturel et les structures de ses principaux constituants. Nous décrivons ensuite les propriétés physico-chimiques et fonctionnelles des ingrédients laitiers. En repartant des conditions du procédé et de sa diversité, nous désignons les facteurs qui impactent ces propriétés fonctionnelles. Nous présentons à la fin, le lait assimilé, sa formulation et son développement.

I.2.2. Le lait naturel

Le lait est un liquide biologique produit par les glandes mammaires des mammifères. Il est généralement de couleur blanchâtre, c'est un aliment complet équilibré destiné à l'alimentation du jeune mammifère naissant. L'appellation des différents produits laitiers frais est strictement réglementée. Selon la réglementation française, la dénomination « lait » est réservée au lait de vache. Ainsi, tout lait provenant de tout autre femelle laitière, doit être désigné par la dénomination « lait » suivie de l'indication de l'espèce animale dont il provient : « lait de chèvre », « lait de brebis », etc. Certaines boissons produites à partir de végétaux ayant une analogie de consistance, d'apparence avec le lait sont parfois désignées sous le terme de « lait végétal », comme les laits d'avoine, de coco, de soja, de chanvre, etc. Cependant, l'appellation « lait » n'est pas autorisée commercialement pour ces produits dans l'union européenne, à l'exception des « lait de coco » et « lait d'amande ». Nous présentons la composition et les structures des différents composants du lait, tout en faisant le point sur les propriétés physico-chimiques et fonctionnelles des Protéines laitières. Nous décrivons ensuite la fermentation lactique du lait.

I.2.1.1 Composition et structures des principaux constituants du lait.

Le lait est un produit physiologique dont la composition varie selon différents facteurs: la race, la période de lactation, la saison, l'alimentation et l'âge. Les nutriments du lait et des produits laitiers comprennent des protéines et des peptides avec leur gamme complète de tous les acides aminés essentiels; la matière grasse et des acides gras dont certains acides gras

insaturés, ces derniers ayant un rôle physiologique important comme l'acide linoléique conjugué (CLA) ; le lactose et autres oligosaccharides mineurs; les minéraux majeurs et essentiels tels que le calcium, le magnésium ainsi que le phosphore ; et des vitamines, en particulier les vitamines liposolubles A, D, E et K, ainsi que certaines vitamines hydrosolubles telles que B12, riboflavine et C. Le lait fournit également les propriétés physiologiques supplémentaires de promouvoir la santé et de protéger contre les maladies grâce à ses immunoglobulines et autres protéines de lactosérum [105].

D'un point de vue physico-chimique, le lait est donc une dispersion colloïdale composée de trois phases :

- une émulsion de matière grasse sous forme de globules ;
- une suspension colloïdale de micelles de caséines ;
- une phase continue aqueuse composée essentiellement de lactose, de protéines solubles et de minéraux.

La composition moyenne du lait est présentée si dessous sur la Figure.2 :

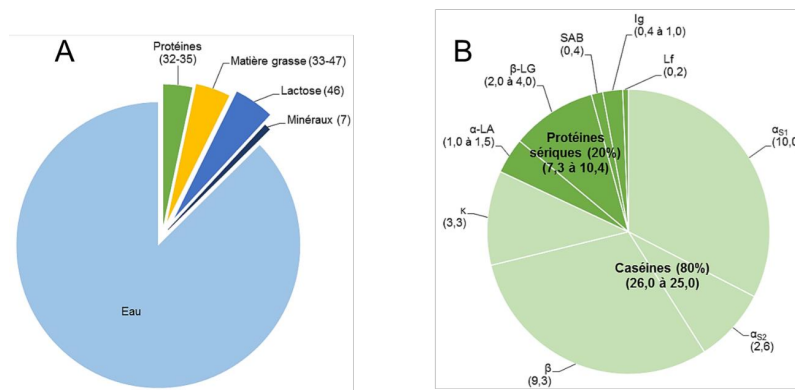


Figure 2. Les Constituants du lait (A) et des protéines lactières (B) du lait natif (g.L-1), avec les caséines (α S1, α S2, β , et κ) les protéines sériques (α -LA, β -LB), sérum albumine bovine, immunoglobuline et lactoferrine [106].

Pour exprimer la composition du lait en terme de pourcentage on parle des solides totaux (S.T), des solides non gras (S.N.G) et du sérum:

$$\% \text{ S.T} = \% \text{ matières grasse} + \% \text{ protéines} + \% \text{ glucides} + \% \text{ minéraux}$$

$\% \text{ S.T} = 100\% - \% \text{ eau}$

$\% \text{ S.N.G} = \% \text{ S.T} - \% \text{ matières grasses}$

$\% \text{ S.N.G} = \% \text{ protéines} + \% \text{ glucides} + \% \text{ minéraux}$

$\% \text{ sérum} = \% \text{ eau} + \% \text{ protéines} + \% \text{ glucides} + \% \text{ minéraux}$

$\% \text{ sérum} = 100\% - \% \text{ matières grasses.}$

Cas du lait de vache:

$\% \text{ S.T} = 100\% - 87,5\% = 12,5\%$

$\% \text{ S.N.G} = 3,2\% + 4,6\% + 0,8\% = 8,6\%$

$\% \text{ Sérum} = 100\% - 3,7\% = 96,3\%$

Le lait natif a un pH entre 6,5 et 6,7, une masse volumique de 1030 kg.m^{-3} , une pression osmotique d'environ 700.10^3 Pa et une force ionique moyenne de 0,08 M avec comme minéraux principaux : le potassium (K^+ , $144 \text{ mg.100 g}^{-1}$), le phosphate (PO_4^{3-} , $108 \text{ mg.100 g}^{-1}$), le chlorure (Cl^- , $106 \text{ mg.100 g}^{-1}$), le sodium (Na^+ , 46 mg.100 g^{-1}), le calcium (Ca^{2+} , 37 mg.100 g^{-1}), le sulfate (SO_4^{2-} , 10 mg.100 g^{-1}), le bicarbonate (HCO_3^- , 10 mg.100 g^{-1}) et le magnésium (Mg^{2+} , 8 mg.100 g^{-1}) [105, 107-109].

Au cours des dernières décennies, Le lait et les produits laitiers sont considérés comme étant une composante importante des aliments fonctionnels. Outre leurs bienfaits pour la santé, les produits laitiers sont également reconnus économiquement comme une denrée agricole et un moteur commercial essentiel. L'industrie laitière est un secteur important au sein de l'industrie alimentaire, le plus dynamique et avec la production brute la plus élevée. Elle a été à la pointe de l'innovation et de la diversification en mettant en avant les nouvelles technologies et les investissements dans la recherche et le développement [39, 110]. La plupart de ces recherches se sont concentrées sur les avantages supplémentaires pour la santé apportés par le lait, ses produits fermentés et les fractions individuelles, qu'il s'agisse de la protéine et de ses peptides, des acides gras, des minéraux ou des vitamines [6, 111, 112]. En conséquent, le développement de nouveaux produits à valeur ajoutée connaît une tendance croissante sur le marché, en particulier les produits fonctionnels.

I.2.1.1.1. Composition et structure des protéines lactières

Les protéines du lait sont classées selon leurs solubilités dans l'eau et leurs stabilités. On distingue deux grandes catégories (Figure.3), les micelles de caséines sphériques, en suspension colloïdale et non solubles mesurant de 30 à 600 nm (180 nm en moyenne) (A) et les protéines sériques en solution colloïdale et solubles mesurent moins de 5 nm (B).

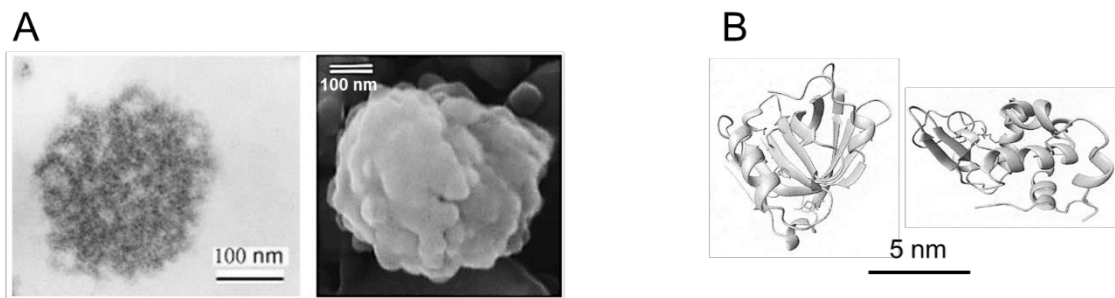


Figure 3. (A) Structures des micelles de caséines du lait natif par microscopie électronique x85000 (à gauche) et par microscopie électronique à balayage x70000 (à droite) [113]; (B) Structures tertiaires des protéines sériques majeures β -LG (à gauche) et α -LA (à droite) [107].

a. Les caséines

Elles constituent 80% des protéines lactières, elles se présentent sous forme de micelles dont la taille varie entre 100nm et 500nm avec une taille moyenne d'environ 180nm. Dans le lait natif, ces micelles sont en équilibre colloïdal par répulsions électrostatiques avec un potentiel de surface de -18 mV et une distance libre d'environ 240nm entre elles. Leur structure est assez stable lors des traitements thermiques inférieurs à 140 °C, mais très sensible aux variations de pH, avec un point isoélectrique d'environ 4,6 [107, 114]. Ces micelles sont constituées de 92 % de protéines et 8% de minéraux. On distingue quatre types de caséines, (α S1, α S2, β et κ) aux proportions de (4 ; 1 ; 3,7 ; 1,4) respectivement [107]. Plusieurs modèles de structure de la micelle de caséines ont été proposés dans la littérature (Figure.4) :

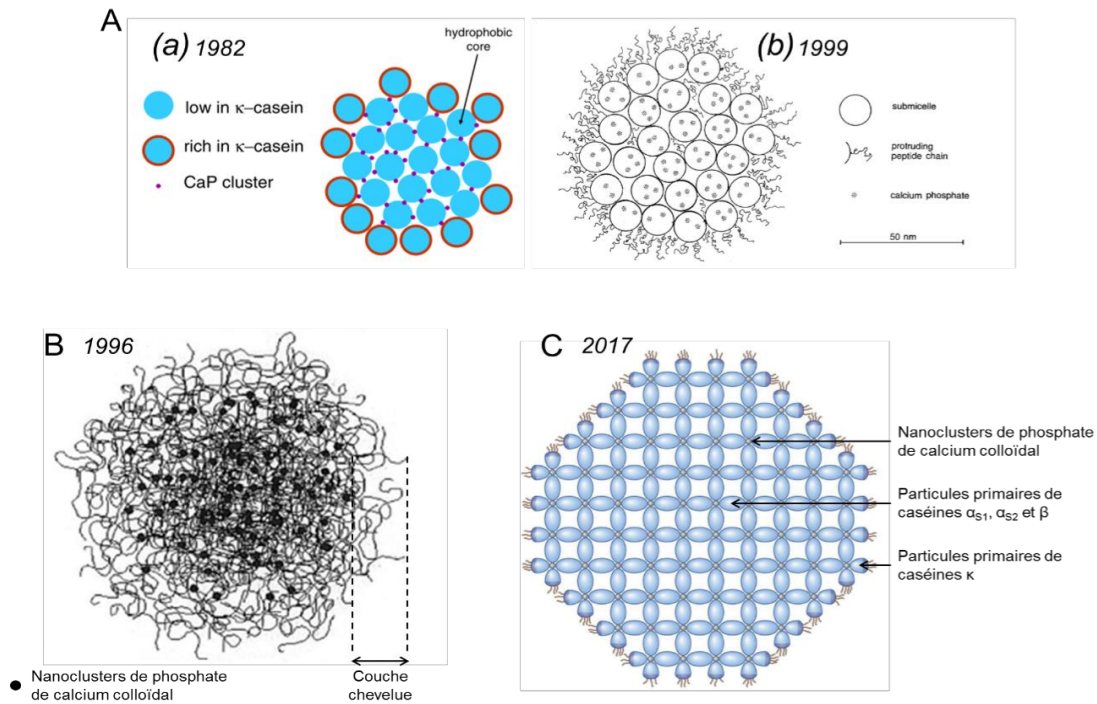


Figure 4. Les modèles de la structure de la micelle de caséines [115]: (A) modèle submicellaire (a) [116] et (b) [117], (B) modèle des nanoclusters [118] et (C) modèle réticulé (illustration de la coupe transversale) [119].

- Le modèle submicellaire : Ce modèle considère la micelle de caséines comme un ensemble de sous micelles, d'une taille entre (15 et 30 nm), reliées entre elles par des ponts phosphocalciques (phosphate de calcium colloïdal). le cœur hydrophobe de la micelle est forme par les sous micelles les plus riches en caséines β , tandis que les plus riches en κ se localisent en périphérie. La structure primaire de la caséine kappa montre la présence d'une portion glycomacropéptide, responsable de son caractère hydrophile. Ce modèle est le plus ancien et le plus cité mais ne correspondrait *a posteriori* pas aux données expérimentales [107, 109, 120].
- Le modèle des nanoclusters : Dans ce modèle, La micelle est représentée comme un réseau protéique formé de caséines où les nanoclusters de phosphate de calcium colloïdaux (≈ 2 nm) sont dispersés. Riches en sites de phosphorylation, les caséines α_{S1} et α_{S2} , participeraient fortement à la formation du réseau contrairement aux caséines β . Tandis que les caséines κ , dépourvues de site de phosphorylation, se localisent en surface des micelles et la stabilisent les micelles natives [107, 118, 120].

- Le modèle réticulé : Dans ce modèle le noyau de la micelle est présenté comme un réseau poreux, fait de particules non sphériques primaires (caséines). Ces particules sont réticulées par des nanoclusters de phosphate de calcium [119, 120].

b. Les protéines sériques

Elles représentent 20% des protéines totales du lait et se composent majoritairement de :

- protéines globulaires β -lactoglobuline (β -LG) ($\approx 50\%$),
- α -lactalbumine (α -LA) ($\approx 25\%$),
- sérum albumine bovine ($\approx 5\%$),
- lactoferrine ($< 5\%$),
- différentes immunoglobulines ($\approx 12\%$)
- d'autres peptides ($< 5\%$).

La structure secondaire de la β -LG est constituée de 50% de feuillets β et de 10% d'hélices α . Sa structure tertiaire est le résultat de la formation de deux ponts disulfures (inter-cystéines) et des interactions hydrophobes entre ses feuillets β (cœur hydrophobe). Elle possède aussi un thiol libre (cystéine libre) enfoui dans sa structure. La structure secondaire de l' α -LA comprend 30% d'hélices α et 9% de feuillets β . Sa structure tertiaire est liée à la formation de quatre ponts disulfures et à la présence d'un site de fixation du Ca^{2+} (pont divalent) qui lui accorde une assez bonne stabilité à la chaleur. La dénaturation de la β -LG est irréversible au-delà de 70 °C alors dans le cas de l' α -LA elle ne l'est qu'au-delà de 90 °C. Les propriétés et structures des protéines sériques varient en fonction du pH avec un pHi moyen autour de 5,5. Elles sont particulièrement sensibles aux traitements thermiques, qui entraînent leur dénaturation et leur agrégation. Il en résulte deux phénomènes :

- Une augmentation de leur propriété d'hydratation suite à l'étirement de la protéine et donc l'augmentation de groupements hydrophiles.
- Une coagulation qui se manifeste par la perte de leur solubilité.

I.2.1.1.2. Composition et structure de la matière grasse laitière

La matière grasse laitière se trouve dispersée dans la phase aqueuse du lait sous forme de globules gras ayant un diamètre moyen entre 4 et 5 μm [121]. Ces gouttelettes de matière grasse sont constituées essentiellement de triglycérides enveloppés d'une membrane composée principalement de protéines et de phospholipides [122]: les triglycérides liquides à bas point de fusion se trouvent au centre du globule et les triglycérides solides à plus haut point de fusion se superposent les uns sur les autres. La périphérie du globule est formée par des phospholipides amphiphiles jouant le rôle d'émulsifiant; des protéines de membranes (lipoprotéines, enzymes et agglutinines) complètent la membrane et dont les charges négatives à la surface des globules, empêchent ces derniers de s'agglomérer. La matière grasse laitière est également constituée de monoacylglycérols, diacylglycérols, acides gras libres, cholestérol, caroténoïdes, phospholipides, vitamines liposolubles et de traces d'hydrocarbures. Malgré leur quantité minime, ces composés lipidiques jouent un rôle fonctionnel dans le lait natif en formant une membrane à l'interface, stabilisant ainsi les globules gras [123]. Cette dernière permet la dispersion de la matière grasse dans la phase aqueuse du lait (rôle d'émulsifiant naturel) et empêche son agrégation et sa coalescence. Elle protège également les lipides des dégradations enzymatiques comme la lipolyse [124].

Des travaux de recherche ont permis de comprendre finement la structure de cette membrane [125, 126]. Elle est décrite comme l'association d'une première monocouche homogène de phospholipides et d'une seconde couche hétérogène contenant des lipides polaires. Elle est aussi constituée de quelques protéines, en plus des composés lipidiques, qui sont principalement des enzymes. La Figure.5 présente la structure complexe de la membrane native, à partir des illustrations de la littérature.

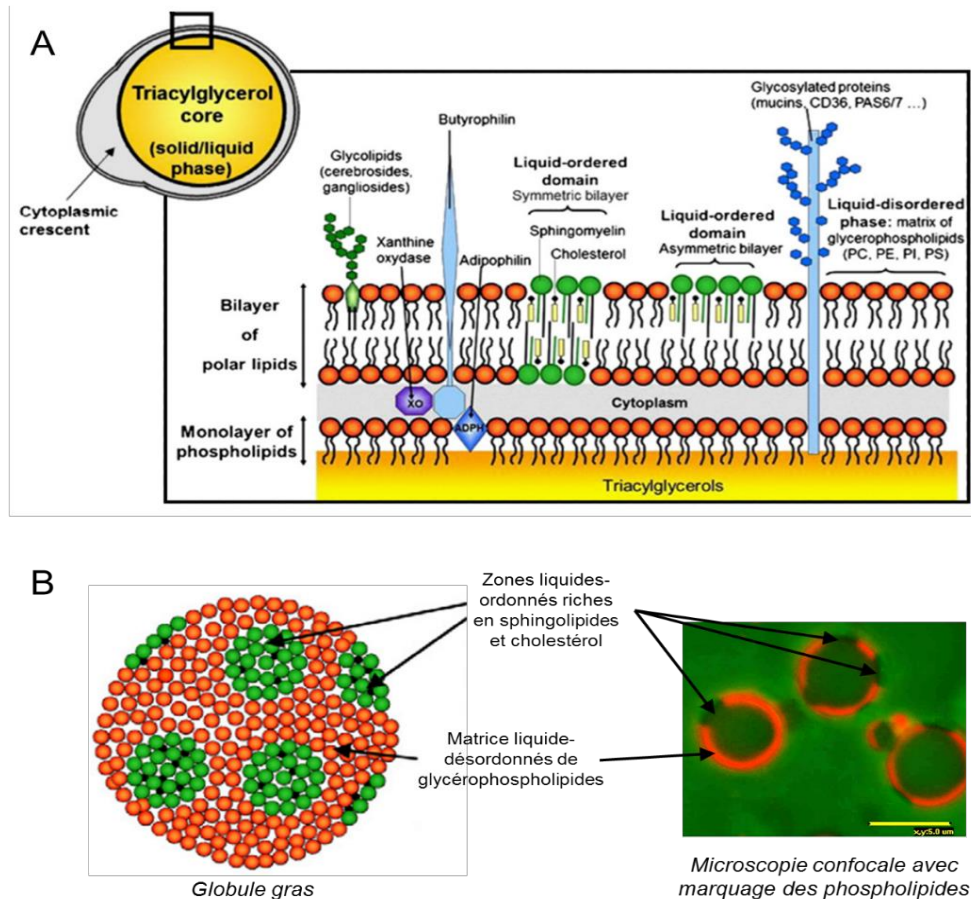


Figure 5. Structure de la membrane des globules gras : (A) l'organisation latérale des lipides et distribution hétérogène des protéines et (B) la ségrégation des phospholipides de la bicouche extérieure en plusieurs domaines plus ou moins ordonnés (barres d'échelle = 5 μ m) [126].

1.2.1.1.3. Le lactose et ses dérivés

Le lait des vaches contient environ 4,6 à 4,8% de lactose. Les deux composants du lactose – glucose et galactose – jouent un rôle biologique important dans le corps en tant que principale source d'approvisionnement énergétique et pour le développement du cerveau en tant que partie du galactocérobroside [127]. En plus du lactose, environ 15 à 18 % des sucres totaux du lait sont présents sous forme de dérivés du lactose sous forme d'oligosaccharides à chaînes droites ou ramifiées [128]. Il a été indiqué que ces oligosaccharides ont des fonctions physiologiques exprimées principalement dans le tractus intestinal; ils pourraient agir comme prébiotiques pour la croissance de la microflore bénéfique dans l'intestin comme

Bifidobacterium bifidum [129]. Les dérivés du lactose améliorent également considérés la santé en modulant le système de défense contre les agents pathogènes, et pourraient agir comme des analogues de récepteurs et empêcher la fixation de micro-organismes pathogènes à la membrane épithéliale du côlon. L'un des problèmes vécu par une petite partie de la population, associé à la consommation de lait est l'intolérance au lactose. Cette dernière est pourtant moins probable avec les produits laitiers fermentés (par exemple le yaourt), du fait que la culture bactérienne ajoutée utilise la majeure partie du lactose comme seule source d'énergie pour leur croissance.

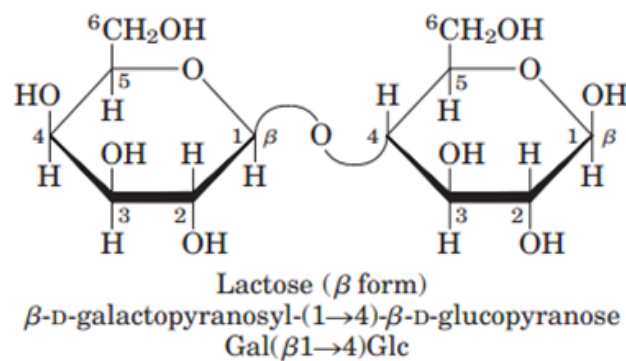


Figure 6. Structure du lactose

I.2.1.1.4. Les minéraux et vitamines

- **Les minéraux**

Ils se présentent sous deux formes au sein du lait : sous forme de sels ionisés, solubles dans le sérum et sous forme micellaire, insolubles. Leur quantité varie entre 0,6 et 0,9% (p/p). Le calcium, le potassium, le magnésium et le sodium forment des sels avec les protéines, les citrates, les phosphates et les chlorures. En plus, le calcium, le magnésium et les phosphates se trouvent sous forme colloïdale dans les micelles de caséines. Toutes les conditions qui affectent l'équilibre ionique du lait affecteront la stabilité des protéines. Les plus importants sont la température, le pH, la nature et la concentration des différents sels. Un des équilibres importants est celui qui s'établit entre le calcium et le phosphate selon le pH [105]:

- La diminution du pH favorise la formation du $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ qui se dissocie facilement pour solubiliser le Calcium.
- L'augmentation du pH entraîne la formation du phosphate tricalcique $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, ce dernier tend à précipiter.

- **Les vitamines & enzymes**

Le lait contient plusieurs vitamines hydrosolubles y compris les vitamines du groupe B (riboflavine, niacine, pantothenate, biotine, thiamine) et des vitamines liposolubles dont la vitamine A, D, E et K. Les enzymes du lait sont de trois groupes : les hydrolases, les déshydrogénases et les oxygénases ; Chaque enzyme possède un pH et une température d'activité maximale [105].

I.2.1.2. Propriétés physico-chimiques et fonctionnalisation des Protéines laitières.

La littérature fait état d'un ensemble de propriétés fonctionnelles des protéines laitières mises en lien avec les conditions physico-chimiques relatives au yaourt : Environnement ionique, pH, traitements mécaniques et thermiques. Ainsi que l'impacte des conditions du procédé sur ces propriétés fonctionnelles. Dans cet état de l'art on citera les propriétés d'hydratation, les propriétés d'interaction et les propriétés émulsifiantes.

I.2.1.2.1. Les Propriétés d'hydratation

Les groupements polaires des acides aminés des protéines interagissent avec les molécules d'eau de différentes manières. Les protéines sériques sont très solubles et peuvent fixer entre 60 et 95% de leur poids en eau en fonction du type de protéine sérique et de l'environnement. Tandis que les micelles de caséines ont une solubilité maximale de $\approx 15\text{-}20\%$ et ne sont pas considérées comme solubles et sont donc en suspension dans l'eau [130, 131]. Il en résulte

des protéines plus ou moins solubles en fonction de leur affinité avec l'eau en plus des conditions physico-chimiques telles que le pH, la température et la force ionique.

- Effet du pH : l'acidification du lait touche particulièrement les caséines. Les charges négatives présentes à la surface des micelles de caséines se neutralisent, engendrant ainsi une augmentation du diamètre moyen des micelles passant de 180 nm à 1300 nm. À un pH de 5, l'agrégation des micelles est observée. Au point isoélectrique qui est de 4,6 les micelles perdent complètement leur structure suite à la dissolution totale du calcium. Les protéines dénaturées subissent donc un étirement et s'enchevêtrent pour former un gel [132].
- Effet de la température : les protéines affectées par les traitement de chaleur sont principalement les protéines du sérum : les lactalbumines, les lactoglobulines et les immunoglobulines. Ainsi le chauffage du lait jusqu' à 60 °C provoque des changements réversibles dans la structure des protéines. Tandis que des traitements supérieurs à 75 °C provoquent la dénaturation des protéines du sérum. Il en résulte 1) une augmentation de la propriété d hydratation de ces protéines puisque leur structure tertiaire est étirée. 2) une coagulation qui se manifeste par une perte de solubilité. À 90 °C, la beta lactoglobuline se dénature et se fixe à la micelle de caséines par un pont disulfure –S-S-, ce qui augmente le volume des micelles de caséines et augmente en conséquent la viscosité du produit laitier [133, 134].
- Effet des sels : l'équilibre ionique est en effet très important dans la stabilité de la suspension colloïdale des caséines et dans la stabilité de la solution colloïdale des protéines du sérum. Au pH du lait qui est d'environ (6,6 - 6,8), les micelles de caséines sont chargées négativement, l'ajout d'ions positifs bivalents tels que le calcium ou le magnésium peut provoquer la formation de ponts de phosphate de calcium et favoriser leur agrégation [135, 136]

I.2.1.2.2. Propriétés d'interactions des protéines laitières

Il existe différents facteurs qui impactent l'état des protéines laitières. Les types d'interaction entre les protéines varient en fonction de leur état, avec différents niveaux d'énergie, faisant intervenir différentes propriétés des protéines. Ces dernières peuvent rester natives, se dénaturer, se dissocier ou s'agréger. Les interactions inter-protéines peuvent se faire par l'intermédiaire de liaisons covalentes, d'interactions hydrophobes et d'interactions électrostatiques. Ces liaisons confèrent aux protéines la capacité de s'agréger et/ou de se gélifier et former des réseaux tridimensionnels [8]:

a. L'agrégation des protéines laitières

Elle résulte de l'association de plusieurs protéines en des entités plus grosses, qu'on appelle particules ou « microgels ». Cette agrégation des particules élémentaires est due à leur mise en mouvement, qui peut être causée soit par le mouvement brownien, soit par l'hydrodynamique du système [137]. L'agrégation des particules peut être limitée par deux situations: 1) Absence de répulsions électrostatiques entre les particules : leur agrégation est limitée par leur probabilité de rencontre (*diffusion limited aggregation*). Les agrégats formés sont peu compacts et leur dimension fractale est basse. 2) Existence de répulsions électrostatiques entre les particules : leur agrégation est limitée par leur capacité à réagir / interagir (*réaction limited aggregation*). Les agrégats obtenus sont donc plus compacts, avec une dimension fractale plus élevée.

- Cas des caséines :

Les agrégats de protéines sériques s'associent aux micelles via les κ -caséines. Cette association se fait principalement via la formation de ponts disulfures, également par interactions hydrophobes et par des interactions ioniques et électrostatiques. Cette association se produit entre 70 et 90 °C. Les complexes formés peuvent mesurer jusqu'à environ 300 nm, leur potentiel ξ est d'environ -15 à -20 mV et leur pHi se situe autour de 4,5. Les mécanismes exacts de la formation des complexes sont encore discutés [138]. La littérature rapporte un ensemble de facteurs physico-chimiques qui modifient la structure et l'état des micelles de caséines (Figure.6).

- Cas des protéines sériques:

Le traitement thermique est le facteur qui impacte le plus l'état des protéines sériques, notamment celui de la β -LG [139]. En effet, il existe une température critique de 80 °C, en-dessous de laquelle la dénaturation de la β -LG protéines prédomine (réaction limitant), et où le pH, le type d'ions et la présence de lactose ont aussi un impact sur le dépliement des β -LG. Au-dessus de cette température critique c'est leur agrégation qui devient prédominante [140] et ce sont le pH, la force ionique, la concentration en protéines et la quantité d' α -LA qui peuvent modifier l'agrégation des protéines sériques [141].

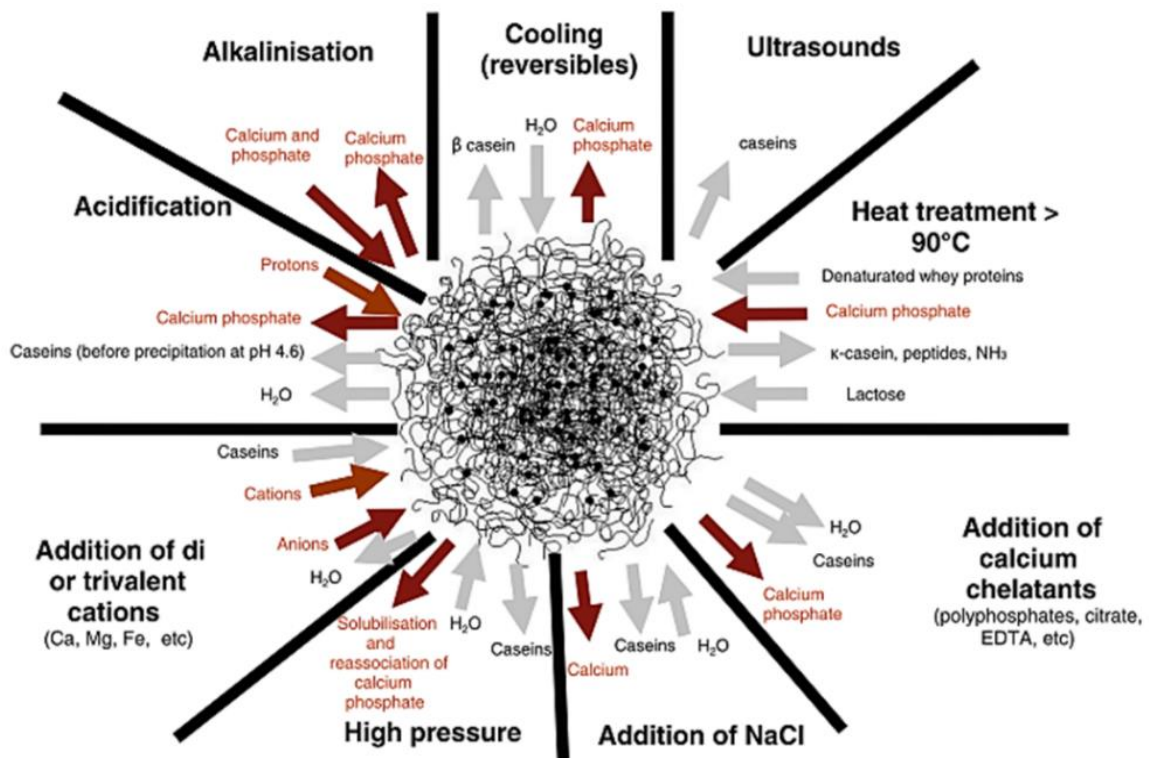


Figure 7. Synthèse des facteurs physico-chimiques impactant les propriétés des micelles de caséines [142]

b. La gélification des protéines laitières

La gélification de mélanges de protéines sériques et de micelles de caséines (tels que dans le lait) se fait principalement par acidification. La variation de pH (acidification), le traitement

thermique ou l'augmentation de la force ionique (avec notamment la présence d'ions divalents comme le Ca^{2+}) peuvent provoquer la gélification des protéines lactières [107, 109]. Cette gélification dépend fortement d'une concentration minimale requise en protéines. L'utilisation d'enzymes comme la présure ou la transglutaminase peut aussi provoquer la gélification des protéines lactières. Les protéines lactières forment différents types de réseaux en fonction de leurs proportions et du traitement qui leur a été appliqué au préalable.

- Cas des caséines :

La gélification se fait principalement par la variation du pH. L'étape d'acidification par fermentation lactique engendre de grandes modifications dans la structure puisqu'elle mène le système à former un gel par interactions entre les composés du mélange. La formation progressive du réseau tridimensionnel au fur et à mesure de l'acidification est bien décrite dans la littérature [143, 144]:

- Quand le pH diminue de 6,6 à 6,0: Les répulsions électrostatiques entre les micelles de caséines diminuent, le phosphate de calcium commence à se solubiliser mais les micelles de caséines (et leurs tailles) restent intactes.
- Quand le pH diminue de 6,0 à 5,5: Les répulsions électrostatiques entre les différentes micelles continuent à diminuer. Le phosphate de calcium colloïdal se solubilise, il en résulte le relâchement des micelles de caséines et la solubilisation d'une partie des caséines. La présence des agrégats de protéines sériques associés aux micelles, limite le relâchement de ces dernières et la solubilisation des caséines.
- Quand le pH diminue de 5,5 à 5,0: Les répulsions électrostatiques entre les micelles continuent à diminuer. Le pH isoélectrique des protéines sériques est atteint, en conséquent des interactions hydrophobes ont lieu entre les micelles et les globules gras, via ces agrégats de protéines sériques. Ainsi commence la formation du réseau tridimensionnel.
- Quand le pH diminue de 5,0 à 4,5: Les répulsions électrostatiques entre les micelles continuent à diminuer jusqu'à atteindre le point isoélectrique de ces dernières (pHi 4,6). Les interactions augmentent et le réseau protéique tridimensionnel finit de se former. La participation des globules gras à la structuration de ce réseau dépend de leur taille. Si cette dernière est inférieure à la taille des pores du réseau protéique, leur participation se fait

par l'intermédiaire de l'interface protéique, et par encombrement stérique. A l'inverse, si les globules gras sont trop gros, ils peuvent limiter la structuration du milieu par une gêne stérique.

- Cas des protéines sériques :

La gélification se fait principalement par traitement thermique. Cependant, les agrégats de protéines sériques peuvent également gélifier par un traitement secondaire tel que l'acidification ou l'augmentation de la force ionique, il s'agit de la gélification à froid (*cold gelation*). Enfin, la gélification de mélanges de protéines sériques et de micelles de caséines (tels que dans le lait) se fait principalement par acidification. Les protéines laitières génèrent différents types de réseaux en fonction de leurs proportions et du traitement qui leur a été appliqué au préalable [145, 146].

I.2.1.2.3. Propriétés émulsifiantes des protéines

Les protéines sont des molécules amphiphiles. La présence de groupements hydrophobes et hydrophiles leur permet de s'adsorber aux interfaces de deux phases non-miscibles (huile/eau) pour en faire une émulsion (une phase dispersée dans une phase continue). La littérature renseigne sur les propriétés interfaciales des protéines, les mécanismes d'installation et de stabilisation de l'interface par les protéines [147, 148]. Dans un premier temps les protéines diffusent dans le milieu jusqu'à l'interface puis s'y adsorbent. Cette étape d'adsorption permet de réduire la tension inter-faciale entre les deux phases non-miscibles de l'émulsion. Une fois adsorbées, les protéines se réorganisent et permettent l'adsorption de nouvelles protéines. À l'inverse des petits tensioactifs, l'adsorption des protéines est considérée comme pratiquement irréversible. Lorsque l'interface est complètement couverte, les protéines en excès dans la phase continue peuvent interagir avec la couche de protéines adsorbée. Le film interfacial viscoélastique ainsi formé permet de stabiliser l'émulsion en fonction de plusieurs facteurs, notamment, des conditions physico-chimiques de la phase continue [149, 150]. Ces facteurs, sont classés en deux niveaux :

1. Facteurs de niveau I sont les facteurs qui ont un impact direct sur les étapes d'installation et de stabilisation, et sur leur déroulement.
2. Facteurs de niveau II sont les facteurs qui peuvent avoir un effet sur les facteurs de niveau I, et donc sur les étapes et leur déroulement (Tableau I).

Tableau I. Synthèse des facteurs pouvant avoir un effet sur les différentes étapes d'installation et de stabilisation de l'interface H/E par des protéines [109, 149, 151]

Etape	Facteur de niveau I	Facteur de niveau II
Diffusion jusqu' à l' interface	Concentration des protéines. Taille des protéines. Solubilité des protéines.	Composition et conditions physico-chimiques de la phase continue. Traitement(s) mécanique ou thermique appliqués aux protéines.
Adsorption	Hydrophobicité des protéines Répulsions électrostatiques et encombrement stérique Protéines en compétition	Composition préalable de l'interface. Composition et conditions physico-chimiques de la phase continue (force ioniques, pH, tensioactifs) Traitement(s) mécanique ou thermique appliqués aux protéines Concentration en protéines.
Réorganisation	Etat des protéines (natives, dénaturées, agrégées) Flexibilité des protéines en fonction de leurs structures II, III et IV	Composition préalable de l'interface Composition et conditions physico-chimiques de la phase continue (force ioniques, pH) Traitement(s) mécanique ou thermique appliqués aux protéines
Formation multicouches	Concentration des protéines Potentiel d interaction des protéines	Composition et conditions physico-chimiques de la phase continue (force ioniques, pH, ions divalents) Traitement(s) mécanique ou thermique appliqués aux protéines
Stabilisation	Quantité de protéines adsorbées (taux de recouvrement, épaisseur du film interfacial) Résistance du film interfacial Répulsions électrostatiques et encombrement stérique entre deux interfaces	Composition et conditions physico-chimiques de la phase continue (force ionique, pH, ions divalents, autres polymères) Taille des protéines adsorbées Charge des protéines adsorbées

Plusieurs études ont montré l'impact de la concentration en l'agent émulsifiant, notamment les protéines sur la stabilisation de l'interface créée au moment de l'émulsification [152, 153] (Figure.7).

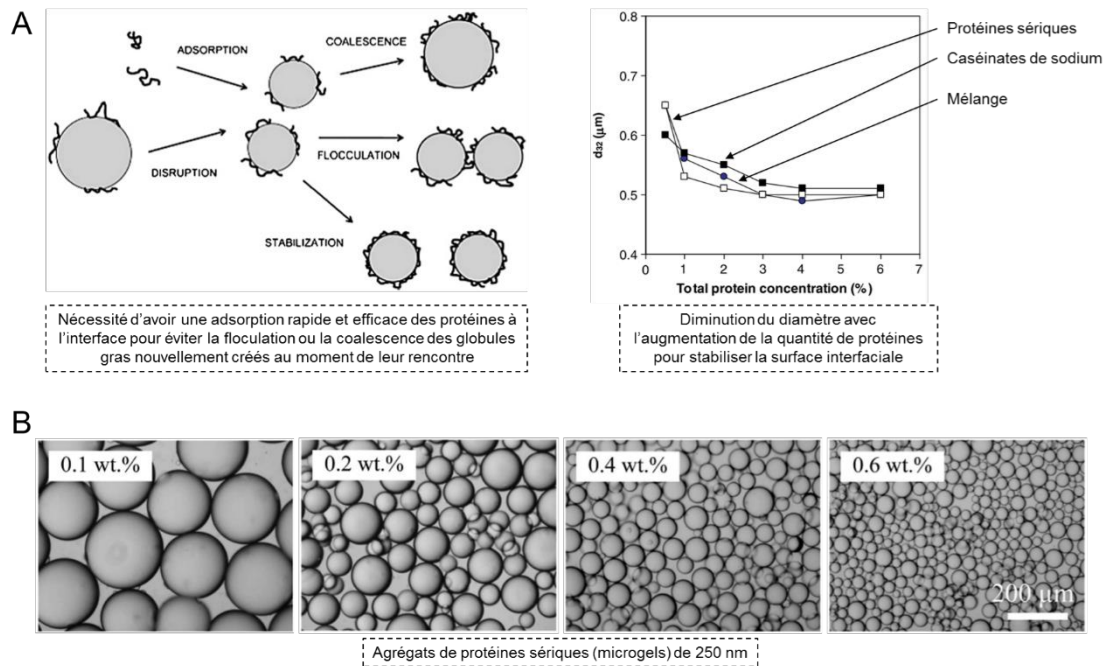


Figure 8. Importance de la quantité de protéines (matériel émulsifiant) pour stabiliser la surface interfaciale créée au moment de l'émulsification [115]: (A) Illustration et exemple d'émulsions (H/E) faites avec des petites protéines flexibles, à partir de [154, 155]; (B) Exemple d'émulsions (H/E) faites avec des agrégats de protéines sériques plus gros et moins flexibles, à partir de [152, 153].

Une fois les protéines adsorbées, le type de film interfacial formé dépend de leur nature, de leur flexibilité et de leur état (natif, dénaturé, dissocié ou agrégé). De plus les protéines ne se réorganisent pas de la même manière, Les protéines natives et individuelles telles que les protéines sériques ou les caséines peuvent se réorganiser en changeant de conformation, tandis que les protéines plus complexes telles que les micelles de caséines ou les agrégats de protéines sériques sont considérées comme étant moins « flexibles » ayant une capacité moindre à se déformer. Il faut plus de protéines pour stabiliser l'interface lorsque les protéines sont plus grosses et plus complexes (Figure.8). Ceci est à la fois dû au nombre d'entités, à la vitesse de déplacement et à la capacité à se réorganiser à l'interface qui sont toutes les trois

plus faibles quand les protéines sont plus grosses et plus complexes, composées de plusieurs protéines associées ou agrégées [156].

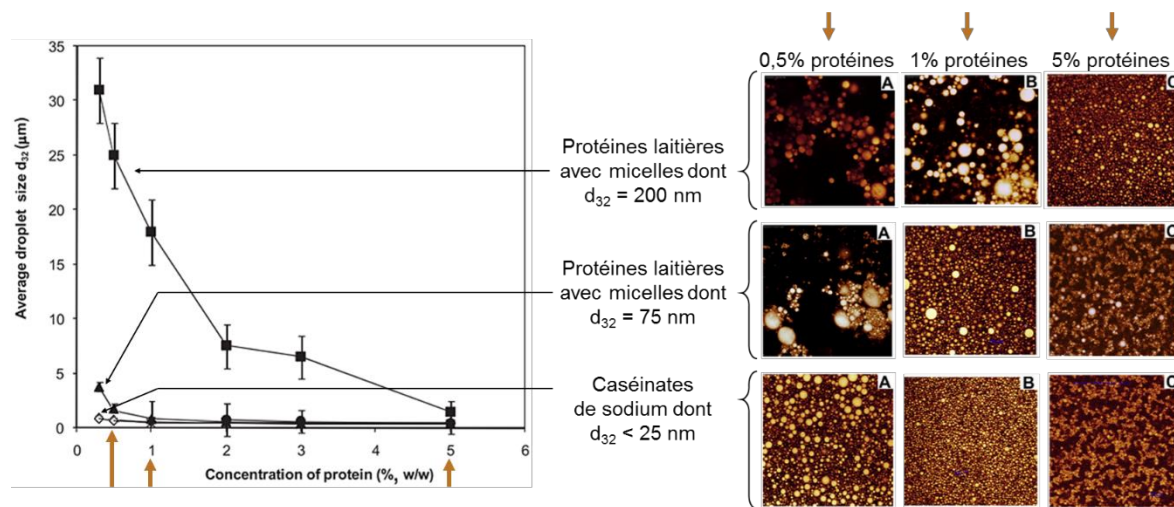


Figure 9. Impact de la taille, de la flexibilité et de la concentration des protéines sur la structure d'émulsions H/E [115] (comparaison entre des micelles de caséines plus rigides et plus grosses et des caséinates de sodium flexibles et plus petites), à partir de [156].

Dans le cas où les protéines sont des mélanges plus complexes, la compétition à l'interface dépend à la fois de la composition en différentes protéines, de leurs natures, de leurs proportions, de leur niveau d'association ou d'agrégation en plus de la concentration globale en protéines. Dans le cas des caséinates de sodium, il existe une concentration seuil d'environ 2,5 %, en-dessous de laquelle ce sont surtout les κ -caséines qui constituent l'interface et au-dessus de laquelle ce sont plutôt les α -caséines. Si par exemple une émulsion H/E est faite à partir de lait écrémé, la composition de l'interface est proche de la composition réelle du lait (environ 20% de protéines sériques et 80% de caséines) [154].

Par ailleurs, l'interaction entre les globules gras et la stabilité de l'émulsion dépendent de plusieurs paramètres y compris le pH et la force ionique. En effet, les protéines apportent une charge négative ou positive de surface aux globules gras selon le pH de l'émulsion. Si la force ionique du milieu est faible, une forte répulsion électrostatique entre les globules gras se produit et l'émulsion est stabilisée. Quand ces protéines sont de taille importante (agrégats ou micelles de caséines) exposant leurs boucles hydrophiles autour des globules gras, elles apportent en plus une stabilisation stérique, limitant ainsi leur agrégation et empêchant leur coalescence. Si le pH se rapproche du point isoélectrique ou que la force ionique du milieu est

élevée, les globules gras peuvent s'agréger et l'émulsion se déstabiliser [149, 152]. Le traitement thermique peut aussi entraîner l'agrégation des protéines en induisant l'interaction entre les protéines de l'interface [157]. La présence d'ions divalents peut créer des interactions entre les protéines des interfaces et ainsi déstabiliser l'émulsion [150]. Par ailleurs, la présence de tensioactifs peut avoir un impact sur l'installation des protéines à l'interface H/E et sur la stabilisation de cette dernière [151].

I.2.2. Le lait fermenté

La fermentation est la transformation de substances organiques telles que les produits laitiers, sous l'action de ferments. Ces derniers sont des microorganismes qui travaillent en symbiose. Par fermentation lactique on entend fermentation où le lactose est transformé en acide lactique, et ce en condition anaérobie. Nous rappelons un petit aperçu historique sur l'origine du yaourt, nous décrivons ensuite les spécificités et les fonctionnalités des produits laitiers fermentés. Nous faisons le point sur le procédé de fabrication, les étapes de production et de développement des produits laitiers fermentés, le yaourt en particulier.

I.2.2.1. Apparition du yaourt

Le lait et les produits laitiers sont consommés depuis des milliers d'années à travers le monde. Leur valeur nutritionnelle, due à la présence des macro et micronutriments, est connue depuis longtemps [158]. Historiquement, les premiers produits laitiers fermentés ont été obtenus accidentellement par le caillage du lait par les bactéries lactiques contaminant le lait. On pense que le mot « yaourt » vient du mot turc « yoğurt », qui signifie épaissir, coaguler ou cailler. L'utilisation du yaourt par les Turcs médiévaux a été enregistrée dans les livres *Diwan Lughat al-Turk* de Mahmud Kashgari [6] et *Kutadgu Bilig* de K.H. Yusuf [7], tous deux écrits au XI^e siècle [159, 160]. Les Turcs ont également été les premiers à évaluer l'utilisation médicinale du yaourt pour une variété de maladies et de symptômes, tels que la diarrhée et les crampes, et pour soulager l'inconfort de la peau brûlée par le soleil. En 1542, le roi François I^{er} de France a introduit ce produit laitier en Europe occidentale après s'être vu offrir du yaourt comme traitement par les alliés turcs du pays pour des épisodes de diarrhée sévère

[161]. Au début du 20^{ème} siècle, le yaourt est devenu connu pour ses bienfaits pour la santé et a été vendu en pharmacie comme médicament. Le premier laboratoire et usine de yaourt ont été ouverts en France en 1932 ; aux États-Unis, le premier laboratoire et usine ont été ouverts en 1941 [162].

I.2.2.2. Spécificités et fonctionnalités du lait fermenté

En France, l'appellation « lait fermenté » est réservée à « des produits laitiers préparés avec des laits écrémés ou non, enrichis ou non en constituants du lait, ayant subi un traitement thermique au moins équivalent à la pasteurisation,ensemencés avec des micro-organismes appartenant à l'espèce ou aux espèces caractéristiques de chaque produit. La coagulation ne doit pas être obtenue par d'autres moyens que ceux qui résultent de l'activité des microorganismes utilisés» [163, 164]. L'appellation « yaourt » est attribuée à « des produits laitiers composés exclusivement de matières premières d'origine laitière, et fermentés par les bactéries lactiques *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*, qui doivent se trouver vivantes dans le produit fini » (Décret n°88-1203). Dans cette même norme, on spécifie des teneurs maximales en matière grasse laitière de moins de 3% pour le yaourt partiellement écrémé et de 0,5% pour le yaourt écrémé. On précise aussi une teneur minimale en matière sèche laitière non grasse de 8,2% pour tous les types de yaourts. Le Codex Alimentarius 2003 spécifie aussi que : « seuls les laits fermentés contenant les espèces vivantes *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus del-brueckii subsp. Bulgaricus*, constituant la « symbiose yaourt », et n'ayant subi aucun traitement thermique après fermentation, peuvent bénéficier de l'appellation « yaourt ». On utilise le terme de « produit laitier frais fermenté » pour parler de l'ensemble des produits similaires aux yaourts, mais fabriqués avec d'autres ferments ou contenant des additifs tels que la gélatine ou l'amidon. Selon la Fédération internationale laitière (FIL) et le Codex alimentarius, « le nombre de bactéries vivantes dans les laits fermentés à la date limite de consommation doit être égale à 107 UFC (unité formant colonie) par gramme rapportée à la partie lactée dans le produit. Les réglementations peuvent varier selon les pays, fixant des minima compris entre 106 et 108 UFC par gramme ou par millilitre de produit » [165, 166].

Les effets bénéfiques sur la santé des produits laitiers fermentés sont nombreux, on cite la réduction des risques de maladies cardiovasculaires [167], l'amélioration du métabolisme du glucose [168, 169]. La génération de peptides bioactifs par l'activité protéolytique des bactéries lactiques, ainsi que la synthèse de certaines vitamines B, notamment le folate B9, la riboflavine B2, la B12, et la vitamine K2 (ménaquinones) [170]. Le développement et la formulation de produits laitiers fonctionnels sont au sommet des études actuelles, à savoir le yaourt, suivi du fromage, du beurre, du lait à travers différentes préparations (aliments en poudre, transformés, condensés et même à base de lait), de la crème glacée, kéfir et ricotta le plus largement étudié vers l'incorporation des ingrédients à différentes fins fonctionnelles [171-173]. Les yaourts et les fromages sont parmi les produits laitiers les plus étudiés pour l'incorporation de bactéries probiotiques à des fins fonctionnelles. Les études avec les probiotiques sont au sommet des recherches sur les produits laitiers, y compris l'utilisation de micro-organismes tels que (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* et *Saccharomyces*), individuellement ou en co-cultures [174-176]. Des résultats très intéressants ont été rapportés concernant les caractéristiques de qualité de ces aliments, leur efficacité et leur acceptation par les consommateurs [177, 178]. La plupart des ingrédients alimentaires actuellement incorporés dans la formulation des produits laitiers fonctionnels, sont les bactéries probiotiques (bactéries vivantes), les prébiotiques (composés sous forme de fibres), les antioxydants (les vitamines, les minéraux, les plantes et les fruits, et leur dérivés) [179-181], des protéines spécifiques, les oligosaccharides, les acides organiques, le calcium hautement absorbable, l'acide linoléique conjugué et d'autres produits biologiques comme composants actifs [182-184].

I.2.2.3. Procédé de fabrication

La production de laits fermentés est une technologie complexe, elle fait intervenir un certain nombre d'étapes importantes autour d'une étape clé de transformation biologique, la fermentation. Nous distinguons deux phases successives, constituées chacune de plusieurs étapes [144, 163, 185]:

- la préparation du lait qui aboutit au « mix » (les différentes étapes que subit le lait en vue de sa fermentation en yaourt), Selon la recette, de la poudre de lait écrémé (PLE) (environ 35 % de protéines) et d'autres ingrédients en poudre peuvent être ajoutés au mix.

- la fermentation (ou incubation) qui aboutit au yaourt « brut » avant la mise en œuvre des étapes de transformations ultérieures.

I.2.2.3.1. La préparation du lait

Pour obtenir un produit final acceptable, il est primordial de déterminer les paramètres à respecter pour atteindre les limites d'acceptabilité. Le contrôle microbiologique et la composition chimique du lait sont des éléments importants à vérifier avant de procéder à la fabrication. On doit également s'assurer de l'absence d'agents inhibiteurs d'activités des ferments (antibiotiques, agents de lavage et assainisseurs comme le chlore) Nous examinons dans cette section les actions principales dans la préparation du lait, ayant des répercussions sur les caractéristiques recherchées dans un yaourt nature.

a. La standardisation

Il est important de citer le rôle des composantes de base du lait afin de comprendre l'importance de la standardisation du mélange sur la qualité finale du produit fermenté notamment le yaourt :

- Les protéines du lait, caséines et lactosérum, de par leur coagulation et leur capacité de liaison avec l'eau, agissent particulièrement sur la viscosité, la consistance, la fermeté et l'élasticité. Ils ont un impact sur la texture du produit finale.
- La matière grasse a un effet sur l'onctuosité et la sensation de douceur en bouche.
- Le lactose est la matière première utilisée par les ferments pour l'acidification. Il a un faible pouvoir sucrant.
- Les minéraux agissent sur la stabilisation du gel acide.

La composition du lait est exprimée en terme de pourcentage des solides totaux (S.T), des solides non gras (S.N.G) et du sérum :

- $\% \text{ S.T} = \% \text{ matières grasses} + \% \text{ protéines} + \% \text{ glucides} + \% \text{ minéraux}$
- $\% \text{ S.N.G} = \% \text{ S.T} - \% \text{ matières grasses}$
- $\% \text{ sérum} = \% \text{ eau} + \% \text{ protéines} + \% \text{ glucides} + \% \text{ minéraux}$
- $\% \text{ sérum} = 100\% - \% \text{ matières grasses.}$

Un lait entier contient environ 9% de solides non gras et 3,6% de matière grasse. Pour un yaourt ferme on parle d'une teneur en solides totaux entre 14 et 15%, pour le yaourt brasse d'une teneur entre 11,5 et 12%. Le mélange doit contenir assez de solides totaux pour donner une consistance et une viscosité idéales au yaourt, pour améliorer la sensation en bouche, l'apparence et pour empêcher la séparation du lactosérum, d'où l'importance de la standardisation:

- Par addition de poudre de lait entier ou partiellement écrémé
- Par addition de protéines caséinate, de concentré de protéines de lactosérum ou de protéines lyophilisées
- Par addition de matière grasse, cette dernière peut être remplacée par des hydrolysats de protéines laitières possédant une certaine onctuosité et pouvant compenser l'absence de matière grasse.
- Par addition de stabilisants, amidons modifiés, certains carraghénane, l'agar agar, gélatine.
- Par évaporation et ultrafiltration du lait.

Enfin, il y a quatre paramètres à prendre en considération lors de la standardisation : la quantité à ajouter, le volume à agiter, le temps de brassage et la température du mélange [105, 186]

b. L'homogénéisation

L'homogénéisation a principalement des effets sur la matière grasse et sur les protéines. Elle garantit une répartition uniforme des globules de gras dans le mélange empêchant ainsi leur remontée à la surface et donc une séparation de phase durant la fermentation. Cette répartition uniforme des globules gras procure au mélange une couleur plus blanche, moins bleutée et un goût plus crémeux. La taille des globules dépend des conditions d'homogénéisation, dans le cas d'un homogénéisateur à pression plus la pression appliquée est élevée plus les globules de gras sont petits. On a rapporté qu'une pression moyenne entre 30 et 100 kg/cm² à une température de 38 C prévient la séparation de la matière grasse. De plus jusqu'à une certaine limite, la viscosité des yaourts est directement proportionnelle à l'augmentation de la pression lors de l'homogénéisation. Pour un traitement thermique de 85 C, pendant 20min, une pression entre 150 et 200 bars est optimale pour la viscosité des produits fermentés.

L'homogénéisation a aussi un effet positif sur la stabilité des protéines, en plus de l'amélioration de leur caractère hydrophile en raison de l'ouverture de leur structure ce qui aboutit à une augmentation du nombre de groupements pouvant se lier à l'eau et diminuer ainsi les risques de synérèse [187, 188].

c. Traitement thermique et temps de retenu

Le traitement thermique joue un rôle primordial dans la production du yaourt, on distingue quatre principaux effets :

- La destruction des microorganismes pathogènes potentiellement présents dans le mix afin d'assurer la qualité sanitaire du produit final ;
- L'amélioration de la consistance et la viscosité du produit final et prévient la synérèse par dénaturation des protéines du lactosérum. Cela correspond à un traitement de 95°C pendant 5min ou 80 à 85°C pendant 20 à 30min pour un minimum de solides totaux de 9,5 à 12%. Cette dénaturation multipliera par trois la capacité de rétention d'eau du mélange. [157] ;
- L'effet sur la couleur et goût ce qui nécessite une attention particulière lors du traitement thermique, pas trop intensif ;
- L'influence positive sur l'activité des ferments en leur procurant un milieu plus propice à la fermentation, la modification thermique de certaines composantes du mélange les rendra plus facilement assimilables par les bactéries ;

Le temps de retenue est le temps pendant lequel il faut laisser reposer le mélange pour compléter les effets de dénaturation des protéines. Généralement à la température finale du traitement de 88 à 90 C pendant environ 10min [189, 190].

I.2.2.3.2. La fermentation

La fermentation est une étape majeure dans la fabrication des produits laitiers fermentés et a une action importante sur leurs propriétés physiques (texture) et organoleptiques (saveur et arôme). Le yaourt est du lait qui a été fermenté et acidifié avec des bactéries viables et bien définies (*S. thermophiles* and *L. bulgaricus*), créant un produit épaissi, souvent aromatisé,

avec une durée de conservation prolongée. Le pH acide facilite la conservation de ces produits, il inhibe la prolifération d'une grande partie de microorganismes de dégradation et la plupart des pathogènes. La fermentation est l'étape clé dont dépend tout le procédé de fabrication du yaourt, elle doit être parfaitement maîtrisée pour assurer la qualité et la régularité des produits. Les acteurs principaux de cette étape sont: les ferments lactiques, le lactose, les protéines du lait. Actuellement, les procédés de fermentation et la production des ferments sont sujets à un contrôle strict pour garantir l'innocuité et l'uniformité des produits.

a. Les ferments lactiques

Les ferments lactiques laitiers constituent un groupe diversifié de bactéries, seuls les genres *Lactobacillus* et *Streptococcus* sont communément employés dans la fermentation lactique des produits laitiers [191]. La fonction primaire des ferments lactiques est d'acidifier le lait. La plupart des souches de *S.thermophilus* et toutes celles de *Lb. Bulgaricus* ne font pas fermenter le galactose, ils n'utilisent que la fraction glucose du lactose pour produire l'acide lactique. Dans ce cas, l'acide pyruvique produit par la glycolyse est réduit en acide lactique (Figure 10).

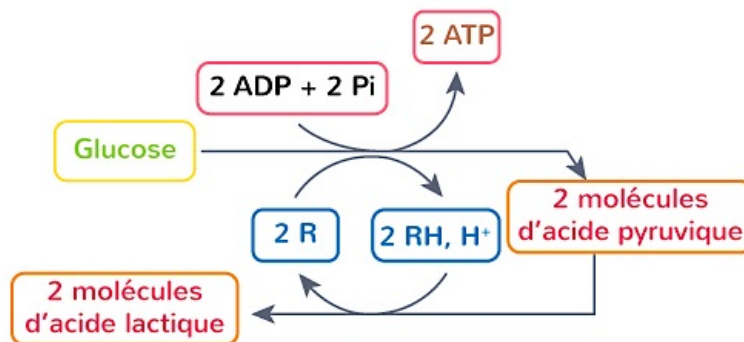


Figure 10. La fermentation lactique

Le bilan chimique peut s'écrire :



Ils sont aussi responsables de la production d'un certain nombre d'arômes dont le diacetyl et l'acétaldéhyde sont les plus importants. La souche *Lb. delbrueckii ssp.bulgaricus* est plus acidifiante que *S.salivarius ssp.thermophilus*. Toutefois, c'est le streptococcus qui est le plus aromatique. On note une synergie d'action entre le *Streptococcus thermophilus* et le *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus*. Dans un premier temps le *streptococcus thermophilus* utilise le lactose comme substrat nutritionnel pour générer l'acide lactique (voie d'Emben-Meyerhof). Le *lactobacillus bulgaris* par son activité protéolytique, hydrolyse les caséines en petits peptides et acides amines assurant ainsi sa croissance et celle du *streptococcus thermophilus* [192, 193]. La température d'incubation influence à son tour la qualité de l'acidification : une température inférieure à 43C favorise la croissance du *S.thermophilus* et donc la production de l'acide lactique sous la forme L (+) alors qu'à une température supérieure à 43C le *Lb. Bulgaricus* est favorisé et donc la forme D (-) est produite. Il a été rapporté qu'un rapport 1:1 entre les deux types est un indice de qualité du yaourt. Dans les pratiques industrielles, on peut toujours favoriser l'un ou l'autre lors de l'inoculation afin d'obtenir des yaourts plus doux ou plus acides selon la clientèle visée [194, 195]. De plus certaines souches de bactéries lactiques appelées filantes, produisent des polysaccharides appelés "exo-polysaccharides" responsables de leurs propriétés épaississantes et texturantes (EPS) [196, 197].

b. L'acidification

L'acidification du lait permet une diminution de pH vers le point isoélectrique des caséines ($pI = pH 4,6$): les micelles de caséines perdent leur stabilisation stérique causant ainsi leur floculation. L'acide lactique issue de la fermentation est chargée positivement, au pH isoélectrique de la caséine chargée négativement, on obtient la neutralité et donc une agrégation des micelles pour former un caillé lactique. Pour une bonne qualité du yogourt, il existe six paramètres à considérer lors de la fermentation: la température du milieu, la qualité du ferment, le taux d'inoculation, le mélange du ferment lors de son addition, le pH final à atteindre et la vitesse d'acidification. L'acidification entraîne la solubilisation du phosphate de calcium au sein des micelles de caséines d'où la séparation des submicelles. La micelle de caséine subit des changements particuliers durant l'acidification dont la dissolution du phosphate de calcium colloïdal, la diminution du potentiel zêta conduisant à l'agglomération

des micelles. À un pH entre 5,2 et 5,3 commence la précipitation. On note un relâchement de la structure des micelles et une augmentation de sa grosseur. Une fois le pH isoélectrique atteint, entre 4,6 et 4,7, la précipitation est complète. On obtient un gel semi-solide ayant des propriétés hydrophiles et une texture douce. La protéolyse qui accompagne cette acidification apporte des changements dans les caractéristiques physiques du yaourt en matière de viscosité et de consistance. Elle contribue à la production de composés aromatiques dont la proportion varie selon la qualité du lait et des souches utilisées. Toutefois, c'est l'acétaldéhyde qu'on retrouve en prédominance et qui est responsable du goût du yaourt [198, 199].

I.2.3. Lait assimilé

Le lait est une forme pharmaco-technique alliant deux phases non miscibles, la matière grasse sous forme de gouttelettes lipidiques, dispersée dans la phase continue aqueuse du lait formant ainsi une émulsion fluide H/E (Figure.9). Il a été possible de constituer des émulsions fluide type lait grâce à des techniques de formulation avancées. La science des émulsions fait appel à deux disciplines : la physico-chimie et le génie des procédés. Les industries qui ont développé ces émulsions type lait sont les industries cosmétiques et pharmaceutiques essentiellement. Dans ce travail l'objectif était de constituer un lait assimilé en variant en quantité et en qualité les différents composants notamment la qualité de la phase lipophile. Ensuite procéder à sa lacto-fermentation pour produire un yaourt assimilé. Dans cette partie nous présentons la formulation générale d'une émulsion, et le procédé de sa fabrication.

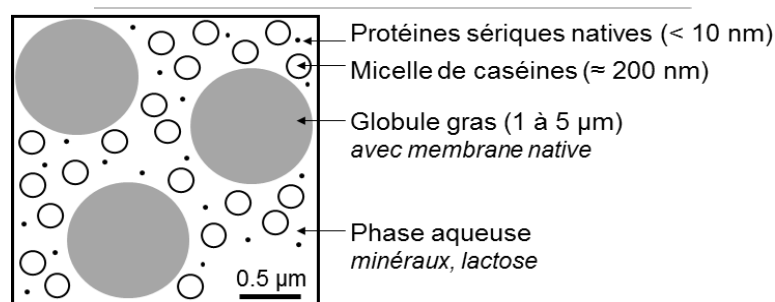


Figure 11. Représentation simplifiée du lait natif et de ses constituants [115].

I.2.2.1. Formulation d'une émulsion

Les ingrédients indispensables pour formuler une émulsion sont l'eau, une huile, un émulsifiant, l'épaississant n'est pas indispensable mais cependant utile [200]:

- **L'huile**

Elle permet d'apporter les propriétés solubilisantes des substances actives insolubles dans l'eau et les propriétés sensorielles du produit. Elle peut être aussi utilisée comme vecteur, dans lequel est ajouté un ingrédient exogène à une dose nutritionnellement active. Elle peut aussi être un mélange de plusieurs huiles [201, 202]. Dans cette recherche nous avons choisi l'huile d'argan pour formuler une émulsion H/E.

- **L'émulsifiant**

Il détermine le sens de l'émulsion. Selon la règle empirique de Bancroft, « un émulsifiant soluble dans l'eau donne une émulsion H/E ; un émulsifiant soluble dans l'huile donne une émulsion E/H ». Il doit assurer plusieurs fonctions comme, permettre la fabrication de l'émulsion, stabiliser l'émulsion contre la coagulation et stabiliser l'émulsion contre la coalescence [203]. Une grandeur caractéristique de tout émulsifiant ou tensio-actif est son HLB (*Hydrophilic-Lipophilic Balance*). Elle permet de chiffrer l'équilibre, lié à la solubilité dans l'eau, entre la partie hydrophile et la partie lipophile de la molécule de tensioactif :

$$\text{HLB} = 20 * \text{Masse molaire (partie Hydrophile)} / \text{Masse molaire totale.}$$

Une HLB comprise entre 1 et 6, stabilise préférentiellement des émulsions de type E/H, une HLB supérieure à 10, donnera surtout des émulsions H/E [204, 205]. Cependant, les propriétés interfaciales des émulsions varient aussi selon la composition de la phase aqueuse.

Cas du caséinate de sodium : nous l'avons désigné comme émulsifiant pour formuler notre émulsion H/E. Il présente une forte affinité avec l'eau, son HLB est égale à 14, sa configuration déployée favorise son interaction avec l'eau. Il augmente la viscosité des liquides et réduit la synérèse des produits solides. [206]. Ce qui n'est pas le cas du calcium caséinate, ce dernier a une capacité de rétention d'eau nettement plus faible ce qui justifie notre préférence du sodium caséinate. De plus, la structure désordonnée et flexible des caséinates de sodium en solution exige un minimum d'énergie pour s'adsorber, s'étaler et se réorganiser rapidement aux interfaces. Ces films confèrent une excellente résistance aux déformations et à la coalescence. Toutefois, l'abaissement du pH au voisinage du pH isoélectrique (pHi – 4,6) diminue l'activité interfaciale des caséinates de sodium et augmente ainsi progressivement la taille des gouttelettes et la sensibilité des émulsions à la floculation [206-208].

- **L'épaississant**

L'épaississant de la phase dispersante (l'eau pour une émulsion H/E) augmente la viscosité de la phase continue et ralentit le crémage. Il permet de contrôler les propriétés rhéologiques (la viscosité) des émulsions pour répondre à deux objectifs principaux, ajuster les propriétés sensorielles et ralentir le crémage (ou la sédimentation). L'épaississant apporte donc des propriétés rhéofluidifiantes à l'émulsion, une viscosité forte au repos et plus faible sous écoulement [203, 209, 210].

Cas de l'amidon : nous avons opté pour le Phosphate de diamidon hydroxypropylé (E1442), amidon modifié, comme agent viscosant et stabilisant de notre formulation. Ce dernier est un amidon réticulé et stabilisé, il augmente la viscosité, la stabilité lors des changements de pH et la résistance à la rétrogradation [211, 212].

I.2.2.2 Procédé de fabrication d'une émulsion

Le Procédé d'émulsification a un impact majeur sur les propriétés finales des émulsions, en particulier leur texture et leurs propriétés sensorielles [213]. L'état stationnaire d'une émulsion dépend du procédé employé et des conditions physicochimique (fraction volumique

de la phase dispersée, viscosité des phases, énergie interfaciale, nature de l'émulsifiant, température) [214-216]. Si la concentration de l'émulsifiant est suffisante pour couvrir la totalité de l'aire interfaciale créée par la fragmentation en gouttelettes de la phase dispersée, alors la taille des gouttelettes est fixée par les caractéristiques du procédé. Les émulsions sont en générale fabriquées par des procédés de dispersion mécaniques. La technologie d'homogénéisation utilisée dans le cas des produits laitiers permet de stabiliser les globules gras en réduisant leur taille et en modifiant leur membrane périphérique [217]. Des molécules comme les phospholipides laitiers, les lécithines mais également certaines protéines laitières (les caséinates) sont utilisées pour stabiliser les émulsions et éviter la séparation visible des deux liquides [218, 219]. Plusieurs types de procédés d'émulsification sont utilisés, le rotor-starter, les ultrasons et les homogénéisateurs à pression, l'émulsification par membrane, les méthodes PIT (*phase inversion temperature*) et PIC (*phase inversion concentration*), mais les plus courantes sont les procédés par agitation vigoureuse où la taille des gouttelettes est liée au gradient de vitesse généré par le mobile d'agitation [220-222].

La technologie de l'émulsification suit des règles qui reposent sur la combinaison de connaissances scientifiques et de savoir empirique. Les maîtrises de la formulation et des procédés de fabrication ouvrent un vaste champ d'applications. La stabilité, les propriétés rhéologiques, la vitesse de libération des substances actives, et les propriétés sensorielles peuvent être ajustées par un choix judicieux du type d'émulsion, de la formulation et du procédé de fabrication [223, 224]. De nombreux produits innovants peuvent être accessibles par cette technologie. Un avantage majeur par rapport aux produits conventionnels est qu'il est toujours possible d'adapter leur composition en fonction de la demande. Le principal facteur limitant est leur technologie et leur faible profil sensoriel. Ces défis offrent une opportunité aux industries et aux chercheurs de déployer des efforts concertés majeurs pour produire de nouveaux produits nutritionnels ayant une fonctionnalité et une acceptabilité améliorées.

I.3. ÉVALUATION SENSORIELLE

L'analyse sensorielle est définie comme étant l'examen des propriétés organoleptiques d'un produit par les organes des sens, par la norme française NF EN ISO 5492 (2009). Elle

consiste à étudier d'une manière ordonnée et structurée les propriétés d'un produit dans le but de le décrire, de le classer ou de l'améliorer, et ceci d'une façon extrêmement objective et rigoureuse. Cette discipline s'est développée dans les années 60, au moment de l'éclosion de la société de consommation, et plus particulièrement avec l'industrie agroalimentaire. Elle est devenu un outil indispensable et performant en recherche et développement de produits innovants et de qualité aussi bien dans le secteur agro-alimentaire que dans l'univers cosmétique. C'est avant tout un outil de conception: un moyen privilégié de contrôler la qualité d'un produit et surtout une aide précieuse au développement et à la conception de produits nouveaux [225-227]. La mise en œuvre de ces techniques d'analyse sensorielle repose sur des ressentis sensoriels, un panel qualifié et des épreuves sensorielles. Des exemples d'analyse de l'attitude du consommateur marocain envers les aliments fonctionnels sont cités à la fin de cette partie [228].

I.3.1. Les sens

L'être humain est en interaction permanente avec son environnement, ce qui lui permet de réagir constamment vis à vis des stimulations extérieures. Tout stimulus est transformé par son organe sensoriel en influx nerveux et émit par le nerf sensitif correspondant pour aller vers le cerveau. Cela entraîne le traitement permanent d'informations et la circulation de messages entre les différentes cellules de l'organisme. La somme des informations provenant des organes sensoriels, concernant des ressentis d'ordre visuel, olfactif, tactile sonore et gustatif, peut entraîner un réflexe ou une sensation, qui interprétée en fonction de notre expérience constitue la perception [229]. Le phénomène qui permet la codification d'un message extérieur, est le résultat d'une interaction entre le stimulus et un récepteur sensoriel. Il en résulte une transformation d'une énergie physique ou chimique en énergie électrique: il s'agit de la transduction. Une sensation combine toujours deux notions très différentes: une évaluation subjective et une évaluation objective (Fig. 10). La métrologie sensorielle a pour mission d'obtenir l'évaluation objective de la sensation [230]. L'individu s'exprime sa perception à travers le langage. L'étape de verbalisation des sensations est la clé de la métrologie sensorielle, elle permet de traduire notre perception des caractéristiques d'un produit. Cette étape qui permet la génération des descripteurs, ensemble de termes qui représentent le produit, est appelée étude terminologique. L'ensemble des informations

analysées permet d'identifier et de déterminer les caractéristiques organoleptiques du produit [231].

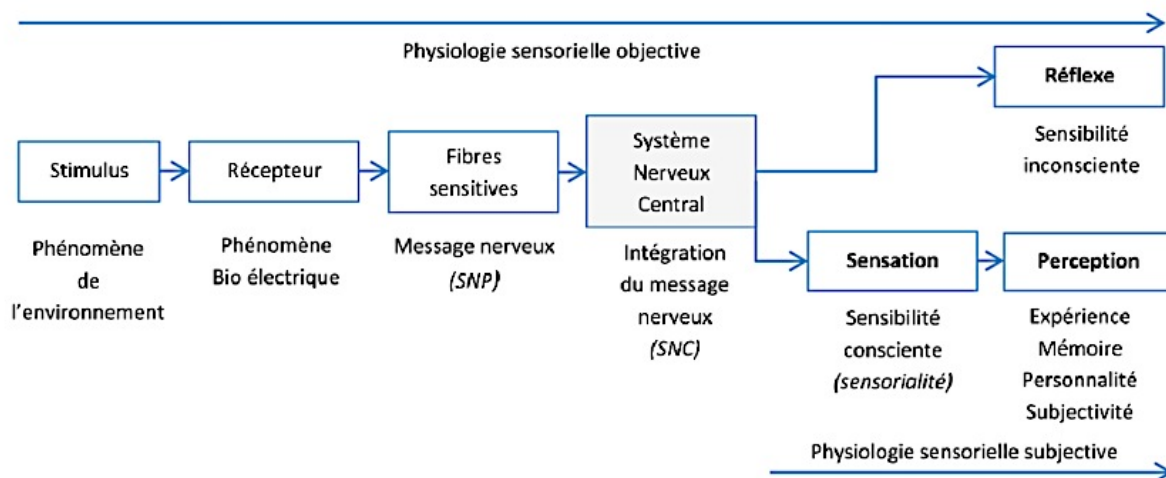


Figure 12. Représentation du processus de perception [232]

I.3.2. Le panel

L'analyse sensorielle se pratique avec un panel: c'est un groupe de sujets volontaires, représentatifs de la population ciblée. L'élaboration des techniques d'analyse sensorielle repose sur l'organisation de séances de mesure, pendant lesquelles des panélistes doivent décrire et évaluer sur un ensemble précis de critères sensoriels le produit à évaluer. Les panélistes jouent alors le rôle d'instrument de mesure. Ils vont décrire le produit testé grâce à leurs cinq sens. Leur entraînement est un élément important du profil sensoriel. Le nombre de panélistes entraînés recommandé est d'environ 15 [233]. La première étape d'un profil sensoriel est d'établir la liste des descripteurs (entre 5 et 20) utilisés pour décrire les produits. Le vocabulaire utilisé pour décrire les produits doit être compris de la même manière par tous les panélistes. Pour faciliter la compréhension, des produits références peuvent être présentés pour illustrer les descripteurs. Les panélistes doivent également être familiarisés à l'utilisation de l'échelle de notation. Lors de l'entraînement, l'expérimentateur doit contrôler la performance du panel en vérifiant la discrimination des produits par le panel, la répétabilité des panélistes et l'accord entre les panélistes (homogénéité du panel).

Dans les études sensorielles des yaourts, les descripteurs évalués par les panélistes ne concernent aussi bien la texture des yaourts et leur apparence visuelle [234, 235], leur arôme

[201] ou leur arrière-goût [236]. Ces tests sensoriels peuvent aussi permettre de détecter des différences de perception de la texture selon la composition protéique du yaourt. Il a été aussi prouvé que la diminution du ratio de caséine et protéines sériques, engendre une augmentation de la perception des descripteurs « granuleux » ou « gélatineux », ainsi que la diminution de la perception des descripteurs « onctueux » et « crémeux » [234, 237]. Le profil conventionnel permet donc d'obtenir un profil sensoriel précis de différents produits, et de quantifier les différences entre les produits [238].

I.3.3. Méthodes d'analyse sensorielle

Les méthodes d'analyse sensorielle utilisent l'être humain comme instrument de mesure pour caractériser les produits. Cette analyse offre des approches attrayantes, pour rassurer les décideurs sur la qualité de l'information reçue. La part d'incertitude liée au facteur humain, peut être atténuée par une rigueur dans le mode de gestion des tests (réponses indépendantes, produits anonymes, environnement neutre, etc.) et par l'utilisation d'un échantillon de taille suffisante pour parfaire les nuances individuelles. Deux grandes familles de méthodes sensorielles sont classiquement décrites comme moyen d'études des propriétés sensorielles des produits : l'analyse sensorielle et les tests consommateurs [239, 240].

I.3.3.1. L'analyse sensorielle

La métrologie sensorielle comprend deux grands groupes de méthodes, Les méthodes discriminatives et les méthodes descriptives. Elles procurent une information dite « objective », où la subjectivité (expériences personnelles, passé culturel du sujet) est maîtrisée [233, 241].

a. Les méthodes discriminatives

Elles ont pour objectif principal de détecter la présence ou l'absence de différences sensorielles entre deux produits. Citons comme exemple l'essai triangulaire, le test duo-trio, l'essai par paire, le test « A », non « A ». Ces épreuves discriminatives mettent en évidence les différences entre deux produits. Elles sont généralement appliquées à des produits avec des

différences minimales. Parmi les techniques les plus courantes, on retrouve les tests triangulaires, les tests d'appariement, l'épreuve duo--trio, Ces méthodes sont très populaires car elles ne nécessitent pas d'entraînement des panélistes et sont simples à mettre en place. Cependant, elles ne donnent pas d'information sur la nature des différences entre les produits, et ne permettent pas de les quantifier. D' où l'importance de les compléter par une analyse descriptive des produits dans le but de décrire la nature des différences perçues [242] .

b. Les méthodes descriptives

Elles visent à mesurer l'intensité de la sensation perçue pour chacun des descripteurs choisis, et à établir à l'aide des descripteurs quantifiés, le profil sensoriel du produit. L'objectif de ces épreuves descriptives est de qualifier et quantifier les différences existant entre les produits en établissant un profil sensoriel pour chacun d'eux. La méthode de référence est l'Analyse Descriptive Quantitative (QDA), recommandée par les normes AFNOR (NF ISO 13299-2016). Cette analyse descriptive quantitative [243] consiste à:

- Rechercher des descripteurs qui permettront de donner le maximum d'information sur les propriétés sensorielles des produits à évaluer ;
- Mesurer l'intensité de la sensation perçue pour chacun des descripteurs choisis ;
- Construire le profil sensoriel du produit à l'aide des descripteurs quantifiés.

I.3.3.2. Les tests consommateurs

Les tests consommateurs, désignés aussi par méthodes hédoniques, se basent sur le plaisir ou déplaisir provoqué par la consommation d'un produit. Ils évaluent le degré de plaisir procuré par un produit en déterminant les proportions de consommateurs préférant un produit à un autre. Les sujets participant à ces épreuves sont des sujets naïfs n'ayant eu aucune pratique de l'analyse sensorielle. Le nombre de sujets recommandé par les normes AFNOR (NF V09--500 Décembre 2012) pour ce type de test est de minimum 60 consommateurs[244].

a. Les tests de notation

Ils sont les tests hédoniques les plus utilisés pour l'étude de l'appréciation des yaourts par les

consommateurs. Les consommateurs doivent noter leur appréciation globale des yaourts sur une échelle hédonique à 9 points allant de «extrêmement désagréable» à «extrêmement agréable». Ces études sont menées, à titre d'exemple, pour étudier l'acceptation de la réduction en sucre, ou l'effet rassasiant de yaourts enrichis en protéines [208, 245, 246].

b. Les tests de préférences

Ils se basent sur une épreuve de classement sont beaucoup moins utilisés dans les études menées sur les yaourts. On peut supposer que le fait que ces épreuves ne renseignent pas sur le niveau d'acceptabilité des produits et sur les écarts d'appréciation ne favorise pas leur utilisation [247].

I.3.4. L'attitude du consommateur marocain envers les aliments fonctionnels

Le profil du consommateur marocain en termes d'alimentation connaît des changements profonds. Les mesures d'attitude à l'égard des aliments fonctionnels représentent un outil approprié pour prédire l'acceptation de ces derniers, d'où l'intérêt d'analyser les propos du consommateur marocain dans ce sens [248, 249]. L'analyse des attitudes et des comportements du consommateur marocain vis-à-vis de l'achat des aliments fonctionnels, a fait l'objet d'une étude qualitative intéressante réalisée en moyennant trois « focus groups » réalisés auprès d'un échantillon de 28 consommateurs différents [250] ; Il en découle les résultats suivants :

- Une grande partie des consommateurs prend conscience de l'augmentation des maladies dues à l'alimentation ;
- le goût est déterminant pour la majeure partie des personnes ;
- La dimension de la santé est considérée dans la notion d'alimentation saine en étant un facteur indissociable à la production bio ;
- Une alimentation saine est associée aux bonnes pratiques de l'agriculture biologique car ils craignent les effets néfastes des résidus chimiques de produits utilisés dans l'agriculture ;

- La dimension de la santé est considérée dans la notion d'alimentation saine en étant un facteur indissociable à la production bio ;
- les choix des consommateurs des produits alimentaires se basent sur plusieurs critères. l'aspect est le critère le plus important ;
- le goût est déterminant pour la majeure partie des personnes ;
- Le prix des produits alimentaires s'avère un paramètre très considérable ;
- Le changement du comportement d'achat est motivé par la possibilité des répercussions positives sur la santé humaine et le bien-être des générations futures ;
- La modification d'attitude est un désir exprimé par une grande partie des consommateurs, principalement par les jeunes et les adultes. Les plus âgés pensent qu'il est difficile de changer leurs habitudes alimentaires ;
- La clarté des informations est un paramètre déterminant et rassurant plus que le label ;

Une autre étude a été réalisée sur l'importance des considérations éthiques dans la perception des consommateurs marocains à l'égard du marketing santé dans l'agroalimentaire [251]. Il en ressort que :

- les allégations santé ne sont pas considérées comme une source d'informations nutritionnelles crédibles par le consommateur marocain ;
- L'intégrité de L'industrie agroalimentaire est mise en cause par un consommateur méfiant. D'où l'intérêt de proposer des fonctionnalités utiles et compréhensibles pour les consommateurs, et développer un marketing éthique, « vrai » et sincère vis à vis du consommateur.

Selon une étude canadienne faite en 2014, analysant le profil du consommateur marocain vis à vis des aliments fonctionnels, une augmentation de 13 % de la consommation des aliments et des boissons fonctionnels ou enrichis a été reportée en 2012, avec un taux de croissance composé de 10 %. C'est dans le secteur des aliments fonctionnels ou enrichis pour bébés que l'on a relevé la valeur de ventes la plus élevée. Les céréales fonctionnelles ou enrichies pour petit-déjeuner avec ingrédients bénéfiques ajoutés ont également été appréciées. Mais Le yogourt avec probiotique a gagné le plus de popularité au Maroc. En effet, les produits laitiers ainsi que les substituts de repas fonctionnels ou enrichis ont enregistré les meilleurs taux de croissance, respectivement de 30 % et de 18 %. Côté prix, ils sont légèrement plus chers que les produits standard comparables, mais restent abordables. La catégorie des

boissons fonctionnelles ou enrichies a connu une modeste hausse de 2 % en 2012. Les boissons énergétiques sont à la tête des ventes de cette catégorie; elles sont populaires au sein des groupes bénéficiant d'un revenu plus élevé et sont souvent consommées dans des événements sociaux [252].

CHAPITRE II : MATÉRIELS ET MÉTHODES

TABLE DES MATIÈRES DU CHAPITRE II

TABLE DES MATIERES DU CHAPITRE II	73
II.1. MATERIELS.....	74
II.2. METHODES.....	75
II.2.1. FABRICATION DES DIFFERENTS SYSTEMES ETUDIES SELON LEUR NIVEAU DE COMPLEXITE.....	76
II.2.1.1. PREPARATION DE LA MATRICE DE BASE	76
II.2.1.2. FABRICATION D'EMULSIONS H/E	78
II.2.1.3. FABRICATION DU YAOURT ASSIMILE A L'ECHELLE DU LABORATOIRE (MODELE).....	80
II.2.2. METHODES DE CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUES	81
II.2.2.1. FORMULATION DE LA MATRICE	81
II.2.2.2. ÉVALUATION DES EMULSIONS.....	82
II.2.3. METHODES DE CARACTERISATION SENSORIELLE	84
II.2.3.1. PROPRIETES SENSORIELLES DU PRODUIT FORMULE P1	85
II.2.3.2. PROPRIETES SENSORIELLES DES PRODUITS OPTIMISES P1A/P1FO	92
II.2.3.3. RECAPULATIF DES ANALYSES STATISTIQUES	94

II.1. MATÉRIELS

Nous présentons l'ensemble des ingrédients et équipements utilisés pour la formulation et l'analyse instrumentale ainsi que les sujets, l'environnement et les produits testés lors de l'analyse sensorielle (Tableau. II).

Tableau II. Matériels utilisés dans tout le travail

INGRÉDIENTS	
Le caséinate de sodium	fournit par Trade Bio-Industries Morocco en quantité suffisante pour l'ensemble des expérimentations.
Les protéines lactières	fournit par Trade Bio-Industries Morocco en quantité suffisante pour l'ensemble des expérimentations
La matière grasse	l'huile d'argan non torréfié extraite de l'arganier « <i>Argania spinosa</i> », utilisée en alimentation humaine, en cosmétologie et en médecine traditionnelle.
Les bactéries lactiques	Deux souches pures lyophilisées: <i>Lactobacillus bulgaris</i> et <i>streptococcus thermophilus</i> . Elles sont stockées comme préconisée par le fabricant, à savoir déshydratées, sous-vide, à l'abri de la lumière à la température de +4 °C. Avant utilisation, les souches sont individuellement aliquotées, réhydratées et réactivées dans 1 ml du mélange avant utilisation.
L'amidon	Dans les plans d'expériences de la première partie, l'amidon utilisé est celui commercialisé sous le nom de Maïzena acheté d'une grande surface. Dans la deuxième et la troisième partie, l'amidon utilisé est un Hydroxypropyl diamidon phosphate (E1442) fournit par Trade Bio-Industries Morocco en quantité suffisante pour l'ensemble des expérimentations.
Le lactose	Dans la première partie le lactose utilisé a été acheté de <i>LOBAL Chemie Laboratory</i> . Dans les deux autres parties il a été fourni de <i>Trade Bio-Industries Morocco</i>
Arômes naturels Masqueur de goût Tous fournis par	Fleur d'orange SC664099 / Amande douce SC902069. <i>Soy smoother</i> SC902068 IFF : <i>International Flavor & Fragrance</i>
pH mètre Nanosizer ZS analyse Ultraturax Microscope optique Rhéomètre	Inlab sensor dairy Electrode, Mettler Toledo Malvern version 6.2 serial number MAL1043134 TissueRuptor II (230 V, 50/60 Hz, EU/CH) Qiagen 9002756 Nikon microscope Eclipse LV100ND, Tokyo, Japan MCR 500 (Physica, Germany).
SUJETS & ENVIRONNEMENT	
Panel 1	30-15 sujets panelistes experts en goût (moyenne d'âge 22 ans). Avant l'étude, les panélistes ont reçu une formation théorique et pratique à l'évaluation sensorielle.
Lieu	Panel sensoriel de l'EBI, 10 cabines dans une salle à température régulée (22°C) et taux d'hygrométrie contrôlé (Figure.11)

PRODUITS TESTÉS	
Produit formulé nature Produits optimisés Produit de référence 6 produits du marché pour générer les descripteurs	P1 PA1 & PFO1 PR



Figure 13. Salle d'évaluation sensorielle de l'EBI : Panel food

II.2. MÉTHODES

Dans cette partie nous détaillons la préparation des différents systèmes étudiés, les méthodes de caractérisation physico-chimique utilisées et les méthodes de caractérisation sensorielle appliquées.

II.2.1. Fabrication des différents systèmes étudiés selon leur niveau de complexité.

Les opérations unitaires qui constituent le procédé de fabrication du produit et permettent d'aboutir à un produit fonctionnel incluent plusieurs étapes: 1) Préparation de la matrice de base ; 2) Fabrication d'émulsions H/E stable ; 3) Fabrication et évaluation sensorielle des type-yaourts.

II.2.1.1. Préparation de la matrice de base

L'ensemble des facteurs sélectionnés ainsi que les intervalles de concentrations choisis dans cette étude ont été proposés en se référant aux pratiques industrielles de fabrication de produits laitiers fermentés [105, 253]. Les composants désignées sont : le caséinate de sodium, l'amidon, le lactose et le ferment, appelés facteurs A, B, C et D respectivement.

Tableau III. Limites inférieures et supérieures des composants utilisés pour le design expérimental 1

Facteurs	Limite inférieure	Limite supérieure
Caséinate de sodium (A)	3%	8%
Amidon (B)	0%	2%
Lactose (C)	4%	9%
Ferment (D)	0.2g/l	0.5g/l

II.2.1.1.1. Plan d'expériences 1

Pour définir l'espace de formulation des mélanges, un premier Plan Factoriel Complet réalisé avec un « Design Expert », a été sélectionné pour évaluer et modéliser les effets du caséinate de sodium, du Lactose, du ferment et de l'amidon sur la diminution de la synérèse du produit fermenté. Cela fournit un maximum d'informations à partir d'un nombre limité d'expériences, comme indiqué dans le Tableau. IV.

Tableau IV. Plan d'expériences 1

Le plan déterminé est un « plan factoriel complet » avec 4 facteurs en 2 niveaux et 16 essais plus 3 points au centre. Ce plan a permis de calculer les éléments suivants et d'effectuer un test de Courbure : Les 4 Effets Principaux, les 6 Interactions d'ordre 2, les 5 Interactions d'ordre 3, la seule Interaction d'ordre 4.

Echantillon	Type d'espace	Caséinate de sodium % (A)	Amidon % (B)	Lactose % (C)	Ferment g/l (D)	Matière sèche %
1	Factoriel	3	0	4	0.2	7
2	Factoriel	3	0	4	0.5	7
3	Factoriel	3	0	9	0.2	12
4	Factoriel	3	0	9	0.5	12
5	Factoriel	3	2	4	0.2	9
6	Factoriel	3	2	4	0.5	9
7	Factoriel	3	2	9	0.2	14
8	Factoriel	3	2	9	0.5	14
9	Factoriel	8	0	4	0.2	12
10	Factoriel	8	0	4	0.5	12
11	Factoriel	8	0	9	0.2	17
12	Factoriel	8	0	9	0.5	17
13	Factoriel	8	2	4	0.2	14
14	Factoriel	8	2	4	0.5	14
15	Factoriel	8	2	9	0.2	19
16	Factoriel	8	2	9	0.5	19
17	Center	5.5	1	6.5	0.35	13
18	Center	5.5	1	6.5	0.35	13
19	Center	5.5	1	6.5	0.35	13

Préparation des échantillons :

Chacune des dix-neuf formules a été préparée comme suit : le lactose a été dissous dans de l'eau distillée pure ; du caséinate de sodium a été ajouté légèrement sous agitation à 250 tr/min, et le tout a été chauffé dans un bain à 70°C pour obtenir une solution homogène. Lorsque l'amidon était requis, il était ajouté une fois le bûcher en verre retiré du bain et refroidi à la température ambiante. Le mélange final était ensuite chauffé dans un bain à 82-85°C pendant 30 min pour pasteuriser et permettre l'hydratation et le gonflement des granules d'amidon. Les échantillons ont ensuite été refroidis à 42 °C, la température d'incubation recommandée pour les bactéries lactiques, et inoculés avec différentes doses de ferments. Tous ces mélanges ont été versés dans des bocaux en verre et placés dans un bain chauffé à 42°C pendant environ 5-6 heures. Tous les échantillons ont été ensuite conservés à 4-5 °C.

avant de procéder à l'évaluation de leur synérèse. L'analyse a été effectuée pendant 24 h. Les volumes de lactosérum libérés par les échantillons fermentés ont été mesurés en inversant chaque échantillon sur un tamis de test fin (largeur de maille 0,25 mm) qui a été placé au-dessus d'un bécher. Le volume de lactosérum égoutté a été collecté dans un cylindre gradué pour chaque temps de prélèvement dans les 24 h pesé et enregistré comme indice de synérèse en terme de pourcentage %.

II.2.1.1.2. Plan d'expériences 2

Un deuxième plan d'expériences a été créé comme indiqué ci-dessous (Tableau V), où la concentration en ferment était fixée à 0,35 g/l et où la teneur en matière sèche de tous les échantillons était fixée à 12 %, tout en gardant les mêmes proportions des autres facteurs considérés dans le 1er design expérimental. La préparation des échantillons et les mesures de synérèse ont été faites comme dans l'expérience 1.

Tableau V. Plan d'expériences 2

Echantillon correspondant dans le tableau 1	Echantillon	Caséinate de sodium % (A)	Amidon % (B)	Lactose % (C)	Ferment g/l (D)	% Matière sèche
1-2	I	5.142	0	6.857	0.35	12%
3-4	II	3	0	9	0.35	12%
5-6	III	4	2.66	5.33	0.35	12%
7-8	IV	2.57	1.714	7.714	0.35	12%
9-10	V	8	0	4	0.35	12%
11-12	VI	5.647	0	6.35	0.35	12%
13-14	VII	6.857	1.714	3.428	0.35	12%
15-16	VIII	5.05	1.26	5.68	0.35	12%

II.2.1.2. Fabrication d'émulsions H/E

Un troisième plan d'expériences a été choisi pour définir l'espace de formulation des mélanges d'émulsions. L'amidon, la protéine (= caséinate de sodium), la phase huileuse, la vitesse et le temps d'homogénéisation ont été utilisés comme variables indépendantes. Les paramètres morphologiques des émulsions (taille moyenne des gouttelettes et taux de variation de taille) ont été sélectionnés comme variables dépendantes. Dans ce contexte

expérimental, le logiciel de conception expert propose un plan optimal de 24 expériences dont 3 à des valeurs médianes comme indiqué dans le tableau IV.

Tableau VI. Plan d'expériences 3

Ce plan est défini par 5 facteurs quantitatifs à 2 niveaux. Il comporte 21 essais « matriciels » et 3 points au centre, le tout réparti en 3 blocs. Ces 21 essais « matriciels » sont suffisants pour estimer la constante, les deux degrés de liberté de l'effet bloc, les 5 coefficients de 1^{er} ordre et les 10 interactions de 2^{ème} ordre dans des conditions d'orthogonalité satisfaisantes (les VIF ne dépassent pas 1,14). Il s'agit vraisemblablement d'un plan optimal.

Block	Echantillon (Run)	Type D'espace	Facteurs de composition			Facteurs du processus		Abréviation pour minima (m), Maxima (M) et valeurs moyennes (a)
			A:Huille	B:Amidon	C:Protéine	D:vitesse d'homogénéisation	E:Durée d'homogénéisation	
			%	%	%	Rpm	Min	
Block 1	1	Vertex	10	0	0	20000	5	m,m,m,M,m
Block 1	2	Centre	15	0,75	1	15000	12,5	a,a,a,a,a
Block 1	3	Vertex	20	0	2	10000	20	M,m,M,m,M
Block 1	4	Vertex	20	0	0	10000	5	M,m,m,m,m
Block 1	5	Vertex	20	0	2	20000	5	M,m,M,M,m
Block 1	6	Vertex	20	1,5	0	20000	5	M,M,m,M,m
Block 1	7	Vertex	10	1,5	2	10000	5	m,M,M,m,m
Block 1	8	Vertex	10	1,5	0	20000	20	m,M,m,M,M
Block 2	9	Centre	15	0,75	1	15000	12,5	a,a,a,a,a
Block 2	10	Vertex	10	1,5	2	20000	5	m,M,M,M,m
Block 2	11	Vertex	20	0	0	20000	20	M/m/m/M/M
Block 2	12	Vertex	10	0	2	10000	5	m/m/M/m/m
Block 2	13	Vertex	10	1,5	0	10000	5	m/M/m/m/m
Block 2	14	Vertex	10	1,5	2	10000	20	m/M/M/m/m
Block 2	15	Vertex	20	1,5	2	10000	5	M/M/M/m/m
Block 2	16	Centre	15	0,75	1	15000	12,5	a/a/a/a/a
Block 3	17	Vertex	20	1,5	0	10000	20	M/M/m/m/M
Block 3	18	Vertex	10	0	2	20000	20	m/m/M/M/M
Block 3	19	Vertex	10	1,5	0	20000	5	m/M/m/M/m
Block 3	20	Vertex	20	1,5	0	10000	5	M/M/m/m/m
Block 3	21	Vertex	20	0	0	20000	5	M/m/m/M/m
Block 3	22	Vertex	20	0	2	10000	5	M/m/M/m/m
Block 3	23	Vertex	10	0	0	10000	20	m/m/m/M/M
Block 3	24	Vertex	20	1,5	2	20000	20	M/M/M/M/M

Des émulsions d'huile dans l'eau ont été préparées par inversion de phase à des concentrations constantes de protéines de lait 3,5% et de lactose 5% avec différentes concentrations d'huile d'argan, de caséinates de sodium et d'amidon comprises entre (10 - 20%) et (0 - 2%) et (0 -1,5%) respectivement et qsp 100g d'eau. Les concentrations de

caséinate de sodium et d'amidon ont été suggérées sur la base de notre étude de synérèse mentionnée plus haut [254].

Préparation des émulsions

Les protéines du lait, le lactose, le caséinate de sodium et l'amidon ont été dissous dans de l'eau distillée sous agitation magnétique, le mélange est traité thermiquement pour permettre la gélification de l'amidon et pasteurisé à 85°C pendant 15 min. Ensuite refroidi à 45°C et homogénéisé avec de l'huile d'argan, dans un bain-marie fixé à 45°C, pour former des émulsions. Ces dernières ont été préparés à deux vitesses d'agitation (10000 - 20000 rpm) pendant deux durées (5 - 20 min). Toutes les émulsions ont été préparées fraîchement avant d'être évaluées. Les émulsions, qui ont présenté une variation de taille des gouttelettes après 5 heures de stockage (T5-T0) inférieure à 12% et un indice de séparation $>$ ou $=$ 3, ont été sélectionnées (Elles ont été soumises à l'évaluation de leur viscosité en phase continue, avant leur fermentation) puis fermentées avec du *lactobacillus bulgaris* et *streptococcus thermophilus* à 42°C.

II.2.1.3. Fabrication du yaourt assimilé à l'échelle du laboratoire (modèle)

Des échantillons de « yaourt assimilé » ont été produits à l'échelle du laboratoire, puis évalués sur le plan sensoriel afin d'optimiser leur formulation.

- **Préparation du yaourt assimilé**

Les composants utilisés ont été fixés à 3,5 % de protéines de lait ; 5% lactose; 1,5% d'amidon, 2% caséinates de sodium (+ masqueur du goût si besoin). Après dissolution dans de l'eau distillée qsp 100ml, sous agitation magnétique, le mélange a été traité thermiquement pour permettre la gélification de l'amidon, pasteurisé à 85 °C pendant 15 min, puis refroidi à 45°C. Ce dernier a été homogénéisé avec l'huile d'argan (additionnée d'arôme si besoin) à l'aide de l'ultraturax (9000 tr/min) pendant 15min, dans un bain marie à 45°C, pour former une émulsion H/E. Cette dernière a été refroidie à 42°C pour être inoculée avec du *S.*

thermophilus et *L. delbrueckii subsp. Bulgaricus*. La durée de fermentation est d'environ (4–4h30 heures) avec un pH final de 4,5. Tous les échantillons ont été conservés au réfrigérateur à 4°C.

Les Produits formulés et testés sont :

- Produit P1 (=Produit formulé nature),
- Produit P1A (= P1 + arôme amande) ;
- Produit P1O (= P1 + Arôme Orange + Masqueur goût huileux).

Les doses d'utilisation conseillées par l' IFF (*International Flavor & Fragarence*).

- Le masqueur de gout c'est le *soy smoother* SC902068 0.05%-0.1% dans le produit fini.
- Fleur d'oranger SC664099 0.017% dans le produit fini.
- Amande douce SC902069 0.02% dans le produit fini

II.2.2. Méthodes de caractérisation Physico-chimiques

II.2.2.1. Formulation de la matrice

Des tests d'évaluation de la synérèse ont été fait sur l'ensemble des échantillons pour identifier les facteurs clés dans la formulation de la matrice. Un suivi du pH et du potentiel zêta a été envisagé pour une meilleure compréhension du rôle des différents facteurs dans la formation du gel acide.

a. Investigation de la synérèse

Tous les échantillons ont été conservés à 4-5 °C pendant 24 h avant de procéder à l'évaluation de leur synérèse. L'analyse a été effectuée pendant 24 h. Les volumes de lactosérum libérés par les échantillons fermentés ont été mesurés en retournant chaque échantillon sur un tamis d'essai fin (largeur de maille 0,25 mm) qui est placé au-dessus d'un bécher. Le volume de lactosérum égoutté a été collecté dans une éprouvette graduée pour chaque temps de prélèvement dans les 24 h pesé et enregistré comme indice de synérèse (%).

b. Monitoring du pH et du potentiel Zeta

Quatre échantillons ont été formulés selon les proportions indiquées ci dessous (Tableau VII). Le caséinate de sodium a été fixé à 5 % et fermenté à 0,35 g/l dans tous les échantillons. Le pH a été mesuré en continu tout au long du processus de fermentation en immergeant l'électrode de verre du pH-mètre sur des échantillons. Le but de cette expérience a été d'évaluer l'impact de l'amidon et du lactose sur le profil d'acidification du système modèle mixte fermenté.

Tableau VII. Formulations pour les mesures du pH et du potentiel Zeta

Échantillon	Caséinate de sodium%	Amidon %	Lactose %	Ferment g/l
i	5	2	9	0.35
ii	5	0	9	0.35
iii	5	2	4	0.35
iv	5	0	4	0.35

La sélection des échantillons pour la surveillance du potentiel zêta a été basée sur la variation du profil d'acidification observée dans les quatre échantillons lors du suivi du pH. Les échantillons qui présentent le temps de gélification le plus court (échantillon i) et le plus long (échantillon iv) ont été sélectionnés. Les mesures du potentiel zêta ont été déterminées sur des dispersions diluées de chaque échantillon, le type de diluant a fortement influencé les résultats obtenus. Les échantillons ont été dilués 100 fois avec de l'eau distillée ultra pure avant de procéder à la mesure, tandis que la dilution avec des solutions tampons a échoué.

II.2.2.2. Évaluation des émulsions

La stabilité des émulsions formulées a été évaluée selon les critères suivants :

- Détection du phénomène du crémage
- Mesures granulométriques
- Caractérisation des propriétés rhéologique

a. Le crémage

Le phénomène du crémage a été évalué pour toutes les émulsions formulées après préparation au temps t_0 et 5h après t_5 . L'évaluation a consisté en la détection d'une séparation de phase : une couche de crème épaisse visible et une phase sérique plus claire. Les émulsions jugées comme stables ont été fermentées pour évaluer leur stabilité après fermentation.

b. Propriétés morphologiques des émulsions : granulométrie

Les propriétés morphologiques en termes de diamètre et de dispersion des gouttelettes ont été caractérisées à l'aide d'une microscopie optique. Les émulsions ont été examinées par la mesure de la taille des gouttelettes après préparation (t_0), et 5 heures plus tard (t_5). Immédiatement après la préparation, 35 ml de chaque émulsion ont été versés dans un tube cylindrique scellé avec un capuchon en plastique et conservés à 25°C pendant une période de 5 heures. Après stockage, la majorité des émulsions ont été séparées en une phase crémeuse supérieure (t_5 top) et une phase de sérum inférieure (T_5 bottom). Les microstructures de toutes les formulations ont été analysées.

Une goutte de chaque émulsion a été transférée sur une lame de verre recouverte d'une lamelle, et évaluée au microscope optique couplé à un logiciel d'analyse d'images (Image J 1.52 a) : Trois images ont été prises au hasard pour chaque distribution, et observées à une grossissement de 40X et 100X. Pour chaque image, 50 gouttelettes ont été comptées pour obtenir les distributions de taille de gouttelettes. L'analyse d'image a fourni une distribution de la taille des gouttelettes en termes de pixels. Les valeurs à l'échelle des pixels ont été converties en microns par un facteur d'échelle. La calibration pour transformer les pixels en taille réelle (μm) a été donnée par la pleine largeur d'une image mesurée [255]. Les paramètres utilisés comme critères pour sélectionner le modèle optimal comprenaient la taille moyenne des gouttelettes (d_{32}) et les taux de variation de la taille après 5 heures de stockage ($T_5 - T_0$). La taille moyenne des gouttelettes a été mesurée à l'aide du logiciel et des diamètres moyens volume-surface (d_{32}) des émulsions [256].

c. Propriétés rhéologiques des émulsions

Pour caractériser les propriétés rhéologiques à l'état liquide, des tests oscillatoires de faible amplitude ont été réalisées sur un rhéomètre MCR 500 (Physica, Allemagne) équipé d'un système couet. Les mesures ont été réalisées en utilisant une géométrie cylindrique de 35 mm de diamètre à température ambiante en utilisant des balayages de fréquence entre 0,05 et 500 Hz à une déformation de 5% (régime viscoélastique linéaire). Les propriétés viscoélastiques dynamiques ont été mesurées pour des émulsions sélectionnées, 15 ml du haut des émulsions ont été versés dans un cylindre concentrique à paroi constitué d'un cylindre acrylique rotatif interne pour évaluer le comportement de crémage de chaque échantillon après leur préparation et 5 heures plus tard. Des courbes d'écoulement ont été tracées pour les émulsions et leurs phases continues. Les paramètres utilisés comme critères pour sélectionner le modèle optimal comprenaient : le stockage dynamique (G'), le module de perte (G''), le module complexe (G^*) et la viscosité apparente. Toutes les mesures ont été effectuées en triple à 25 °C.

II. 2.2.3. Récapitulatif des analyses statistiques

Toutes les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide de Design Expert version 10, un logiciel statistique de *Stat-Ease Inc* qui est spécifiquement dédié à la réalisation de plans d'expériences (DoE). Afin de réduire les effets de diffusion et de comparer les échantillons, tous les résultats physiques ont été normalisés. L'analyse résiduelle, le coefficient de détermination (R^2 ajusté), la significativité des modèles et le manque d'ajustement ont été utilisés pour vérifier la qualité du modèle. La robustesse des modèles a été évaluée en déterminant le coefficient de corrélation au carré (R^2) pour les valeurs prédites par rapport aux valeurs mesurées en validation croisée. En plus du rapport entre l'écart type et l'erreur quadratique moyenne de l'étalonnage.

II.2.3. Méthodes de caractérisation sensorielle

L'objectif principal de ce projet est la mise au point de préparation yaourt assimilé à base de produit du terroir, notamment l'huile d'argan et la réalisation de tests d'évaluation sensorielle qui permettraient de mesurer de la façon la plus objective possible les caractéristiques organoleptiques du produit formulé et définir ainsi son profil sensoriel. Il s'agit d'utiliser l'être humain comme instrument de mesure en mettant à profit ses capacités olfactives, gustatives, visuelles, auditives et tactiles pour caractériser et évaluer le produit. Cette analyse sensorielle est essentielle pour repérer les caractéristiques qui plaisent, et celles qui au contraire devront être améliorées afin d'optimiser sa formulation.

Une analyse sensorielle a été menée sur 3 produits préparés au cours des expérimentations et conservés à 4 °C : le produit initial dit "nature" P1 et Les produit améliorés et aromatisés P1A et P1FO. Lors de cette étude un profil descriptif quantitatif pour chaque produit a été établi. Une liste de propriétés organoleptiques des produits a été caractérisée au moyen d'un panel entraîné à l'évaluation des dites propriétés. La caractérisation sensorielle d'un produit se base sur des descripteurs répondant à une définition et à un protocole spécifique (NF ISO 13299). Avant dégustation, les produits formulés ont été sujets à des tests microbiologiques. Les tests descriptifs ont été conduits en duplicata par un panel goût de l'EBI composé d'experts entraînés préalablement sur des produits similaires.

II.2.3.1. Propriétés sensorielles du produit formulé P1

Nous décrivons l'étude sensorielle réalisée sur le yaourt assimilé formulé (P1), en indiquant le détail des étapes réalisées avant de procéder à la caractérisation sensorielle du produit P1. Ainsi que les conditions de l'étude.

II.2.3.1.1. Description de l'étude

a. Avant les tests

Des séances ont été organisées sur 3 semaines, 6 échantillons de yaourts natures ont été désignés dans le Tableau VIII. Les 30 Panélistes experts en goût ont donc réalisé :

- La génération des descripteurs selon un protocole spécifique (NF ISO 13299) ;
- Le classement par famille de descripteurs ;
- Le comptage du nombre d'apparition de chaque terme ;
- La création des définitions des descripteurs ;
- L'entraînement sur les produits du marché ;
- La mise en place d'un protocole de test.

Tableau VIII : Produits du marché et codes associés

Marque du yaourt	Code associé
NESTLE Yaos	752
Yaourt nature MALO Bio	428
DANONE velouté nature	336
CASINO fromage blanc velouté	830
DANONE Fjord	104
DANONE Gervita	911

Instructions aux panélistes :

- Faire le blanc avec une gorgée d'eau;
- Observer le produit, puis goûter l'échantillon prélevé avec la cuillère;
- Générer des descripteurs;
- Se rincer la bouche;
- Exécuter ces instructions pour les 6 échantillons.

les différents descripteurs générés, ont été classés en 4 grandes catégories, dans lesquelles sont répertoriées les descripteurs générés : l'Aspect, le Prélèvement à la cuillère, la Texture et le Goût. Durant la séance les panélistes nous ont interpellés sur l'odeur des yaourts, de ce fait nous avons donc inclus une nouvelle catégorie "Odeur" (Tableau IX).

Tableau IX : Les descripteurs générés

	ASPECT	PRELEVEMENT A LA CUILLERE	TEXTURE	GOÛT	ODEUR
DESCRIPTEURS	Brillant (22)	Onctueux (14)	Crémeux (18)	Frais (7)	
	Couleur (25)	Résistant (5)	Ferme (12)	Persistance du goût (2)	
	Luisant (7)	Filant (8)	Onctueux (20)	Arrière-goût (10)	
	Crémeux (10)	Compacte (14)	Fondant (20)	Pâteux en arrière-goût (2)	
	Gélatineux (10)	Consistant (7)	Épais (15)	Acre (irritant au goût ou odorat) (8)	
	Fluide (9)	Ferme (14)	Lisse (18)	Fermenté (6)	
	Lisse (8)	Crémeux (4)	Doux (11)	Acide (26)	Fromage
	Homogène/Hétérogène (16)	Friable (1)	Frais (6)	Nature (15)	Frais
	Déphasage (synérèse) (12)	Visqueux (9)	Aéré (5)	Crème (gras) (14)	Acide
	Mousseux (21)	Coulant (15)	Mousseux (8)	Sucré (17)	Fermenté
	Aéré (10)	Moelleux (5)	Apré (rugueux) (2)	Laiteux (16)	Lait de vache
	Croute (1)	Pâteux (3)	Farineux	Goût de vache/chèvre (7)	
	Compacte (12)	Léger/Lourd (8)	Râpeux (1)	Amer (4)	
	Rugueux (2)	Elastique (2)	Pâteux (5)	Fade (6)	
	Granuleux (4)	Collant (2)	Léger (6)	Apré (3)	
	Opaque (5)	Fondant (2)	Compacte (5)	Fromage (4)	
	Visqueux (4)	Liquide (15)	Consistant (3)	Authentique (1)	
	Coulant (5)	Épais (6)	Granuleux (2)	Farineux (2)	
	Nuageux (5)	Déstructuré (1)	Moelleux (4)	Salé (2)	
	Onctueux (6)	Fluide (6)	Coulant (5)		
	Liquide (14)	Reste sur cuillère (1)	Souple (1)		
	Épais (3)	Dur/mou (5)	Cassant (1)		
	Léger (4)	Gélatineux (1)			
	Craquelé (1)	Résistant (1)			
	Consistant (3)	Adhérent (1)			
	Solide (2)	Cassant (1)			
	Ferme (3)				
	Caillé (1)				

*Le chiffre entre parenthèse à côté du descripteur correspond au nombre fois qu'il a été cité par les panélistes dans leur feuille personnelle).

Les descripteurs retenus sont sélectionnés en fonction de leur fréquence de citation par les panélistes (Tableau X).

Tableau X: Les descripteurs retenus

	ASPECT	PRELEVEMENT A LA CUILLERE	TEXTURE	GOUT
DESCRIPTEURS	Couleur		Crémeux	
	Brillant		Ferme	Acide
	Homogène	Onctueux	Onctueux	Nature
	Mousseux	Compacte	Fondant	Crème (gras)
	Liquide	Ferme	Épais	Sucré
	Compacte	Visqueux	Lisse	Laiteux
	Aéré	Coulant	Doux	Arrière-goût
	Crémeux	Liquide	Liquide	
	Déphasé (synérèse)			
	Gélatineux			

* un descripteur donné n'a été comptabilisé qu'une seule fois même s'il apparaissait plusieurs fois dans une même feuille de réponse

Pour les séances concernant les définitions des descripteurs, Les panélistes se regroupent par groupes de travail de 3-4 personnes et réfléchissent sur les définitions des descripteurs manquantes. Ils essaient également de déterminer une manipulation ou façon d'évaluer le descripteur. En donnant les définitions nous pu nous apercevoir que certains descripteurs sélectionnés possèdent la même signification et donc nous avons regroupés et supprimés quelques-uns. Le vocabulaire spécifique pour l'analyse est généré par le jury en amont des séances d'entraînement. Quatorze descripteurs ont été choisis : 5 descripteurs visuels (Blanc, brillant, homogène, déphasé, mousseux) ; 3 descripteurs de texture (Filant, ferme, coulant) ; 3 descripteurs de sensation en bouche (Fondant, ferme, onctueux) et 3 descripteurs de goût (Sucré, acide, crémeux et/ou huileux) comme le montre le tableau XI.

Tableau XI . Les définitions des descripteurs

<u>ASPECT</u>		
<u>Descripteurs</u>	<u>Définitions</u>	<u>Évaluation</u>
Blanc/Non blanc	Echelle de teinte	Glissement du produit sur l'échelle de teinte
Brillant / Non Brillant	Le produit réfléchit la lumière lorsqu'on l'examine sous la lampe / Le produit ne réfléchit pas la lumière lorsqu'on l'examine sous la lampe	Inclinaison du pot sous la lampe
Homogène/ Non Homogène	Le produit ne présente qu'une seule et même phase (même couleur et même aspect) / Le produit ne présente pas qu'une seule et même phase (différence de couleur et d'aspect)	Observation du produit dans
Déphasé / Non Déphasé	Le produit présente un phénomène de synérèse / Le produit ne présente pas de phénomène de synérèse	
Mousseux / Non Mousseux	Le produit est poreux et présente des bulles / Le produit n'est pas poreux et ne présente pas de bulles	

<u>PRELEVEMENT À LA CUILLERE</u>		
Filant / Non Filant	Un fil est formé entre le dos de la cuillère et le produit / Un fil n'est pas formé entre le dos de la cuillère et le produit	Insérer horizontalement le dos de la cuillère puis retirer la cuillère délicatement
Ferme / Non Ferme	Le produit est résistant à la prise et présente une trace après prélèvement à la cuillère / Le produit n'est pas résistant à la prise et ne présente pas de trace après prélèvement à la cuillère	Prélever du produit
Coulant / Non Coulant	Le produit ne reste pas sur la cuillère lorsqu'on l'incline, il s'écoule (ne tombe pas d'un bloc) / Le produit reste sur la cuillère lorsqu'on l'incline, il ne s'écoule pas (tombe en un bloc)	Après prélèvement du produit, incliner la cuillère de manière verticale
<u>TEXTURE EN BOUCHE</u>		
Fondant / Non Fondant	Le produit change d'état / Le produit ne change pas d'état	Déposer le produit sur la langue et évaluer le descripteur à 15 secondes
Ferme / Non Ferme	Le produit présente une résistance à se décomposer / Le produit n'est pas résistant à la prise et ne présente pas de trace après prélèvement à la cuillère	Appliquer une pression avec la langue contre le palais
Onctueux / Non Onctueux	Le produit ne procure pas de sensation de paliers / Le produit procure une sensation de paliers	

<u>GOÛT</u>		
Sucré / Non sucré	Le produit procure un goût sucré* à l'avant sur le bout de la langue / Le produit ne procure pas un goût sucré à l'avant sur le bout de la langue	Mettre une cuillerée de produit en bouche
Acide / Non Acide	Le produit procure un goût acide** sur les côtés au fond de la bouche / Le produit procure un goût acide** sur les côtés au fond de la bouche	
Crémeux / Non Crémeux	Le produit procure un goût associé crème fraîche*** / Le produit ne procure pas un goût associé crème fraîche	

L'évaluation sensorielle descriptive se base sur un lexique et des produits de référence. Dans ce projet, 3 références ont été mises à dispositions des panélistes. Les références concernant deux sensations gustatives : le saccharose pour le gout sucré et l'acide citrique pour le gout acide et cela à différentes concentrations. Le tableau XII rapporte ces concentrations ainsi que les valeurs attribuées par les panélistes.

Une autre référence a été présentée, la crème fraîche pour le descripteur crémeux. Cette référence portait la valeur de 10.

Tableau XI. Références du goût

*Référence choisie descripteur sucré : Saccharose (12g/L, référence codée 933, note 4).			
Concentration solution	Code Produit	Moyenne	Ecart type
4,32 g/l	024	1,67	1,09
12 g/l	933	4,43	1,65
30 g/l	324	7,83	1,26
**Référence choisie descripteur acide : Acide citrique (0,6g/L, référence codée 145, note 6).			
	Code Produit	Moyenne	Ecart type
Concentration solution			
0,2 g/l	785	1,60	1,77
0,38 g/l	215	3,73	2,26
0,6 g/l	145	6,23	1,85
***Référence descripteur crémeux : Crème fraîche épaisse 30% matières.			

b. Analyse sensorielle de l'échantillon

Afin de caractériser de façon discriminantes les qualités sensorielles du produit P1, celui-ci a été caractérisé en même temps que d'autres produits du marché cite plus haut (Tableau VIII). 15 panélistes experts en goût ont évalué les 6 produits sélectionnés du marché, le produit de référence et le produit formulé P1 (produit étude) à l'œil nu et en bouche afin d'établir les profils descriptifs quantitatifs, et ceci à partir de 14 descripteurs définis :

- Aspect : Blanc, brillant, homogène, déphasé, mousseux ;
- Prélèvement à la cuillère : Filant, ferme, coulant ;
- Texture en bouche : Fondant, ferme, onctueux ;
- Goût : Sucré, acide, crémeux.

Les produits ont été donnés aux panélistes dans un ordre aléatoire selon une présentation monadique (l'un après l'autre). Les panélistes ont analysé les descripteurs selon des définitions déjà validées et les ont quantifié sur une échelle discontinue de 0 (absence du descripteur) à 10 (présence très importante du descripteur). Une note de qualité globale sur 10 est demandée en fin de test (Tableau X). Le test s'est déroulé dans la salle panel food d'analyse sensorielle, à température contrôlée de 20 °C et sous lumière blanche.

c. Analyses statistiques et interprétations des résultats

Les séances sont validées sur Tastel© ou XSTAT après chaque test et les résultats bruts sont alors récupérés et archivés sous les codes études suivants en fonction des semaines.

Tableau XII. Protocole d'étude

**Feuille d'Evaluation
Profil descriptif**

Code juge :
Nom Prénom :
Promotion :

Date :
Code Produit :

ASPECT

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Non blanc												Blanc
Non brillant												Brillant
Non homogène												Homogène
Non déphasé												Déphasé
Non mousseux												Mousseux

PRELEVEMENT A LA CUILLERE

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Non filant												Filant
Non ferme												Ferme
Non coulant												Coulant

TEXTURE EN BOUCHE

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Non fondant												Fondant
Non ferme												Ferme
Non onctueux												Onctueux

GOÛT

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Non sucré												Sucré
Non acide												Acide
Non crémeux												Crémeux

II.2.3.1.2. Conditions de l'étude.

L'étude s'est déroulée sur 4 semaines (Tableau XI), les tests ont été réalisés de la façon suivante :

- Les produits sont étudiés de façon monadique, produit par produit dans leur pot d'origine.
- Pour le produit P1 (N°179), les panélistes l'ont évalué dans un pot en verre (30g de produit/pot).
- Les panélistes évaluent les descripteurs sur une échelle comprise entre 0 et 10.

Tableau XIII. Déroulement de l'étude

Semaine 1 (du 18/03 au 22/03)	Evaluation du produit de référence PR (codé 830)	ADES1017719 S1
Semaine 2 (du 25/03 au 29/03)	Evaluation de l'intensité de 3 solutions sucrées et acides Validation des notes de la référence par reproductibilité Entraînement protocole sur Produit du marché (codé 336)	ADES1017719 S2
Semaine 4 (du 08/04 au 12/04)	Entraînement protocole sur la référence PR et un produit du marché (codé 752)	ADES1017719 S3
Semaine 5 (du 22/04 au 26/04)	Evaluation du produit formulé P1 (codé179)	ADES1017719 S4

II.2.3.2. Propriétés sensorielles des produits optimisés P1A/P1FO

II.2.3.2.1. Description de l'étude

20 panélistes en formation goût de l'EBI ont évalué des yaourts à l'œil nu et en bouche, à partir de 15 descripteurs :

- Aspect : Blanc, brillant, homogène, déphasé, mousseux ;
- Prélèvement à la cuillère : Filant, ferme, coulant ;
- Texture en bouche : Fondant, ferme, onctueux ;
- Goût : Sucré, acide, crémeux, huileux.

Le descripteur « huileux » a été ajouté après évaluation du produit de base P1 (tableau XII).

Tableau XIV. Descripteur huileux

Huileux	Le produit procure un goût associé à l'huile ****
Non huileux	Le produit ne procure pas un goût associé à l'huile

La liste résumant l'ensemble des produits qui ont été testés par les panélistes (tableau XI) est:

- Casino Fromage blanc velouté (produit de référence PR, codé 830) ;
- Nestlé Yaos (produit d'entraînement codé 752) ;
- P1 (yaourt assimilé) ;
- P1 + arôme amande (=P1A) ;
- P1 + arôme fleur d'oranger (=P1FO).

Pour des raisons logistiques 15 panélistes ont évalué les produits P1A et P1FO. Les 5 autres panélistes ont eu un produit placebo à la place.

Tableau XV. Codage des produits

Nom du produit	Code
Produit d'étude 2020 avec arôme Amande	P1A
Produit d'étude 2020 avec arôme Fleur d'oranger et masqueur de goût	P1FO
Casino Fromage blanc velouté	830
Nestlé Yaos	752
Produit d'étude 2019 – formule nature	P1

II.2.3.2.2. Conditions de l'étude

L'étude s'est déroulée sur 5 semaines (Tableau XII) : 2 semaines d'entraînement sur le yaourt 830, puis 1 semaine pour la sélection des 15 panélistes et 2 semaines d'étude.

Tableau XVI . Planning des séances

Semaine 1 (le 21 et 22/11/2019)	Entraînement début protocole et yaourt 830
Semaine 2 (le 27 et 28/11/2019)	Entraînement fin protocole et yaourt 830
Semaine 3 (le 10 et 11/12/2019)	Sélection des 14 panélistes Entraînement protocole entier sur yaourt 752
Semaine 4 (du 16/12/2019 au 20/12/2019)	Evaluation du produit P1A (arôme amande)
Semaine 5 (Le 03/02/2020)	Evaluation du produit P1FO (arôme fleur d'oranger + masqueur de goût)

Les produits ont été étudiés de façon monadique, produit par produit dans leur pot d'origine. Pour les produits P1A et P1FO, les panélistes les ont évalués dans un pot en verre (30g de produit/pot). Les panélistes ont évalué les descripteurs sur une échelle comprise entre 0 et 10.

II.2.3.3. Récapitulatif des analyses statistiques

Toutes les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel XLSTAT Pro version 19.6 (Addinsoft, France). Toutes les données sont reportées en "moyenne \pm écart-type", et issues de trois répliques de chaque analyse. Une ANOVA à deux facteurs (échantillons et évaluateurs) avec interaction a été appliquée aux données sensorielles obtenues pour chaque attribut. Un modèle fixe, considérant les évaluateurs comme un facteur fixe, a analysé les différences individuelles entre les évaluateurs. Lorsqu'une interaction significative entre les évaluateurs et l'échantillon a été observée pour un descripteur, une ANOVA de modèle mixte a été réalisée, en considérant les évaluateurs comme un effet aléatoire. Les valeurs de l'échantillon F ont ensuite été recalculées en prenant le carré moyen de l'interaction comme dénominateur. Les différences les moins significatives (LSD) entre les échantillons ont été déterminées par le test de Fisher (5 %).

CHAPITRE III : RÉSULTATS

Cette partie se décompose en 4 volets:

Le premier volet porte sur la formulation de la matrice “**Syneresis investigations of lacto-fermented sodium caseinate in a mixed model system**”. Ce travail a fait l’objet d’une Publication scientifique par le BCM Biotechnology Journal.

Le deuxième volet correspond à la formulation de l’émulsion et aussi sa fermentation “**Creaming behavior prédiction of argan oil in water emulsion stabilized by lacto-fermentation: Creaming index**”. Ce travail a été publié par le BCM Biotechnology Journal, Publication 2.

Le troisième volet comprend l’évaluation sensorielle du produit formule et son optimisation. Ce travail a fait l’objet d’un 3eme article en cours de soumission : « Evaluation of argan oil yogurt like formulation by sensory analysis ».

Le quatrième volet consiste en la rédaction du brevet: Produits laitiers fortifiés en lipides et méthode de fabrication

TABLE DES MATIÈRES DU CHAPITRE III

TABLE DES MATIERES DU CHAPITRE III.....	97
III.1. MISE AU POINT DE LA FORMULATION D'UNE MATRICE MODELE	98
ARTICLE 1: SYNERESIS INVESTIGATIONS OF LACTO-FERMENTED SODIUM CASEINATE IN A MIXED MODEL SYSTEM	100
III.2. CONCEPTION D'UN PRODUIT FONCTIONNEL : INTEGRATION DE L'HUILE D'ARGAN DANS LA MATRICE ET STABILISATION PAR FERMENTATION.....	111
ARTICLE2: CREAMING BEHAVIOR PREDICTION OF ARGAN OIL IN WATER EMULSION STABILIZED BY LACTO-FERMENTATION: CREAMING INDEX.....	113
III.3. EVALUATION SENSORIELLE DU PRODUIT FERMENTE ET FORMULE EN VU DE SON OPTIMISATION	125
ARTICLE 3: EVALUATION OF ARGAN OIL YOGURT LIKE FORMULATION BY SENSORY ANALYSIS.	127
III.4. BREVET : PRODUITS LAITIERS ASSIMILES FORTIFIES EN LIPIDES FONCTIONNELS ET METHODES DE FABRICATION (NUMERO DE DEPOT : 56734).....	143
LA DESCRIPTION	144
LES REVENDICATIONS.....	158
CHAPITRE IV: DISCUSSION GENERALE	161
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	177
VALORISATIONS SCIENTIFIQUES	182
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	184

III.1. MISE AU POINT DE LA FORMULATION D'UNE MATRICE MODÈLE

Résumé

Les produits laitiers fermentés ont une grande valeur nutritionnelle et un effet bénéfique pour la santé sur le microbiote intestinal de l'hôte, en raison de leurs bactéries probiotiques. La synérèse est considérée comme un défaut majeur de ces produits gélifiés induits par l'acide, ce qui est un sujet de préoccupation majeur dans l'industrie laitière. Par conséquent, leurs caractéristiques de texture sont considérées comme des paramètres de qualité importants qui jouent un rôle majeur dans leur stabilité et leur acceptation par le consommateur. Plusieurs études ont été menées dans le monde tant sur le procédé que sur la composition pour améliorer leurs propriétés et leurs qualités nutritionnelles. Cependant, des efforts plus innovants sont nécessaires pour développer une nouvelle matrice interne et de nouveaux produits. Le but de cette étude était d'utiliser le caséinate de sodium comme substrat principal au sein de la phase continue qui peut produire un réseau de gel acide capable de maintenir la phase sérique avec une stabilité optimale et donc de remplacer la fonctionnalité des ingrédients laitiers retirés. En conséquence, un plan expérimental a été proposé en utilisant un plan de mélange des facteurs sélectionnés suivants : caséinate de sodium (facteur : A), amidon (facteur : D), lactose (facteur : C) et ferment (facteur : B). Les effets de ces variables de formulation sur la synérèse du réseau protéique gélifiée acide formé ont été évalués par la surveillance du pH et du potentiel zêta. La fermentation a été réalisée avec des bactéries lactiques conventionnelles *Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus* associé à *Streptococcus thermophilus*. Sur la base de nos résultats, le diagramme de Pareto a clairement indiqué les deux facteurs (A : caséinate de sodium et B : amidon) au-dessus de la limite de Bonferroni, montrant leur influence dominante sur la synérèse.

Les résultats ont montré que, la teneur en caséinate de sodium a joué le rôle majeur de toutes les teneurs en solides dans la réduction de la synérèse. Aussi une diminution significative de la synérèse a été détectée dans tous les mélanges à 8% de caséinate de sodium, variant entre un minimum de 1,8% et un maximum de 20,6% par rapport aux mélanges à 3% de caséinate

de sodium dans lesquels, la diminution de la synérèse avait varié entre un minimum de 22,2% et maximum de 47,8%. Cette variation pourrait être liée à la teneur en protéines par rapport au taux de solides totaux, et peut s'expliquer en termes de dénaturation complète de la protéine à son point isoélectrique montrant des parties plus hydrophiles, ce qui a amélioré la capacité de rétention d'eau du gel de caséinate de sodium résultant et donc moins de synérèse. Le suivi du pH et du potentiel zêta au cours du processus de lacto-fermentation a permis de mieux comprendre la gélification acide et les variations de synérèse. Il a été observé que le potentiel zêta diminuait dans les deux échantillons pendant l'acidification. Cependant, une diminution plus rapide du potentiel zêta a été remarquée dans l'échantillon (i), ce qui est probablement responsable de son temps de fermentation court par rapport à l'échantillon (iv). L'effet de l'amidon sur le profil d'acidification s'est révélé être un élément important à considérer dans la compréhension de l'impact de la réduction du temps de fermentation sur la synérèse. Cette étude a démontré que la synérèse varie très étroitement avec la concentration en caséinate de sodium, la concentration en amidon et aussi avec leur association, quelles que soient les concentrations de lactose et de ferment. De plus, l'ajout d'amidon a eu un impact significatif sur le profil d'acidification et sur la synérèse du modèle mixte fermenté. On a pu conclure de nos essais que la synérèse optimale était atteinte lorsque les bases modèles étaient le caséinate de sodium et l'amidon. En fait, moins de gels de synérèse pourraient être obtenus à une concentration de caséinate de sodium supérieure à 5 % si l'amidon était utilisé au-dessus de 1.

Article 1: Syneresis investigations of lacto-fermented sodium caseinate in a mixed model system

RESEARCH ARTICLE

Open Access

Syneresis investigations of lacto-fermented sodium caseinate in a mixed model system



Soumaya El Bouchikhi^{1,2}, Philippe Pagès³, Yassir El Alaoui¹, Azeddine Ibrahim² and Yahya Bensouda^{1*}

Abstract

Background: The textural characteristics of fermented dairy products are important quality parameters that play a major role in their stability and consumer's acceptance. The aim of this study was to investigate the influence of sodium caseinate, starch, lactose and lactic acid bacteria as ferment on the syneresis in a mixed model system, and to evaluate their impact on the acid gel formation throughout pH and zeta potential monitoring. Accordingly, a protocol was designed to perform an experimental design by using a mixture of the selected factors.

Results: A significant decrease of syneresis was detected in all mixtures at 8% of sodium caseinate, ranging between a minimum of 1.8% and a maximum of 20.6% compared to the mixtures at 3% of sodium caseinate in which the syneresis decrease had ranged between a minimum of 22.2% and a maximum of 47.8%. The addition of starch had a significant impact on the acidification profile and on the syneresis of the fermented mixed model. Moreover, the monitoring of pH and zeta potential during the lacto-fermentation process has also led to a better understanding of the acid gelation and the syneresis variations.

Conclusion: Syneresis varies very closely with sodium caseinate concentration, starch concentration and also with their association, regardless of the concentrations of lactose and ferment. In fact syneresis could be reduced to an optimum level if a sodium caseinate-starch mixed system is employed: Less syneresis gels could be obtained at a sodium caseinate concentration above 5% if starch is used above 1%.

Keywords: Syneresis, Sodium caseinate, Lacto-fermentation, Starch, Acid gel, Non-dairy product

Background

Fermented food products have a great nutritional value and beneficial effect on host gut micro-biome due to their probiotics bacteria, which have a positive impact on human health [1]. In fact Gut micro-biome can directly influence host wellbeing by providing nutritional, metabolic and immunological benefits [2]. In the market, there is a growth in the development of fermented functional dairy products reflecting great interest in studying dairy products that demonstrate health benefits. This market expansion is highly attributed to the food technologist's research, in particular, the development of new ingredients as flavors, fat substitutes, and protein ingredients to be added in the product in order to improve different qualitative and technical aspects. However more innovative efforts are needed to develop new

internal matrix from a variety of substrates, and evaluate its fermentation. On the basis of recent developments, it is anticipated that fermented functional products will continue to be a significant component within the functional food market [3].

Milk, is a natural source of human nutrition and functional food materials that serves as the raw material for the production of dairy products, but also used as food-stuffs in their own right and as ingredients in the manufacture of formulated and processed foods: proteins, lactose, water-soluble vitamins and minerals. Milk proteins can be divided into two species: casein and whey proteins. The beneficial health properties resulting from the consumption of fermented milks have been known for many years. Fermented dairy products are usually made from standardized milk with fat content of 0–3.5% and non fat milk solid content of 11–13% through acidification with lactic acid bacteria. Among the different process parameters such as heat treatment, fermentation, storage conditions and starter culture, milk base

* Correspondence: yahya.bensouda@um5.ac.ma

¹Laboratory of Pharmaceutics, Faculty of Medicine and Pharmacy, Mohammed V University, Rabat, Morocco

Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s). 2019 **Open Access** This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

composition has a big impact on the gel structure formation.

To improve and optimize the properties and the nutritional qualities of fermented dairy and non-dairy products, a variety of ingredients are used on both the process and the composition. It was also reported that casein-based products tended to produce firmer gels with less syneresis than yogurts fortified with whey protein [4]. Damin et al. (2009) showed that yogurt made with milk supplemented with sodium caseinate resulted in significant increase in firmness. The increase in milk solids may be achieved by the addition of skimmed milk powder or through the concentration of a milk portion by ultrafiltration. In a previous study the influence of milk protein-based ingredients on the textural characteristics, the sensory properties, and the microstructure of probiotic yogurt during a refrigerated storage period of 28 days was studied; and it was reported that probiotic yogurt from milk fortified with sodium caseinate showed much higher values of firmness and viscosities than yogurt from skimmed milk powder or whey protein concentrate fortified milk [5]. Heat treatment also promotes chemical changes, which improve the milk solids as a fermentation substrate by inducing whey protein-casein interaction through β -lacto-globulin- κ -casein interactions, which improve the texture of the product and reduce syneresis [6]. Conventionally, syneresis is considered as a major defect in products that are based on acid-induced gels [7]. Consumers perceive the separation of whey (syneresis) from yogurt during shelf life as a defect, which is a major subject of concern in the dairy industry [8]. Therefore, The textural characteristics of fermented dairy products are considered as important quality parameters that play an important role in their stability and their consumer's acceptance. Moreover, additives such as pectin, guar gum, cornstarch and gelatin may be used to stabilize the product against syneresis, which also contributes to texture and viscosity.

The matrix or the gel formation is a key property in the acid induced gel formulation, in which casein plays a major role due to its structure properties [5]. It is also known that these gels consist of a particulate network of casein particles linked together to trap water and hold it in place [9, 10]. The main factors governing the formation of acid casein gels are casein concentration, pH, temperature and ionic strength [11, 12]. Before acidification the individual molecules of casein interact with each other and form associate structures called micelles, which are stabilized by electrostatic and steric interactions [4]. During fermentation, lactic acid bacteria use lactose to produce lactic acid that neutralizes gradually the negative charges on the surface of the casein micelles. This causes a decrease of the repulsive interactions and the onset of big aggregates, leading to a

destabilization of the dispersion as soon as the pH drops below 5 [13]. The reduction in the negative charge on caseins occurs with the approach of the isoelectric point, which facilitates aggregation via electrostatic attraction between oppositely charged segments on the caseins as well as by enhanced hydrophobic interactions [14]. Electrostatic repulsion on the caseins decreases with the approach of the isoelectric point; in unheated milk this causes a collapse of the κ -casein hairs (brush) onto the micelles surface (in heated milk the κ -casein hairs are associated with denatured whey proteins and so do not collapse onto the micelle surface). The importance of both electrostatic and hydrophobic interactions for acid gelation was elegantly demonstrated by the cold acidification method developed by Roefs and van Vliet (1990) [15, 16]. At the isoelectric point of casein (pH 4.65), micelles lose completely their structure because of the whole dissolution of calcium's micelles and the entire denaturation of casein, forming an acid gel protein-network [17, 18]. It was also reported that starch addition increases the value of the rheological and physical properties of yoghurts by improving consistency, increasing viscosity and reducing syneresis [19], which contributes to the formation of more stable dispersed acidified milk gelled systems [20, 21]. The nature of interaction between milk proteins and polysaccharides used as stabilizers depends on many factors including the specific types of intermolecular forces between them, their concentrations and environmental factors such as pH, ionic strength and calcium content [11]. For example the interactions of modified starches and casein included electrostatic adhesion, steric stabilization and hydrogen bond [22]. Therefore, a comprehensive study integrating convenient combinations of the main factors involved in the acid gel formation is essential for a closer understanding of syneresis mechanism through the proposed mixed model system.

The purpose of this study was to use sodium-caseinate as the main substrate to create physical building blocks within the continuous phase that may substitute the functionality of the removed milk ingredients and to produce an acid gel-network capable of holding the serum phase with an optimal stability. Accordingly, an experimental design was proposed by using a mixture design of the following selected factors: sodium caseinate, starch, lactose and lactic acid bacteria to determine the effect of these formulations on the syneresis of the formed acid gel protein network. The effects of these formulation variables on syneresis were evaluated through pH and zeta potential monitoring. Fermentation was performed with lactic acid bacteria *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus* combined to *Streptococcus thermophilus* [23, 24]. This work provided more insight on how to reduce syneresis in fermented non-milk based

products, which could be a promising venue in their development.

Conclusion

This study demonstrated that sodium caseinate considerably decreased syneresis in the fermented model system compared to starch while ferment and lactose did not affect significantly syneresis. Moreover, the effect of starch on the acidification profile was revealed as an important element to consider in the understanding of the impact of reduced fermentation time on syneresis. It could be concluded from our trials that the optimum syneresis was achieved when the model bases were sodium caseinate and starch. Based on our results, we also showed that syneresis in the proposed model gel system could be reduced to an optimum level if a sodium caseinate-starch mixed system was employed: Less syneresis gels could be obtained at a sodium caseinate concentration above 5% if starch was used above 1%. Therefore, it will be worthwhile to make an exhaustive study integrating the most convenient combination of the selected factors and different steps of yogurt like manufacturing.

Materials and methods

Ingredients

The main ingredients used in this study were: Sodium caseinate (provided by Trade Bio-Industries Morocco); Native starch (Maïzena trade name, purchased from the local market); Lactose (LOBAL Chemie Laboratory) and Lactic acid bacteria: commercial yogurt starter culture freeze-dried containing *Strep. Thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus* (provided by Trade Bio-Industries Morocco). Freshly distilled water was used for preparation of all samples.

Equipment

The main equipment used in this study was: Water bath set at 42 °C (Mettler WNE14); Fine test sieve (mesh width 0.25 mm); pH meter (Inlab sensor dairy Electrode. Mettler Toledo); Nanosizer ZS analyzer (Malvern version 6.2 serial number MAL1043134) and Design Expert 10 software edited by Stat-Ease inc.

Syneresis monitoring

The ranges of the studied factors proposed for the determination of functional design space, showed in Table 1, were determined according to the concentrations range of sodium caseinate, starch, lactose and lactic acid bacteria used in fermented dairy products manufacturers [17] and designated as factors A, B, C and D respectively.

Table 1 Lower and upper limits of components used to make the experimental design

Factors	Lower limit	Upper limit
Sodium caseinate (A)	3%	8%
Starch (B)	0%	2%
Lactose (C)	4%	9%
Ferment (D)	0.2 g/l	0.5 g/l

Main experimental design

To define the formulation space for sodium-caseinate mixtures, a Complete Factorial Plan performed with Design Expert was selected to evaluate and to model the effects of sodium caseinate, Lactose, ferment and starch on decreasing the syneresis of the fermented product. This provides maximum information from a limited number of experiments as indicated in Table 2.

Preparation of samples

Each of the nineteen formulas has been prepared as follows: Lactose was dissolved in pure distilled water; sodium-caseinate was added slightly under agitation at 250 rpm, and all heated in a bath at 70 °C to obtain a homogeneous solution. When starch was required, it was added once the glass beaker was removed from the water bath and cooled at the ambient temperature. The final mixture was water bath heated at 82–85 °C for 30 min to pasteurize and to allow hydration and swelling of starch granules. Samples were then cooled to 42 °C, which is the incubation temperature that is recommended for the starter culture, and inoculated with different doses of ferments. All these mixtures were poured into glass-jars and placed in a water-bath heated at 42 °C for 5–6 h. All samples were then stored at 4–5 °C for 24 h before proceeding to the evaluation of their syneresis. The analysis was carried out for 24 h. The volumes of the whey released by the fermented samples were measured by inverting each sample on fine test sieve (mesh width 0.25 mm) that was placed on top of a beaker. The volume of whey drained was collected in a graduated cylinder for each sampling time within 24 h weighed and recorded as index of syneresis (%) [25, 26].

Experimental design set to a fixed dry matter

In this experiment, the design was adapted to a fixed dry matter. The concentration of the ferment was fixed to 0.35 g/l and the dry matter content of all samples was set at 12% with respect to the same proportions used in the experimental design 1 as showed in Table 3. The syneresis was measured as indicated below.

pH and potential zeta monitoring

The purpose of this experiment was to evaluate the impact of starch and lactose on the acidification profile of

Table 2 The main experimental design for the selected factors. The completed plan is a “Complete Factorial Plan” with 4 Factors in 2 levels and 16 trials plus 3 points in the center. This plan made it possible to calculate the following and perform a Curvature test: The 4 Main Effects, the 6 Interactions of order 2, the 5 Interactions of order 3, the only Interaction of order 4

Sample	Space type	Sodium caseinate % (A)	Starch % (B)	Lactose % (C)	Ferment lg/l (D)	Dry matter %
1	Factorial	3	0	4	0.2	7
2	Factorial	3	0	4	0.5	7
3	Factorial	3	0	9	0.2	12
4	Factorial	3	0	9	0.5	12
5	Factorial	3	2	4	0.2	9
6	Factorial	3	2	4	0.5	9
7	Factorial	3	2	9	0.2	14
8	Factorial	3	2	9	0.5	14
9	Factorial	8	0	4	0.2	12
10	Factorial	8	0	4	0.5	12
11	Factorial	8	0	9	0.2	17
12	Factorial	8	0	9	0.5	17
13	Factorial	8	2	4	0.2	14
14	Factorial	8	2	4	0.5	14
15	Factorial	8	2	9	0.2	19
16	Factorial	8	2	9	0.5	19
17	Center	5.5	1	6.5	0.35	13
18	Center	5.5	1	6.5	0.35	13
19	Center	5.5	1	6.5	0.35	13

the fermented mixed model system. According to the syneresis results of the second experimental design (Table 3), four samples were designed to be pH monitored and syneresis measured as presented in Table 4. Sodium caseinate was set at 5% and ferment at 0.35 g/l in all sample. The pH was continuously measured along the fermentation process, by immersing the glass electrode of the pH meter on samples.

The selection of samples for zeta potential monitoring was based on the variation of the acidification profile observed in the four samples during their pH monitoring. The Samples that exhibited the shortest (sample i) and

the longest (sample iv) time of gelation were selected. Zeta potential measurements were determined on dilute dispersions of each sample, the type of diluent greatly influenced the obtained results. Samples were diluted 100-fold with ultra pure distilled water before conducting the measurement while dilution with buffer solutions was unsuccessful.

Data analysis

All statistical analyses were performed using the Design Expert version 10, a statistical software package from Stat-Ease Inc. that is specifically dedicated to performing

Table 3 Experimental design with a fixed rates of ferment and dry matter

Corresponding sample in Table 2	Sample	Sodium caseinate % (A)	Starch % (B)	Lactose % (C)	Ferment lg/l (D)	%Dry matter
1–2	I	5.142	0	6.857	0.35	12%
3–4	II	3	0	9	0.35	12%
5–6	III	4	2.66	5.33	0.35	12%
7–8	IV	2.57	1.714	7.714	0.35	12%
9–10	V	8	0	4	0.35	12%
11–12	VI	5.647	0	6.35	0.35	12%
13–14	VII	6.857	1.714	3.428	0.35	12%
15–16	VIII	5.05	1.26	5.68	0.35	12%

Table 4 Formulas for pH and Zeta Monitoring

Sample	Sodium caseinate %	Starch %	Lactose %	Ferment g/l
i	5	2	9	0.35
ii	5	0	9	0.35
iii	5	2	4	0.35
iv	5	0	4	0.35

design of experiments (DOE). In order to reduce scattering effects and to compare the samples, all physical results had been normalised. The Residual analysis, the coefficient of determination (adjusted R^2), the significance of the models and the lack of fit were used to check the quality of the model. The robustness of the models was evaluated by determining the squared correlation coefficient (R^2) for predicted versus measured values in cross-validation and the ratio of standard deviation (SD) to root mean square error of calibration

Table 5 Syneresis results

Sample	Sodium Caseinate % (A)	Starch % (B)	Lactose % (C)	Ferment % (D)	Syneresis %	Dry Matter %
Influence of the selected factors on syneresis						
1	3	0	4	0.2	47.8	7
2	3	0	4	0.5	35.6	7
3	3	0	9	0.2	41.4	12
4	3	0	9	0.5	41	12
5	3	2	4	0.2	31.4	9
6	3	2	4	0.5	25.4	9
7	3	2	9	0.2	21.2	14
8	3	2	9	0.5	15.8	14
9	8	0	4	0.2	20.6	12
10	8	0	4	0.5	19	12
11	8	0	9	0.2	17.6	17
12	8	0	9	0.5	17.2	17
13	8	2	4	0.2	10.2	14
14	8	2	4	0.5	8.4	14
15	8	2	9	0.2	9.2	19
16	8	2	9	0.5	1.8	19
17	5.5	1	6.5	0.35	27.9	13
18	5.5	1	6.5	0.35	27.8	13
19	5.5	1	6.5	0.35	27.4	13
Syneresis after fixed rates of ferment and dry matter						
I	5.142	0	6.857	0.35	33	12
II	3	0	9	0.35	63	12
III	4	2.66	5.33	0.35	24	12
IV	2.57	1.714	7.714	0.35	48	12
V	8	0	4	0.35	5	12
VI	5.647	0	6.35	0.355	36	12
VII	6.857	1.714	3.428	0.35	12	12
VIII	5.05	1.26	5.68	0.35	29	12
Syneresis on formulas of pH and zeta potential monitoring						
i	5	2	9	0.35	28	16
ii	5	0	9	0.35	46	14
iii	5	2	4	0.35	20	11
iv	5	0	4	0.35	45	9

(RMSEC) of the data sets. The ratio of the SD to the RMSEP, called the ratio of prediction to deviation (RPD), is the factor, by which the prediction accuracy has been increased compared to using the mean composition for all samples. This ratio is desired to be larger than 2 for a good calibration. An RPD ratio less than 1.5 indicates poor predictions and the model cannot be used for further prediction.

Results and discussion

Syneresis evaluation

Casein gels are dynamic by nature [10]. The excessive rearrangements of casein particles gel network during gelation and storage have been implicated as being responsible for whey separation and several rheological conditions of acid-induced gel network [8]. However this spontaneous process that is subsequent to the gel contraction with no external forces applied remain far from being completely controlled [27].

The first global experimentation with Design Expert 10 software showed a large variations ranging between a minimum of 1.8% when all factors were at their high level and a maximum of 47.8% when they were at their low level as showed in Table 5, with a “very normal distribution” of the residues (Fig. 1). The significance tests were valid and it was not necessary to transform the response to improve its modeling even if the three centered points showed a very little curvature and lack of adjustment. The Pareto Chart clearly indicated the two factors (A: Sodium caseinate and B: starch) above the Bonferroni limit (Fig. 2), showing their dominant influence on the syneresis.

The separate influence of the four parameters also showed the dominant influence of A & B factors (Fig. 3). The Syneresis decreased highly (19.44 and 14.60%) when the factors A (Sodium caseinate) and B (Starch) varied from their low (3 and 0) to their high level (8 and 2) while the Syneresis decreased smoothly (only 4.16 and 4.40%) when the factors C (Lactose) and D (Ferments) varied from their low level (4 and 0.2) to their high level (9 and 0.5) respectively. Furthermore, the action of the two factors whose effects were the most important (A: Sodium caseinate & B: Starch) showed a positive interaction (+ 1.70); Moreover the results revealed that when sodium caseinate and starch were combined together, sodium caseinate had more significant effect on syneresis than starch (Fig. 4). This was also confirmed by the second experimental design in which the dry matter content of all samples was fixed to 12% and syneresis measurements ranged between a minimum of 5% for the sample at 8% sodium caseinate and a maximum of 63% for the sample with 3% sodium caseinate regardless of their lactose concentrations (Fig. 5). This variation could be linked to the protein content in relation to the total

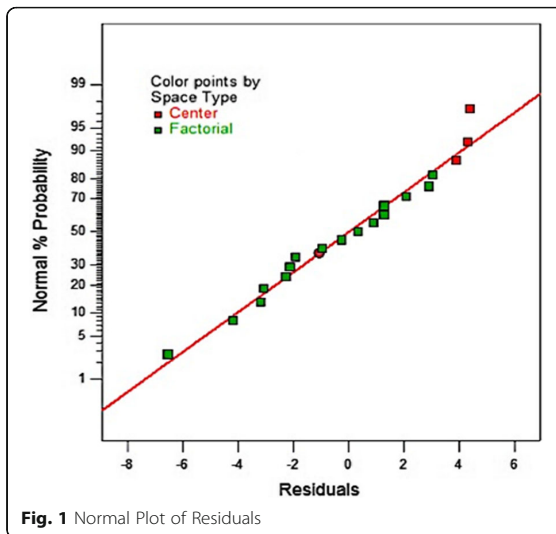


Fig. 1 Normal Plot of Residuals

solids level. Accordingly, the casein content played the major role of all solids contents in reducing syneresis, which was also observed in other previous works [28]. These results may be explained in terms of a complete denaturation of the protein at its isoelectric point showing more hydrophilic parts, which improved the water holding capacity of the resulting caseinate gel and therefore exhibited less syneresis [17]. In addition, it was reported that higher concentrations of casein originate a protein matrix less prone to whey expulsion, probably due to larger particles volume that leads to an increase of the osmotic pressure in the gel system by inter-

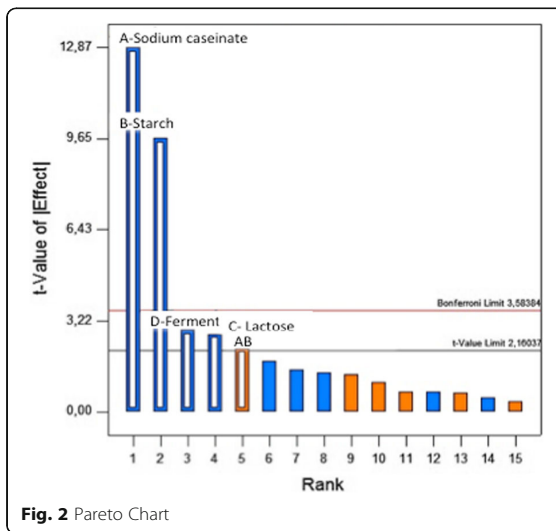
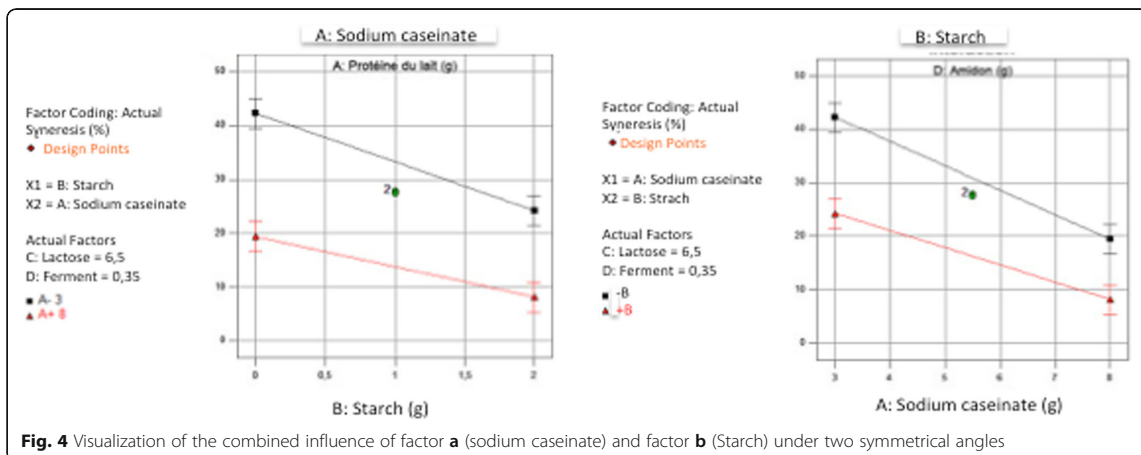
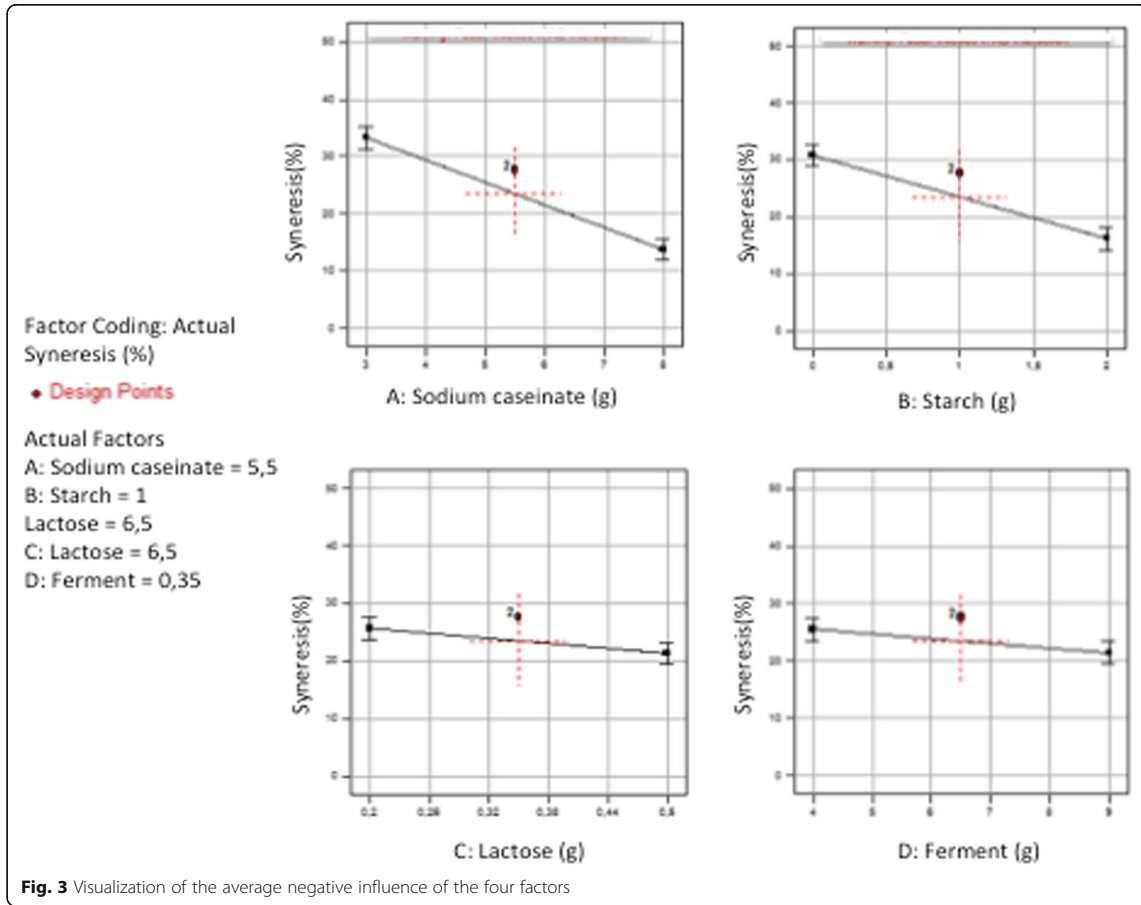
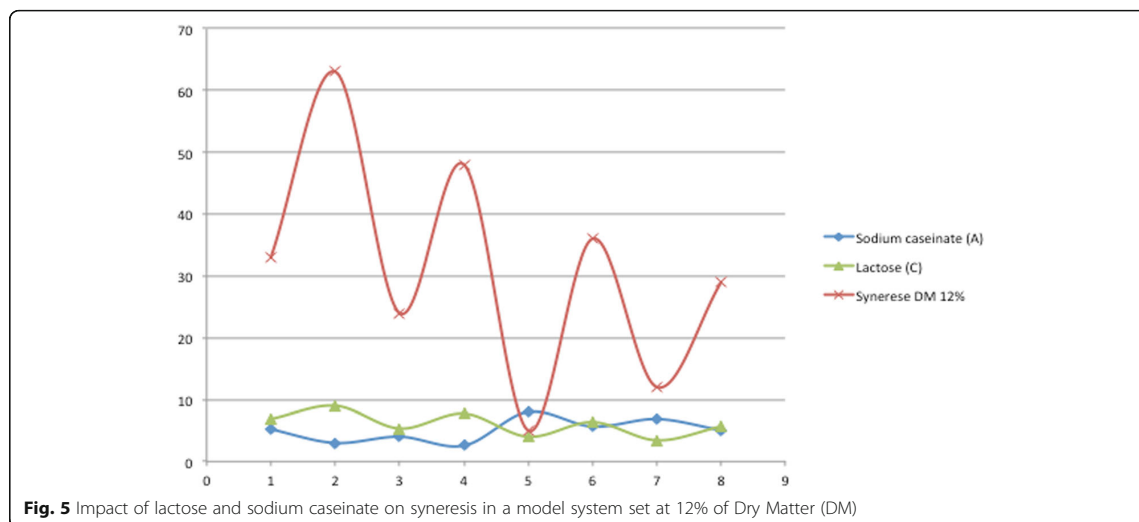


Fig. 2 Pareto Chart



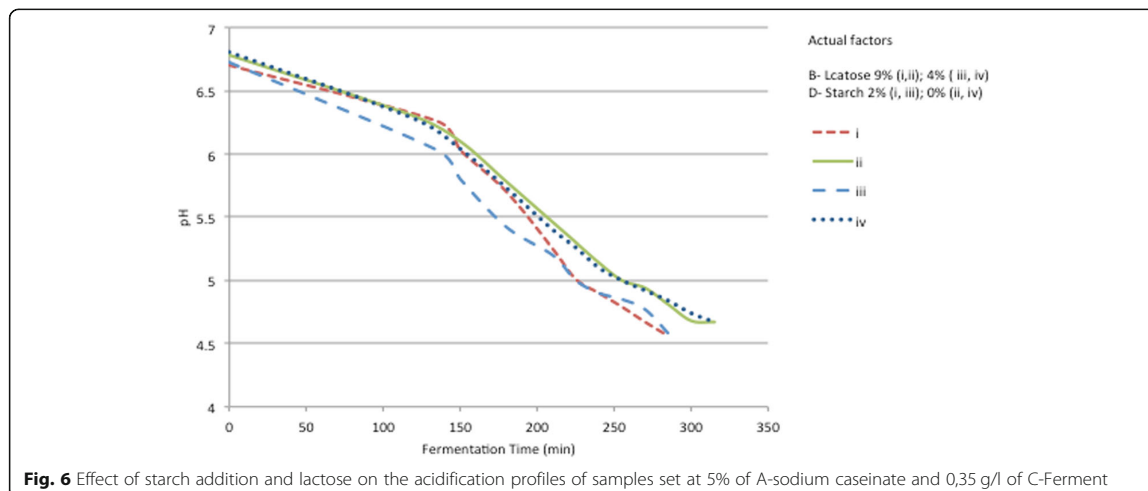


particles repulsion, thus more resistance to gel shrinkage. This kind of stabilization can be alternatively viewed as an osmotic effect [7]. Furthermore, Kunitz in 1928 also reported that the two important factors that must play a major role in the phenomenon of syneresis, were namely the osmotic pressure and the elasticity of the polymeric gel matrix [29].

The significant impact of starch on syneresis confirms the fact that starches along with other hydrocolloids have been evaluated in yoghurt formulations as ways to achieve a desired viscosity and reduce syneresis [30]. The range of starch and milk ingredients interactions is large and the effect on the physico-chemical properties of the mixed system depends on their relative concentrations, the physico-chemical properties of starch and milk ingredients as well as the composition of milk ingredients. In these systems, Zuo et al.(2008) suggested that the main effect of starch granules is to increase the milk protein concentration during swelling by absorbing water from the continuous phase [31]. Therefore, the starch granules have to be destabilized by disrupting the native crystalline structure into an amorphous one that swells by absorbing a considerable amount of water. In fact, upon heat treatment, Hydroxyl groups in glucose monomers of amylose and amylopectin bind water and thus form a viscous solution in which the casein micelles are trapped and reduce syneresis [21]. Accordingly, the functionality of the native starch is related to the gelatinization process rather to its interaction with the caseinate aggregates [7, 22]. This results is in accordance with our findings. Therefore, the decrease of syneresis among the studied samples could be chiefly attributed to sodium caseinate and then to starch.

pH & zeta monitoring

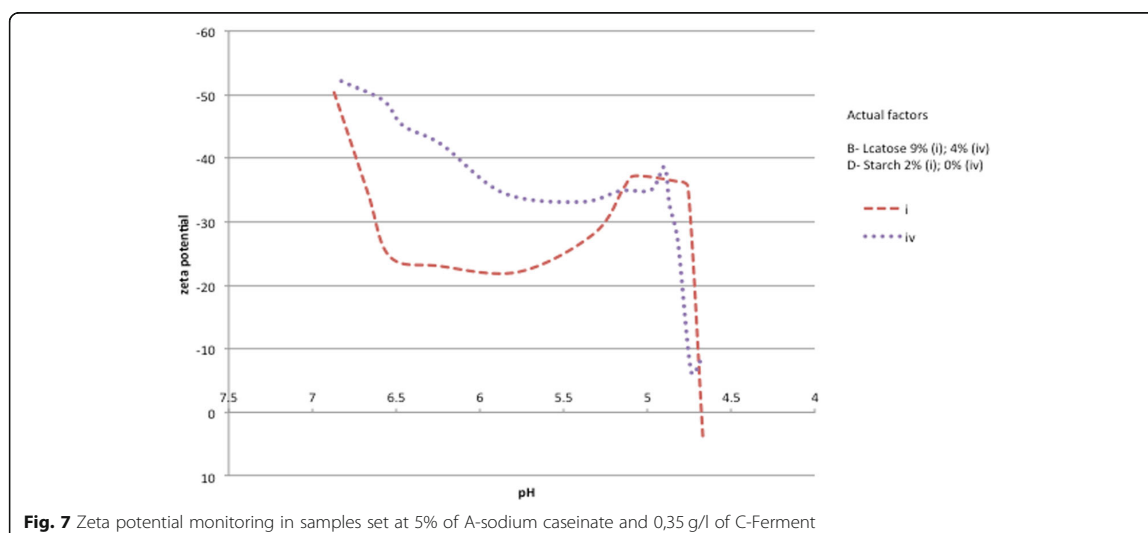
To understand the effect of these formulation variables on syneresis, and their impact on the quality characteristics of the formed acid gel, a pH and zeta potential monitoring of four designed samples were conducted for controlling the fermentation process and predicting the physical properties of the final product in terms of acidification and ionic strength. Based on our results, syneresis was reduced when sodium caseinate concentration was used above 5%. Therefore, to evaluate starch and lactose impact on the acidification process all samples were designed to be set at 5% of sodium caseinate, while lactose and starch concentrations ranged between (4–9%) and (0–2%) respectively as indicated in Table 4. During fermentation process, acidification monitoring was carried out in an incubator by maintaining the temperature at 42 °C until the fermentation was complete and the pH reached 4.5–4.6. The fermentation time can be considered as the time required for the pH to decrease till end point, presupposing that the required quality properties have been developed [6]. The pH values measured at different time intervals showed that the pH decrease is slightly faster in both samples with 2% starch compared to the acid gels samples prepared without starch (Fig. 6). The difference in the incubation time was found to be significant in samples with 2% starch, 285 min comparing to 315 min in samples without starch. It can be concluded that lactose enhancement did not have any significant impact on the incubation time of samples, while the addition of starch affected slightly the acidification profile of the fermented model and therefore its fermentation time (average increase in tpH4.5 of 30 min). A similar observation was



reported by Williams et al. (2003) upon the addition of starch to milk before acidification to make yogurt [32].

Furthermore, the two samples showing the highest and the shortest acidification profile were zeta potential monitored. This later had been used as an indicator of the electrical charge of caseinates' particles to measure the strength of repulsion or attraction between particles in both samples along the fermentation process. It was observed that the zeta potential decreased in both samples during acidification as showed in Fig. 7. However, a faster decrease of zeta potential was noticed in sample (i), which is probably responsible for its short fermentation-time comparing to sample (iv).

In fact as the pH decreased, the proteins charges got neutralized, which minimized their electrostatic and steric forces inducing a new arrangement of micelles. Consequently, the system became unstable earlier in the sample with starch and tended to flocculation because of the less repulsive forces with the DLVO classical theory [33]. Therefore, an increase in the aggregation state of sodium caseinate and the formation of an acid gel protein network [34]. According to our results, the addition of starch shortened the incubation time, and had a detrimental effect on reducing syneresis in the fermented model, probably because of the reduction of free water and the increase of the solids contents proportion.



Acknowledgements

Not applicable.

Authors' contributions

S. El B participated in the design of the study, carried out the experimental procedures, analyzed the results and wrote the manuscript; Ph. P contributed to the main part experimental design and its statistical interpretation; Y. El A participated in Nanosizer ZS analyzer measurements; A. I oversaw the study and revised the document; Y. B conceived the study, provided guidance for experimental work, read and formatted the document. All authors approved the final manuscript.

Funding

Not applicable.

Availability of data and materials

The datasets used and/or analysed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Ethics approval and consent to participate

Not applicable.

Consent for publication

Not applicable.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Author details

¹Laboratory of Pharmaceutics, Faculty of Medicine and Pharmacy, Mohammed V University, Rabat, Morocco. ²Laboratory of Medical Biotechnology, Faculty of Medicine and Pharmacy, Mohammed Vth University in Rabat, Rabat, Morocco. ³PhP Stats, Création et analyse d'information, Conseil, études et formations en statistique, 19, rue Pasteur, 94170 Le Perreux, France.

Received: 15 May 2018 Accepted: 2 July 2019

Published online: 02 August 2019

References

- Pang G, Xie J, Chen Q, Hu Z. How functional foods play critical roles in human health. *Food Sci Human Wellness*. 2012;1(1):26–60.
- Valentini L, Pinto A, Bourdel-Marchasson I, Ostan R, Brigidi P, Turrone S, Hrelia S, Hrelia P, Bereswill S, Fischer A, et al. Impact of personalized diet and probiotic supplementation on inflammation, nutritional parameters and intestinal microbiota - the "RISTOMED project": randomized controlled trial in healthy older people. *Clin Nutr*. 2015;34(4):593–602.
- Marsh AJ, Hill C, Ross RP, Cotter PD. Fermented beverages with health-promoting potential: past and future perspectives. *Trends Food Sci Technol*. 2014;38(2):113–24.
- Early R. Dairy products and milk-based food ingredients; 2012. p. 417–45.
- Akalin AS, Unal G, Dinkci N, Hayaloglu AA. Microstructural, textural, and sensory characteristics of probiotic yogurts fortified with sodium calcium caseinate or whey protein concentrate. *J Dairy Sci*. 2012;95(7):3617–28.
- Soukoulis C, Panagiotidis P, Koureli R, Tzia C. Industrial yogurt manufacture: monitoring of fermentation process and improvement of final product quality. *J Dairy Sci*. 2007;90(6):2641–54.
- Mizrahi S. Syneresis in food gels and its implications for food quality; 2010. p. 324–48.
- Lucey* JA. The relationship between rheological parameters and whey separation in milk gels. *Food Hydrocoll*. 2001;15:603–8.
- Heertje I, Visser J, Smits P. Structure Formation in Acid Milk Gels, vol. 4; 1985. p. 267–77.
- Luceyub* JA, TvVb KG, Geurtsb T, Walstrab P. Properties of acid casein gels made by acidification with Glucono-Nactone. 2. Syneresis, permeability and microstructural properties. *Int Dairy J*. 1997;7(6–7):389–97.
- O'Kennedy BT, Mounsey JS, Murphy F, Duggan E, Kelly PM. Factors affecting the acid gelation of sodium caseinate. *Int Dairy J*. 2006;16(10):1132–41.
- Manab* A. Casein polysaccharides interaction - a review. *Int J ChemTech Res*. 2017;10:01–9.
- Sadeghi M, Madadlou A, Khosrowshahi A, Mohammadifar M. Acid-induced gelation behavior of casein/whey protein solutions assessed by oscillatory rheology. *J Food Sci Technol*. 2014;51(9):2113–9.
- Horne DS. Casein interactions: casting light on theBlackBoxes, the structure in dairy products. *Int Dairy J*. 1998;8(3):171–7.
- Lucey JA. Perspectives on casein interactions. *Int Dairy J*:56–65.
- S.P.F.M Roefs TVW: Structure of acid casein gels 2. Dynamic measurements and type of interaction forces colloids and surfaces 50:161–175.
- Lapointe-Vignola C. Fondation de technologie laitière du Q: Science et technologie du lait: transformation du lait: Presses internationales Polytechnique; 2002.
- Guo C, Campbell BE, Chen K, Lenhoff AM, Velev OD. Casein precipitation equilibria in the presence of calcium ions and phosphates. *Colloids Surf B: Biointerfaces*. 2003;29(4):297–307.
- Considine T, Noisuwan A, Hemar Y, Wilkinson B, Bronlund J, Kasapis S. Rheological investigations of the interactions between starch and milk proteins in model dairy systems: a review. *Food Hydrocoll*. 2011;25(8):2008–17.
- Lobato-Calleros C, Ramirez-Santiago C, Vernon-Carter EJ, Alvarez-Ramirez J. Impact of native and chemically modified starches addition as fat replacers in the viscoelasticity of reduced-fat stirred yogurt. *J Food Eng*. 2014;131:110–5.
- Gyawali R, Ibrahim SA. Effects of hydrocolloids and processing conditions on acid whey production with reference to Greek yogurt. *Trends Food Sci Technol*. 2016;56:61–76.
- N-x S, Liang Y, Yu B, C-p T, Cui B. Interaction of starch and casein. *Food Hydrocoll*. 2016;60:572–9.
- Bourlioux P, Braesco V, Mater DDG. Yaourts et autres laits fermentés. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*. 2011;46(6):305–14.
- Tamime AY, Robinson RK. 7 - biochemistry of fermentation. In: Tamime and Robinson's yoghurt. Third ed: Woodhead Publishing; 2007. p. 535–607.
- Kneifel W, Paquin P, Abert T, Richard JP. Water-holding capacity of proteins with special regard to Milk proteins and methodological aspects—a review. *J Dairy Sci*. 1991;74(7):2027–41.
- Cueva O, Aryana KJ. Quality attributes of a heart healthy yogurt. *LWT Food Sci Technol*. 2008;41(3):537–44.
- Lucey JA. Formation and physical properties of Milk protein gels. *J Dairy Sci*. 2002;85(2):281–94.
- Fiszman SM, Luch MA, Salvador A. Effect of addition of gelatin on microstructure of acidic milk gels and yoghurt and on their rheological properties. *Int Dairy J*. 1999;9(12):895–901.
- Kunitz M. Syneresis and swelling of gelatin. *The Journal of General Physiology*. 1928;12(2):289–312.
- Keogh MK, O'Kennedy BT. Rheology of stirred yogurt as affected by added Milk fat, protein and hydrocolloids. *J Food Sci*. 1998;63(1):108–12.
- Zuo JY, Hemar Y, Hewitt S, Saunders A. Effect of the extent of pasting on the dynamic rheological properties of acidified skim milk gels containing normal rice starch. *Food Hydrocoll*. 2008;22(8):1567–73.
- Williams R, Glagovskaia O, Augustin MA. Properties of stirred yogurts with added starch: effects of alterations in fermentation conditions. *Aust J Dairy Technol*. 2003;58(3):228–32.
- Tholstrup Sejersens M, Salomonsen T, Ipsen R, Clark R, Rolin C, Balling Engelsen S. Zeta potential of pectin-stabilised casein aggregates in acidified milk drinks. *Int Dairy J*. 2007;17(4):302–7.
- Lucey WJLJA. Structure and physical properties of yogurt gels: effect of inoculation rate and incubation temperature. *American Dairy Science Association*. 2004.

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

III.2. CONCEPTION D'UN PRODUIT FONCTIONNEL : INTÉGRATION DE L'HUILE D'ARGAN DANS LA MATRICE ET STABILISATION PAR FERMENTATION

Résumé

Les aliments fonctionnels sont définis comme des aliments et des composants alimentaires qui procurent des bienfaits pour la santé au-delà de la nutrition de base pour la population visée. Cependant, les quantités nécessaires sont souvent au-delà de celles consommées pour un entretien et/ou une croissance normale. L'huile d'argan est considérée comme un aliment fonctionnel de grand intérêt pour la santé humaine. En effet, elle a un effet positif dans la prévention de certaines maladies telles que l'hypercholestérolémie, les maladies cardiovasculaires, le diabète. De plus, elle a un effet améliorateur sur l'élasticité et l'hydratation de la peau chez les femmes ménopausées. Tous ces effets bénéfiques et bien d'autres nécessitent une quantité quotidienne minimale de 25ml d'huile d'argan. Cependant, son goût particulier demeure un facteur limitant de sa consommation.

Ainsi et afin d'améliorer l'acceptabilité gustative d'un tel produit fonctionnel, il a été proposé dans cette étude de l'intégrer dans un produit innovant ayant à la fois un goût agréable et un impact positif sur la santé. L'élaboration d'un tel produit consiste en deux étapes : 1- la formulation d'une émulsion stable à 20% d'huile d'argan. 2- Sa lacto-fermentation par les bactéries lactiques : *Strep.thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii ssp Bulgaricus*. Un design expérimentale a donc été proposé- en se basant sur les résultats de la première partie concernant la formulation de la matrice de base - pour la préparation d'émulsions à base d'huile d'argan (10 - 20%), ou la phase aqueuse est composée du caséinate de sodium et de l'amidon à des concentrations comprises entre (0 - 2%) et (0 -1,5%) respectivement. Toutes les émulsions ont été homogénéisées à deux vitesses d'agitation (10 000 - 20 000 tr/min) et deux durées (5 - 20 min). La taille des gouttelettes des émulsions a été analysée, le comportement de crémage a été évalué et l'indice de crémage des émulsions sélectionnées a été calculé. Les plus stables ont ensuite été fermentées et évaluées par l'observation macroscopique de l'apparition d'une épaisse couche de crème, indiquant une séparation de

phases appelée crémage, qui est finalement causée par la floculation, la coalescence et la séparation gravitationnelle.

Dans les émulsions, la structure sous-jacente et l'interaction des gouttelettes de fluide sont ce qui maintient la stabilité du produit contre la sédimentation ou la séparation. Le développement de la microstructure des émulsions conçues a été étudié et une corrélation entre la taille des gouttelettes et les paramètres de formulation a été proposée. L'étude a considéré la taille des gouttelettes à t_0 , la taille des gouttelettes 5 heures plus tard à t_5 et le taux de variation de la taille des gouttelettes. Les émulsions ont été évaluées avant la fermentation et après le processus de fermentation. Une analyse pharmaco-technique a pu révéler l'influence de nouveaux facteurs tels que le comportement rhéologique de la matrice et des émulsions, ainsi que le seuil d'écoulement statique ou le rendement qui sont liés à la micro-pression des gouttelettes libres ou de leurs amas floculés.

D'après les résultats, Toutes les émulsions ont montré un comportement de crémage, à l'exception d'une émulsion qui a exigé les valeurs les plus élevées de tous les facteurs, avec une taille de particule moyenne de $11,27 \mu\text{m}$, et qui a montré l'indice de crémage le plus élevé. Le DoE a révélé que les facteurs les plus influents sur la stabilité de l'émulsion étaient la vitesse d'agitation, la durée d'agitation et le taux d'amidon. Il a été démontré aussi que le rapport caséinate de sodium/huile ainsi que le rapport amidon/caséinate de sodium jouaient un rôle majeur dans la stabilité du produit final. La stabilité de l'émulsion est donc due à l'action synergique de tous les paramètres considérés qui ont contribué à la réduction de la taille des gouttelettes, à l'augmentation de la viscosité de la phase continue et à la diminution de la coalescence.

Article2: Creaming behavior prediction of argan oil in water emulsion stabilized by lacto-fermentation: Creaming index.

RESEARCH ARTICLE

Open Access



Creaming behavior prediction of argan oil in water emulsion stabilized by lacto-fermentation: creaming index

Soumaya El Bouchikhi^{1,2}, Philippe Pagès³, Azeddine Ibrahimi² and Yahya Bensouda^{1*}

Abstract

Background: In order to improve the taste acceptability of certain nutritional oils, it has been decided in this study to introduce them in an emulsion whose surfactant is casein, then to carry out a lacto-fermentation, leading to a dairy-like product with added nutritional value and health benefit. In this context, a plan of mixtures has been proposed for the preparation of emulsions based on argan oil, sodium caseinate and starch, with concentrations ranged between (10–20%) and (0–2%) and (0–1.5%) respectively. All emulsions were homogenized at two high stirring velocities (10,000–20,000 rpm) and two stirring times (5–20 min). The physical stability was assessed by visual analysis and microstructural measurements. The Creaming index was calculated for selected emulsions to predict their creaming behavior.

Results: All emulsions showed a creaming behavior except one emulsion that required the highest values of all factors, which showed the highest creaming index with an average particle size of 11.27 μm . The absence or the variation of one or all factors led to various degrees of instabilities verified in all other emulsions. Due to the synergistic action of all parameters, the emulsion stability was attributed to the reduction of droplets size, the increase of continuous phase viscosity and the decrease of coalescence.

Conclusion: The parameters that played a major role in the stability of the emulsion consists of: stirring velocity and time, sodium caseinate/oil ratio and starch/sodium caseinate ratio. The underlying structure and the interaction of the fluid droplets within the solid like product is what holds the stability of the product against settling or separation during fermentation.

Keywords: Emulsion O/W, Argan oil, Sodium caseinate, Starch, Dairy-like products, Lacto-fermentation, Creaming index

Background

During the last decade, fundamental studies opened a new field of research dealing with the health promoting features of so called functional foods [1]. Argan oil is considered one of the most important seasoning oils that provide a health

benefit beyond its basic nutritional functions. This oil represents a rich source of linoleic and oleic acids 37% and 45% respectively, in addition to other compounds (tocopherols, polyphenols, sterols, carotenoids, xanthophylls and squalene) [2]. The unsaponifiable fraction is very abundant in these compounds and has a powerful antioxidant effect as proved on low-density lipoprotein (LDL) isolated from human plasma [3]. The consumption of dietary Argan oil has proved to have a positive effect in the prevention of certain diseases such as high cholesterol [4], heart disease

*Correspondence: yahya.bensouda@um5.ac.ma

¹ Laboratory of Pharmaceutics, Faculty of Medicine and Pharmacy, Mohammed V University, Rabat Instituts, BP 6203 Rabat, Morocco
Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s) 2021. **Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated in a credit line to the data.

[5], diabetes [6] that are known for having a high incidence in human health. Moreover it has an ameliorative effect on skin elasticity and hydration on postmenopausal women population [7, 8]. All these beneficial effects required a minimum daily amount of 20 g of argan oil. However its taste acceptability remain an important factor that limits its consumption worldwide.

To improve the acceptability of such a functional product, it is proposed to introduce it into an innovative dairy-like product having both a pleasant taste and a positive impact on health. The development of such a product is done in two stages: 1. Formulation of a stable emulsion at 20% of argan oil. 2. Its lacto-fermentation using lactic acid bacteria *Strep.thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii ssp Bulgaricus*. This last step assumes the presence of lactose and casein in the emulsion. The ferment allows a natural acidification of the medium by transformation of lactose into lactic acid. This condition of acidic pH allows the aggregation of casein to reach the gelled state, which is appreciated in fermented dairy products. The formulation of the emulsion could require either the search for the critical value of the hydrophilic lipophilic balance (HLBc), or the search for the zero value of the hydrophilic lipophilic difference (HLD). However, a more direct method of applied research was adopted, the experimental designs, in which different composition and process factors were integrated. Among the mixing factors, it was considered those involved in the stabilization mechanism of oil-in-water emulsions at the external, interfacial and internal level: the amount of modified starch as stabilizer for the external phase, the amount of sodium caseinate as emulsifier for the interface [9], and the quantity of argan oil as functional ingredient for the internal phase.

The stabilizers are normally biopolymers such as proteins or polysaccharides that confer long-term stability to the emulsion, by maintaining the often-ephemeral dispersion authorized by the emulsifier. They act by the adsorption mechanism or simply by modifying the viscosity of the aqueous phase [10, 11]. Emulsifiers are small surfactant molecules, which have the ability to stabilize emulsions in a short time by reducing the tension at the oil/water interface and the film formation on the surface of the oil [12, 13]. Most hydrocolloids act as oil stabilizers in water emulsions, but only a few acts as emulsifiers such as modified starches. In fact, their chemical modifications increase their hydrophobicity and allow them to show a strong surface activity [14, 15]. Heating in situ can further modify the properties of emulsions stabilized by starch granules [16]. In fact, when heated in an aqueous medium, the starch gels. This gelatinization process includes swelling of the starch granules, leakage of amyloidosis of the granules, loss of molecular and crystalline order; which increases the viscosity of the external

phase and thus has a positive impact on the stability of the emulsion [17, 18]. Concerning the process factors, we have retained the speed and the duration of stirring. The effect of high shear homogenization on the physical properties of the oil in water emulsion is dependent of the speed applied to the homogenizer; Which is effective in improving the physical stability of emulsion, by promoting reduction of droplet diameter [19].

The purpose of this study was to formulate a 20% sodium caseinates-stabilized oil in water emulsion, in which both stability towards coalescence and a controlled destabilization was needed. Then to carry out its lacto-fermentation, leading to an acid gel-network capable of holding the dispersed oily phase with an optimal stability. A preliminary work had been conducted and demonstrated the influence of milk proteins and starch on syneresis in a mixed model system and determined their effective concentrations [20]. Accordingly, an experimental design was proposed by using, on a basic matrix consisting of 5% lactose, 3.5% milk proteins and qs 100 g of water, a mixture design of the following selected factors: argan oil (10–20%), sodium caseinate (0–2%) and starch (0–1.5%) as well as stirring velocity (10,000–20,000 rpm) and stirring time (5–20 min). The effects of these formulation variables on the creaming behavior were evaluated through physical stability and morphological properties of all emulsions. The most stable ones were then fermented and evaluated through the macroscopic observation of the apparition of a thick cream layer, indicating phase separation, after fermentation process.

Results

In emulsions, the underlying structure and the interaction of the fluid droplets are what hold the stability of the product against settling or separation. Phase separation results in an instability called creaming, which is ultimately caused by flocculation, coalescence, and gravitational separation [21]. The results of the experimental design are reported in Table 1, all factors have been combined in a single column in the following order, (A) Oil/(B) Starch/(C) protein (sodium caseinate)/(D) Stirring velocity/(E) Stirring time with (m) for their minimum value, (M) for their maximal value and (a) for the average value.

The Expert Design analysis consists on the finding of the best power transformation to linearize the results. After transforming the power using box-cox diagrams, the design expert draws the Pareto chart of different factors with the Bonferroni and the t-value limits. These graphs make it possible to visualize the amplitude of the influences of the studied factors. Accordingly, the droplets size of emulsions was analyzed, the creaming

Table 1 Mean droplets size and size variation

Samples	Factors combination m: minimal value M: maximal value a: average value Oil/Starch/Protein/ StirringV/StirringD	Responses				
		1 Creaming behavior 1/yes to 5/no	2 Size at t0 = 50 (µm)	3 Size at t5 = 55 (µm)	4 St5 – St0 (µm)	5 Size Var (%)
1	m/m/m/M/m	2	15.87	28.56	12.69	79.96
2	a/a/a/a/a	2	29.34	42.17	12.83	43.72
3	M/m/M/m/M	1	58.32	67.04	8.72	14.95
4	M/m/m/m/m	1	55.62	115.4	59.78	107.48
5	M/m/M/M/m	2	20.52	24.8	4.28	20.86
6	M/M/m/M/m	2	12.58	20.62	8.04	63.91
7	m/M/M/m/m	1	56.22	66.65	10.43	18.55
8	m/M/m/M/M	3	11.41	12.49	1.08	9.46
9	a/a/a/a/a	2	23.6	31.96	8.36	35.42
10	m/M/M/M/m	4	10.9	11.67	0.77	7.06
11	M/m/m/M/M	3	14.01	15.63	1.62	11.56
12	m/m/M/m/m	1	64.82	77.82	13	20.05
13	m/M/m/m/m	1	48.14	65.65	17.51	36.37
14	m/M/M/m/M	2	20.71	25.25	4.54	21.92
15	M/M/M/m/m	1	21.8	30.34	8.54	39.17
16	a/a/a/a/a	2	26.45	33.17	6.72	25.40
17	M/M/m/m/M	2	24.77	31.06	6.29	25.39
18	m/m/M/M/M	3	12.66	13.79	1.13	8.92
19	m/M/m/M/m	1	22.23	43.39	21.16	95.18
20	M/M/m/m/m	1	31.24	45.66	14.42	46.16
21	M/m/m/M/m	2	12.81	35.82	23.01	179.62
22	M/m/M/m/m	1	59.69	108.19	48.5	81.25
23	m/m/m/m/M	1	15.16	35.7	20.54	135.49
24	M/M/M/M/M	5	11.24	11.27	0.03	0.27

Phase separation and Variation of mean droplets in emulsions after 5 h of storage according to the 24 combinations proposed by the Design Expert: minima (m), maxima (M) and the average (a) of the different factors. In bold: selected emulsions. Creaming behavior classification: 1: separation; 2: visible separation; 3: slight separation; 4: non visible separation; 5: no separation

behavior was evaluated, and the creaming index of selected emulsions was calculated.

Microstructure and droplet size of emulsions evaluation

The development of the microstructure of the designed emulsions has been studied and a correlation between droplets size and formulations parameters has been proposed. The study considered the droplet size at t₀, the droplet size 5 h later at t₅ and the variation rate of droplets size. The Box-Cox method of the Design Expert recommended the optimal power transformed to the linear equation for each case (Table 2). The significance tests were valid and it was not necessary to transform the response to improve its modeling.

The Pareto graphs show the degree of domination of different parameters in the proposed linearization models (Fig. 1). The five factors (A: Oil; B: Starch; C:

Protein; D: Stirring Velocity; E: Stirring Time) are above the Bonferroni limit, exhibiting their influence on the variation rate of droplets size. The droplets size after emulsion preparation at t₀ and five hours later at t₅, as well as the rate of their variation over this period of time, were provided by the design expert and reported in graphs (Fig. 2). These later shows the combined influence of all parameters including the ingredients and the stirring conditions at their minimum and their maximum level on the droplets size variation, which is a great indicator of the stability of emulsions.

Creaming behavior evaluation

The creaming behavior of the emulsions was evaluated for emulsions before fermentation and then for fermented emulsions.

Table 2 Linearization of size analysis after powers transforms by the Box-Cox method

	Droplets size at T0	Droplets size at T5	Rate size Variation
Box-Cox for power Transform	Log ₁₀	√	√
R ² brut	0.96	0.96	0.93
R ² adjusted	0.93	0.93	0.88
R ² Predicted	0.85	0.8	0.74
Constant	1.34	5.81	5.72
A	0.0087	0.027	-0.29
B	-0.065	-0.73	-0.96
C	0.026	-0.15	-1.6
D	-0.21	-1.62	-0.96
E	-0.072	-0.89	-1.51
AB	-0.055	-0.55	
AE	0.079	0.33	-0.9
BC	-0.067		0.68
BD		0.41	
DE			-0.66
CE	0.031	0.31	
DE	0.047		-0.94

Regression coefficients (R²), and coded factors (varying between + 1 and - 1) of the linearization equation for parameters: A (oil), B (starch), C (protein), D (stirring speed) and E (stirring time)

Emulsions

For the study of creaming, the Box-Cox method recommends a transformation 1/square root (Fig. 3). The following analysis is performed with this transformation; it emerges from the Pareto-chart that all significant effects are negative. The dominant effect is stirring velocity (D), followed by the important effect of stirring time (E), and the significant effect of the interaction of agitation duration with starch. The first order effect of Starch is forced to respect the hierarchy. The creaming behavior of all samples was observed at room temperature 5 h later of their preparation. The emulsions were classified from level 1 (fast separation) to level 5 (no separation) as shown in Table 1. All emulsions displayed rapid creaming except five samples: S8; S10; S11; S18 and S24. A visible thick cream layer and a lower serum phase were clearly observed when the speed and the duration of homogenization were not at their highest level, and when no starch and/or sodium caseinate were added. According to our results, the DoE revealed that the most influent factors on emulsion’s stability were the stirring velocity, the stirring time duration and the starch rate (Fig. 4).

Lacto-fermented emulsions

The five selected emulsions were fermented directly after their preparation to evaluate their stability after fermentation (6.7–4.6) at 42 C: All emulsions showed

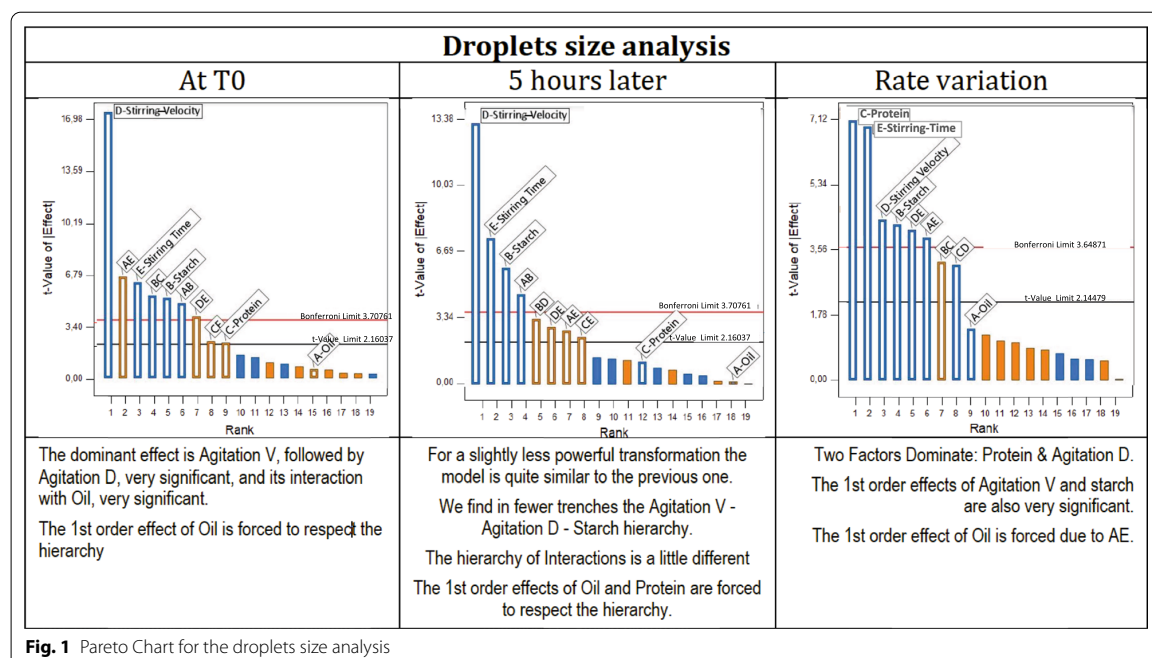
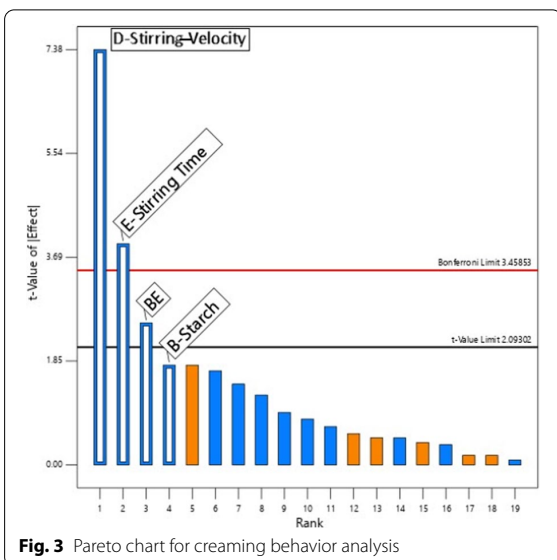
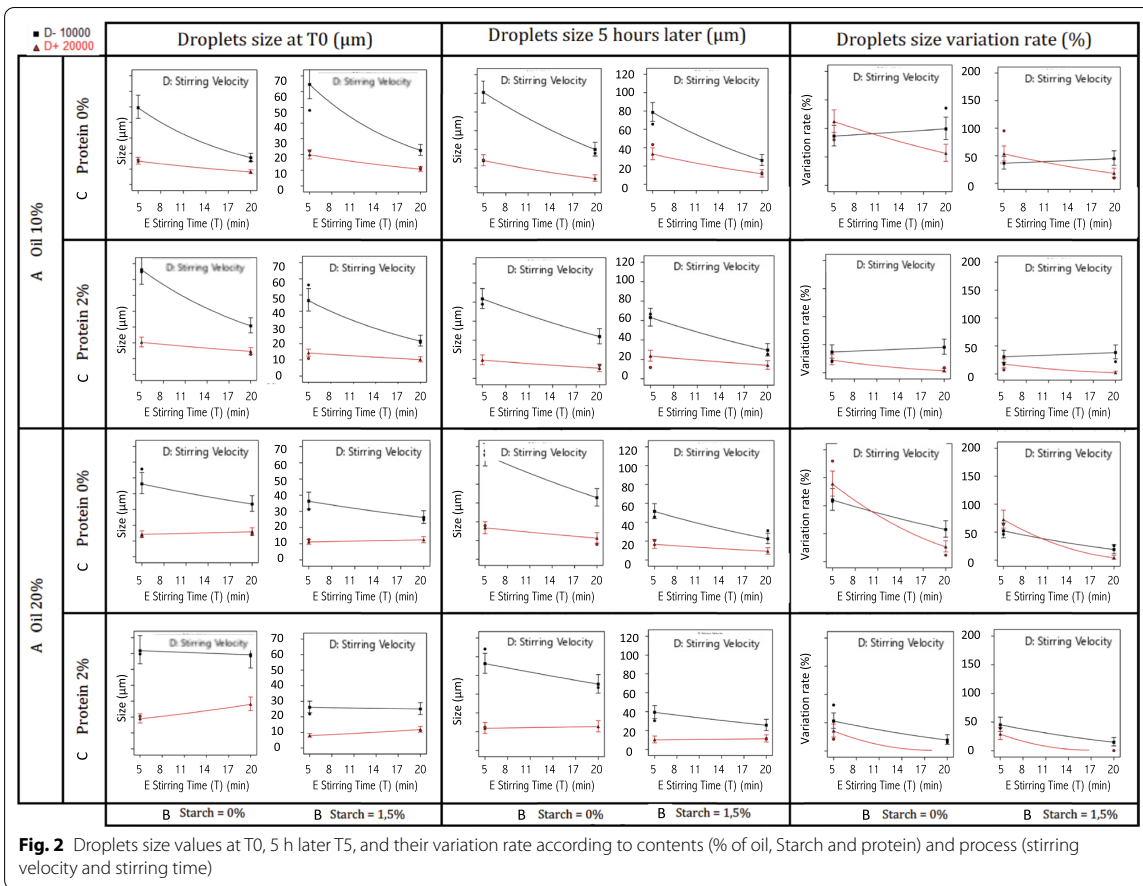


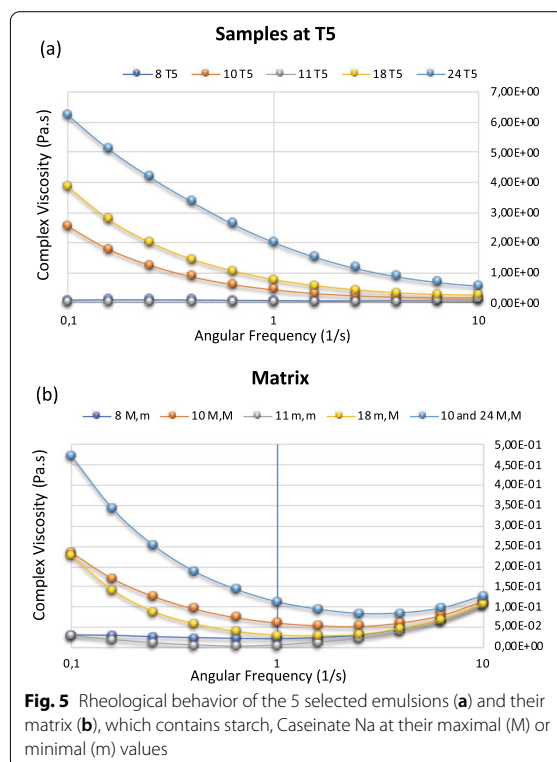
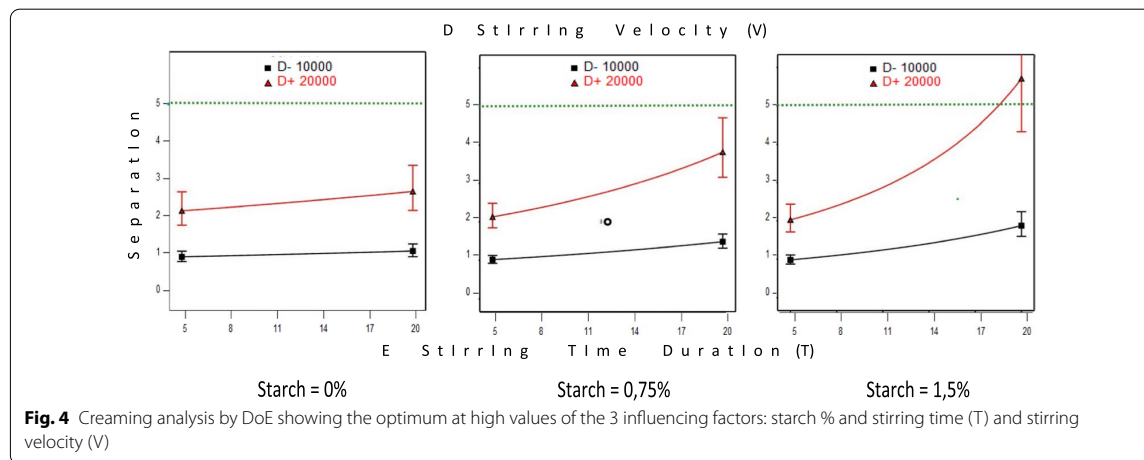
Fig. 1 Pareto Chart for the droplets size analysis



a creaming behavior during the fermentation process except emulsion S24.

Creaming index calculation

This parametric selection above could be completed by a pharmacotechnical analysis, which can reveal the influence of new factors such as the rheological behavior of matrix and emulsions, as well as the static flow threshold or the Yield value that are related to the micro-pressure of free droplets or their flocculated clusters (Fig. 5). The basic matrix contains a mixture of milk proteins and lactose, to which varying amounts of starch and sodium caseinate may or may not be added. These compositions are capable of giving a more or less pronounced non-Newtonian rheological behavior of the plastic type. This is particularly characterized by a static flow limit that is the minimum stress from which the strain begins. In the absence of external stress, the suspended elements should exceed this threshold by their own weight before the matrix deforms.



Discussion

Microstructure and droplet size

The results revealed a large variation of the mean droplets size in all emulsions after their preparation t0 and 5 h later t5, as well as in their droplets size variation rate as shown in Table 1. Sodium caseinate percentage

and the duration of homogenization had the dominant influence on the droplets size variation rate followed by the velocity and the starch percentage. In this research, sodium caseinates and hydroxypropyl distarch phosphate (HPDSP) were added to emulsions as emulsifier and stabilizer. According to previous publishes studies, sodium caseinate-based emulsions have long-term stability as its components readily adsorb onto the interface of oil droplets, which provide them protection against coalescence at neutral pH via a combination of electrostatic and steric stabilization [22–24]. Hence, the magnitude of the depletion force in a caseinate-based emulsion depends on the relative dimensions of the oil droplets, which is related to the manufacturing process [25]. The smallest droplets variation rates were 0.27%; 7.06%; 8.92%; 9.46%; 11.56%, which were registered for the following emulsions S24; S10; S18; S8; S11 respectively.

Of the 5 emulsions retained, only S11 and S24 are 20% oil and therefore have the largest droplet surface or oil/water interface to be covered. According to Dickinson and al, the regime with no creaming and droplet flocculation is observed when sodium caseinates concentration is sufficient for nearly saturation coverage of the droplets of emulsion [26]. The smallest size variation rate 0.27% was observed for the emulsion S24, which showed no creaming behavior and where all factors were at their high levels. Emulsion S11 exhibited the greatest variation size ratio and a strong creaming behavior even though the stirring conditions were at their highest level, which could be explained by the absence of sodium caseinate and starch [27]. Emulsions S10 and S8 and S18 exhibited intermediate variation size rates and showed a slight phase separation. Destabilization in emulsions S18 and S10 could be related to depletion flocculation due to the presence of an excess of unabsorbed sodium

caseinate that induced de-flocculation (10% O/W and 2% of sodium caseinate). Therefore the low size variation rate of these emulsions is due to saturation coverage of droplets that was able to prevent any further coalescence [28]. In fact, the stability of oil-in-water emulsions prepared with sodium caseinate is particularly sensitive to the concentration of the protein emulsifier for a constant fraction of oil. At low concentrations of sodium caseinate bridging-flocculation may occur. Conversely, at high concentrations of sodium caseinate, oil droplets may also lose their stability through a depletion-flocculation mechanism [29, 30]. These two types of flocculation, bridging or depletion are readily distinguished in practice. Only strong shear forces can disrupt the clusters of droplets held together by protein bridges, whereas flocks arising from depletion are re-dispersible by gentle stirring or dilution. In emulsion S8 where no sodium caseinate was added, hydroxypropyl distarch phosphate (HPDSP) was at its highest rate 1.5%, which increased the viscosity of the outer phase, slowing down phase separation and therefore had a positive impact on emulsion stability.

Considering the above, it could be concluded that the addition of sodium caseinate at its optimal concentration 2% ensured a complete coverage of oil droplets of the disperse phase of the emulsion at 20% O/W, which generate an electrostatic repulsion between particles, which stabilized the emulsion and prevented coalescence. Furthermore, the addition of starch at 1.5% increased the continuous phase viscosity reducing the creaming velocity of oil droplets in emulsions slowing down phase separation. Therefore the combination of both ingredients at their optimal concentrations is essential for ensuring the stability of the emulsion at a certain concentration of the disperse phase and for given stirring conditions. The nature of aqueous phase components, the concentration of disperse phase and the size of emulsion droplets play a major role in the stability of emulsions.

Creaming behavior

The creaming behavior observed during the stability study of the emulsion occurs during lacto-fermentation process, it is accentuated by the phenomenon of casein aggregation. During the acidification process, the pH is lowered toward the isoelectric point of the proteins, the inter-droplet interaction changed from a repulsive to a net attraction. Which induced droplet flocculation, causing a self-association of the adsorbed and non-adsorbed protein components, and transformed the sodium caseinate-stabilized emulsion into an aggregated emulsion gel [24, 31]. The addition of hydroxypropyl distarch phosphate (HPDSP) increases the gel strength and viscosity and reduce syneresis, which may be indicative of faulty fermentation and therefore may be controlled

[17, 32]. The interaction between casein and HPDSP in yoghurt system has been explored previously, the casein micelles having a net positive charge and the HPDSP, being negatively charged, are assumed to bind via electrostatic forces. Therefore the surface of both casein aggregates and starch micelles become positive which should induce electrostatic repulsion between them and stabilize the system. It was also reported that the interaction between casein and HPDSP in yogurt system was also the result of "steric stabilization": blocks of low affinity areas on the casein molecules may protrude from the surface of the starch micelles, a mechanism termed 'steric stabilization'. Both the "electrostatic repulsion" and "steric stabilization" contribute to the stability of the system [33, 34]. Therefore, the underlying structure and the interaction of the fluid droplets within the solid like product is what holds the stability of the product against settling or separation.

Creaming index

In the case of the 5 selected emulsions, 4 types of matrices were mentioned (a common one between S10 and S24), which gave us at the minimum values of the angular frequency, the value of the static flow limit of each matrix or the Yield value as shown in Fig. 5a. It was mentioned that this limit is more marked for the common matrix to emulsions S10 and S24 followed by the one of emulsion S18 and finally the ones of emulsions S8 and S11. Moreover, the stress of the dispersed elements corresponds to that of the droplets in suspension. The reasoning consists in calculating the micro-stress of the dispersed element and to compare it with this threshold. Table 3 shows the 5 emulsions' values of the static flow limits of the matrices, the average size of the droplets and those of the largest droplets followed by their micro-constraints. These being lower than the static flow limits; the creaming index was then calculated. This number represents the minimum number of droplets that an aggregate must contain to overcome the static flow limit by its weight. Therefore, it causes the deformation and the migration of the droplets. It was calculated for the medium size and for the largest droplet sizes. It is thus expressed in an interval and represents the necessary number of droplets per aggregate to cause the creaming. The higher this index, the more stable the emulsion. Accordingly, emulsion 24 is the most stable of all emulsions since it has the highest creaming index.

Conclusion

According to the findings, the velocity and the duration of homogenization, sodium caseinate/oil ratio and starch/sodium caseinate ratio are the main parameters that played the major role in the stability of the final

Table 3 Droplets size, yield value and creaming index

Sample	8	10	11	18	24
Oil-Starch-Casein-SV-ST	m-M-m-M-M 10-1.5-0-M-20	m-M-M-M-m 10-1.5-2-M-5	M-m-m-M-M 20-0-0-M-20	m-m-M-M-M 10-0-2-M-20	M-M-M-M-M 20-1.5-2-M-20
Yield value (Pa s)	3.01E-01	2.35E+00	2.96E-01	2.28E+00	4.74E+00
Average droplet size-ADS (μm)	12.49	11.67	15.63	13.79	11.27
Largest droplet size-LDS (μm)	34.234	34.25	58.75	33.89	20
ADS Pressure (Pa s)	4.03E-04	3.80E-04	5.09E-04	4.49E-04	3.67E-04
LDS Pressure (Pa s)	1.11E-03	1.12E-03	1.91E-03	1.10E-03	6.51E-04
Creaming index for ADS (Number)	747	6.183	581	5.076	12.914
Creaming index for LDS (Number)	270	2.107	155	2.066	7.277

SV: Stirring velocity; ST: Stirring time (duration); m: minimum; M: Maximum; ADS: Average Droplet Size; LDS: Large Droplet Size

product. The emulsion S24 showed the highest creaming index and did not exhibit any creaming behavior during its fermentation process at 42 C. Thus, it can be considered as the most stable formulation for use as functional food. Therefore, Understanding the sensory attributes that characterize the effective ideal product is of great interest to optimize the formulation.

Methods

Ingredients

Sodium caseinates, Starch: Hydroxypropyl distarch phosphate (E1442), Milk proteins and lactose, all provided by Trade Bio-Industries Morocco; Lactic acid bacteria: *Strep.thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii ssp Bulgaricus* (commercial yogurt starter culture freeze-dried). Argan oil was provided by Association ibn al baytar, Rabat. Freshly distilled water was used for preparation of all samples.

Equipment

Design Expert 10 software edited by Stat-Ease inc; Thermostatic Water bath; High Shear Homogenization (TissueRuptor II (230 V, 50/60 Hz, EU/CH) Qiagen 9002756); Optical microscopy (Nikon microscope Eclipse LV100ND, Tokyo, Japan); Software Image J 1.52 a (<http://imagej.nih.gov/ij>); Rheometer MCR 500 (Physica, Germany).

Experimental design

An experimental design was selected to define the formulation space for emulsions mixtures. Starch, Protein (=Sodium caseinate), Oil phase, Speed and Time of homogenization were used as independent variables. The morphological parameters of emulsions (mean droplet size and variation size rate) were selected as dependent variables. In this experimental context, the expert design software offers an optimal plan of 24 experiments including 3 at median values as indicated in Table 4.

Preparations of emulsions samples

Oil in water emulsions were prepared by phase inversion at constant concentrations of milk proteins 3,5% and lactose 5% with different final concentrations of argan oil, sodium caseinates and starch ranged between (10–20%) and (0–2%) and (0–1.5%) respectively and qs 100 g of water. The concentrations of sodium caseinate and starch were suggested based on our previous study [20]. Milk proteins, lactose, sodium caseinate and starch were dissolved in distilled water under magnetic agitation, heat treated to allow starch gelation and pasteurized at 85 °C for 15 min. Then cooled to 45 °C before homogenization with argan oil in a water bath fixed at 45 °C to form emulsions. These later were prepared at two stirring velocities (10,000–20,000 rpm) for two time durations (5–20 min). All emulsions were prepared freshly before being evaluated. The most stable emulsions were fermented by lactic acid bacteria and then assessed.

Evaluations of the emulsions stability

Creaming behavior

The emulsion stability was first evaluated through the macroscopic observation of the apparition of a thick cream layer during their 5 h of storage at room temperature (phase separation). The emulsions showed different creaming behaviors at different times of their storage going from fast separation to no separation (1–5) as indicated in Table 1.

Optical microscopy and image analysis

The morphological properties in terms of droplet diameter and dispersion were characterized using an optical microscopy. The emulsions were examined by the measurement of the droplets size after preparation (T0), and 5 h later (T5). Immediately after preparation, 35 mL of each emulsion was poured into a cylindrical tube sealed with a plastic cap and stored at 25 C for a period of 5 h. After storage, the majority of emulsions were separated

Table 4 The experimental design

Block	Run (samples)	Space type	Composition factors			Process factors		Abbreviation by minima (m), Maxima (M) and average (a) values
			A: Oil	B: Starch	C: Protein	D: Stirring velocity	E: Stirring duration	
			%	%	%	Rpm	Min	
Block 1	1	Vertex	10	0	0	20,000	5	m, m, m, M, m
Block 1	2	Center	15	0.75	1	15,000	12.5	a, a, a, a, a
Block 1	3	Vertex	20	0	2	10,000	20	M, m, M, m, M
Block 1	4	Vertex	20	0	0	10,000	5	M, m, m, m, m
Block 1	5	Vertex	20	0	2	20,000	5	M, m, M, M, m
Block 1	6	Vertex	20	1.5	0	20,000	5	M, M, m, M, m
Block 1	7	Vertex	10	1.5	2	10,000	5	m, M, M, m, m
Block 1	8	Vertex	10	1.5	0	20,000	20	m, M, m, M, M
Block 2	9	Center	15	0.75	1	15,000	12.5	a, a, a, a, a
Block 2	10	Vertex	10	1.5	2	20,000	5	m, M, M, M, m
Block 2	11	Vertex	20	0	0	20,000	20	M/m/m/M/M
Block 2	12	Vertex	10	0	2	10,000	5	m/m/M/m/m
Block 2	13	Vertex	10	1.5	0	10,000	5	m/M/m/m/m
Block 2	14	Vertex	10	1.5	2	10,000	20	m/M/M/m/M
Block 2	15	Vertex	20	1.5	2	10,000	5	M/M/M/m/m
Block 2	16	Center	15	0.75	1	15,000	12.5	a/a/a/a/a
Block 3	17	Vertex	20	1.5	0	10,000	20	M/M/m/m/M
Block 3	18	Vertex	10	0	2	20,000	20	m/m/M/M/M
Block 3	19	Vertex	10	1.5	0	20,000	5	m/M/m/M/m
Block 3	20	Vertex	20	1.5	0	10,000	5	M/M/m/m/m
Block 3	21	Vertex	20	0	0	20,000	5	M/m/m/m/m
Block 3	22	Vertex	20	0	2	10,000	5	M/m/M/m/m
Block 3	23	Vertex	10	0	0	10,000	20	m/m/m/m/M
Block 3	24	Vertex	20	1.5	2	20,000	20	M/M/M/M/M

Five quantitative factors at 2 levels allowing the Design Expert to generate 21 "matrix" tests and 3 points in the center, all divided into 3 blocks. These 21 "matrix" tests are sufficient to estimate the constant, the two degrees of freedom of the block effect, the 5 1st order coefficients and the 10 2nd order interactions under satisfactory orthogonality conditions (the VIF do not exceed 1.14). This is likely an optimal plan

into a top cream phase (T5_{top}) and a bottom serum phase (T5_{bottom}). The microstructures of all formulations were analyzed. A drop of every emulsion was transferred to a glass slide covered by a cover slip, and evaluated at an optical microscope coupled with a software for image analysis (Image J 1.52 a): Three images were randomly taken for each distribution, and observed at a magnification of 40× and 100×. For each image 50 droplets were counted to obtain the droplet size distributions. The image analysis provided a droplet size distribution in terms of pixels. The pixel-scale values were converted into microns by a scaling factor, and the calibration to transform pixels to actual size (μm) was given by the full width of an image measured [35]. The parameters used as criteria to select the optimal model included the average droplet size (d₃₂) and the variation size rates after 5 h of storage (T₅ – T₀). The average droplets size was measured by means of the software and

the volume–surface mean diameters (d₃₂) of the emulsions [36].

Rheological testing

To characterize the rheological properties in the liquid state, small amplitude oscillatory tests were performed on a MCR 500 (Physica, Germany) rheometer equipped with a couet system. The measurements were carried out using a cylindrical geometry with 35 mm of diameter at room temperature using frequency sweeps between 0.05 and 500 Hz at a strain of 5% (linear viscoelastic regime). The dynamic viscoelastic properties were measured for selected emulsions, 15 ml of the top of the emulsions were poured into a walled concentric cylinder consisting of an inner rotating acrylic cylinder to evaluate the creaming behaviour of each sample after their preparation and 5 h later. Flow curves were

plotted for emulsions and their continuous phases. The parameters used as criteria to select the optimal model included: dynamic storage (G^0), loss modulus (G''), complex modulus (G^*) and apparent viscosity. All measurements were performed in triplicate at 25 °C.

Data analysis

All statistical analyses were performed using the Design Expert version 10, a statistical software package from Stat-Ease Inc that is specifically dedicated to perform design of experiments (DoE). In order to reduce scattering effects and to compare the samples, all physical results had been normalized. The Residual analysis, the coefficient of determination (adjusted R^2), the significance of the models and the lack of fit were used to check the quality of the model. The robustness of the models was evaluated by determining the squared correlation coefficient (R^2) for predicted versus measured values in cross-validation. In addition to the ratio of standard deviation to root mean square error of calibration.

Lacto-fermentation of selected emulsions

The most stable emulsions, having a droplet size variation after 5 h of storage ($T_5 - T_0$) of less than 12% and a separation index $> \text{or} = 3$, were selected (They were subjected to the evaluation of their continuous phase viscosity, before their fermentation) then fermented with *Lactobacillus bulgaris* and *Streptococcus thermophilus* at 42 °C. The fermented emulsions were stored at 4 °C.

Abbreviations

DoE: Design of experiments; LDL: Low-density lipoprotein; HLBc: Critical hydrophilic lipophilic balance; HLD: Hydrophilic lipophilic difference; HPDSP: Hydroxypropyl distarch phosphate.

Acknowledgements

Authors would like to thank Moroccan Foundation for Advanced Science, Innovation and Research for the use of their equipment and Pr Abou El Kacem Qaiss for his guidance. We also acknowledge Trade Bio Industries Morocco for the Proteins and lactose samples donation and Association Ibn al baytar (Rabat) for the argan oil samples donation.

Authors' contributions

S. El B participated in the conception and the design of the study, carried out the experimental procedures, analyzed the results and wrote the manuscript; Ph. P contributed to the main part experimental design and its statistical interpretation; A. I oversaw the study and revised the document; Y. B conceived the study, provided guidance for experimental work, read and formatted the document. All authors read and approved the final manuscript.

Funding

Not applicable.

Availability of data and materials

The datasets used and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Declarations

Ethics approval and consent to participate

This research does not involve any ethical issues.

Consent for publication

Not applicable.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Author details

¹Laboratory of Pharmaceutics, Faculty of Medicine and Pharmacy, Mohammed V University, Rabat Instituts, BP 6203 Rabat, Morocco. ²Laboratory of Medical Biotechnology, Faculty of Medicine and Pharmacy, Mohammed V University, Rabat, Morocco. ³PhP Stats, Création et analyse d'information, Conseil, études et formations en statistique, 19, rue Pasteur, 94170 Le Perreux, France.

Received: 1 September 2020 Accepted: 27 July 2021

Published online: 18 September 2021

References

- Corbo MR, et al. Functional beverages: the emerging side of functional foods. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2014;13(6):192–206.
- Khallouki F, et al. Consumption of argan oil (Morocco) with its unique profile of fatty acids, tocopherols, squalene, sterols and phenolic compounds should confer valuable cancer chemopreventive effects. *Eur J Cancer Prev*. 2003;12(1):67–75.
- Drissi A, et al. Evidence of hypolipemiant and antioxidant properties of argan oil derived from the argan tree (*Argania spinosa*). *Clin Nutr*. 2004;23(5):1159–66.
- Berrougui H, et al. Hypolipidemic and hypocholesterolemic effect of argan oil (*Argania spinosa* L) in Meriones shawi rats. *J Ethnopharmacol*. 2003;89(1):15–8.
- Cherki M, et al. Argan oil: which benefits on cardiovascular diseases? *Pharmacol Res*. 2006;54(1):1–5.
- Bellahcen S, et al. Prevention of chemically induced diabetes mellitus in experimental animals by virgin argan oil. *Phytother Res*. 2012;26(2):180–5.
- Boucetta KQ, et al. The effect of dietary and/or cosmetic argan oil on postmenopausal skin elasticity. *Clin Interv Aging*. 2015;10:339–49.
- Boucetta KQ, et al. Skin hydration in postmenopausal women: argan oil benefit with oral and/or topical use. *Prz Menopauzalny*. 2014;13(5):280–8.
- Tavernier I, et al. Food-grade particles for emulsion stabilization. *Trends Food Sci Technol*. 2016;50:159–74.
- Prochaska K, et al. Surface activity of commercial food grade modified starches. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2007;60(2):187–94.
- Dickinson E. Hydrocolloids acting as emulsifying agents—how do they do it? *Food Hydrocolloids*. 2018;78:2–14.
- Van de Voort FR, Ismail AA. Interfacial, foaming and emulsifying characteristics of sodium caseinate as influenced by protein concentration in solution. *Food Hydrocolloids*. 2005;19:407–16.
- Hogana SA, McNamee BF, O'Riordana ED, O'Rullivana M. Emulsification and microencapsulation properties of sodium caseinate/carbohydrate blends. *Int Dairy J*. 2001;11(3):137–44.
- Dickinson E. Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. *Food Hydrocolloids*. 2009;23(6):1473–82.
- Sharma M, et al. Sodium caseinate stabilized clove oil nanoemulsion: physicochemical properties. *J Food Eng*. 2017;212:38–46.
- Abbas KA, Khalil SK, Hussin ASM. Modified starches and their usages in selected food products: a review study. *J Agric Sci*. 2010;2(2):90–100.
- El-Hininaway SI, El-Saied HM, Fahmy A, El-Shireeny AA, El-Sahy KM. Viscosity and gelatinization characteristics of hydroxyethyl starch. *Starch-Starke*. 1982;34(4):112–4.
- Domian E, Brynda-Kopytowska A, Oleksza K. Rheological properties and physical stability of o/w emulsions stabilized by OSA starch with trehalose. *Food Hydrocolloids*. 2015;44:49–58.
- Silva TM, Cerize NNP, Oliveira AM. The effect of high shear homogenization on physical stability of emulsions. *Int J Chem*. 2016;8(4):52.

20. El Bouchikhi S, et al. Syneresis investigations of lacto-fermented sodium caseinate in a mixed model system. *BMC Biotechnol*. 2019;19(1):57.
21. Rezvani E, Schleining G, Taherian AR. Assessment of physical and mechanical properties of orange oil-in-water beverage emulsions using response surface methodology. *LWT Food Sci Technol*. 2012;48(1):82–8.
22. Yerramilli M, Ghosh S. Long-term stability of sodium caseinate-stabilized nanoemulsions. *J Food Sci Technol*. 2017;54(1):82–92.
23. Huck-Iriart C, et al. New insights about flocculation process in sodium caseinate-stabilized emulsions. *Food Res Int*. 2016;89(Pt 1):338–46.
24. Everett DW, McLeod RE. Interactions of polysaccharide stabilizers with casein aggregates in stirred skim-milk yoghurt. *Int Dairy J*. 2005;15(11):1175–83.
25. Li Y, Xiang D. Stability of oil-in-water emulsions performed by ultrasound power or high-pressure homogenization. *PLoS ONE*. 2019;14(3):e0213189.
26. Dickinson E. Strategies to control and inhibit the flocculation of protein-stabilized oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*. 2019;96:209–23.
27. Dickinson E, Golding M, Povey MJW. Creaming and flocculation of oil-in-water emulsions containing sodium caseinate. *J Colloid Interface Sci*. 1997;185:515–29.
28. Eric Dickinson MG. Depletion flocculation of emulsions containing unadsorbed sodium caseinate. *Food Hydrocolloids*. 1997;11:13–8.
29. Jenkins P, Snowden M. Depletion flocculation in colloidal dispersions. *Adv Colloid Interface Sci*. 1996;68:57–96.
30. Tan HL, McGrath KM. Na-caseinate/oil/water systems: emulsion morphology diagrams. *J Colloid Interface Sci*. 2012;381(1):48–58.
31. Bonnet C, Corredig M, Alexander M. Stabilization of caseinate-covered oil droplets during acidification with high methoxyl pectin. *J Agric Food Chem*. 2005;53:8600–6.
32. Temesgen M, Yetneberk S. Effect of application of stabilizers on gelation and syneresis in Yoghurt. *Food Sci Qual Manag*. 2015;37:90–102.
33. Sun N-X, et al. Interaction of starch and casein. *Food Hydrocolloids*. 2016;60:572–9.
34. Cui B, et al. The interaction between casein and hydroxypropyl distarch phosphate (HPDSP) in yoghurt system. *Food Hydrocolloids*. 2014;37:111–5.
35. Boxall JA, Koh CA, Sloan ED, Sum AK, Wu DT. Measurement and calibration of droplet size distributions in water-in-oil emulsions by particle video microscope and a focused beam reflectance method. *Ind Eng Chem Res*. 2010;49:1412–8.
36. Jurado E, et al. Estimation of the distribution of droplet size, interfacial area and volume in emulsions. *Colloids Surf A*. 2007;295(1–3):91–8.

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Ready to submit your research? Choose BMC and benefit from:

- fast, convenient online submission
- thorough peer review by experienced researchers in your field
- rapid publication on acceptance
- support for research data, including large and complex data types
- gold Open Access which fosters wider collaboration and increased citations
- maximum visibility for your research: over 100M website views per year

At BMC, research is always in progress.

Learn more biomedcentral.com/submissions



III.3. ÉVALUATION SENSORIELLE DU PRODUIT FERMENTÉ ET FORMULÉ EN VU DE SON OPTIMISATION

Résumé

Au cours des dernières décennies, les progrès de la technologie alimentaire et les nouvelles données scientifiques fondées sur des preuves établissant un lien entre l'alimentation et la prévention des maladies ont créé une opportunité exceptionnelle d'aborder les problèmes de santé publique par le biais de l'alimentation et du mode de vie. L'huile d'argan est considérée comme un aliment fonctionnel de grand intérêt pour la santé humaine. Cependant, sa consommation est limitée en raison de son goût particulier. Il a donc été décidé d'introduire la quantité d'huile d'argan préconisée dans une émulsion puis d'effectuer sa lacto-fermentation, pour produire un yaourt fonctionnel. Les émulsions ont été formulées avec 20% d'huile d'argan pour respecter la quantité journalière recommandée de cette huile qui est de 25ml.

L'analyse sensorielle descriptive des produits formulés a été menée, à l'aide d'un panel d'aliments sensoriel entraîné, pour optimiser la formulation et développer un produit final à haute fonctionnalité et acceptabilité. Des profils descriptifs quantitatifs ont été établis selon un protocole spécifique (NF ISO 13299). La liste finale des attributs était la suivante : 5 descripteurs visuels ; 3 descripteurs de texture ; 3 descripteurs de sensation en bouche et 3 descripteurs de goût. 15 panélistes experts ont d'abord évalué le produit formulé de base (P1) (30g de produit par tasse) et un produit de référence (PR). Puis un second panel de 20 panélistes experts a procédé à l'évaluation des deux produits optimisés, l'un aromatisé à l'amande (PA1) et l'autre à la fleur d'oranger (P1FO).

Les résultats ont montré une grande divergence entre le produit nature (P1) et le produit de référence (RP) en termes de brillance, d'épaisseur, de fermeté et d'onctuosité. Il a également été remarqué la persistance d'un goût huileux après ingestion de P1. Il a été montré dans des études antérieures que les produits à base de caséine avaient tendance à produire des gels plus fermes avec moins de synérèse que les yaourts enrichis en protéines de lactosérum. Par conséquent, la fermeté et l'épaisseur les plus élevées du produit formulé P1 peuvent s'expliquer par la quantité ajoutée de caséinate de sodium. En conséquence un ajustement de la formulation a été proposé pour améliorer la texture et le goût du yaourt formulé à deux

niveaux : 1- Réduire la fermeté et l'épaisseur en diminuant la concentration de caséinate de sodium de 2% à 1%. 2- Neutraliser l'arrière-goût huileux en aromatisant le produit et en utilisant un masque de goût. Deux échantillons ont alors été conçus et évalués, l'échantillon d'arôme d'amande (PA) et l'échantillon d'arôme d'orange (PO), leurs scores d'attributs sensoriels étaient presque similaires à l'exception de deux descripteurs fondant et fluide. Le score de l'attribut Huileux dans les échantillons PA et PO a diminué de manière significative par rapport à l'échantillon P1.

En conclusion, Les conditions appliquées pour optimiser la production du yaourt à l'huile d'Argan sont la réduction de la concentration en caséinates de sodium et l'aromatisation. Il en résulte que les concentrations de caséinate de sodium et d'huile d'argan, en tant que variables indépendantes, sont les facteurs affectant les réponses sensorielles telles que les attributs de texture et l'arrière-goût huileux du produit formulé.

**Article 3: Evaluation of argan oil yogurt-like formulation by
sensory analysis.**

(Submitted to BMC Food Production, Processing and Nutrition)

Abstract

Argan oil is a functional food of great interest for human health. However, its particular taste restricts its consumption. This work aimed to evaluate and optimize the formulation of an argan oil yogurt-like. The conception of this functional product consists of introducing the recommended daily amount of Argan oil in an emulsion of 20% O/W, then its Lacto-fermentation. The sensory profile of the formulated product (P1) versus a reference product characterized appearance, taste, texture, and mouth-feel attributes using ANOVA. The results showed significant divergence between the plain product (P1) and the reference product in terms of brightness, thickness, firmness, creaminess, and the persistence of an oily taste after (P1) ingestion. The formulation adjustment improved the texture and the taste by reducing firmness and thickness and neutralizing the oily taste. The evaluation of the improved samples, almond flavor sample (PA) and orange flavor sample (POF), showed their sensory attributes: the scores were almost similar except for two attributes, melty and fluid, and The score of the attribute Oily in samples PA and PO decreased significantly compared to sample P1. These results identified the sensory qualities that needed further development leading to appropriate product optimization.

Keywords: Yogurts-like drinks, functional foods, argan oil, aromatization, sensory analysis.

Background

Functional foods are foods and components that provide health benefits beyond essential nutrition for the intended population [1]. According to the Institute of Food Technologists, this kind of food provides essential nutrients and other biologically active components that impart health benefits and physiological effects. However, the quantities required are often beyond those for regular maintenance and growth [2]. In recent decades, advances in food technology and new evidence-based science linking diet to disease and disease prevention have created an exceptional opportunity to address public health issues through diet and lifestyle [3-5]. All over the world, fermented dairy products have been the subjects of several studies, and different benefits for human health are related to their consumption [6, 7]. Such products are more nutritious than non-fermented dairy products because of bacterial cultures' improved absorption and digestibility of proteins, carbohydrates, and fats. Conventionally the process of fermentation in yogurt manufacturing includes the utilization of the following species: *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*. The scientific finding has proposed the involvement of probiotic cultures and prebiotic ingredients to increase the products' nutritional value while assessing their sensory profiles and consumer acceptance [8-10]. Probiotics are "microbial cells that have a beneficial effect on health and well-being of the host" [6, 11]. Accordingly, modern dairy science and nutrition have suggested new dairy products that positively impact human health and improve sensory characteristics [10, 12, 13]. Moreover, many Innovative efforts investigated the proposal of fermented non-dairy products as alternatives to fermented milk-based products from a variety of substrates, such as soymilk, whey protein, cereals, and other substances. Luana N. et al. (2014) reported that fermented oat flakes beverage had the typical features of a yogurt-like beverage and that the selection of proper processing and fermentation conditions allowed the obtainment of a beverage with better nutritional and sensory properties [14]. Perina, N. P., et al. (2015) also demonstrated that adding vegetal-oil emulsion and passion fruit peel-powder did not influence fermentation time but significantly affected instrumental firmness. Furthermore, despite the observed differences in flavor and global impression, there were no significant changes in consumers' overall liking between supplemented and conventional yogurts [15].

Argan oil is one of the most important seasoning oils that provide a health benefit beyond its

basic nutritional. It is considered a functional food with a highly scored potential effect on human health due to its composition. It represents a rich source of linoleic acid (31-35%), oleic acid (46-48%), and unsaponifiable matter (1%). This later is made of carotenes (37%), tocopherols (8%), triterpene alcohols (20%), sterols (29%), and xanthophylls (5%) [16] . Indeed, previous studies demonstrated that the consumption of 25ml of Argan oil per day has an ameliorative effect on skin elasticity and hydration [17, 18]. and has a positive effect on the prevention of certain diseases such as high cholesterol [19], heart disease [20], and diabetes [21]. However, most consumers do not take the recommended daily amount of Argan oil, which searches for a way to incorporate this healthy oil into people's diets a great interest. The health-promoting properties of the fermented dairy product make yogurt an excellent option for delivering Argan oil to help consumers receive the recommended dose daily. On the other hand, yogurts are high caloric products because of their saturated fat and sugar content; thus, Argan oil could be a suitable fat replacer in fermented dairy products [22, 23].

Preliminary work investigated the influence of sodium caseinate, starch, lactose, and lactic acid bacteria on syneresis in a mixed model system. It determined their effective concentrations to produce an acid gel network capable of holding the oily phase with optimal stability [24]. Accordingly, the formulation of a sodium caseinates-stabilized emulsion at 20% of argan oil then its Lacto-fermentation led to a stable acid gel network. Understanding the sensory attributes that characterize the effective ideal product helps create an optimized formulation for a greater probability of consumer success [25]. Nevertheless, functional food development is a complex, expensive and risky process involving long-term studies to gather scientific evidence of their health effects [26].

Sensory perception is one of the keys to the widespread flavorful and wholesome image that dairy foods continue to enjoy with the consumer [3, 27-29]. Various lexicons describe yogurt and highlight taste, aroma, and texture, differentiating yogurt samples [30], and highlighting that taste, aroma, and texture differentiate yogurt sample. The objectives of this research were (1) to develop a lexicon for a yogurt-like containing argan oil; (2) to use this new language to compare different preparations to develop a final product with high functionality and acceptability.

Materials and methods

2.1 Ingredients

The main ingredients used in this study were:

- Milk proteins; Sodium caseinate; Hydroxypropyl distarch phosphate (E1442) (provided by Trade Bio-Industries Morocco);
- Argan oil (provided by association *ibn al baytar*);
- Aromas & oily taste masker (Provided by International flavors & fragrance);
- Lactic acid bacteria: *Strep. thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus*;
- Freshly distilled water.

2.2. Preparation of Yogurt-like Products

All the ingredients, milk proteins, lactose, starch, and sodium caseinates (plus a taste masker when needed) were dissolved in distilled water under magnetic agitation. Heat treatment allows starch gelation at around 70°C and pasteurization at 85°C for 15 min. Then cooled to 45°C before homogenization with argan oil in a water bath fixed at 45°C to form emulsions. The mixture was cooled to 42°C before inoculation at 42°C with starter cultures (*S. thermophilus* and *L. delbrueckii subsp. Bulgaricus*). The time of the fermentation process was about (4–4h30 hours) with a final pH of 4.5. The storage temperature of all samples is 4°C.

The tested products were Product P1 (=Formulated product), Product P1A (= P1 + almond flavor); Product P1O (= P1 + Orange flavor + Oily taste masker); Product RP (= Reference product: 7,6% fat).

2.3. Sensory analysis

Sensory descriptive analysis of the formulated yogurts was conducted at the EBI Sensory analysis lab, using a trained sensory food panel. During this study, quantitative descriptive profiles were established. A product's sensory qualification based on attributes meets a definition and a specific protocol (NF ISO 13299). In preliminary sessions, 15 expert panelists determined appropriate sensory attributes, defined the sensory terms, created the

study protocol, established the assessment procedures, and selected reference materials. During these training sessions on selected products from the market, the panelists were asked to try yogurts and generate attributes to describe them individually. Then, through open discussion with the panel leaders, panelists agreed on the best attributes to fully describe samples, their definitions, and how to evaluate them. The final list of attributes was the following: five visual attributes, three Textural attributes, three mouth-feel attributes, and three taste attributes, as indicated in table 1. Reference standards for sourness and sweetness were developed using a consensus process (citric acid-like; sucrose-like).

Table 1: Definitions of attributes for the appearance (aspect), spoon sampling, mouth-feel and taste

	ATTRIBUTES 10/0	DEFINITIONS	EVALUATION
APPEARANCE	White/Not white	Color scale.	Sliding the product on the shade scale.
	Bright/Not bright	The product reflects / does not reflect the light when examined under the lamp.	A tilt of the yogurt pot under the lamp.
	Homo/Heterogeneous	The product has/does not have only the same phase (same color, same appearance).	Observation of the product in its pot.
	Syneresis/No syneresis	The product has / does not exhibit a whey separation.	
Foamy/Not foamy	The product is/is not porous and has/does not have bubbles.		
SPOON SAMPLING	Ropy/Not ropy	A wire is/is not formed between the back of the spoon and the product.	Insert the back of the spoon horizontally, then gently remove the spoon.
	Firm/Not firm	The product is/is not resistant to setting and shows a/not show any trace after sampling with a spoon.	Take product.
	Fluid/Not fluid	The product does not remain / remains on the spoon when tilted, it drips (does not fall from a block) / it does not flow (falls in a block).	After removing the product, tilt the spoon vertically.
MOUTH-FEEL	Melty/Not melty	The product changes / does not change state.	Place the product on the tongue and evaluate the descriptor at 15 seconds.
	Thick/Not thick	The product has a / has no resistance to decomposition.	Apply pressure with the tongue against the palate.
	Smooth/Not smooth	The product provides / does not provide a feeling of a regular surface	
TASTE	Sweet*/Not sweet	The product provides / does not provide a sweet taste on the front of the tongue	Put a spoonful of product in the mouth
	Acid**/Not acid	The product provides / does not provide an acid taste on the sides at the back of the mouth	
	Creamy***/Not creamy	The product provides / does not provide an associated creamy taste	

*12g/L sucrose solution - **0.6g/L solution of citric acid - *** Sour cream 30% fat.

In successive sessions, panelists trained in quantifying the selected attributes using unstructured scales and converted them to numerical values (0.0–10.0) for statistical analysis. Each panelist evaluated each product on its appearance, spoon sampling, texture in the mouth, and taste. The panelist relied on the ratings given to the reference product. The products were studied in a monadic way, product by product in their original cup.

During sensory sessions, 15 expert panelists evaluated the formulated product P1 (30g of product per cup). The panelists analyzed the attributes according to the definitions already validated and quantified them according to a discontinuous scale of 11 points from 0 (attribute not detected) to 10 (maximum presence of the attribute) in a handwritten evaluation sheet. Based on the sensory results of P1, Two more products, PA1 & P1FO, were formulated and evaluated by 15 expert panelists, using the same descriptive methodology described above for sample P1 in addition to a new descriptor, the oily taste descriptor. The definition of this latter and its product reference details are in Table 2.

Table 2: Added descriptor

Descriptor	Definition	Rating given
Oily*/Not oily**	The product provides a taste associated with the oil/ The product does not provide a taste associated with the oil.	10/0

**P1 Casino - **Creamy white cheese*

All sensory test sessions were conducted in a controlled environment (20°C), a taste-panel sensory laboratory equipped with an individual test booth. All Yogurt samples were assessed for texture, taste, appearance, and mouth feel properties in many sessions and with groups on separate days. All the results were collected, then recorded and analyzed using XSTAT software.

2.4. Data Analysis

Two-way ANOVA (samples and assessors) with interaction were applied to the sensory data obtained for each attribute. A fixed model, considering assessors as a fixed factor, analyzed individual differences among assessors. When a significant interaction between assessors and sample was observed for a descriptor, a mixed model ANOVA was performed, considering

assessors as a random effect. F-sample values were then recalculated, taking the average square of the interaction as the denominator. The samples' least significant differences (LSD) were determined by the Fisher test (5%). All calculations were carried out with XLSTAT Pro software.

3. Results and discussion

3.1. Descriptive Profile of Yogurt-like P1

This quantitative descriptive analysis described the profiles of the formulated product P1 and the reference as indicated in table 3 and Fig1. The reference profile was obtained by panel consensus, with no need for standard deviation. The formulated product P1 is visually white, not bright, homogeneous, presenting no syneresis, and not foamy. When sampling with a spoon, it is not ropy; it is firm and not fluid. Its texture in the mouth is not melty; it is too firm and not smooth. The panelists found the taste slightly sweet, acid, and creamy.

Table 3: Sensory evaluation of Product P1 and the Reference product

Attributes	Ref	P1 +/- standard deviation
White	8	8,27±0,80
Bright	8	3,80±2,76
Homogenous	9	8,27±1,62
Syneresis	0	1,40±2,03
Foamy	0	1,80±2,01
Ropy	1	0,13±0,35
Firm	7	9,80±0,56
Fluid	1	0,00±0,00
Melty	3	0,47±0,64
Thick	4	8,53±1,64
Smooth	8	2,73±2,02
Sweet	3	3,40±1,84
Acid	4	3,07±1,98
Creamy	7	3,73±3,03

The panelists also noticed the persistence of an oily aftertaste after ingestion of P1, which is probably related to Argan oil concentration. The product was very different in its mouth-feel and taste than what panelists are used to finding in stores in France. These significant divergences were in terms of sensory properties between Product P1 and the reference product, particularly appearance, texture, and mouth-feel for the following attributes: brightness, thickness, creaminess, and firmness when sampled, as shown in Fig 1.

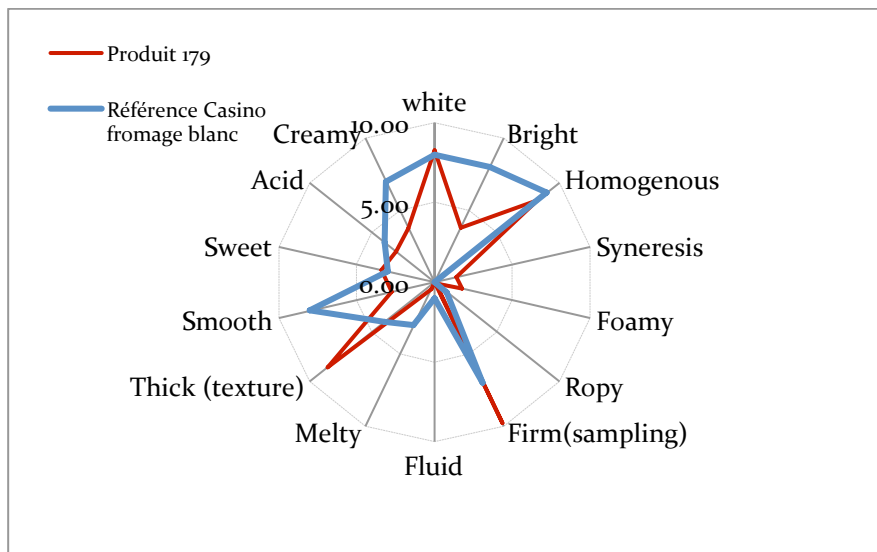


Fig 1: sensory profiles comparison P1 (coded 179) /Reference

These results agree with the finding of Damin et al. (2009), who reported that yogurt made with milk supplemented with Sodium caseinate showed a significant increase in firmness. A positive correlation was between protein levels and firmness, with a coefficient of 0.97, when milk was supplemented with Sodium caseinate. In contrast, these values were 0.82 and 0.65 for supplementation with skimmed milk powder and Whey protein concentrate, respectively [31]. In another study, Guzmán-González et al. (1999) also showed that casein-based products tended to produce firmer gels with less syneresis than yogurts fortified with whey protein [32]. Therefore, the amount of sodium caseinate could explain the highest firmness and thickness of the formulated product P1. Furthermore, the effect of milk fortification with milk protein on the increase in viscosity has been demonstrated in several studies; the viscosity changed in the same way as firmness. Marafon et al. (2011b) reported that the rheological properties of probiotic yogurts were significantly enhanced when Whey protein concentrate and Sodium caseinate partially replaced skimmed milk powder [33]. Yogurt has weak bonding, but sodium caseinate supplementation tends to change its gel structure [34]. Consequently, the formulation adjustment improved the texture and taste of the formulated yogurt at two levels: (1) Reducing firmness and thickness by decreasing sodium caseinate concentration from 2% to 1% [35-37]. (2) Neutralizing the oily aftertaste by aromatizing the product and using a taste masker [38, 39].

3.2. Descriptive Profile of aromatized yogurts-like

The descriptive analysis of the formulated products PA1 and P1OF showed that the two products have almost the same sensory profile, as illustrated in Figure 3. However, they showed noticeable changes in texture attributes scores compared to the plain product P1, as shown in Table 4.

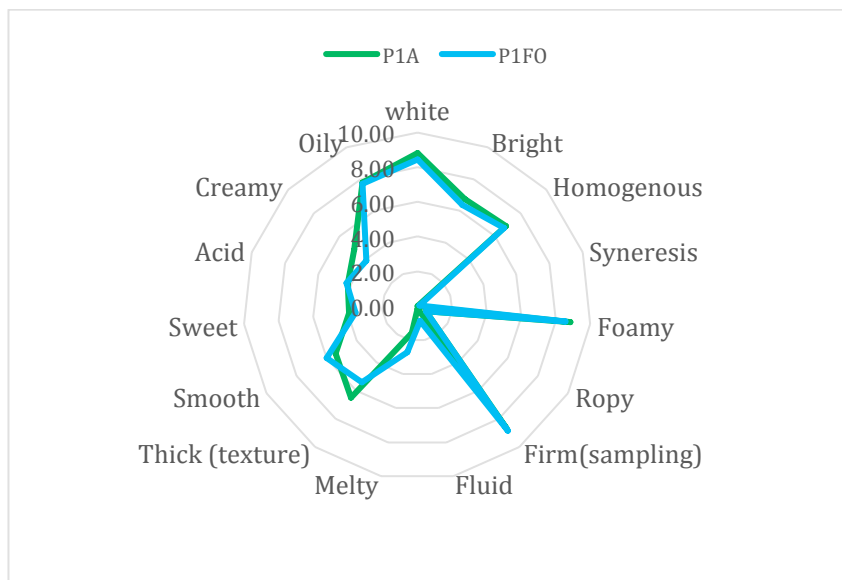


Figure 3: Sensory profiles of PA1 and POF

Table 4: Sensory evaluation of Product PA1 and POF

Attributes	P1A	P1FO	P1	830 (=REF)
white	8,79± 0,70	8,43±0,65	8,27±0,80	8
Bright	6,71± 2,30	6,36±2,34	3,80±2,76	8
Homogenous	6,86± 2,82	6,71±2,58	8,27±1,62	9
Syneresis	0,00± 0,00	0,14±0,53	1,40±2,03	0
Foamy	8,86± 0,86	8,57±0,94	1,80±2,01	0
Ropy	0,57± 1,60	0,57±0,85	0,13±0,35	1
Firm	8,71± 0,99	8,86±0,66	9,80±0,56	7
Fluid	0,14± 0,36	0,86±0,95	0,00±0,00	1
Melty	1,57± 1,50	2,71±1,64	0,47±0,64	3
Thick	6,50±1,40	5,43±2,28	8,53±1,64	4
Smooth	5,43±2,47	6,00±2,15	2,73±2,02	8
Sweet	3,93±2,40	3,57±2,17	3,40±1,84	3
Acid	4,21±2,08	4,09±±2,02	3,07±1,98	4
Creamy	4,86±2,60	3,93±2,53	3,73±3,03	7
Oily	7,79±0,89	7,71±2,23	10	0

The reduction of sodium caseinate from 2% in P1 to 1% induced microstructural and textural modifications in P1A & P1OF: less firmness, less smoothness, more melting, less thickness, and less syneresis. It was reported that yogurts enriched with sodium caseinate had higher firmness and viscosity than yogurts enriched with whey proteins [32, 34], which agrees with our findings. Nevertheless, the textural properties of yogurts also depend on syneresis, one of the major technological defects in yogurts. The use of whey proteins is known to improve the texture of gels by increasing the gel's strength and water-holding ability. According to Akalin et al. (2012), the low texture scores obtained by yogurts enriched with caseinate are due to the lower ability of caseinate compared to whey protein concentrate to retain water. Moreover, other studies demonstrated that whey proteins are more efficient in improving the water-holding capacity of yogurts than skim milk powder or caseinate [35, 40].

It was also noticed that both almond and orange blossom notes reduced the intensity of the "oily" aftertaste in P1 slightly. The attribute "Oily" score in samples P1A and P1O decreased significantly by -2,21 & -2,29, respectively, compared to sample P1, as mentioned in Table 5. Nevertheless, adding the oily taste masker did not significantly impact the aftertaste perception.

Table 5: Comparison of the oily descriptor scores in the three products

	P1	P1A	P1OF	Ref
Attributes	<i>Moyenne</i>	<i>Moyenne</i>	<i>Moyenne</i>	<i>Note</i>
oily	10	7,79±0,89	7,71±2.23	0

Moreover, the orange-flavored yogurt P1O was more fluid than the almond-flavored one P1A, as indicated in table 5. Therefore, it could be suggested that the type of flavor impacted the panelist's fluidness perception, which could be related to the impact of the flavor on the texture perception. In a study performed on yogurts, Kora, Latrille, Souchon, and Martin (2003) investigated texture flavor interactions in yogurts flavored with a green apple aroma. They evidenced that olfactory perception enhanced astringency and that increasing the green note decreased thickness perception [41].

Table 6: ANOVA Results

Descriptors	% significativity	Slightest Significant difference (5%)	Significant Difference
White	17,2	-	No
Bright	68,7	-	No
Homogenous	89	-	No
Syneresis	32,7	-	No
Foamy	41	-	No
Ropy	100	-	No
Firm (spoon)	65,8	-	No
Fluid	1,4	0,56	Yes
Melty	6,6	1,22	Trend
Thick (mouth- feel)	14,6	-	No
Smooth	52	-	No
Sweet	68,3	-	No
Acid	92,7	-	No
Creamy	34,6	-	No
Oily	91,2	-	No

To better understand flavor–texture interactions, some authors developed model systems presenting different tastes but the same rheological properties. Saint-Eve, Paçi-Kora, and Martin (2004) investigated the influence of the olfactory quality on the perception of texture in flavored yogurts. The type of aroma impacted texture perception, although the rheology of yogurts was identical: buttery and coconut-flavored yogurts were perceived as thick, whereas yogurts flavored with green notes were perceived as smooth and fluid. According to their findings, aroma–texture interaction was attributed to a cognitive mechanism rather than a Physico-chemical mechanism, and consumers may adopt different chewing behavior when the product's aroma was modified [42]. This hypothesis needs more investigation, although it sounds realistic since textural, taste, and olfactory inputs converge in the same cortical area [43]. Therefore, it could be concluded that there is some evidence of the impact of flavor compound variation on textural. However, no general rules on the impact of flavor on texture perception can be driven. The results directly depend on the product, and the flavor components studied [44, 45].

Furthermore, dairy products' protein content can significantly influence taste and aroma perception. Saint-Eve, Lévy, Martin, and Souchon (2006a) investigated the impact of the protein content on flavor release in flavored stirred yogurts. These later were enriched with caseinate, higher viscosity was noticed, and less intensity for most olfactory notes was perceived. Modifying the protein content led to gel microstructure changes and aroma compounds' binding, influencing the global perception of dairy products [46].

Conclusion

As independent variables, the concentrations of sodium caseinate and argan oil affect sensory responses such as texture attributes and oily aftertaste of the formulated yogurt-like. Reduced sodium caseinates concentration and aromatization were applied to optimize the Argan-oil yogurt-like production. Although these results are helpful to optimize formulations and will yield optimized products from a sensory point of view, further studies with different amounts of Argan oil and hedonic evaluation are also needed to develop a product with high potential success in consumer marketing. The variations in texture and taste perception are not only due to physicochemical interactions between food components but also depend on interactions between sensory modalities. Therefore, an approach linking physicochemical interactions and sensory analysis is essential to produce dairy products with good sensory properties and consumer acceptability.

References list

1. Singh, D.M.M.a.J., *A new definition of functional food by FFC: what makes a new definition unique?* Functional Foods in Health and Disease, 2015. **5**(6): p. 209-223.
2. Clydesdale, F., *Functional Foods: Opportunities and Challenges*. Food technology, 2004. **58**(12): p. 35-40.
3. Mousavi, M., et al., *Texture and sensory characterization of functional yogurt supplemented with flaxseed during cold storage*. Food Sci Nutr, 2019. **7**(3): p. 907-917.
4. Loveday, S.M., A. Sarkar, and H. Singh, *Innovative yoghurts: Novel processing technologies for improving acid milk gel texture*. Trends in Food Science & Technology, 2013. **33**(1): p. 5-20.
5. Marsh, A.J., et al., *Fermented beverages with health-promoting potential: Past and future perspectives*. Trends in Food Science & Technology, 2014. **38**(2): p. 113-124.
6. Kandyliis, P., et al., *Dairy and non-dairy probiotic beverages*. Current Opinion in Food Science, 2016. **7**: p. 58-63.

7. Pang, G., et al., *How functional foods play critical roles in human health*. Food Science and Human Wellness, 2012. **1**(1): p. 26-60.
8. Crispín-Isidro, G., et al., *Effect of inulin and agave fructans addition on the rheological, microstructural and sensory properties of reduced-fat stirred yogurt*. LWT - Food Science and Technology, 2015. **62**(1): p. 438-444.
9. Cadena, R.S., et al., *Comparison of rapid sensory characterization methodologies for the development of functional yogurts*. Food Research International, 2014. **64**: p. 446-455.
10. Astawan, M., et al., *Production of Synbiotic Yogurt-Like Using Indigenous Lactic Acid Bacteria as Functional Food*. Media Peternakan, 2012. **35**(1): p. 9-14.
11. S. Salminen*y, A.O. and Y.B.a.Y.K. Leex, *Probiotics: how should they be defined?* Trends in Food Science & Technology 1999. **10**: p. 107-110.
12. Coda, R., et al., *Yogurt-like beverages made of a mixture of cereals, soy and grape must: microbiology, texture, nutritional and sensory properties*. Int J Food Microbiol, 2012. **155**(3): p. 120-7.
13. Pang, Z., et al., *Development of rheological and sensory properties of combinations of milk proteins and gelling polysaccharides as potential gelatin replacements in the manufacture of stirred acid milk gels and yogurt*. Journal of Food Engineering, 2016. **169**: p. 27-37.
14. Luana, N., et al., *Manufacture and characterization of a yogurt-like beverage made with oat flakes fermented by selected lactic acid bacteria*. Int J Food Microbiol, 2014. **185**: p. 17-26.
15. Perina, N.P., et al., *Effect of vegetal-oil emulsion and passion fruit peel-powder on sensory acceptance of functional yogurt*. Food Research International, 2015. **70**: p. 134-141.
16. Charrouf, Z. and D. Guillaume, *Argan oil: Occurrence, composition and impact on human health*. European Journal of Lipid Science and Technology, 2008. **110**(7): p. 632-636.
17. Boucetta, K.Q., et al., *The effect of dietary and/or cosmetic argan oil on postmenopausal skin elasticity*. Clin Interv Aging, 2015. **10**: p. 339-49.
18. Boucetta, K.Q., et al., *Skin hydration in postmenopausal women: argan oil benefit with oral and/or topical use*. Prz Menopauzalny, 2014. **13**(5): p. 280-8.
19. Berrougui, H., et al., *Hypolipidemic and hypocholesterolemic effect of argan oil (Argania spinosa L.) in Meriones shawi rats*. Journal of Ethnopharmacology, 2003. **89**(1): p. 15-18.
20. Cherki, M., et al., *Argan oil: which benefits on cardiovascular diseases?* Pharmacological Research, 2006. **54**(1): p. 1-5.
21. Bellahcen, S., et al., *Prevention of chemically induced diabetes mellitus in experimental animals by virgin argan oil*. Phytother Res, 2012. **26**(2): p. 180-5.
22. Bruzantin, F.P., et al., *Physicochemical and sensory characteristics of fat-free goat milk yogurt with added stabilizers and skim milk powder fortification*. Journal of Dairy Science, 2016. **99**(5): p. 3316-3324.
23. Lesme, H., et al., *Controlled whey protein aggregates to modulate the texture of fat-free set-type yoghurts*. International Dairy Journal, 2019. **92**: p. 28-36.

24. El Bouchikhi, S., et al., *Syneresis investigations of lacto-fermented sodium caseinate in a mixed model system*. BMC Biotechnol, 2019. **19**(1): p. 57.
25. Janiaski, D.R., et al., *Strawberry-flavored yogurts and whey beverages: What is the sensory profile of the ideal product?* J Dairy Sci, 2016. **99**(7): p. 5273-5283.
26. Jones, P.J. and S. Jew, *Functional food development: concept to reality*. Trends in Food Science & Technology, 2007. **18**(7): p. 387-390.
27. Salvador, A. and S.M. Fiszman, *Textural and Sensory Characteristics of Whole and Skimmed Flavored Set-Type Yogurt During Long Storage*. Journal of Dairy science, 2004. **87**(12): p. 4033-4041.
28. Lovely, C. and J.-F. Meullenet, *Comparison of Preference Mapping Techniques for the Optimization of Strawberry Yogurt*. Journal of Sensory Studies, 2009. **24**(4): p. 457-478.
29. Cliff, M.A., et al., *Descriptive analysis and early-stage consumer acceptance of yogurts fermented with carrot juice*. J Dairy Sci, 2013. **96**(7): p. 4160-72.
30. Brown, M.D. and D.H. Chambers, *Sensory Characteristics and Comparison of Commercial Plain Yogurts and 2 New Production Sample Options*. Journal of Food Science, 2015. **80**(12): p. S2957-S2969.
31. Damin, M.R., et al., *Effects of milk supplementation with skim milk powder, whey protein concentrate and sodium caseinate on acidification kinetics, rheological properties and structure of nonfat stirred yogurt*. LWT-Food Science and Technology, 2009. **42**(10): p. 1744-1750.
32. Marta Guzmán-González, 2*Federico Morais,1Mercedes Ramos2and Lourdes Amigo2, *Influence of skimmed milk concentratereplacement by dry dairy products in a low fatset-type yoghurt model system. I: Use of wheyprotein concentrates, milk protein concentratesand skimmed milk powder*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1999. **79**: p. 11117-1122.
33. Marafon, A.P., et al., *Optimization of the rheological properties of probiotic yoghurts supplemented with milk proteins*. LWT - Food Science and Technology, 2011. **44**(2): p. 511-519.
34. Damin, M.R., et al., *Effects of milk supplementation with skim milk powder, whey protein concentrate and sodium caseinate on acidification kinetics, rheological properties and structure of nonfat stirred yogurt*. LWT - Food Science and Technology, 2009. **42**(10): p. 1744-1750.
35. Akalın, A.S., et al., *Microstructural, textural, and sensory characteristics of probiotic yogurts fortified with sodium calcium caseinate or whey protein concentrate*. Journal of Dairy Science, 2012. **95**(7): p. 3617-3628.
36. Gursel, A., et al., *Role of milk protein-based products in some quality attributes of goat milk yogurt*. J Dairy Sci, 2016.
37. Pakseresht, S., M. Mazaheri Tehrani, and S.M.A. Razavi, *Optimization of low-fat set-type yoghurt: effect of altered whey protein to casein ratio, fat content and microbial transglutaminase on rheological and sensorial properties*. J Food Sci Technol, 2017. **54**(8): p. 2351-2360.
38. Furtado, G.F., et al., *Breaking oil-in-water emulsions stabilized by yeast*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2015. **128**: p. 568-576.
39. Tournier, C., et al., *A study on texture–taste–aroma interactions: Physico-chemical and cognitive mechanisms*. International Dairy Journal, 2009. **19**(8): p. 450-458.

40. Mahomud, M.S., N. Katsuno, and T. Nishizu, *Formation of soluble protein complexes and yoghurt properties influenced by the addition of whey protein concentrate*. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2017. **44**: p. 173-180.
41. ENKELEJDA PACI KORA, E.L., ISABELLE SOUCHON and NATHALIE MARTIN', *TEXTURE-FLAVOR INTERACTIONS IN LOW FAT STIRRED YOGURT: HOW MECHANICAL TREATMENT, THICKENER CONCENTRATION AND AROMA CONCENTRATION AFFECT PERCEIVED TEXTURE AND FLAVOR* Journal of sensory studies, 2002. **18**(5): p. 367-390.
42. Saint-Eve, A., E. Paçi Kora, and N. Martin, *Impact of the olfactory quality and chemical complexity of the flavouring agent on the texture of low fat stirred yogurts assessed by three different sensory methodologies*. Food Quality and Preference, 2004. **15**(7-8): p. 655-668.
43. De Araujo, I.E., et al., *Cognitive modulation of olfactory processing*. Neuron, 2005. **46**(4): p. 671-679.
44. Guichard, C.T.C.S.-R.E., *Flavour Perception: Aroma, Taste and Texture Interactions* Global science books, 2007: p. 246-254.
45. kora, E.p., *interactions physico-chimiques et sensorielles dans le yaourt brasse aromatisé: quels impacts respectifs sur la perception de la texture et de la flaveur*. 2004 , Institut national agronomique Paris-Grignon.
46. A. Saint-Eve, C.L.v., N. Martin, I. Souchon, *Influence of Proteins on the Perception of Flavored Stirred Yogurts*. journal of dairy science, 2006. **89**: p. 922-933.

III.4. BREVET : Produits laitiers assimilés fortifiés en lipides fonctionnels et méthodes de fabrication (Numéro de Dépôt : 56734).

ABRÉGÉ DE L'INVENTION

L'invention consiste en la réalisation de produits alimentaires assimilables aux produits laitiers avec une concentration élevée en lipides et/ou leurs fractions, et leurs procédés de fabrication. Les lipides sont choisis parmi ceux à effets nutritionnels et fonctionnels reconnus et notamment à acceptabilité gustative limitée. Suivant ce procédé, nous réalisons une dispersion à base de lipides convenablement choisis puis nous réalisons une transformation de cette dispersion en produits assimilés produits laitiers : yaourt, crème dessert ou pâtes dure ou à tartiner autorisant une meilleure acceptabilité des lipides visés.

La transformation en produit assimilé yaourt est réalisée par une lacto-fermentation. La transformation en produit assimilé crème dessert est réalisée par l'addition supplémentaire d'agents gélifiants. La transformation en produit assimilé pâtes dures ou à tartiner est réalisée sur une dispersion plus concentrée par l'addition d'agents gélifiants et d'agents épaississants (ou procédé de fromage). L'acceptabilité de ces produits peut être ensuite optimisée ou retouchée par analyse sensorielle.

LA DESCRIPTION

Préambule

[0001] La diététique maigre (pauvre en lipides) est classiquement la plus répandue. C'est ainsi qu'il existe des laits semi écrémés ou écrémés pour réduire voire annihiler les quelques 3% des matières grasses du lait naturel. Cette pratique s'est élargie aux produits laitiers en général : yaourt maigre ou à 0% de matière grasse, desserts lactés maigres,)

[0002] Cependant, la qualité nutritionnelle des acides gras insaturés et leur rôle dans le métabolisme ne sont plus à démontrer. Certaines huiles sont ainsi réputées pour leurs intérêts nutritionnels sous certaines conditions d'utilisation : limiter la quantité journalière, éviter toute dégradation par la chaleur de cuisson.

[0003] De nombreuses études ont montré les effets bénéfiques de certaines huiles comme l'huile de foie de morue (ou l'huile de poissons en général), l'huile d'argan, l'huile de sésame ou tout simplement de l'huile d'olive et d'autres encore. Chaque huile présentant un avantage particulier pour sa richesse en tel ou tel composant (acide gras, insaponifiable,).

[0004] C'est ainsi que certaines études ont montré que l'intégration de l'une de ces huiles dans son alimentation est une pratique fortement recommandable. Des études ont en effet montré que consommer d'une manière quotidienne (environ 25 g/jour de l'huile d'argan à titre d'exemple) et dans certaines conditions (sans cuisson), ces huiles ont des vertus médicinales et de bien-être.

[0005] Certaines de ces huiles à vertus ont cependant un obstacle à leur utilisation fréquente: l'acceptabilité gustative.

[0006] Afin de permettre une consommation aisée et appétissante de ces huiles et/ou de leurs fractions, et encourager leur utilisation quotidienne dans l'alimentation, des supports alimentaires à ces huiles et/ou leur fractions, sous forme de produits enrichis assimilés produits laitiers et leurs procédés de fabrication sont proposés.

Description

[0010] Les procédés de fabrication concernent des produits assimilés laitiers sous une forme rappelant celles du yogourt, d'une crème ou d'une pâte à tartiner enrichis en lipides en général et particulièrement en huile simple (une seule huile) ou composée (mélange d'huiles) additionnée ou non de fractions huileuses sont décrits pour la première fois.

[0011] Ces procédés consistent à remplacer le lait par une dispersion lipidique dont la composition de la phase huileuse est soigneusement choisie aussi bien sur le plan quantitatif que qualitatif.

[0012] Sur le plan quantitatif, la concentration de la phase huileuse peut varier dans la dispersion de telle manière que la quantité en huile dans la portion du produit laitier, ou assimilé laitier, corresponde aux quantités habituellement recommandées. A titre d'exemple, ces quantités sont actuellement de l'ordre de 25 g.

[0013] Sur le plan qualitatif, la phase huileuse est composée d'une huile seule choisie par les huiles présentant un intérêt nutritionnel avéré ou un mélange de ces huiles, des fractions de ces huiles ou encore d'huile(s) enrichi(e)s en fractions données telles que les insaponifiables en totalité ou en partie.

[0014] Les dispersions ainsi obtenues sont transformées en yogourt ou crème dessert ou en yaourt/ pâte à tartiner par addition des ingrédients nécessaires en quantités contrôlées pour respecter la quantité finale des lipides dans une portion alimentaire raisonnable.

[0015] À titre d'exemple, si la portion visée du produit final est de l'ordre de 125 g, le poids habituel d'un yaourt, la concentration en huile sera de 20% pour contenir la quantité de lipides recommandée, actuellement 25 g.

[0016] L'acceptabilité sensorielle est travaillée sur deux plans : la palatabilité et l'aspect gustatif. La palatabilité est améliorée par addition dans la matrice d'ingrédients de consistance. L'aspect gustatif est amélioré par l'addition d'arômes, d'édulcorants et/ou de

condiments. L'optimisation de l'acceptabilité est conduite en faisant appel aussi bien à l'analyse descriptive qu'à l'évaluation sensorielle.

[0017] Les modes principaux de la réalisation de l'invention comprennent un procédé de fabrication d'un produit rappelant le yaourt mais enrichi de lipides. Le procédé inclut une étape préalable de dispersion pour constituer une phase équivalente au lait dans le procédé de fabrication du yaourt. Il s'agit plus exactement d'une gélification par lacto-fermentation d'une dispersion à base de lipides simples ou composés soigneusement choisis. La dispersion peut être fermentée par ajout des ingrédients nécessaires à une lacto-fermentation. La concentration en lipides dans le mélange final du yaourt est telle que la portion alimentaire du produit fini apporte au minimum la quantité de lipides actuellement recommandée : de 25 g/jour cas de l'huile d' argan. Cette portion peut être apportée en totalité ou par addition de produits équivalents moins riches en lipides.

[0018] Des modes de réalisation de l'invention comprennent en outre un procédé de fabrication d'une crème dessert fortifiée en lipides qui comprend l'étape de la dispersion associée à un épaississement par un gélifiant alimentaire type gélatine, pectine ou équivalent. La concentration en lipides dans le mélange final de la crème dessert est telle que la portion alimentaire du produit fini apporte la quantité de lipides actuellement recommandée : de 25g/jour. Cette portion peut également être apportée en totalité ou par addition de produits équivalent moins riches en lipides.

[0019] Des modes de réalisation de l'invention comprennent encore un produit de yaourt/pâte à tartiner enrichi en lipides entre 20 et 40% ou plus de lipides. Le produit à tartiner peut être aromatisé et emballé dans une variété de forme y compris pot, barquette, ... La concentration en lipides dans le mélange final du yaourt à tartiner est telle que la portion alimentaire du produit fini apporte la quantité de lipides actuellement recommandée : soit 25 g/jour. Cette portion peut également être apportée en totalité ou par addition de produits équivalent moins riches en lipides.

[0020] La Figure 1 est un organigramme montrant les étapes sélectionnées dans un procédé de fabrication d'un produit laitier assimilé enrichie en lipides suivant la réalisation de l'invention.

Description détaillée

[0021] Le domaine de l'invention est celui des aliments fonctionnels. La présente invention se rapporte particulièrement à un procédé de fabrication d'un produit laitier assimilé enrichi en lipides bénéfiques pour la santé.

[0022] La science nutritionnelle a évolué d'une approche préventive des déficiences alimentaires vers la promotion d'une nutrition préventive. Cette dernière a pour objectif de maximaliser les fonctions physiologiques de façon à garantir un état de bien-être et de santé optimale, tout en réduisant au minimum le risque de contracter une maladie (Weber., 2001; Chanussot F., 2008).

[0023] Il est désormais admis que l'alimentation doit non seulement fournir les nutriments nécessaires à la couverture des besoins métaboliques en quantités adéquates, mais que ceux-ci doivent aussi contribuer à l'amélioration de la santé d'où la notion d'aliment fonctionnel.

[0024] Ainsi, un aliment est dit fonctionnel lorsqu'il exerce un ou plusieurs effets bénéfiques sur une ou plusieurs fonctions de l'organisme en dehors de ses effets nutritionnels habituels et devrait dès lors faire partie du régime quotidien.

[0025] Les aliments fonctionnels occupent une place de plus en plus importante dans le monde de la recherche scientifique. Ils préoccupent les chercheurs, les professionnels de santé et les industriels de l'agro-alimentaire à l'échelle internationale. Cet intérêt est sollicité par l'accroissement de bon nombre de maladies en rapport avec le mode de vie et l'alimentation y compris le cancer.

[0026] C'est dans cette perspective que cette invention s'inscrit. En effet, il existe plusieurs huiles réputées pour leurs intérêts nutritionnels ainsi que leurs rôles physiologiques dont l'huile d'argan, l'huile de nigelle, l'huile de foie de morue... D'où l'intérêt majeur de faciliter leur utilisation quotidienne dans l'alimentation.

[0027] A titre d'exemple des études scientifiques ont montré que La consommation de 25 g/j de l'huile d'argan a un effet anti-inflammatoire, un effet hypocholestérolémiant, un effet

antioxydant, et un effet antiprolifératif sur des lignées cancéreuses humaines de prostate. Il a été aussi prouvé que sa consommation ou son application, a un effet sur l'amélioration de l'élasticité et l'hydratation de la peau des femmes ménopausées après une période de 60 jours. Cependant, sa consommation reste dépendante d'habitudes alimentaires locales, en plus de son acceptabilité gustative qui limite sa consommation dans le monde entier. Afin d'améliorer son acceptabilité, il a été proposé dans cette invention d'intégrer la quantité recommandée de l'huile d'argan dans une matrice protéique laitière stabilisée par lacto-fermentation, donnant lieu à un produit santé innovant type yaourt.

[0028] Les consommateurs soucieux de leur santé reconnaissent de plus en plus les avantages nutritionnels des aliments fonctionnels. D'où l'intérêt de substituer la matière grasse laitière indésirable ou mal tolérée par une matière grasse fonctionnelle, ayant un effet bénéfique sur la santé, proposant ainsi de nouveaux produits laitiers qui ont un impact sur la santé humaine et des caractéristiques sensorielles améliorées.

[0029] L'objectif principal de cette invention est donc la formulation de produits laitiers fonctionnels enrichis en lipides. En particulier la mise au point de procédé(s) de préparation d'une matrice de base qui permet de contenir la matière végétale choisie et de garantir sa stabilité dans le temps.

[0030] Ledit procédé permettant la fabrication d'un produit laitier enrichi en lipides a 20% comprend plusieurs étapes :

Étape 1 : Formulation de la dispersion lipidique :

- a) Formulation d'une matrice dispersante contenant des protéines de lait, du sodium caséinate comme agent émulsifiant et de l'amidon modifié comme agent stabilisant
- b) Intégration de la phase huile par homogénéisation à une vitesse et pour une durée bien définie.

Étape 2 : Gélification de la dispersion lipidique :

- a) Par utilisation de la glucono-delta-lactone (GDL) ou avantageusement par l'utilisation de ferments lactique du yaourt : *le lactobacillus bulgaris et le streptococcus thermophilus* ;
- b) Par l'utilisation de gélifiants naturels genre gomme arabique, pectine et bien d'autres ;

Étape 3 : Évaluation sensorielle du produit enrichi en lipide a 20% selon un protocole spécifique (NF ISO 13299) :

a) Caractérisation descriptive: l'apparence, le goût, la texture et la sensation en bouche des produits formulés testés.

b) Aromatisation du produit fini et optimisation de la formulation par ajustement des concentrations et du procédé de fabrication.

[0031] La figure 1 ci-dessus montre le procédé pour fabriquer des produits laitiers enrichi en lipides, qui commence par fournir un lait reconstitué, qui est une dispersion lipidique utilisée comme mélange de départ.

- Le lait reconstitué ou le mélange de départ peut contenir des protéines de lait écrémé, du sodium caséinate, de l'amidon, de la matière grasse choisie et autres composants jugés utiles pour la formulation.

- Le pourcentage de matière grasse souhaité dans le produit final contrôle la quantité de matière grasse introduite dans le mélange.

[0032] Le mélange des ingrédients contenant les protéines de lait écrémé, le sodium caséinate, l'amidon et la matière grasse choisie peuvent former un lait reconstitué ou une dispersion lipidique auquel des cultures de yaourt peuvent être ajoutées.

- Les cultures de yaourt peuvent inclure *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaris* et des bifidobactéries, entre autres.

- Le mélange de yaourt contenant la culture peut ensuite être fermenté à une température de 42 C pendant un temps défini.

- Les concentrations du sodium caséinate et d'amidon ajoutés peuvent varier en fonction de la quantité de la matière lipidique choisie et des conditions d'homogénéisation choisies.

- La dispersion lipidique fermentée ne doit pas montrer de crémage ni de synérèse.

[0033] Un produit ou des produits enrichis en lipides peuvent être formés à partir de la dispersion lipidique. La qualité et la nature du produit final dépend de plusieurs facteurs à savoir : la concentration en protéines, en sodium caséinate en particulier, la concentration en amidon, la fraction de l'huile utilisée et du procédé de gélification.

- La synérèse du produit peut être réduite à un niveau optimal si un système mixte caséinate de sodium-amidon est utilisé

- La stabilité du produit peut dépendre du rapport caséinate de sodium/huile et du rapport amidon/caséinate de sodium. Aussi de la vitesse et la durée d'homogénéisation.

- La gélification peut être réalisée par des bactéries lactiques et donc par acidification biologique (yaourt et *pâte* à tartiner) ou par l'utilisation de gélifiants (crème dessert).
- La qualité sensorielle du produit fonctionnel fini est fonction des concentrations en caséinate de sodium et en huile utilisés, plus précisément de l'épaisseur en *mouthfeel* et de l'arrière-goût huileux.

[0034] Par ailleurs, dans le procédé conforme à la présente invention, la matière grasse est intégrée dans une phase aqueuse, ce qui permet de limiter ses contacts avec l'oxygène de l'air, donc les phénomènes d'oxydation.

[0035] Le procédé de fabrication d'un produit laitier enrichi en lipides selon l'invention présente notamment les avantages suivants :

- Le procédé selon l'invention est en effet particulièrement intéressant puisqu'il permet de valoriser certains produits du terroir et permet d'améliorer la qualité de l'alimentation ;
- Il permet d'obtenir un produit laitier assimilé enrichi en matières lipidiques bénéfiques pour la santé. En effet, le procédé selon l'invention permet de substituer la matière grasse laitière. Ceci est particulièrement intéressant d'une part pour limiter l'apport en matière grasse animale majoritaire du lait, qui est mal tolérée par certaines personnes souffrant de maladies cardiovasculaires et autres. D'autre part pour faciliter les apports préconisés pour ces lipides fonctionnels. Parallèlement, le procédé selon l'invention permet aussi d'éviter aussi l'utilisation d'additifs alimentaires ;
- Il permet d'obtenir un produit laitier innovant possédant des propriétés physiques, fonctionnelles et des qualités organoleptiques satisfaisantes ;
- Il permet d'obtenir un produit laitier relativement stable dans le temps ;
- Il permet d'obtenir un produit laitier fonctionnel.

[0036] Afin de permettre une meilleure compréhension de la présente invention, certaines définitions sont fournies. Sauf indications particulières, les autres termes techniques employés dans la présente Demande doivent être interprétés selon leur sens habituel.

[0037] On entend par « matrice » au sens de la présente invention, la phase dispersante de la phase huileuse choisie et dont la composition varie en fonction du produit fini souhaité, yaourt, crème dessert, *pâte* à tartiner...

[0038] On entend par « lait reconstitué », au sens de la présente invention la dispersion lipidique obtenu après intégration de la phase huileuse dans la matrice de base choisie.

[0039] On entend par « huile fonctionnelle » toute matière grasse ayant des propriétés fonctionnelles sur l'organisme tel que l'huile d'argan ou l'huile de foie de morue ou autres.

[0040] La préparation de la dispersion lipidique peut se faire par homogénéisation à l'ultraturax ou homogénéisation sous pression comme à l'échelle de l'industrie laitière.

[0041] Dans l'étape 1 a) de formulation de la matrice, les protéines du lait, le lactose, le caséinate de sodium et l'amidon sont dissouts dans de l'eau distillée sous agitation magnétique, traités thermiquement pour permettre la gélification de l'amidon à 70C et pasteurisés à 85°C pendant 15 min. Ceci a l'avantage de pasteuriser la matrice tout en optimisant l'obtention d'un produit présentant des propriétés physiques, fonctionnelles et des qualités organoleptiques satisfaisantes.

[0042] l'étape 1 b) d'homogénéisation, est mise en œuvre à une température qui peut être comprise entre 45°C et 50°C et à une vitesse d'agitation d'environ 10000 tours /min pendant une durée d'environ 15min. Le produit laitier obtenu présente les caractéristiques d'une crème laitière, lisse et onctueuse.

[0043] L'étape 2 de la gélification permet de stabiliser la dispersion lipidique dans le temps et peut être obtenue de plusieurs façons :

- a) Soit par acidification en utilisant les ferments lactiques du yaourt ou en utilisant de la glucono-delta-lactone (GDL) sachant que ce mode d'acidification par la glucono-delta-lactone est cinétiquement le plus proche de celui des bactéries ;
- b) Soit par utilisation de gélifiants naturels comme la gomme arabique, la pectine...

[0044] Le produit laitier ainsi obtenu est de préférence stocké à une température allant entre 4C et 8C.

[0045] Lors de l'étape 3 a) L'analyse sensorielle descriptive des produits formulés (yaourts) a été menée à l'aide d'un panel d'aliments sensoriels entraînés. Des profils descriptifs

quantitatifs ont été établis selon un protocole spécifique (NF ISO 13299). La liste finale des attributs était la suivante : 5 attributs visuels ; 3 attributs de texture ; 3 attributs de sensation en bouche et 3 attributs de goût. Des normes de référence pour l'acidité et la douceur ont été élaborées à l'aide d'un processus consensuel (de type acide citrique, de type saccharose).

[0046] Lors de l'étape 3 b) de l'aromatisation 15 panélistes experts ont d'abord évalué le produit formulé de base (P1) (30g de produit par tasse) avant de procéder à l'évaluation des deux produits aromatisés, l'un à la fleur d'oranger (P1FO) et l'autre à l'amande (PA1). Un nouveau descripteur, a été ajouté « le descripteur de goût huileux ». Il en résulte que les concentrations de caséinate de sodium et d'huile d'argan, en tant que variables indépendantes, sont les facteurs affectant les réponses sensorielles telles que les attributs de texture et l'arrière-goût huileux du produit formulé.

[0047] Les conditions appliquées pour optimiser la production de yaourt assimilé à l'huile d'Argan étaient la réduction de la concentration en caséinates de sodium et l'aromatisation. Bien que ces résultats soient utiles pour optimiser les formulations et produiront des produits optimisés d'un point de vue sensoriel, d'autres études avec différentes quantités d'huile d'argan et une évaluation hédonique sont également nécessaires pour développer un produit à fort potentiel de succès dans le marketing grand public. Les variations de texture et de perception gustative ne sont pas seulement dues à des interactions physico-chimiques entre composants alimentaires, mais dépendent également d'interactions entre modalités sensorielles. Une approche liant interactions physico-chimiques et analyse sensorielle est donc indispensable pour pouvoir produire des produits laitiers aux propriétés sensorielles acceptables.

[0048] L'invention a également pour objet une composition comprenant un aliment fonctionnel selon l'invention, ladite composition étant choisie dans le groupe comprenant les compositions alimentaires.

[0049] On entend par « composition alimentaire » au sens de l'invention, tout type de composition apte à l'alimentation humaine. Les compositions alimentaires comprennent les compositions diététiques (tels que des Aliments Diététiques Destinés à des Fins Médicales Spéciales ; Exemple des produits pour seniors fragiles), les aliments ou « aliments santé » et compléments alimentaires (compositions pour satisfaire les besoins métaboliques, maintenir la santé, prévenir les pathologies et le vieillissement).

[0050] Avantageusement, les compositions alimentaires selon l'invention peuvent être des compositions répondant simultanément aux critères suivants :

- Naturalité : compositions issues de l'agriculture biologique ; sans additifs chimiques ;
- Plaisir : compositions avec des qualités organoleptiques très appréciées : compositions onctueuses, lisses en bouche ;
- Santé : compositions nutritionnellement équilibrées (0% matière grasse laitière), compositions pour satisfaire les besoins métaboliques, compositions pour entretenir la santé, compositions pour prévenir les pathologies et le vieillissement.

[0051] Les compositions alimentaires selon l'invention peuvent notamment prendre toute forme d'aliment et en particulier peuvent être choisis parmi le lait, les produits à base de laits fermentés tels que les yaourts, les fromages frais, les desserts lactés, les spécialités fromagères à tartiner, les boissons, les crèmes glacées, les formules infantiles.

[0052] Les compositions alimentaires selon l'invention peuvent comprendre toute phase huileuse fonctionnelle ayant des effets bénéfiques sur la santé.

[0053] Les compositions alimentaires selon l'invention peuvent comprendre entre 0,1 et 99 % de produit laitier selon l'invention, selon l'effet recherché.

[0054] Les compositions alimentaires selon l'invention peuvent comprendre en outre d'autres ingrédients bioactifs tels que des antioxydants (vitamines, polyphénols, coenzyme Q10), des pré-biotiques, des pro-biotiques, des acides gras oméga 3, du collagène ou des hydrolysats de collagène.

[0055] Les produits laitiers selon l'invention peuvent être inclus dans des compositions afin d'obtenir un apport en protéines, calcium, acides gras insaturés, des probiotiques, en particulier chez un sujet humain.

[0056] La présente invention a ainsi également pour objet l'utilisation non thérapeutique d'un produit laitier fonctionnel selon l'invention ou d'une composition selon l'invention, ladite composition étant une composition alimentaire, en vue d'un effet préventif de certaines maladies. Le produit selon l'invention présente l'avantage d'être compatible avec un régime

diététique et de palier à d'éventuelles carences d'un tel régime, notamment en calcium, protéines, acides gras et autres.

[0057] Comme indiqué précédemment, les propriétés nutritionnelles du produit laitier fonctionnel selon l'invention se définissent notamment au niveau des lipides intégrés, des protéines lactières et des pro-biotiques.

[0058] De nombreuses études scientifiques ont montré l'intérêt nutritionnel des acides gras insaturés et beaucoup d'autres huiles notamment l'huile d'argan. En effet L'huile d'argan est considérée comme l'une des huiles d'assaisonnement les plus importantes qui offrent un avantage pour la santé au-delà de ses fonctions nutritionnelles de base. Cette huile représente une riche source d'acides linoléique et oléique respectivement 37 % et 45 %, en plus d'autres composés (tocophérols, polyphénols, stérols, caroténoïdes, xanthophylles et squalène). La fraction insaponifiable est très abondante dans ces composés et possède un puissant effet antioxydant comme le prouve les lipoprotéines de basse densité (LDL) isolées du plasma humain. La consommation d'huile d'argan alimentaire s'est avérée avoir un effet positif dans la prévention de certaines maladies telles que l'hypercholestérolémie, les maladies cardiovasculaires, le diabète qui sont connues pour avoir une incidence élevée sur la santé humaine. De plus, il a un effet améliorateur sur l'élasticité et l'hydratation de la peau chez les femmes ménopausées. Tous ces effets bénéfiques nécessitent une quantité quotidienne minimale de 20g d'huile d'argan. Cependant son acceptabilité gustative reste un facteur important qui limite sa consommation dans le monde.

[0059] De nombreuses études scientifiques ont montré que les protéines lactières ont d'excellentes qualités nutritionnelles (Léonil et al.2001), Lait, nutrition et Santé, éditions Technique et Documentation). Elles ont en plus des caractéristiques spécifiques dont les vertus thérapeutiques commencent à être aujourd'hui bien connues. À titre d'exemple de protéines présentes dans le lait et qui manifestent des activités biologiques intéressantes on peut citer les immunoglobulines, l'alpha-lactalbumine, la lactoferrine, les lysozymes. À l'heure actuelle, certains médicaments sont développés à partir de protéines extraites du lait de vache. Ces médicaments visent notamment à traiter le psoriasis et les maladies inflammatoires de l'intestin, comme alternative aux antibiotiques classiquement utilisés (Université de Laval, Québec). En outre Les protéines lactières caséines et lactosérum, en

milieu acide, de part leur coagulation et leur capacité de liaison de l'eau, agissent sur la texture, en particulier sur la viscosité, la consistance, l'élasticité et la fermeté. Aussi de nombreuses études scientifiques ont aussi montré que les protéines laitières, notamment les caséines, présentent des propriétés d'absorption d'eau, de solubilité, de gélification, d'émulsification, de moussage même après avoir subi des traitements chimiques, physiques ou encore enzymatiques (Cheftel et al., 1982).

[0060] Les produits alimentaires fermentés ont une grande valeur nutritionnelle et un effet bénéfique sur le microbiote intestinal de l'hôte en raison de leurs bactéries probiotiques, qui ont un impact positif sur la santé humaine. Parmi les effets bénéfiques sur la santé des produits fermentés laitiers on peut citer : la réduction des risques de maladies cardiovasculaires, le diabète de type 2 et la mortalité globale, et l'amélioration du métabolisme du glucose. En plus d'autres intérêts tels que la génération de peptides bioactifs par l'activité protéolytique des bactéries lactiques. Ainsi que la synthèse de certaines vitamines B, notamment le folate B9, la riboflavine B2, la B12, et la vitamine K2 (ménaquinones).

[0061] L'ajout de l'amidon présente l'avantage d'améliorer la stabilité du produit laitier ainsi obtenu. Il augmente la valeur des propriétés rhéologiques et physiques des gels fermentés en améliorant la consistance, en augmentant la viscosité et en réduisant la synérèse, ce qui contribue à la formation de systèmes gélifiés de lait acidifié dispersé plus stables.

[0062] La présente invention a également pour objet l'utilisation d'un produit laitier fonctionnel selon l'invention pour la préparation d'une composition alimentaire destiné(e) à agir comme agent pour la prévention de maladies cardio-vasculaires, de maladies l'hypercholestérolémie, de diabète, du vieillissement et bien d'autres maladies.

Exemple d'un procédé d'obtention d'un produit laitier fermenté selon l'invention

1-Formulation de composition alimentaire comprenant un produit laitier fermenté selon l'invention.

[0063] Préparation de la matrice :

- 3,5 % de protéines de lait écrémé
- 5% lactose
- 1,5% d'amidon

- 1-2% de caséinates de sodium
- Eau qsp 100g

Le mélange est chauffé sous agitation et pasteurisé autour de 85°C pendant environ 15min.

[0064] Les conditions d'homogénéisation de la matrice et la phase huileuse sont les suivantes :

- La température de la matrice et de la phase huileuse lors de l'homogénéisation : autour de 45° à 50°C.
- La vitesse d'homogénéisation : environ 10000 tr/min
- La durée d'homogénéisation : environ 15min.

[0065] Refroidissement de la dispersion à 42 C et inoculation avec des bactéries lactiques: *L. delbrueckii subsp et S.thermophilus*.

[0066] Incubation du mélange à 42°C jusqu'à un pH final de 4,5 environ (4h-4h30).

[0067] À la fin de la fermentation, le produit final est ferme lisse et homogène, il est ensuite stocké entre 4°C et 8°C.

Deux Résultats d'analyses sensorielles de compositions alimentaires comprenant un produit laitier fermenté selon l'invention :

[0068] Le profil descriptif quantitatif du produit formulé nature P1 (Figure 2) :

- Le produit est visuellement blanc, non brillant, homogène, non déphasé et non mousseux.
- Lors du prélèvement à la cuillère il est non filant, ferme et non coulant.
- Sa texture en bouche est non fondante, très ferme et très peu onctueuse.
- Au goût les panélistes l'ont trouvé faiblement sucré, acide et crémeux.

[0069] à titre d'exemple, voici les profils descriptifs quantitatifs des produits formulés Aromatisés P1A et à la fleur d'oranger P1FO (Figure 3) :

- Le produit est visuellement blanc, brillant, homogène, non déphasé et mousseux en surface ;
- Lors du prélèvement à la cuillère il est non filant, ferme et non coulant ;

- Sa texture en bouche est non fondante, ferme et onctueuse ;
- Au goût les panélistes l'ont trouvé faiblement sucré, acide et crémeux.

LES REVENDICATIONS

[Revendication 1] Procédé de préparation de produits laitiers fonctionnels, **caractérisé en ce qu'il** consiste à formuler des produits assimilés laitiers enrichis en lipides fonctionnels bénéfiques pour la santé.

[Revendication 2] Procédé selon la revendication 1, de préparation d'un produit laitier assimilé enrichi en lipides fonctionnels, **caractérisé en ce qu'il** consiste à remplacer le lait ou le mélange de départ par une dispersion lipidique (émulsion) dont la composition de la phase huileuse est soigneusement choisie aussi bien sur le plan quantitatif que qualitatif.

[Revendication 3] Procédé selon la revendication 1 et 2, **caractérisé en ce que**, la phase huileuse est composée d'une huile seule choisie parmi les huiles présentant un intérêt nutritionnel avéré ou/et un intérêt fonctionnel prouvé, un mélange de ces huiles, des fractions de ces huiles ou encore d'huile(s) enrichi(e)s en fractions données telles que les insaponifiables en totalité ou en partie.

[Revendication 4] Procédé selon la revendication 1 à 3, **caractérisé en ce que**, la concentration de la phase huileuse peut varier dans la dispersion de telle manière que la quantité en huile dans la portion du produit laitier enrichi en lipides corresponde aux quantités recommandées.

[Revendication 5] Procédé selon la revendication 1 à 4, **caractérisé en ce qu'il** comprend la mise au point de procédé de préparation d'une matrice de base qui permet de contenir l'huile fonctionnelle choisie et de garantir sa stabilité dans le temps.

[Revendication 6] Procédé selon la revendication 5, **caractérisé en ce que** l'ingrédient contenant de la caséine de la matrice comprend une caséine micellaire et du sodium caséinate.

[Revendication 7] Procédé selon la revendication 5, **caractérisé en ce que** les protéines lactiques utilisées dans la matrice sont la caséine et le lactosérum.

[Revendication 8] Procédé selon la revendication 1 à 7, **caractérisé en ce qu'il** comprend les étapes suivantes : 1-a) Formulation d'une matrice de base capable de contenir la phase huileuse et son traitement thermique à une température comprise entre 60 et 95 °C, pendant une durée comprise entre 1 et 30 minutes; 1-b) homogénéisation de ladite matrice traitée

thermiquement obtenu à l'étape 1-a) avec une phase lipidique fonctionnelle sous une température entre 25°C et 70°C, à une vitesse déterminée et pour une durée définie. 2- Gélification de la dispersion lipidique obtenue à l'étape 1-b) par acidification à un pH d'environ 4,5 en utilisant des bactéries lactiques ou la glucono-delta-lactone (GDL) ou encore par l'utilisation d'un gélifiant. 3- Évaluation sensorielle de la dispersion lipidique gélifiée.

[Revendication 9] Procédé selon la revendication 1 et 8, **caractérisé en ce que** l'étape 1-a) de la formulation de la matrice est mise en œuvre à une concentration en protéines laitières entre 1 et 10% et une concentration en amidon entre 0,1 et 5%

[Revendication 10] Procédé selon la revendication 1 et 8, **caractérisé en ce que** l'étape 1-b) d'homogénéisation est mise en œuvre à une température comprise entre 25 et 75 °C, et à une vitesse de 1000 à 20000 tr/min et a pendant une durée de 5 à 30 min.

[Revendication 11] Procédé selon la revendication 1 et 8 **caractérisé en ce que** l'étape 2 de la gélification est mise en œuvre par toute autre protéine capable de s'intégrer dans une matrice de gélification, par acidification chimique ou bactérienne ou par utilisation de gélifiants courants.

[Revendication 12] Procédé selon la revendication 1 et 8, dans lequel le procédé comprend l'étape de l'optimisation sensorielle du produit enrichi en lipides compris l'aromatisation.

[Revendication 13] Procédé selon la revendication 1 et 8, dans lequel le procédé comprend l'ajout de tout ingrédient supplémentaire à la matrice de base, à la dispersion lipidique ou au produit enrichi en lipides, dans lequel l'ingrédient supplémentaire est choisi parmi un amidon natif ou modifié, une gomme ou de la cellulose, un régulateur d'acidité, un acide, un agent colorant, un agent aromatisant, un agent raffermissant, une protéine alimentaire, un agent gélifiant, un stabilisant, un épaississant, une huile, un sel, un sucre, un édulcorant, un nutraceutique, une vitamine et un minéral.

[Revendication 14] Utilisation d'un produit laitier obtenu grâce au procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, pour la préparation d'une composition alimentaire destiné(e) à agir comme, aliment santé ou aliment fonctionnel capable d'exercer des effets bénéfiques sur la santé des individus et de prévenir certaines maladies.

[Revendication 15] Procédé selon la revendication 1 **caractérisé en ce que** Les compositions alimentaires selon l'invention peuvent notamment prendre toute forme d'aliment en particulier celle des produits laitiers : les produits laitiers fermentés ou non tels que les yaourts, les fromages frais, les desserts lactés, les spécialités fromagères à tartiner, les boissons, les crèmes glacées, les formules infantiles.

CHAPITRE IV: DISCUSSION GÉNÉRALE

Conception d'un aliment fonctionnel

Nous avons montré dans ce travail la progression de la conception d'un aliment fonctionnel à base d'un produit de terroir phare au Maroc: l'huile d'argan. Ces travaux de thèse ont permis de concevoir et de mettre au point la formulation d'un produit innovant type yaourt, enrichi en matière grasse fonctionnelle. Le produit optimisé présente un potentiel santé qui peut le qualifier de produit fonctionnel type yaourt. Un modèle de laboratoire auquel les opérations unitaires ont été adaptées à l'échelle laboratoire de la conception jusqu'à son optimisation, en passant par son évaluation sensorielle (mini-ligne de fabrication de yaourt enrichi à l'huile d'argan).

Les principales étapes ont été :

- La mise au point d'une matrice de base ;
- La formulation d'un yaourt assimilé;
- La caractérisation sensorielle du produit formulé.

1. Mise au point d'une matrice ou d'un réseau protéique gélifié acide sans matière grasse.

L'état de l'art a montré l'importance que certains constituants du lait peuvent avoir sur la structuration des gels laitiers (microstructure) et sur leurs propriétés macroscopique. La maîtrise de la structuration du produit au cours du procédé est essentielle pour pouvoir tester des leviers de manière pertinente. L'influence séparée des quatre paramètres sélectionnés (le sodium caséinate, le lactose, l'amidon et le ferment) sur la qualité du gel acide a été mise en évidence. Nous avons ainsi suivi principalement l'évolution de la synérèse, du pH et du potentiel zêta.

- **Évaluation de la synérèse**

Les résultats ont montré de grandes variations de la synérèse comprises entre un minimum de 1,8 % lorsque tous les facteurs étaient à leur niveau élevé et un maximum de 47,8 % lorsqu'ils étaient à leur niveau bas. Les résultats ont aussi montré que la teneur en caséinate de sodium jouait le rôle majeur de toutes les teneurs en solides dans la réduction de la synérèse. En effet,

lorsque la teneur en matière sèche a été fixée à 12 %, les mesures de synérèse ont varié entre un minimum de 5 % pour l'échantillon à 8 % en caséinate de sodium et un maximum de 63 % pour l'échantillon à 3 % en caséinate de sodium (Figure 14).

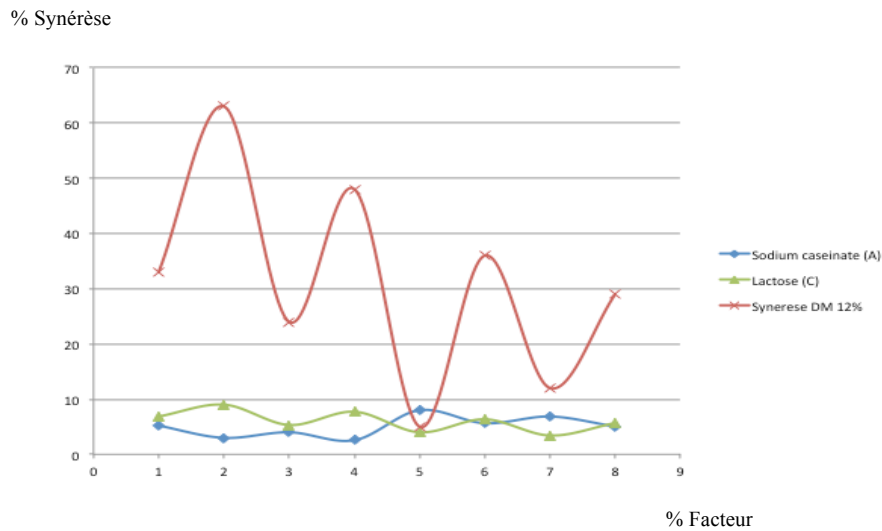


Figure 14. Impact du sodium caséinate (facteur A) et du lactose (facteur C) sur la synérèse dans un modèle mixte à 12% en matière sèche (Dry Material =DM).

Ces résultats peuvent être expliqués, d'une part, par la dénaturation de la protéine suite à l'acidification montrant ainsi plus de parties hydrophiles, améliorant ainsi la capacité du gel acide formé à retenir de l'eau et présente donc moins de synérèse [119, 130], et d'autre part, par un plus grand volume de particules qui conduit à une augmentation de la pression osmotique dans le système de gel par répulsion inter-particules, donc plus de résistance au retrait du gel. En effet, Il a été reporté que des concentrations plus élevées de caséine, génèrent une matrice protéique moins sujette à l'expulsion du lactosérum. Ce type de stabilisation peut être considéré comme un effet osmotique [257]. Kunitz en 1928 avait rapporté que les deux facteurs importants qui jouaient un rôle majeur dans le phénomène de synérèse, étaient la pression osmotique et l'élasticité de la matrice de gel polymérique [258]. L'effet de l'amidon sur la diminution de la synérèse a aussi été constaté et peut être attribué au processus de gélatinisation conséquent au traitement thermique des grains d amidon. Ces derniers sont déstabilisés de leur structure cristalline native en une structure amorphe qui gonfle en absorbant une quantité considérable d'eau: les groupes hydroxyle dans les monomères de glucose d'amylose et d'amylopectine se lient à l'eau et forment ainsi une solution visqueuse dans laquelle les micelles de caséine sont piégées ce qui réduit la synérèse [259]. Dans ces systèmes, Zuo et al. avaient suggéré que le principal effet des granules

d'amidon est d'augmenter la concentration en protéines du lait pendant le gonflement en absorbant l'eau de la phase continue [260]. En conséquence, la fonctionnalité de l'amidon natif était liée au processus de gélatinisation plutôt qu'à son interaction avec les agrégats de caséinates [15, 261]. L'impact significatif de l'amidon sur la synérèse confirme donc le fait que les amidons ainsi que d'autres hydrocolloïdes, soient considérés dans la formulation de produits laitiers fermentés comme moyen d'atteindre la viscosité souhaitée et de réduire la synérèse [210, 262]. Nous pouvons conclure de nos essais qu'une synérèse optimale est atteinte lorsque la concentration de caséinate de sodium était supérieure à 5 % et que la matrice contient le caséinate de sodium et l'amidon.

- **pH monitoring et potentiel zêta**

Pour comprendre l'effet de ces variables de formulation sur la synérèse, une surveillance du pH et du potentiel zêta a été menée pour prédire les propriétés physico-chimiques du produit final en terme d'acidification et de force ionique. Ainsi pour évaluer l'impact de l'amidon et du lactose sur le processus de l'acidification, des échantillons ont été conçus avec une concentration en caséinate de sodium de 5%, en ferment de 0,35g/l, en lactose de (4% ; 9%) et en amidon de (0% ; 2%). Le suivi du pH a été effectué tout au long du processus d'acidification. Le temps de fermentation est considéré comme étant le temps nécessaire pour atteindre le pH de 4,5 - 4,6, pH requis pour développer les propriétés de qualité requises [263]. Les résultats ont montré une diminution du pH légèrement plus rapide et une diminution du temps d'incubation 285 min au lieu de 315 min quand le taux d'amidon est de 2%. En parallèle l'augmentation du taux de lactose n'a eu aucun impact significatif sur le temps d'incubation des échantillons (Figure 15). L'ajout d'amidon affecte donc légèrement le profil d'acidification du modèle fermenté et donc son temps de fermentation (diminution moyenne de $t_{pH4.5}$ de 30 min). Une observation similaire a été aussi rapportée par Williams et al. [264].

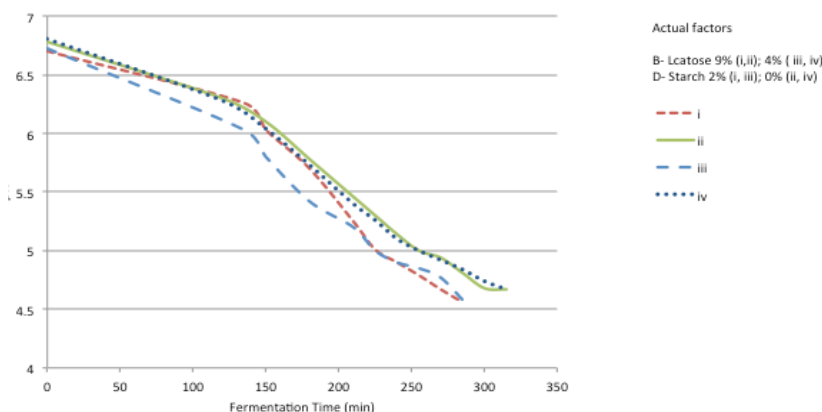


Figure 15. Effet de l'amidon et du lactose sur les profils d'acidification des échantillons à 5% en sodium caséinate et à 0.35g /l en ferment.

La surveillance du potentiel zêta lors du processus de fermentation a été effectuée sur les deux échantillons présentant le profil d'acidification le plus long (iv) et le plus court (i). Il a été observé que le potentiel zêta diminuait plus rapidement dans l'échantillon présentant le profil d'acidification le plus court (i) (Figure 16), ce qui est en parfait accord avec les résultats de surveillance du pH. Ceci peut être expliqué par le fait qu'au fur et à mesure que le pH diminue, les charges protéiques se neutralisent, ce qui minimise leurs forces électrostatiques et stériques induisant ainsi une augmentation de l'état d'agrégation du caséine de sodium et la formation d'un réseau de protéines de gel acide [143, 265].

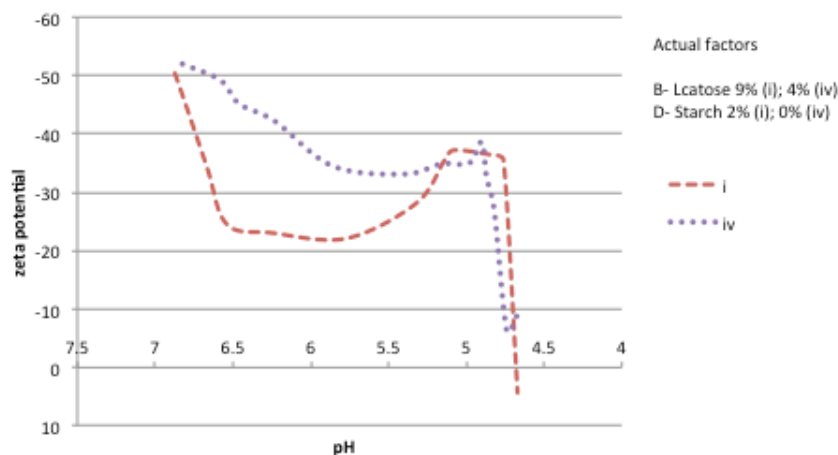


Figure 16. Monitoring du potentiel zêta des échantillons à 5% en caséinate de sodium et à 0,35g/l en ferment au cours de la fermentation

On en déduit que, le système devient instable plus tôt dans l'échantillon avec amidon que sans amidon, en raison des forces moins répulsives selon la théorie classique de DLVO [266].

L'ajout d'amidon a donc raccourci le temps d'incubation et a réduit la synérèse dans le modèle fermenté probablement à cause de la réduction de l'eau libre et de l'augmentation de la proportion des extraits secs. En effet, Il a été rapporté que l'ajout d'amidon entraîne une augmentation de la viscosité du yaourt, directement proportionnelle à la dose d'amidon ajouté, ainsi qu'une amélioration de la qualité de la texture et une diminution de la vulnérabilité à la synérèse du yaourt. D'un point de vue microbiologique, il a été aussi rapporté que l'acidification est causée par le nombre croissant de micro-organismes [267]. Le profil d'acidification s'est donc révélé comme un élément important à considérer dans la compréhension de l'impact de l'amidon sur la réduction du temps de fermentation et sur la synérèse.

En conclusion, cette première étude a démontré que la synérèse dans le système modèle de gel proposé pouvait être réduite à un niveau optimal si un système mixte caséinate de sodium-amidon était utilisé, mais à une concentration de caséinate de sodium supérieure à 5 % et d'amidon supérieur à 1%. Nous avons également prouvé que le ferment et le lactose n'avaient pas d'impact significatif sur la synérèse. L'effet de l'amidon sur les propriétés physico-chimiques du système mixte dépend aussi des propriétés physico-chimiques de l'amidon et des protéines laitiers considérés, ainsi que de leurs concentrations relatives. Une étude exhaustive évaluant la combinaison la plus appropriée des facteurs sélectionnés et des différentes étapes de fabrication du yaourt paraît intéressante pour mettre au point un modèle d'émulsion fermentée avec la matrice choisie comme phase dispersante et l'huile d'argan comme phase dispersée à un taux de 20%.

2. Mise au point d'un modèle de yaourt assimilé à base de l'huile d'argan

Une mini-ligne de fabrication de modèles à l'échelle du laboratoire a été conçue pour être représentative du procédé pilote, aussi sensible aux variations de composition et de procédé, et plus flexible pour tester l'ensemble des leviers identifiés.

L'état de l'art a montré que les protéines lactières ont des propriétés inter-faciales et la capacité à former et structurer des émulsions. L'adsorption et l'organisation des protéines lactières à l'interface des globules de la matière grasse varient en fonction de leur état et des conditions physico-chimiques du milieu, avec pour conséquence des structures d'émulsions différentes. Il a été rapporté aussi que les propriétés macroscopiques des dispersions

concentrées de particules dans les yaourts brassés sont pilotées par les propriétés de structure des particules (micro gels) : taille, forme, dimension fractale (compacité du réseau).

Les leviers testés pour moduler les différentes propriétés de l'émulsion formulée et évaluer leur intérêt ont pour but d'évaluer :

- L'impact du procédé d'émulsification, plus précisément de la vitesse et de la durée de l'homogénéisation sur les propriétés physico-chimiques des émulsions formulées.
- L'impact des fractions ou de la quantité de matière grasse prise en charge et de l'interface sur le comportement rhéologique et le phénomène de crémage des émulsions.

- **Microstructure et taille des gouttelettes**

Dans les émulsions, la structure sous-jacente et l'interaction des gouttelettes de fluide sont ce qui maintient la stabilité du produit contre le crémage, causé par la floculation, la coalescence et la séparation gravitationnelle. Les résultats ont révélé que le pourcentage de caséinate de sodium et la durée d'homogénéisation avaient la prédominance d'influence sur le taux de variation de taille des gouttelettes suivi de la vitesse d'homogénéisation et du pourcentage d'amidon. Les taux de variation des gouttelettes les plus faibles étaient de (0,27 % ; 7,06 % ; 8,92 % ; 9,46 % ; 11,56 %), enregistrés pour 5 émulsions (S24 ; S10 ; S18 ; S8 ; S11) respectivement. Seules les émulsions S11 et S24 sont à 20 % d'huile, ils ont donc la plus grande surface de gouttelettes ou interface huile/eau à couvrir. Selon Dickinson et al, le régime sans crémage et floculation des gouttelettes est observé lorsque la concentration en caséinate de sodium est suffisante pour une couverture proche de la saturation des gouttelettes d'émulsion [268]. Le taux de variation de taille le plus petit (0,27 %) a été observé pour l'émulsion S24, où tous les facteurs étaient à leurs niveaux élevés. L'émulsion S11 a présenté le plus grand taux de variation et un fort comportement de crémage même si les conditions d'agitation étaient à leur plus haut niveau, ce qui pourrait s'expliquer par l'absence de caséinate de sodium et d'amidon [207]. Les émulsions S10 et S8 et S18 ont présenté des taux de variation de taille intermédiaires et ont montré une légère séparation de phase. Le faible taux de variation de taille de émulsions S18 et S10 est due fort probablement à une couverture de saturation des gouttelettes qui a pu empêcher toute nouvelle coalescence [269]. Nous savons que les émulsions à base de caséinate de sodium sont stables car ses composants s'adsorbent facilement à l'interface des gouttelettes d'huile, ce qui leur confère une protection

contre la coalescence à pH neutre via une combinaison de stabilisation électrostatique et stérique [270, 271]. Par conséquent, l'amplitude de la force d'épuisement dans une émulsion à base de caséinate dépend des dimensions relatives des gouttelettes d'huile, qui sont liées au processus de fabrication [224]. La déstabilisation des émulsions S18 et S10 pourrait être liée à une floculation par déplétion due à la présence d'un excès de caséinate de sodium non absorbé qui a induit une défloculation (10 % H/E et 2 % de caséinate de sodium). En effet, la stabilité des émulsions huile-dans-eau préparées avec du caséinate de sodium est particulièrement sensible à la concentration de l'émulsifiant protéique pour une fraction d'huile donnée. À des concentrations élevées de caséinate de sodium, les gouttelettes d'huile peuvent également perdre leur stabilité par un mécanisme de déplétion-floculation. À l'inverse, à de faibles concentrations de caséinate de sodium, une floculation par pontage peut se produire. [206, 272]. Dans l'émulsion S8 où le caséinate de sodium n'a été ajouté, le phosphate de diamidon hydroxypropylique (HPDSP) était à son taux le plus élevé de 1,5%, ce qui a augmenté la viscosité de la phase externe, ralentissant la séparation des phases et a donc eu un impact positif sur la stabilité de l'émulsion.

Compte tenu de ce qui précède, on peut conclure que l'ajout de caséinate de sodium à sa concentration optimale de 2% a assuré une couverture complète des gouttelettes d'huile de la phase dispersée de l'émulsion à 20% H/W, qui génère une répulsion électrostatique entre les particules, et donc stabilise l'émulsion et empêche la coalescence. De plus, l'ajout d'amidon à 1,5% a augmenté la viscosité de la phase continue réduisant la vitesse de crémage des gouttelettes d'huile dans les émulsions et ralentissant ainsi la séparation des phases. Par conséquent, la combinaison des deux ingrédients à leurs concentrations optimales est essentielle pour assurer la stabilité de l'émulsion à une certaine concentration de la phase dispersée et pour des conditions d'agitation données. La nature des composants de la phase aqueuse, la concentration de la phase dispersée et la taille des gouttelettes d'émulsion jouent un rôle majeur dans la stabilité des émulsions.

- **Évaluation du crémage**

Toutes les émulsions formulées ont présenté un crémage rapide à l'exception des cinq émulsions : S8 ; S10 ; S11 ; S18 et S24. Une couche de crème épaisse visible et une phase sérique plus claire ont été clairement observées. Selon nos résultats, les facteurs les plus influents sur la stabilité de l'émulsion étaient la vitesse d'agitation, la durée d'agitation et le

taux d'amidon [187, 273]. les cinq émulsions sélectionnées ont été fermentées pour évaluer leur stabilité les 5 émulsions ont montré une séparation de phases pendant le processus de fermentation, à l'exception de l'émulsion S24. On en déduit que, le phénomène d'agrégation de la caséine au cours de l'acidification peut accentuer le crémage d'une émulsion instable. En effet, lorsque le pH est abaissé vers le point isoélectrique, pH_i des protéines, l'interaction entre gouttelettes passe d'une attraction répulsive à une attraction nette. Ce qui induit la floculation des gouttelettes, provoquant ainsi une auto-association des composants protéiques adsorbés et non adsorbés, et transforme l'émulsion stabilisée en caséinate de sodium en un gel d'émulsion agrégé [219, 274]. À un pH en dessous du pH_i des protéines et en présence du phosphate de diamidon hydroxypropylé (HPDSP), les particules de caséine sont absorbées à la surface du HPDSP via des forces électrostatiques (charges opposées). Une fois la protéine est absorbée à la surface de l'amidon, la surface du granule d'amidon passe à une charge positive. Il en résulte une répulsion électrostatique entre la surface des agrégats de caséine et celle des micelles d'amidon devenue positive (même charge). De plus des blocs de zones de faible affinité sur les molécules de caséine peuvent dépasser la surface des micelles d'amidon, Ce qui peut engendrer un mécanisme appelé « stabilisation stérique » [212, 275]. Dès lors l'ajout du phosphate de diamidon hydroxypropylé (HPDSP) dans un système yaourt augmente la résistance et la viscosité du gel et réduit la synérèse. La stabilité du système dans ce cas est le résultat d'une « répulsion électrostatique » et d'une « stabilisation stérique ». [211, 276]. On peut en déduire que la structure sous-jacente et l'interaction des gouttelettes de fluide dans le produit de type solide, sont ce qui maintient la stabilité du produit contre la sédimentation ou la séparation.

- **Indice de crémage**

Une analyse pharmaco-technique, a été envisagée dans le but de nous révéler l'influence du comportement rhéologique de la matrice et des émulsions, ainsi que le seuil de flux statique liés à la micro-pression des gouttelettes libres ou de leurs amas floculés. Les propriétés viscoélastiques dynamiques ont été mesurées pour des émulsions sélectionnées, des courbes d'écoulement ont été tracées pour les émulsions et leurs phases continues. Toutes les mesures ont été effectuées en triple à 25 °C. Les émulsions et leurs matrices (S24 ; S10 ; S18 ; S8 ; S11), ont donc été analysées, la valeur de la limite d'écoulement statique de chaque matrice nous a été donnée aux valeurs minimales de la fréquence angulaire (Figure.17). Il a été

constaté que cette limite est plus marquée pour la matrice commune aux émulsions S10 et S24 suivie de celle de l'émulsion S18 et enfin celles des émulsions S8 et S11. La contrainte des éléments dispersés correspond à celle des gouttelettes en suspension. Le raisonnement consiste à calculer la micro-contrainte de l'élément dispersé et à la comparer à ce seuil.

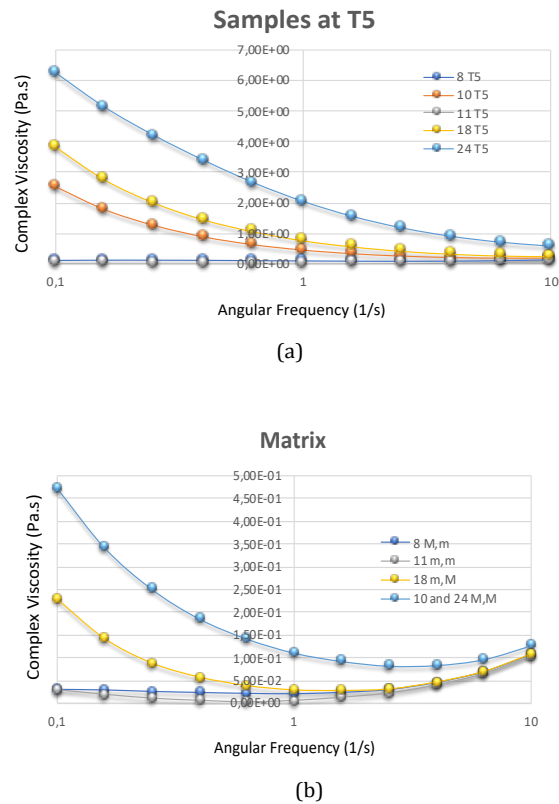


Figure 17. Comportement rhéologique des 5 émulsions (a) et leurs matrices (b), qui contiennent de l'amidon, du caséinate de Na à leurs valeurs maximales (M) ou minimales (m).

Tableau XVII. Taille des gouttelettes, valeur de rendement et indice de crémage

Sample	8	10	11	18	24
	m-M-m-M-M 10-1.5-0-M-20	m-M-M-M-m 10-1.5-2-M-5	M-m-m-M-M 20-0-0-M-20	m-m-M-M-M 10-0-2-M-20	M-M-M-M-M 20-1.5-2-M-20
Yield value (Pa.s)	3,01E-01	2,35E+00	2,96E-01	2,28E+00	4,74E+00
Average droplet size-ADS(μm)	12,49	11,67	15,63	13,79	11,27
Largest droplet size-LDS(μm)	34,234	34,25	58,75	33,89	20
ADS Pressure (Pa.s)	4,03E-04	3,80E-04	5,09E-04	4,49E-04	3,67E-04
LDS Pressure (Pa.s)	1,11E-03	1,12E-03	1,91E-03	1,10E-03	6,51E-04
Creaming index for ADS (Number)	747	6.183	581	5.076	12.914
Creaming index for LDS (Number)	270	2.107	155	2.066	7.277

Le tableau XVIII, présente les valeurs pour les 5 émulsions, des limites d'écoulement statique des matrices, la taille moyenne des gouttelettes et celles des plus grosses gouttelettes suivies de leurs micro-contraintes. Celles-ci étant inférieures aux limites de débit statiques ; nous avons donc calculé l'indice de crémage. Ce nombre représente le nombre minimum de gouttelettes qu'un agrégat doit contenir pour dépasser la limite d'écoulement statique par son poids. Et donc, provoque la déformation et la migration des gouttelettes. Il a été calculé pour la taille moyenne et pour les plus grosses tailles de gouttelettes. Il est exprimé en terme d'intervalle et représente le nombre de gouttelettes par agrégat nécessaire pour provoquer le crémage. Plus cet indice est élevé, plus l'émulsion est stable. En conséquence, l'émulsion 24 est la plus stable de toutes les émulsions puisqu'elle a l'indice de crémage le plus élevé et n'a présenté aucun comportement crémeux au cours de son processus de fermentation à 42 °C ; Ainsi, elle peut être considérée comme la formulation la plus stable.

3. Caractérisation sensorielle du produit formulé

Les propriétés sensorielles et les propriétés physico-chimiques sont fortement corrélées, ce qui nous permet de considérer l'évaluation sensorielle comme un bon outil de caractérisation pour évaluer les propriétés du yaourt assimilé formulé. Une première analyse sensorielle a été faite sur le produit formule nature (P1), Ce qui nous a permis de proposer des produits améliorés (PA1 et PFO1). Une deuxième analyse sensorielle a été menée pour les évaluer .

- **Analyse descriptive P1**

Les résultats de l'analyse descriptive du produit formulé nature (P1) sont représentés par son profil sensoriel ci dessous (Figure 18). Ses propriétés sensorielles sont les suivantes : visuellement blanc, non brillant, homogène, ne présentant aucune synérèse et non mousseux. Lors du prélèvement à la cuillère, il n'est pas filant, il est ferme et non fluide. Sa texture en bouche n'est pas fondante, elle est très ferme et pas onctueuse. Au goût, les panélistes l'ont trouvé légèrement sucré, acide et crémeux. Ils ont aussi remarqué la persistance d'un arrière-goût huileux après son ingestion, ce qui est fort probablement lié à la concentration en huile d'Argan.

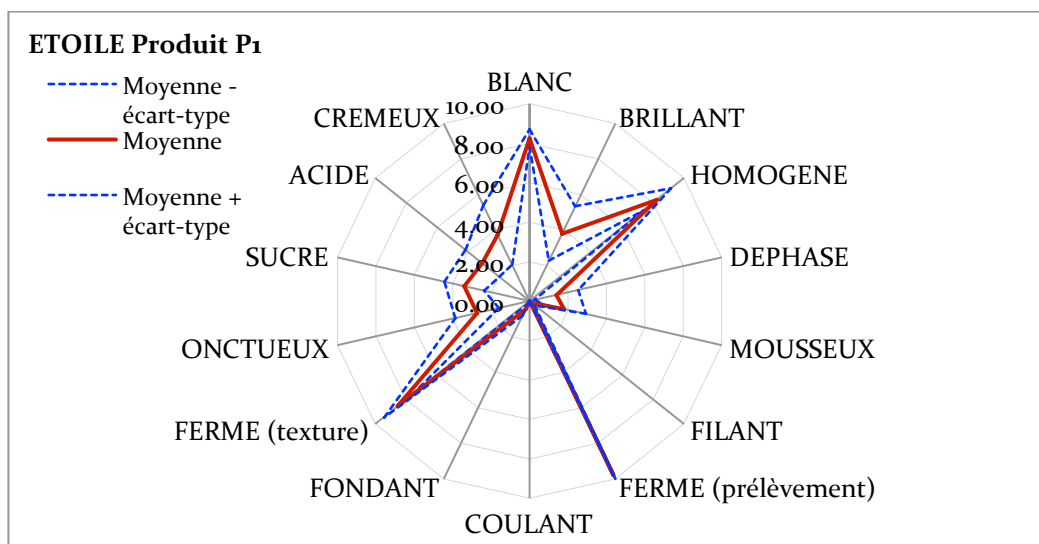


Figure 18. Profil sensoriel du produit Formulé P1

Une comparaison avec notre produit de référence (PR), a révélé des différences significatives en termes d'aspect, de texture et de sensation en bouche pour les descripteurs suivants : brillance, épaisseur, onctuosité et fermeté (Figure.19).

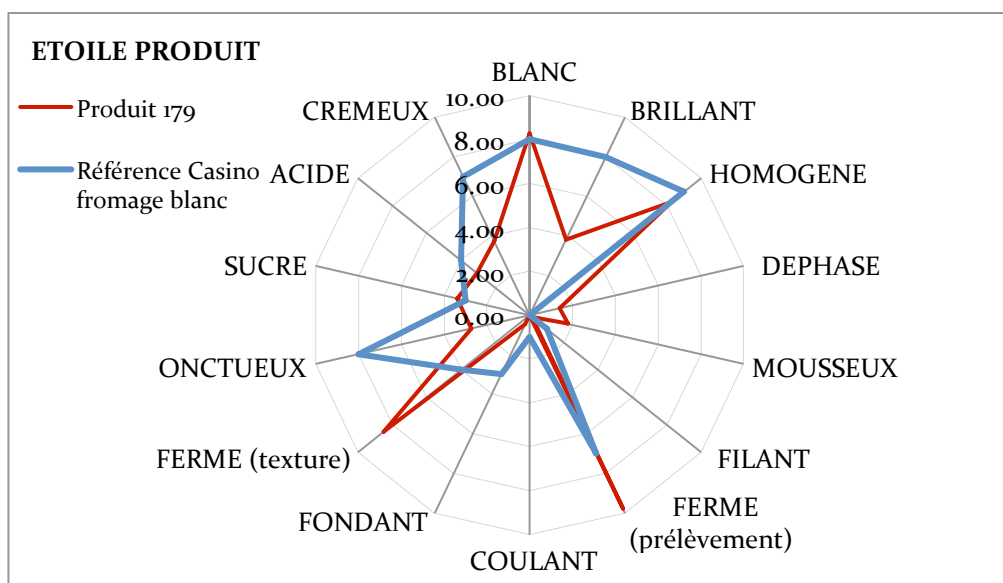


Figure 19. Comparaison entre le Profil sensoriel du produit Formulé P1 (Produit 179) et du produit de référence PR (Casino fromage blanc)

Ces résultats sont en parfait accord avec les conclusions de Damin et al., qui ont rapporté que lorsque le lait est supplémenté en caséinate de sodium, une corrélation positive est observée

entre les taux de protéines et la fermeté, avec une valeur de coefficient de corrélation de 0,97, alors que ces valeurs étaient de 0,82 et 0,65 pour la supplémentation en poudre de lait écrémé et en concentré de protéines de lactosérum, respectivement. La supplémentation en caséinate de sodium a donc tendance à modifier la structure du gel [277]. Dans une autre étude, il a été rapporté que les produits à base de caséine ont tendance à produire des gels plus fermes avec moins de synérèse que les yaourts enrichis en protéines de lactosérum [278]. Par conséquent, les notes élevées attribuées aux descripteurs fermeté et épaisseur, pour le produit formulé P1, peuvent s'expliquer par la quantité ajoutée de caséinate de sodium. Plusieurs études ont aussi montré l'effet de l'enrichissement du lait en protéines laitières sur l'augmentation de la viscosité. Ainsi la viscosité change de la même manière que la fermeté. En effet, Marafon et al, ont montré que les propriétés rhéologiques des yaourts probiotiques sont considérablement améliorées lorsque le lait écrémé en poudre est partiellement remplacé par du concentré de protéines de lactosérum et du caséinate de sodium [279, 280].

Compte tenu de ce qui a été cité plus haut, un ajustement de la formulation a été proposé pour améliorer la texture et le goût du yaourt formulé:

1. Une Réduction de la fermeté et de l'épaisseur en diminuant la concentration de caséinate de sodium de 2% à 1% [25, 281].
2. Une neutralisation de l'arrière-goût huileux par aromatisation du produit et en utilisant un masqueur de goût [282, 283].

- **Analyse descriptive 2**

L'évaluation des produits améliorés PA1 (P1+ arôme amande) et P1OF (P1+ arôme fleur d'oranger + masqueur du goût huileux) a montré des changements notables dans les notes des attributs de texture des deux produits PA1 et P1OF par rapport au produit nature P1 moins ferme, moins de doux, plus fondant, moins épais et moins de synérèse (Figure 20). Ces modifications peuvent être corrélées à la réduction de la quantité de caséinate de sodium utilisée : 1% dans P1A & P1OF au lieu de 2% dans P1. Ce qui est en parfait accord avec ce qui a été rapporté dans la littérature : les yaourts enrichis en caséinate de sodium avaient une fermeté et une viscosité plus élevées que les yaourts enrichis en protéines de lactosérum [284]. Néanmoins, les propriétés texturales des yaourts dépendent également de la synérèse, considérée comme l'un des défauts technologiques majeurs des yaourts. Selon Akalin et al, les faibles scores de texture obtenus par les yaourts enrichis en caséinate peuvent s'expliquer par la plus faible capacité du caséinate par rapport au concentré de protéines de lactosérum à

retenir l'eau [234]. Il a été démontré que les protéines de lactosérum sont plus efficaces pour améliorer la capacité de rétention d'eau des yaourts que la poudre de lait écrémé ou le caséinate de sodium. D'où l'importance du ratio (caséines/lactosérum) considéré dans la formulation du produit afin d'obtenir un gel acide de meilleurs propriétés physico-chimiques et sensorielles [8, 237, 285].

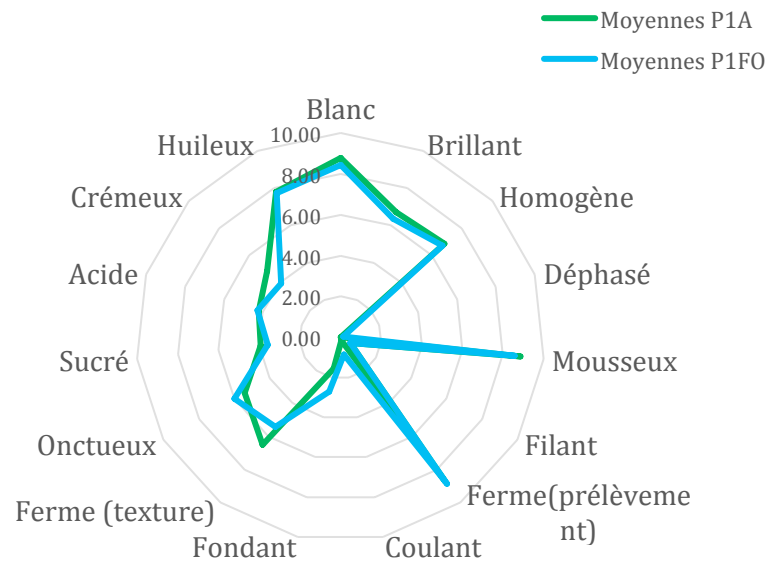


Figure 20. Profils sensoriels de P1A et de P1FO

Nos résultats ont aussi montré que les notes d'amande et de fleur d'oranger ont réduit légèrement l'intensité de l'arrière-goût "huileux" remarquée dans P1. Le score de l'attribut "Huileux" dans les échantillons P1A et P1O a diminué de manière significative de -2,21 et -2,29 respectivement par rapport à l'échantillon P1. Néanmoins, l'ajout du masqueur du goût huileux n'a pas eu d'impact significatif sur la perception de l'arrière-goût huileux. De plus, il a été observé que le yaourt aromatisé à l'orange P1O était plus fluide que le yaourt aromatisé à l'amande P1A. Par conséquent, il pourrait être suggéré que le type d'arôme impactait la perception de fluidité du panéliste, ce qui pourrait être lié à l'impact de la saveur sur la perception de la texture[282]. Dans une étude réalisée sur les yaourts, ils ont étudié les interactions entre la texture et la saveur des yaourts aromatisés avec un arôme de pomme verte. Ils ont mis en évidence que la perception olfactive augmentait l'astringence et que l'augmentation de la note verte avait tendance à diminuer la perception de l'épaisseur [286].

Pour mieux comprendre les interactions saveur-texture, certains auteurs ont développé des systèmes modèles présentant des goûts différents mais les mêmes propriétés rhéologiques. Le type d'arôme a un impact sur la perception de la texture bien que la rhéologie des yaourts soit identique : les yaourts au beurre et à la noix de coco sont perçus comme épais alors que les yaourts aromatisés aux notes vertes sont perçus comme onctueux et fluides. Selon les auteurs, l'interaction arôme-texture a été attribuée à un mécanisme cognitif plutôt qu'à un mécanisme physico-chimique et que les consommateurs peuvent adopter un comportement de mastication différent lorsque l'arôme du produit est modifié [287]. Cette hypothèse doit être davantage étudiée bien qu'elle semble réaliste puisque les entrées texturales, gustatives et olfactives convergent dans la même aire corticale [288]. Par conséquent, on pourrait conclure qu'il existe des preuves de l'impact de la variation des composés aromatiques sur la texture. Cependant, aucune règle générale sur l'impact de la saveur sur la perception de la texture ne peut être déterminée. Les résultats dépendent directement du produit ainsi que des composants aromatiques étudiés [289, 290]. De plus, il est connu que la teneur en protéines lactières des produits laitiers peut également avoir une grande influence sur la perception du goût et de l'arôme [291, 292]. Saint-Eve et al., ont étudié l'impact de la teneur en protéines sur la libération d'arôme dans les yaourts brassés aromatisés. Ces derniers ont ensuite été enrichis en caséinate, une viscosité plus élevée a été remarquée et une intensité moindre pour la plupart des notes olfactives a été perçue. La modification de la teneur en protéines a conduit à des changements dans la microstructure du gel et dans la fixation des composés aromatiques, qui influencent la perception globale des produits laitiers [293, 294].

Pour conclure, les conditions appliquées pour optimiser la production du produit formulé yaourt assimilé à l'huile d'Argan, sont la réduction de la concentration en caséinate de sodium à 1% et l'aromatisation. Les concentrations de caséinate de sodium et d'huile d'argan, en tant que variables indépendantes, sont les facteurs affectant les réponses sensorielles telles que les attributs de texture et l'arrière-goût huileux. Bien que ces résultats soient utiles pour optimiser la formulation et produire des produits optimisés d'un point de vue sensoriel, d'autres études avec différentes quantités d'huile d'argan et une évaluation hédonique sont également nécessaires pour développer un produit à fort potentiel de succès dans le marketing grand public. Les variations de texture et de perception gustative ne sont pas seulement dues à des interactions physico-chimiques entre composants alimentaires, mais également à des interactions entre modalités sensorielles. Une approche liant interactions physico-chimiques et

analyse sensorielle est donc indispensable pour pouvoir développer des produits laitiers fonctionnels aux propriétés sensorielles acceptables.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le projet de cette thèse avait pour but i) de concevoir un produit laitier fonctionnel: un yaourt enrichi en huile d'argan à 20% ; ii) d'aboutir à des solutions d'émulsification et de structuration de la matière grasse fonctionnelle ajoutée pour une stabilité optimale ; iii) de mieux comprendre les caractéristiques sensorielles du produit développé afin de permettre son optimisation. Ces objectifs ont été réalisés en trois étapes successives:

- 1) la conception d'une matrice de base ;
- 2) l'intégration de l'ingrédient fonctionnel dans la matrice formule ;
- 3) l'optimisation par analyse sensorielle du model formulé.

Cadre de travail et outils

Une matrice de base modèle a été conçue à l'échelle du laboratoire de biotechnologie médicale de la faculté de médecine et de pharmacie de Rabat. La démarche de conception de cette matrice a fait l'objet d'un premier article **'Syneresis investigations of lacto-fermented sodium caseinate in a mixed model system'** publié dans *BMC Biothechnology journal*. Cette formulation a été la base de tout le travail de thèse pour tester l'ensemble des leviers identifiés, elle a permis de fabriquer des produits complètement maîtrisés (composition et procédé) avec une grande flexibilité des essais. Les paramètres identifiés ont été testés sur des systèmes plus ou moins simplifiés pour évaluer leur impact combiné sur la formation du gel fermenté.

L'intégration de la matière grasse végétale au sein de cette matrice de base a été réalisée à l'échelle du centre de recherche de Composites et Nanocomposite de la Fondation MAScIR à Rabat. Elle a fait l'objet d'un deuxième article **« Creaming behavior prediction of argan oil in water emulsion stabilized by lacto-fermentation : Creaming index »** publié dans *BMC Biothechnology journal*. Les conditions d'émulsification ont été testé au laboratoire afin d'être définis pour aboutir à un produit stable avant, pendant et après fermentation (composition et procédé). La stabilité des émulsions a été évaluée en mesurant leurs propriétés rhéologiques (viscosité, granulométrie). La qualité des « type yaourts », quant à elle, a été évaluée à la fin de la fermentation par l'absence ou non d'un crémage ou d'une synérèse.

L'analyse sensorielle du produit formulé a été effectuée au Laboratoire de formulation & analyse sensorielle de l'École de biologie Industrielle (EBI) en France. La texture recherchée est une combinaison d'un certain niveau de consistance (épaisseur en bouche, résistance à la cuillère) et d'une perception du gras en bouche (fondant, film gras, gout huileux). Ces caractéristiques sensorielles ont été évaluées par des panélistes experts, après que les tests microbiologiques aient été validés. Les profils sensoriels ont été définis dans le but d'une optimisation de la formulation. Ceci a fait l'objet d'un troisième article "**Evaluation of argan oil yogurt-like formulation by sensory analysis**" en cours de soumission.

Effets des leviers pour formuler les yaourts enrichis en matière grasse

La composition et le procédé de fabrication se sont avérées être des leviers intéressants pour moduler les propriétés physicochimiques et sensorielles des yaourts formulés. Les mécanismes de stabilisation des émulsions par des protéines laitiers notamment le sodium caseinate et l'ajout d'amidon ont été finement étudiés. Ce travail de compréhension a été rendu possible grâce à un plan expérimental permettant de tester des compositions à différentes concentrations sous différentes conditions. Les différences de structure engendrées ont permis de mettre en évidence les facteurs impactant les caractéristiques du produit et ont été attribués aux :

- i) ratio sodium caséinate/ amidon,
- ii) ratio caséinate de sodium/huile
- iii) la vitesse et la durée d'homogénéisation.

Dans les conditions testées, ces leviers ont été les plus déterminants dans la stabilité du produit et dans l'optimisation de ses caractéristiques sensorielles. Leur impact sur la structuration et les qualités sensorielles du « yaourt assimilé » a été bien démontré. Par exemple, l'ajout de caséinate de sodium à sa concentration optimale 1% - 2%, selon les conditions d'homogénéisation, assure une couverture complète des gouttelettes d'huile de la phase dispersée de l'émulsion à 20% H/W, ce qui génère une répulsion électrostatique entre particules empêchant la coalescence. L'interaction des protéines lactiques adsorbées à l'interface a eu un impact direct sur la non coalescence des particules dispersées. L'ajout d'amidon à 1,5% a augmenté la viscosité de la phase continue réduisant ainsi la vitesse de crémage des gouttelettes d'huile dans l'émulsion et donc a ralenti la séparation des phases.

Par conséquent, la combinaison de ces deux ingrédients à leurs concentrations optimales est essentielle pour assurer la stabilité de l'émulsion à une certaine concentration de la phase dispersée et pour des conditions d'homogénéisation données. La taille et la répartition des globules gras ont été étudiées comme des conséquences des autres leviers. La modification du ratio caséinate de sodium/huile d'argan, a également permis de modifier les caractéristiques sensorielles du produit fini telles que les attributs de texture en plus des propriétés texturales du produit. L'aromatisation du produit formulé a aussi atténué l'arrière-goût huileux. Cependant, les conditions testées n'ont pas permis de faire disparaître totalement le goût huileux dans le produit fini à 20% d'huile d'argan. Il est fondamental de noter que tous ces leviers sont interdépendants les uns des autres et que leur impact sur la structuration et les qualités sensorielles du « yaourt assimilé » a été bien démontré. Ces travaux nous ont orienté vers des leviers d'action supplémentaires pour jouer sur la texture et la perception de la matière huileuse dans le yaourt enrichi.

Pistes d'optimisation et perspectives des leviers

Il existe des pistes d'optimisation pour continuer d'étudier ces leviers. Par exemple, il pourrait être intéressant d'étudier d'autres conditions pour pousser les effets des leviers jusqu'aux extrêmes : d'autres protéines ou combinaisons protéiques, laitières ou non, pourraient être utilisées pour stabiliser l'interface en combinaison avec d'autres texturants. De plus, Il serait intéressant de modifier certains paramètres du procédé tels que l'utilisation d'un homogénéisateur à pression, d'une cuve de fermentation à homogénéisateur pour améliorer la structure du yaourt assimilé. Notre projet consistait à ce que la teneur en huile ne doit pas être modifiée étant donné qu'elle équivaut la dose recommandée pour bénéficier des fonctionnalités de l'huile choisie (25% de l'huile d'argan). Néanmoins, il s'agit d'un levier très important, qui pourrait moduler la texture et l'arrière-goût huileux du yaourt-assimilé. Le maintien de la teneur en matière grasse de 20% était extrêmement ambitieux. Les leviers testés ont permis d'obtenir un produit fini avec un profil sensoriel favorable mais avec un arrière goût huileux légèrement prononcé. En revanche, la stabilité physicochimique du produit a pu être réalisée grâce aux leviers de procédé pour une teneur en matière grasse de 20%, ce qui constitue une belle réussite pour ce projet. Une évaluation hédonique auprès du consommateur marocain serait d'une grande utilité et pourrait aussi être envisagée pour compléter l'analyse sensorielle du yaourt assimilé formulé et finaliser son optimisation. Une

autre piste intéressante est d'élargir le champ d'application de cette formulation sur une gamme de produits laitiers ou non, fermentés ou non, enrichis en lipides fonctionnels bénéfiques pour la santé.

VALORISATIONS SCIENTIFIQUES

Publications dans des revues internationales indexées

Article 1 : Syneresis investigations of lacto-fermented sodium caseinate in a mixed model system” publié en aout 2019 (*BMC Biothechnology journal*).

Article 2 : Creaming behavior prediction of argan oil in water emulsion stabilized by lacto-fermentation: Creaming index » publié en septembre 2021(*BMC Biothechnology journal*).

Article 3 : Evaluation of argan oil yogurt like formulation by sensory analysis (*Submitted to BMC Food Production, Processing and Nutrition*).

Book chapter in *Innovations in Microbiology and Biotechnology Vol. 7* : Syneresis Understanding by Modeling the Lacto-Fermentation of Sodium Caseinate

Activités de Recherches

Participation au « workshop on argan oil : chemical quality & sensory evaluation » Max Rubner-Institut (MRI), october 2015, Germany.

Présentation orale : « L'Évaluation Sensorielle » Faculté de Médecine et Pharmacie Rabat 2015.

Présentation orale : « Compléments Alimentaires en dermopharmacie » DU de Dermopharmacie & Cosmétologie, Faculté de Médecine et Pharmacie de Rabat 2017/ Universiapolis Agadir 2016.

Présentation orale : « Food Suppléments & Smart Supplémentation » Master International Bordeaux/rabat : Analytical Chemistry for Drugs and Natural Products, Faculté des Sciences-Rabat 2017.

Communication orale : « Utilisation de l'analyse sensorielle dans la formulation galénique », Congrès Nord Africain de Micronutrition, Sous le thème « *Une alimentation saine, un Microbiote sain pour un monde sain* ». 12 et 13 octobre 2019.

Communication orale : « Formulation et évaluation sensorielle d'un produit fonctionnel à base de l'huile d'argan », Congrès international de l'arganier 13 mai 2022

Poster : « L'analyse sensorielle : outils d'optimisation de la présentation des aliments fonctionnels », Congrès Nord Africain de Micro-nutrition, 12 et 13 octobre 2019.

Dépôt de brevet : « Produits laitiers assimilés fortifiés en lipides fonctionnels et methodes de fabrications » 09 mai 2022 sous le numéro 56734.



L'ANALYSE SENSORIELLE: OUTILS D'OPTIMISATION DE LA PRÉSENTATION DES ALIMENTS FONCTIONNELS

Soumaya El bouchikhi 1, 5, Anne-Marie Pensé-Lhérier 2, Zeineb Nhouchi 3, Marjorie Lassalle 4, Azeddine Ibrahim 5, Yahya Bensouda 1



Résumé

L'objectif principal de cette étude est la mise au point d'une préparation à base d'ingrédients fonctionnels et l'optimisation de sa formulation par la réalisation de tests d'évaluation sensorielle. Lors de cette étude un profil descriptif quantitatif a été établi. Il a pour objectif de caractériser les propriétés organoleptiques du produit au moyen d'un panel entraîné à l'évaluation des dites propriétés en se basant sur des descripteurs répondant à une définition et à un protocole spécifique (NF ISO 13299).

Les résultats de l'analyse sensorielle descriptive du produit formulé sont représentés par les moyennes des valeurs d'intensité attribuées par le panel d'experts pour chaque descripteur et qui correspondent aux propriétés suivantes:

Blanc: 8,27±0,8; Homogène: 8,27±1,62; Ferme: en bouche et au prélèvement: 8,53±1,64 et 9,8±0,56; Peu brillant: 3,8±2,76; Non déphasé: 1,4±2,03; Non mousseux: 1,8±2,01; Non filant: 0,13±0,35; Non coulant: 0,00; Non fondant: 0,47±0,64; Très peu onctueux: 2,73±2,02; Faiblement sucré, acide et crémeux: 3,4±1,84; 3,07±1,98 et 3,73±3,03.

Introduction

Contexte

Les aliments fonctionnels occupent une place de plus en plus importante dans le monde de la recherche scientifique. Ils préoccupent les chercheurs, les professionnels de santé et les industriels de l'agro-alimentaire à l'échelle internationale. Cet intérêt est sollicité par l'accroissement de bon nombre de maladies en rapport avec le mode de vie et l'alimentation y compris le cancer et par l'intérêt croissant que porte les consommateurs sur les ingrédients alimentaires et leurs avantages pour la santé.

Un aliment fonctionnel est un aliment qui affecte les fonctions du corps d'une manière ciblée, de façon à en obtenir des effets positifs sur des fonctions physiologiques, par le fait qu'il contient des ingrédients qui améliorent la santé et qui pourront en temps utiles, justifier des revendications de santé. En conséquence, il est nécessaire de produire des produits alimentaires bénéfiques pour la santé dans l'espoir de maintenir ou d'améliorer la qualité de vie des consommateurs.

L'ajout de l'ingrédient fonctionnel peut cependant affecter les propriétés sensorielles du produit final. Ces derniers sont des facteurs très importants pour l'évaluation de la qualité du produit formulé et l'intérêt de l'utilisation de l'analyse sensorielle afin d'optimiser la formulation.

Objectif principal

la mise au point de préparations à base d'ingrédients fonctionnels et la réalisation de tests d'évaluation sensorielle qui permettraient de mesurer de la façon la plus objective possible les caractéristiques et l'acceptabilité organoleptiques du produit formulé et définir ainsi son profil sensoriel.

La mise en œuvre des techniques d'analyse sensorielle repose sur l'organisation de séances de mesure, pendant lesquelles des panélistes entraînés sont confrontés aux produits testés qu'ils décrivent et évaluent sur un ensemble précis de critères sensoriels. Les jugements sont faits sous conditions contrôlées, de sorte que les différences d'acceptation obtenues soient effectivement attribuées aux produits mêmes et non pas aux influences de facteurs variables. La qualification sensorielle d'un produit se base sur des descripteurs répondant à une définition et à un protocole spécifique (NF ISO 13299).

Matériels et Méthodes

Matériels

- Produits testés:
 - Produit formulé: Produit 179
 - Produit de référence: Produit 830
 - 6 produits du marché pour générer les descripteurs.
- Panel: 30 sujets EBistes experts en goût (moyenne d'âge 22 ans).
- Lieu: Panel sensoriel de l'EBI, 10 cabines dans une salle à température régulée (22°C) et taux d'hygrométrie contrôlé.

Méthodes

1- Description de l'étude

➢ Avant les tests

- Génération des descripteurs & création du protocole d'étude (définitions des descripteurs)
- Entraînement des panélistes sur des produits du marché
- Préparation des différentes séances

➢ Analyse sensorielle

15 panélistes EBistes experts en goût ont évalué les 6 produits sélectionnés du marché, le produit de référence et le produit formulé P1 (produit étudié) à l'œil nu et en bouche, à partir de 14 descripteurs définis:

- Aspect: Blanc, brillant, homogène, déphasé, mousseux
- Prélèvement à la cuillère: Filant, ferme, coulant
- Texture en bouche: Fondant, ferme, onctueux
- Goût: Sucré, acide, crémeux

➢ Analyses statistiques et interprétations des résultats

2- Conditions de l'étude

L'étude s'est déroulée sur 4 semaines, les tests ont été réalisés de la façon suivante:

- Les produits sont étudiés de façon monadique, produit par produit dans leur pot d'origine.
- Pour le produit N°179, les panélistes l'ont évalué dans un pot en verre (30g de produit/pot).
- Les panélistes évaluent les descripteurs sur une échelle comprise entre 0 et 10.

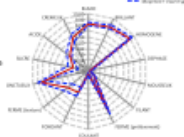
NF EN ISO 13299 Analyse sensorielle
Directive générales pour l'établissement d'un profil sensoriel

Résultats

Etoile produit de référence 830

Le produit de référence codé 830 possède les propriétés suivantes:

- Blanc
- Brillant
- Homogène
- Ferme au prélèvement
- Onctueux
- Crémeux
- Mélangement ferme en bouche
- Non déphasé
- Non filant
- Non coulant
- Peu fondant
- Non sucré et acide



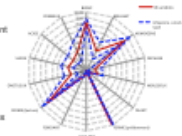
MOYENNES & écart-types produit 830

14 variables	Moyenne test 1	Moyenne test 2	Ecart-type Test 1	Ecart-type Test 2
BLANC	8,27	8,15	1,04	0,71
BRILLANT	8,49	8,17	1,09	0,94
HOMOGENE	8,27	8,13	1,05	1,04
DEPHASE	1,43	2,27	0,97	0,93
MOUSSEUX	1,79	1,79	0,48	0,41
FILANT	0,13	0,31	1,06	1,01
FERME (prélèvement)	7,15	7,93	1,03	1,40
COULANT	1,48	0,40	1,07	0,67
FONDANT	0,47	0,15	0,36	2,43
FERME (bouche)	8,49	4,43	1,08	1,33
ONCTUEUX	3,43	3,40	1,00	1,20
SUCRE	3,15	3,95	1,09	1,07
ACIDE	4,17	4,37	1,13	1,03
CREMEUX	3,73	3,47	1,48	1,70

Etoile produit 179

Le produit formulé codé 179 possède les propriétés suivantes:

- Blanc
- Homogène
- Ferme en bouche et au prélèvement
- Peu brillant
- Non déphasé
- Non mousseux
- Non filant
- Non coulant
- Non fondant
- Très peu onctueux
- Faiblement sucré, acide et crémeux
- Non sucré
- Non fondant
- Très peu onctueux
- Faiblement sucré, acide et crémeux



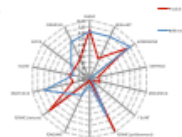
Moyennes & écart-types produit 179

14 variables	Moyenne descriptive	Moyenne d'écart-type	Ecart-type
BLANC	7,15	8,27	1,01
BRILLANT	3,27	3,03	1,13
HOMOGENE	7,15	8,07	1,17
DEPHASE	0,28	1,40	1,13
MOUSSEUX	0,64	1,20	1,01
FILANT	0,00	0,13	0,13
FERME (prélèvement)	9,40	9,20	10,00
COULANT	0,00	0,40	0,00
FONDANT	0,11	0,47	0,93
FERME (bouche)	7,62	8,33	9,41
ONCTUEUX	1,42	3,73	3,83
SUCRE	3,18	3,40	4,42
ACIDE	1,07	3,67	4,15
CREMEUX	3,03	3,73	5,41

COMPARAISON 179 & 830

En comparant le produit de référence avec le produit formulé, on remarque une grande divergence au niveau des descripteurs suivants:

- Brillant
- Ferme en bouche et au prélèvement
- Onctueux
- Crémeux



Conclusions

L'évaluation du produit formulé n'a donc présenté aucune contrainte aux panélistes, sauf sur le descripteur crémeux.

Grâce au profil descriptif quantitatif du produit formulé et aux remarques des panélistes ayant testés ce produit, il est ressorti que c'est un produit qui est visuellement blanc, non brillant, homogène, non déphasé et non mousseux.

Lors du prélèvement à la cuillère il est non filant, ferme et non coulant. Sa texture en bouche est non fondante, très ferme et très peu onctueuse.

Au goût, les panélistes l'ont trouvé faiblement sucré, acide et crémeux.

C'est un produit très différent dans sa texture en bouche et dans son goût de ce que les panélistes ont l'habitude de trouver dans les magasins en France.

1. Laboratoire de Biotechnologie Médicale, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V, Rabat, Maroc

2. Laboratoire de Formulation & Analyse Sensorielle, Ecole de Biologie Industrielle, Cergy, France

3. Laboratoire de Formulation & Analyse Sensorielle, Ecole de Biologie Industrielle, Cergy, France.

4. Laboratoire d'analyse sensorielle, Ecole de Biologie Industrielle, Cergy, France.

5. Laboratoire de Biotechnologie Médicale, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V, Rabat, Maroc

6. Laboratoire de Pharmacie Galénique, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V, Rabat, Maroc.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

References list

1. Milner, J.A., *Functional foods: the US perspective*. The American journal of clinical nutrition, 2000. **71**(6): p. 1654S-1659S.
2. Roberfroid, M.B., *Global view on functional foods: European perspectives*. British Journal of Nutrition, 2007. **88**(S2): p. S133-S138.
3. Doyon, M. and J. Labrecque, *Functional foods: a conceptual definition*. British Food Journal, 2008. **110**(11): p. 1133-1149.
4. Charrouf, Z. and D. Guillaume, *Should the amazigh diet (regular and moderate argan-oil consumption) have a beneficial impact on human health?* Critical reviews in food science and nutrition, 2010. **50**(5): p. 473-477.
5. El Monfalouti, H., et al., *Therapeutic potential of argan oil: a review*. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2010. **62**(12): p. 1669-1675.
6. Sultan, S., et al., *Therapeutic potential of dairy bioactive peptides: A Contemporary Perspectives*. Crit Rev Food Sci Nutr, 2016: p. 0.
7. Itsaranuwat, P., K.S.H. Al-Haddad, and R.K. Robinson, *The potential therapeutic benefits of consuming 'health-promoting' fermented dairy products: a brief update*. International journal of dairy technology, 2003. **56**(4): p. 203-210.
8. Zhao, L.L., et al., *Effect of casein to whey protein ratios on the protein interactions and coagulation properties of low-fat yogurt*. Journal of Dairy Science, 2016. **99**(10): p. 7768-7775.
9. Hashim, M.A., et al., *Non-Fat Yogurt Fortified with Whey Protein Isolate: Physicochemical, Rheological, and Microstructural Properties*. Foods, 2021. **10**(8): p. 1762.
10. Yang, X. and R.A. Boyle, *Sensory Evaluation of Oils/Fats and Oil/Fat-Based Foods*. 2016: p. 157-185.
11. Cayot, P., et al., *Creaminess in relation to consistency and particle size in stirred fat-free yogurt*. International Dairy Journal, 2008. **18**(3): p. 303-311.
12. Rognlien, M., et al., *Consumer perception and sensory effect of oxidation in savory-flavored yogurt enriched with n-3 lipids*. Journal of Dairy Science, 2012. **95**(4): p. 1690-1698.
13. Dickinson, E., *Hydrocolloids acting as emulsifying agents – How do they do it?* Food Hydrocolloids, 2018. **78**: p. 2-14.
14. Banerjee, S. and S. Bhattacharya, *Compressive textural attributes, opacity and syneresis of gels prepared from gellan, agar and their mixtures*. Journal of Food Engineering, 2011. **102**(3): p. 287-292.
15. Sun, N.-x., et al., *Interaction of starch and casein*. Food Hydrocolloids, 2016. **60**: p. 572-579.
16. Pakseresht, S., M. Mazaheri Tehrani, and S.M.A. Razavi, *Optimization of low-fat set-type yoghurt: effect of altered whey protein to casein ratio, fat content and microbial transglutaminase on rheological and sensorial properties*. J Food Sci Technol, 2017. **54**(8): p. 2351-2360.

17. Tuorila, H., <From sensory evaluation to sensory and consumer research of food- an autobiographical perspective.pdf>. Food Quality and Preference, 2015. **40**: p. 255-262.
18. Salvador, A. and S.M. Fiszman, *Textural and Sensory Characteristics of Whole and Skimmed Flavored Set-Type Yogurt During Long Storage*. Journal of Dairy science, 2004. **87**(12): p. 4033-4041.
19. Kárnyáczki, Z. and J. Csanádi, *Texture profile properties, sensory evaluation, and susceptibility to syneresis of yoghurt prepared from lactose-free milk*. Acta Alimentaria, 2017. **46**(4): p. 403-410.
20. Pang, G., et al., *How functional foods play critical roles in human health*. Food Science and Human Wellness, 2012. **1**(1): p. 26-60.
21. Jones, P.J. and S. Jew, *Functional food development: concept to reality*. Trends in Food Science & Technology, 2007. **18**(7): p. 387-390.
22. Loveday, S.M., A. Sarkar, and H. Singh, *Innovative yoghurts: Novel processing technologies for improving acid milk gel texture*. Trends in Food Science & Technology, 2013. **33**(1): p. 5-20.
23. Cadena, R.S., et al., *Comparison of rapid sensory characterization methodologies for the development of functional yogurts*. Food Research International, 2014. **64**: p. 446-455.
24. Mousavi, M., et al., *Texture and sensory characterization of functional yogurt supplemented with flaxseed during cold storage*. Food Sci Nutr, 2019. **7**(3): p. 907-917.
25. Gursel, A., et al., *Role of milk protein-based products in some quality attributes of goat milk yogurt*. J Dairy Sci, 2016.
26. Arango, O., A.J. Trujillo, and M. Castillo, *Influence of fat replacement by inulin on rheological properties, kinetics of rennet milk coagulation, and syneresis of milk gels*. Journal of Dairy Science, 2013. **96**(4): p. 1984-1996.
27. Fardet, A., *aliments fonctionnels et fonctionnalité de l'alimentation*. 2019 : p. 9-14.
28. Iwatani, S. and N. Yamamoto, *Functional food products in Japan: A review*. Food Science and Human Wellness, 2019. **8**(2): p. 96-101.
29. *Complex foods versus functional foods, nutraceuticals and dietary supplements: differential health impact (Part 2)*. Agro Food Industry Hi Tech, May 2015: p. 20-22.
30. Fardet, A. and E. Rock, *Toward a New Philosophy of Preventive Nutrition: From a Reductionist to a Holistic Paradigm to Improve Nutritional Recommendations*. Advances in Nutrition, 2014. **5**(4): p. 430-446.
31. Fardet, A., *L'effet matrice des aliments, un nouveau concept*. Pratiques en nutrition, 2017. **13**(52): p. 37-40.
32. Fardet, A. and Y. Boirie, *Associations between food and beverage groups and major diet-related chronic diseases: an exhaustive review of pooled/meta-analyses and systematic reviews*. Nutrition Reviews, 2014. **72**(12): p. 741-762.
33. Fardet, A. and Y. Boirie, *Associations between diet-related diseases and impaired physiological mechanisms: a holistic approach based on meta-analyses to identify targets for preventive nutrition*. Nutrition Reviews, 2013. **71**(10): p. 643-656.

34. Fardet, A., *New Approaches to Studying the Potential Health Benefits of Cereals: From Reductionism to Holism*. Cereal Foods World, 2014. **59**(5): p. 224-229.
35. B, R.M., *What is Beneficial for Health? The Concept of Functional Food*. Food and Chemical Toxicology, 1999. **37**: p. 1039-1041.
36. M.Roberfroid, *Scientific Concepts of Functional Foods in Europe Consensus Document*. British Journal of Nutrition, 2007. **81**(4): p. S1-S27.
37. Rossignol-Castera, A., « *Aliments fonctionnels et lipides* ». Oléagineux, Corps gras, Lipides, 2001. **8**(4): p. 308-309.
38. Daniel Granato, F.J.B., 2Danijela BursaćKovačević, 3José M. Lorenzo, 4Adriano G. Cruz, 5and Predrag Putnik, *Functional Foods: Product Development, Technological Trends, Efficacy Testing, and Safety*. Annual Review of Food Science and Technology, 2019.
39. Martins, N., M.B.P.P. Oliveira, and I.C.F.R. Ferreira, *Development of Functional Dairy Foods*. 2018: p. 1-19.
40. García-Burgos, M., et al., *New perspectives in fermented dairy products and their health relevance*. Journal of Functional Foods, 2020. **72**: p. 104059.
41. Gill, H. and J. Prasad, *Probiotics, Immunomodulation, and Health Benefits*. 2008. **606**: p. 423-454.
42. Shafi, A., et al., *Antimicrobial and antidiabetic potential of synbiotic fermented milk: A functional dairy product*. International Journal of Dairy Technology, 2019. **72**(1): p. 15-22.
43. Bordoni, A., et al., *Dairy products and inflammation: A review of the clinical evidence*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2017. **57**(12): p. 2497-2525.
44. Najgebauer-Lejko, D. and M. Sady, *Estimation of the antioxidant activity of the commercially available fermented milks*. Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria, 2015. **14**(4): p. 387-396.
45. Fontecha, J., et al., *Milk and Dairy Product Consumption and Cardiovascular Diseases: An Overview of Systematic Reviews and Meta-Analyses*. Advances in Nutrition, 2019. **10**(suppl_2): p. S164-S189.
46. Beltrán-Barrientos, L.M., et al., *Invited review: Fermented milk as antihypertensive functional food*. Journal of Dairy Science, 2016. **99**(6): p. 4099-4110.
47. Hemarajata, P. and J. Versalovic, *Effects of probiotics on gut microbiota: mechanisms of intestinal immunomodulation and neuromodulation*. Therapeutic Advances in Gastroenterology, 2012. **6**(1): p. 39-51.
48. Rizzoli, R. and E. Biver, *Effects of Fermented Milk Products on Bone*. Calcified Tissue International, 2017. **102**(4): p. 489-500.
49. Kesika, P., B.S. Sivamaruthi, and C. Chaiyasut, *Health promoting effects of fermented foods against cancer: an updated concise review*. Food Science and Technology, 2022. **42**.
50. Cliff, M.A., et al., *Descriptive analysis and early-stage consumer acceptance of yogurts fermented with carrot juice*. J Dairy Sci, 2013. **96**(7): p. 4160-72.
51. Zhi, R., L. Zhao, and J. Shi, *Improving the sensory quality of flavored liquid milk by engaging sensory analysis and consumer preference*. J Dairy Sci, 2016. **99**(7): p. 5305-5317.

52. Said Ahrouch 1, M., Sanae Rhabra 3, Kaoutar Erramy 4, *Produits de terroir au service du développement durable dans la région Souss-Massa : cas de l'union des coopératives des femmes d'Argane Tissaliwine*. Moroccan journal of business studies, 2017. **1**(1): p. 209-232.
53. Maha Raif, A.A., *La consommation des produits de terroir: un vecteur de développement économique au maroc* Colloque International sur le Management et la Stratégie des organisations, 2018.
54. Malik, N.S.A. and J.M. Bradford, *Changes in oleuropein levels during differentiation and development of floral buds in 'Arbequina' olives*. Scientia Horticulturae, 2006. **110**(3): p. 274-278.
55. Manna, C., et al., *Protective effect of the phenolic fraction from virgin olive oils against oxidative stress in human cells*. Journal of agricultural and food chemistry, 2002. **50**(22): p. 6521-6526.
56. Owen, R.W., et al., *The antioxidant/anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil*. European Journal of Cancer, 2000. **36**(10): p. 1235-1247.
57. Tripoli, E., et al., *The phenolic compounds of olive oil: structure, biological activity and beneficial effects on human health*. Nutrition research reviews, 2005. **18**(1): p. 98-112.
58. Bisignano, G., et al., *On the in-vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol*. Journal of pharmacy and pharmacology, 1999. **51**(8): p. 971-974.
59. Fleming, H.P., W.M. Walter Jr, and J.L. Etchells, *Antimicrobial properties of oleuropein and products of its hydrolysis from green olives*. Applied microbiology, 1973. **26**(5): p. 777-782.
60. Gorzynik-Debicka, M., et al., *Potential health benefits of olive oil and plant polyphenols*. International journal of molecular sciences, 2018. **19**(3): p. 686.
61. Bardaa, S., et al., *The Effect of Prickly Pear, Pumpkin, and Linseed Oils on Biological Mediators of Acute Inflammation and Oxidative Stress Markers*. BioMed Research International, 2020. **2020**.
62. Ortega-Ortega, M.d.l.A., et al., *Optimization of ultrasound extraction of cactus pear (Opuntia ficus indica) seed oil based on antioxidant activity and evaluation of its antimicrobial activity*. Journal of Food Quality, 2017. **2017**.
63. AbdelFattah, M.S., et al., *Feed efficiency, some blood parameters and In-vitro chemoprevention of prickly pear (Opuntia ficus indica L.) seeds oil growing in Egypt*. Issues in Biological Sciences and Pharmaceutical Research, 2020.
64. Ramírez-Moreno, E., et al., *Antioxidant and antimicrobial properties of cactus pear (Opuntia) seed oils*. Journal of Food Quality, 2017. **2017**.
65. Al-Naqeb, G., *Effect of prickly pear cactus seeds oil on the blood glucose level of streptozotocin-induced diabetic rats and its molecular mechanisms*. International Journal of Herbal Medicine, 2015. **3**(4 Part A): p. 29-34.
66. Khémiri, I. and L. Bitri, *Effectiveness of Opuntia ficus indica L. inermis seed oil in the protection and the healing of experimentally induced gastric mucosa ulcer*. Oxidative medicine and cellular longevity, 2019. **2019**.
67. Al-Naqeb, G., et al., *Prickly Pear Seed Oil Extraction, Chemical Characterization and Potential Health Benefits*. Molecules, 2021. **26**(16): p. 5018.
68. Mazidi, M., et al., *A double-blind, randomized and placebo-controlled trial of Saffron (Crocus sativus L.) in the treatment of anxiety and depression*. Journal of Complementary and Integrative Medicine, 2016. **13**(2): p. 195-199.

69. Abdullaev, F.I., *Cancer chemopreventive and tumoricidal properties of saffron (Crocus sativus L.)*. Experimental biology and medicine, 2002. **227**(1): p. 20-25.
70. Bhandari, P.R., *Crocus sativus L.(saffron) for cancer chemoprevention: a mini review*. Journal of traditional and complementary medicine, 2015. **5**(2): p. 81-87.
71. Hajib, A., et al., *Chemical composition and biological activities of essential oils from the fruits of Cuminum cyminum L. and Ammodaucus leucotrichus L.(Apiaceae)*. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 2020. **23**(3): p. 474-483.
72. Fatima, T., et al., *Antioxidant potential and health benefits of cumin*. J Med Plants Stud, 2018. **6**: p. 232-6.
73. Sahana, K., S. Nagarajan, and L.J.M. Rao, *Cumin (Cuminum cyminum L.) seed volatile oil: Chemistry and role in health and disease prevention*, in *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*. 2011, Elsevier. p. 417-427.
74. Nouredine Ait errays, A.H., *Comprendre la consommation des produits de terroir. Analyse des perceptions et motivations d'achat de l'huile d'argan dans le contexte marocain*. Revue Marocaine de Recherche en Management et Marketing, 2015. **11**: p. 83-106.
75. Guillaume, D. and Z. Charrouf, *Argan oil and other argan products: Use in dermatocosmetology*. European Journal of Lipid Science and Technology, 2011. **113**(4): p. 403-408.
76. Khallouki, F., et al., *Consumption of argan oil (Morocco) with its unique profile of fatty acids, tocopherols, squalene, sterols and phenolic compounds should confer valuable cancer chemopreventive effects*. European journal of cancer prevention, 2003. **12**(1): p. 67-75.
77. Rahmani, M., *Composition chimique de l'huile d'argane «vierge»*. Cahiers Agricultures, 2005. **14**(5): p. 461-465 (1).
78. Charrouf, Z. and D. Guillaume, *Argan oil: Occurrence, composition and impact on human health*. European Journal of Lipid Science and Technology, 2008. **110**(7): p. 632-636.
79. Gharby, S., et al., *Oxidative stability of edible argan oil: A two-year study*. LWT - Food Science and Technology, 2011. **44**(1): p. 1-8.
80. Miklavčič, M.B., et al., *Fatty Acid Composition of Cosmetic Argan Oil: Provenience and Authenticity Criteria*. Molecules, 2020. **25**(18): p. 4080.
81. Gharby, S., et al., *The origin of virgin argan oil's high oxidative stability unraveled*. Natural Product Communications, 2012. **7**(5): p. 1934578X1200700520.
82. Belcadi-Haloui, R., A. Zekhnini, and A. Hatimi, *Comparative Study of Argan and other Edible Oils Stability under Accelerated Oxidation*. Indian Journal of Science and Technology, 2018. **11**(24): p. 1-7.
83. Gharby, S., et al., *Chemical and oxidative properties of olive and argan oils sold on the Moroccan market. A comparative study*. Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism, 2012. **5**(1): p. 31-38.
84. El Midaoui, A., et al., *Argan Oil as an Effective Nutri-Therapeutic Agent in Metabolic Syndrome: A Preclinical Study*. International Journal of Molecular Sciences, 2017. **18**(11): p. 2492.
85. Bensouda, Y., et al., *The effect of dietary and/or cosmetic argan oil on postmenopausal skin elasticity*. Clinical Interventions in Aging, 2015: p. 339.

86. Boucetta, K.Q., et al., *Skin hydration in postmenopausal women: argan oil benefit with oral and/or topical use*. *Menopausal Review*, 2014. **5**: p. 280-288.
87. Berrougui, H., et al., *Hypolipidemic and hypocholesterolemic effect of argan oil (Argania spinosa L.) in Meriones shawi rats*. *Journal of Ethnopharmacology*, 2003. **89**(1): p. 15-18.
88. Berrougui, H., et al., *Phenolic-extract from argan oil (Argania spinosa L.) inhibits human low-density lipoprotein (LDL) oxidation and enhances cholesterol efflux from human THP-1 macrophages*. *Atherosclerosis*, 2006. **184**(2): p. 389-396.
89. Cherki, M., et al., *Consumption of argan oil may have an antiatherogenic effect by improving paraoxonase activities and antioxidant status: Intervention study in healthy men*. *Nutrition, metabolism and cardiovascular diseases*, 2005. **15**(5): p. 352-360.
90. Ould Mohamedou, M.M., et al., *Argan Oil Exerts an Antiatherogenic Effect by Improving Lipids and Susceptibility of LDL to Oxidation in Type 2 Diabetes Patients*. *International Journal of Endocrinology*, 2011. **2011**: p. 1-8.
91. Ould Mohamedou, M.M., et al., *The consumption of argan oil induces a lipid-lowering effect in dyslipidemic patients*. *Mediterranean journal of nutrition and metabolism*, 2012. **5**(2): p. 143-147.
92. Bennani, H., et al., *Antiproliferative effect of polyphenols and sterols of virgin argan oil on human prostate cancer cell lines*. *Cancer detection and prevention*, 2007. **31**(1): p. 64-69.
93. F Khallouki¹, C.Y., R Soulimani¹, T Oster¹, Z Charrouf², B Spiegelhalder³, H Bartsch³ and R W Owen³, *Consumption of argan oil (Morocco) with its unique profile of fatty acids, tocopherols, squalene, sterols and phenolic compounds should confer valuable cancer chemopreventive effects*. *European Journal of Cancer Prevention*, 2003: p. 67-75.
94. Ostan, R., et al., *Impact of diet and nutraceutical supplementation on inflammation in elderly people. Results from the RISTOMED study, an open-label randomized control trial*. *Clinical Nutrition*.
95. Essouiri, J., et al., *Effectiveness of Argan Oil Consumption on Knee Osteoarthritis Symptoms: A Randomized Controlled Clinical Trial*. *Current rheumatology reviews*, 2017. **13**(3): p. 231-235.
96. Demnati, D., et al., *Optimum roasting conditions of argan kernels (Argania spinosa L.) for the production of high-quality edible argan oil*. *Journal of food science and technology*, 2020. **57**(3): p. 840-847.
97. Matthäus, B., et al., *Effect of processing on the quality of edible argan oil*. *Food chemistry*, 2010. **120**(2): p. 426-432.
98. Lucarini, M., et al., *Cold pressed argan (Argania spinose) oil*, in *Cold Pressed Oils*. 2020, Elsevier. p. 459-465.
99. Charrouf, Z., et al., *Influence of roasting and seed collection on argan oil odorant composition*. *Natural product communications*, 2006. **1**(5): p. 1934578X0600100511.
100. Zaanoun, I., S. Gharby, and I. Bakass, *Kinetic parameter determination of roasted and unroasted argan oil oxidation under Rancimat test conditions*. *Grasas y Aceites*, 2014. **65**(3): p. e033-e033.
101. Zarrou, S., M. Zahar, and C. Dacremont, *Profil sensoriel de l'huile d'Argane alimentaire et effet du mode de préparation sur sa qualité organoleptique*.
102. Belcadi-Haloui, R., et al., *Effects of roasting temperature and time on the chemical composition of argan oil*. *International journal of food science*, 2018. **2018**.

103. Sevindik, O., et al., *Characterization of Key Odorants in Moroccan Argan Oil by Aroma Extract Dilution Analysis*. European Journal of Lipid Science and Technology, 2019. **121**(5): p. 1800437.
104. Zahar, M., G. Reineccius, and J.P. Schirle-Keller, *Argan oil aroma: effect of kernels roasting and oil extraction process*. Actes du Premier Congrès International de l'Arganier, Agadir, 2011: p. 15-17.
105. Lapointe-Vignola, C., *Science et technologie du lait: transformation du lait*. 2002: Presses inter Polytechnique.
106. Cayot, P.H. and D. Lorient, *Structures et technofonctions des protéines du lait*. 1998: Arilait Recherches.
107. Croguennec, T., R. Jeantet, and G. Brulé, *Fondements physicochimiques de la technologie laitière*. 2008, Lavoisier TEC & DOC.
108. Walstra, P. and R. Jenness, *Dairy chemistry & physics*. 1984: John Wiley & Sons.
109. Cayot, P. and D. Lorient, *Structure and technical properties of milk proteins*. Structure and technical properties of milk proteins., 1998.
110. Early, R., *Dairy products and milk-based food ingredients*. 2012: p. 417-445.
111. Tidona, F., et al., *Bioactive peptides in dairy products*. Italian Journal of Animal Science, 2016. **8**(3): p. 315-340.
112. Dal Bello, B., et al., *Healthy yogurt fortified with n-3 fatty acids from vegetable sources*. J Dairy Sci, 2015. **98**(12): p. 8375-85.
113. McMahon, D.J. and W.R. McManus, *Rethinking casein micelle structure using electron microscopy*. Journal of Dairy Science, 1998. **81**(11): p. 2985-2993.
114. McMahon, D.J. and R.J. Brown, *Composition, structure, and integrity of casein micelles: a review*. Journal of Dairy Science, 1984. **67**(3): p. 499-512.
115. Moussier, M., *Structuration de la matière grasse dans une matrice protéique laitière en fonction de la composition et du procédé: Influence sur les propriétés du produit*. 2019, Université Paris Saclay (COMUE).
116. Schmidt, D.G., *Association of caseins and casein micelle structure*. Developments in dairy chemistry, 1982. **1**: p. 61-86.
117. Walstra, P., *Casein sub-micelles: do they exist?* International Dairy Journal, 1999. **9**(3-6): p. 189-192.
118. Holt, C. and D.S. Horne, *its implications for dairy technology*. Netherlands Milk & Dairy Journal, 1996. **50**: p. 85-1.
119. Huppertz, T., et al., *Hydration of casein micelles and caseinates: Implications for casein micelle structure*. International Dairy Journal, 2017. **74**: p. 1-11.
120. De Kruif, C.G., et al., *Casein micelles and their internal structure*. Advances in colloid and interface science, 2012. **171**: p. 36-52.
121. Ribadeau-Dumas, B. and R. Grappin, *Milk protein analysis*. Le Lait, 1989. **69**(5): p. 357-416.

122. Argov, N., D.G. Lemay, and J.B. German, *Milk fat globule structure and function: nanoscience comes to milk production*. Trends in food science & technology, 2008. **19**(12): p. 617-623.
123. Jensen, R.G., *The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000*. Journal of dairy science, 2002. **85**(2): p. 295-350.
124. Lopez, C., *Focus on the supramolecular structure of milk fat in dairy products*. Reproduction nutrition development, 2005. **45**(4): p. 497-511.
125. Michalski, M.-C., et al., *Native vs. damaged milk fat globules: membrane properties affect the viscoelasticity of milk gels*. Journal of Dairy Science, 2002. **85**(10): p. 2451-2461.
126. Lopez, C., *Milk fat globules enveloped by their biological membrane: unique colloidal assemblies with a specific composition and structure*. Current Opinion in Colloid & Interface Science, 2011. **16**(5): p. 391-404.
127. Kunz, C., et al., *Oligosaccharides in human milk: structural, functional, and metabolic aspects*. Annual review of nutrition, 2000. **20**(1): p. 699-722.
128. Fukuda, K., et al., *Chemical characterization of the oligosaccharides in Bactrian camel (Camelus bactrianus) milk and colostrum*. Journal of dairy science, 2010. **93**(12): p. 5572-5587.
129. Venema, K., *Intestinal fermentation of lactose and prebiotic lactose derivatives, including human milk oligosaccharides*. International Dairy Journal, 2012. **22**(2): p. 123-140.
130. Karam, M.-C., *Réhydratation des protéines laitières dans un milieu complexe: influence de l'état d'hydratation sur les propriétés texturales des gels acides*. 2013, Université de Lorraine.
131. Blond, G. and I. Montupet, *Capacité de rétention d'eau des protéines laitières*. Le Lait, 1989. **69**(2): p. 151-154.
132. Liu, Y. and R. Guo, *pH-dependent structures and properties of casein micelles*. Biophysical chemistry, 2008. **136**(2-3): p. 67-73.
133. Renault, C., et al., *Effect of temperature of milk acidification on rennet gel properties*. Journal of food science, 2000. **65**(4): p. 630-634.
134. Sauer, A. and C.I. Moraru, *Heat stability of micellar casein concentrates as affected by temperature and pH*. Journal of Dairy Science, 2012. **95**(11): p. 6339-6350.
135. Dalglish, D.G., *Coagulation of renneted bovine casein micelles: dependence on temperature, calcium ion concentration and ionic strength*. Journal of Dairy Research, 1983. **50**(3): p. 331-340.
136. Lin, L., et al., *Calcium-induced skim milk gels: Impact of holding temperature and ionic strength*. International Dairy Journal, 2020. **104**: p. 104657.
137. Lachin, K., *De la stabilité à la coagulation de latex acrylique: étude des mécanismes et mise en oeuvre en milliréacteur*. 2016.
138. Donato, L. and F. Guyomarc'h, *Formation and properties of the whey protein/ κ -casein complexes in heated skim milk—A review*. Dairy Science and Technology, 2009. **89**(1): p. 3-29.
139. Abd El-Salam, M.H., S. El-Shibiny, and A. Salem, *Factors affecting the functional properties of whey protein products: A review*. Food Reviews International, 2009. **25**(3): p. 251-270.

140. Petit, J., et al., *Role of whey components in the kinetics and thermodynamics of β -Lactoglobulin unfolding and aggregation*. Food and Bioprocess Technology, 2016. **9**(8): p. 1367-1379.
141. Nicolai, T., M. Britten, and C. Schmitt, *β -Lactoglobulin and WPI aggregates: Formation, structure and applications*. Food Hydrocolloids, 2011. **25**(8): p. 1945-1962.
142. Broyard, C. and F. Gaucheron, *Modifications of structures and functions of caseins: a scientific and technological challenge*. Dairy science & technology, 2015. **95**(6): p. 831-862.
143. Famelart, M.-H., et al., *Comprehensive study of acid gelation of heated milk with model protein systems*. International Dairy Journal, 2004. **14**(4): p. 313-321.
144. Lee, W.-J. and J.A. Lucey, *Formation and physical properties of yogurt*. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 2010. **23**(9): p. 1127-1136.
145. Guyomarc'h, F., et al., *Heat-induced aggregation of whey proteins in the presence of κ -casein or sodium caseinate*. Food Hydrocolloids, 2009. **23**(4): p. 1103-1110.
146. Damin, M.R., et al., *Effects of milk supplementation with skim milk powder, whey protein concentrate and sodium caseinate on acidification kinetics, rheological properties and structure of nonfat stirred yogurt*. LWT - Food Science and Technology, 2009. **42**(10): p. 1744-1750.
147. Bonnet C, C.M., Alexander M, *Stabilization of Caseinate-Covered Oil Droplets during Acidification with High Methoxyl Pectin*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005. **53**: p. 8600-8606.
148. de Figueiredo Furtado, G., et al., *Structural and emulsifying properties of sodium caseinate and lactoferrin influenced by ultrasound process*. Food Hydrocolloids, 2017. **63**: p. 178-188.
149. Lam, R.S.H. and M.T. Nickerson, *Food proteins: a review on their emulsifying properties using a structure–function approach*. Food chemistry, 2013. **141**(2): p. 975-984.
150. McClements, D.J., *Theoretical analysis of factors affecting the formation and stability of multilayered colloidal dispersions*. Langmuir, 2005. **21**(21): p. 9777-9785.
151. Bos, M.A. and T. Van Vliet, *Interfacial rheological properties of adsorbed protein layers and surfactants: a review*. Advances in colloid and interface science, 2001. **91**(3): p. 437-471.
152. Destribats, M., et al., *Emulsions stabilised by whey protein microgel particles: towards food-grade Pickering emulsions*. Soft matter, 2014. **10**(36): p. 6941-6954.
153. Destribats, M., et al., *Pickering emulsions: what are the main parameters determining the emulsion type and interfacial properties?* Langmuir, 2014. **30**(31): p. 9313-9326.
154. Ye, A., *Complexation between milk proteins and polysaccharides via electrostatic interaction: principles and applications—a review*. International journal of food science & technology, 2008. **43**(3): p. 406-415.
155. Raikos, V., *Effect of heat treatment on milk protein functionality at emulsion interfaces. A review*. Food Hydrocolloids, 2010. **24**(4): p. 259-265.
156. Ye, A., *Functional properties of milk protein concentrates: Emulsifying properties, adsorption and stability of emulsions*. International Dairy Journal, 2011. **21**(1): p. 14-20.
157. Chevallier, M., et al., *Aggregated whey proteins and trace of caseins synergistically improve the heat stability of whey protein-rich emulsions*. Food Hydrocolloids, 2016. **61**: p. 487-495.

158. Ebringer, L., M. Ferenčík, and J. Krajčovič, *Beneficial health effects of milk and fermented dairy products*. *Folia microbiologica*, 2008. **53**(5): p. 378-394.
159. Kashgari, M., *Divan-Lugat at-Turk. Tranlated by R. Dankoff with J. Kelley as A Compendium of Turkish Dialects. Vol 2*. 1984.
160. Yusuf, K.H., *Wisdom of Royal Glory (Kutadgu Bilig): A Turko-Islamic Mirror for Princes*. 1983, English tr. R. Dankoff. Chicago, Ill./London.
161. Fisberg, M. and R. Machado, *History of yogurt and current patterns of consumption*. *Nutrition reviews*, 2015. **73**(suppl_1): p. 4-7.
162. Brothwell, D.R., D.R. Brothwell, and P. Brothwell, *Food in antiquity: a survey of the diet of early peoples*. Vol. 66. 1998: JHU Press.
163. Pelletier, J.-F., et al., *Lait fermenté : la technologie au service du goût*. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 2007. **42**, **Supplement 2**: p. 15-20.
164. De, G.D.E.D.E.S.M. and R.C.E. De, *Laits et produits laitiers*. 2009.
165. Bourlioux, P., V. Braesco, and D.D.G. Mater, *Yaourts et autres laits fermentés*. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 2011. **46**(6): p. 305-314.
166. Corrieu, G. and C. Béal, *Yogurt: The Product and its Manufacture*. 2016: p. 617-624.
167. Marette, A. and E. Picard-Deland, *Yogurt consumption and impact on health: focus on children and cardiometabolic risk*. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2014. **99**(5): p. 1243S-1247S.
168. Watanabe, D., et al., *Daily Yogurt Consumption Improves Glucose Metabolism and Insulin Sensitivity in Young Nondiabetic Japanese Subjects with Type-2 Diabetes Risk Alleles*. *Nutrients*, 2018. **10**(12): p. 1834.
169. Salas-Salvadó, J., et al., *Yogurt and Diabetes: Overview of Recent Observational Studies*. *The Journal of Nutrition*, 2017. **147**(7): p. 1452S-1461S.
170. Morelli, L., *Bacteria in Yogurt and Strain-Dependent Effects on Gut Health*. 2017: p. 395-410.
171. Sarkar, S., *Innovations in Indian fermented milk products—a review*. *Food biotechnology*, 2008. **22**(1): p. 78-97.
172. Hati, S., S. Mandal, and J.B. Prajapati, *Novel starters for value added fermented dairy products*. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*, 2013. **1**(1): p. 83-91.
173. Ano, Y., et al., *Novel lactopeptides in fermented dairy products improve memory function and cognitive decline*. *Neurobiology of aging*, 2018. **72**: p. 23-31.
174. Farnworth, E.R., et al., *Growth of probiotic bacteria and bifidobacteria in a soy yogurt formulation*. *Int J Food Microbiol*, 2007. **116**(1): p. 174-81.
175. Lourens-Hattingh, A. and B.C. Viljoen, *Yogurt as probiotic carrier food*. *International dairy journal*, 2001. **11**(1-2): p. 1-17.
176. Ross, R.P., et al., *Cheese delivering biocultures--probiotic cheese*. *Australian Journal of Dairy Technology*, 2002. **57**(2): p. 71.
177. Allgeyer, L.C., M.J. Miller, and S.Y. Lee, *Sensory and microbiological quality of yogurt drinks with prebiotics and probiotics*. *Journal of dairy science*, 2010. **93**(10): p. 4471-4479.

178. Illupapalayam, V.V., S.C. Smith, and S. Gamlath, *Consumer acceptability and antioxidant potential of probiotic-yogurt with spices*. LWT-Food science and technology, 2014. **55**(1): p. 255-262.
179. Oliveira, R.P.d.S., et al., *Effect of inulin as prebiotic and synbiotic interactions between probiotics to improve fermented milk firmness*. Journal of Food Engineering, 2011. **107**(1): p. 36-40.
180. Cruz, A.G., et al., *Developing a prebiotic yogurt: Rheological, physico-chemical and microbiological aspects and adequacy of survival analysis methodology*. Journal of Food Engineering, 2013. **114**(3): p. 323-330.
181. Dabija, A., et al., *Assessment of the antioxidant activity and quality attributes of yogurt enhanced with wild herbs extracts*. Journal of Food Quality, 2018. **2018**.
182. German, J.B., *The future of yogurt: scientific and regulatory needs*. The American journal of Clinical nutrition, 2014. **99**(5): p. 1271S-1278S.
183. Fazilah, N.F., et al., *Influence of probiotics, prebiotics, synbiotics and bioactive phytochemicals on the formulation of functional yogurt*. Journal of Functional Foods, 2018. **48**: p. 387-399.
184. Gumus, C.E. and S.M.T. Gharibzahedi, *Yogurts supplemented with lipid emulsions rich in omega-3 fatty acids: New insights into the fortification, microencapsulation, quality properties, and health-promoting effects*. Trends in Food Science & Technology, 2021.
185. Tamime, A.Y. and H.C. Deeth, *Yogurt: technology and biochemistry*. Journal of food protection, 1980. **43**(12): p. 939-977.
186. Robinson, R.K., J.A. Lucey, and A.Y. Tamime, *Manufacture of yoghurt*. Fermented milks, 2006: p. 53-75.
187. Tribst, A.A.L., et al., *Are stirring and homogenisation processes capable of improving physicochemical and sensory characteristics of stirred yoghurt produced with fresh, refrigerated and frozen/thawed sheep milk?* International Dairy Journal, 2020. **109**: p. 104778.
188. Ciron, C.I.E., et al., *Comparison of the effects of high-pressure microfluidization and conventional homogenization of milk on particle size, water retention and texture of non-fat and low-fat yoghurts*. International Dairy Journal, 2010. **20**(5): p. 314-320.
189. Shaker, R.R., R.Y. Jumah, and B. Abu-Jdayil, *Rheological properties of plain yogurt during coagulation process: impact of fat content and preheat treatment of milk*. Journal of Food Engineering, 2000. **44**(3): p. 175-180.
190. Parnell-Clunies, E., et al., *Gelation profiles of yogurt as affected by heat treatment of milk*. Journal of Dairy Science, 1988. **71**(3): p. 582-588.
191. Béal, C., *La fermentation lactique: des fonctionnalités multiples pour les produits fermentés*. AgroParis Tech. P1-67, 2015.
192. Schmidt, C., et al., *Fermented milk products: effects of lactose hydrolysis and fermentation conditions on the rheological properties*. Dairy Science & Technology, 2015. **96**(2): p. 199-211.
193. Dwight Brown, C. and P.M. Townsley, *Fermentation of Milk by Lactobacillus bifidus — bf*. Canadian Institute of Food Technology Journal, 1970. **3**(4): p. 121-129.
194. Rajagopal, S.N. and W.E. Sandine, *Associative growth and proteolysis of Streptococcus thermophilus and Lactobacillus bulgaricus in skim milk*. Journal of dairy science, 1990. **73**(4): p. 894-899.

195. Radke-Mitchell, L.C. and W.E. Sandine, *Influence of temperature on associative growth of Streptococcus thermophilus and Lactobacillus bulgaricus*. Journal of dairy science, 1986. **69**(10): p. 2558-2568.
196. bullard, j., *Interaction de bacteries lactiques productrices d EPS et effet sur les proprietes rheologique du yaourt*. 2011.
197. Yilmaz, M.T., et al., *Effect of in situ exopolysaccharide production on physicochemical, rheological, sensory, and microstructural properties of the yogurt drink ayran: an optimization study based on fermentation kinetics*. J Dairy Sci, 2015. **98**(3): p. 1604-24.
198. O'Connell, J.E. and P.F. Fox, *The two-stage coagulation of milk proteins in the minimum of the heat coagulation time-pH profile of milk: Effect of casein micelle size*. Journal of dairy science, 2000. **83**(3): p. 378-386.
199. Lucey, J.A. and H. Singh, *Acid coagulation of milk*, in *Advanced dairy chemistry—1 proteins*. 2003, Springer. p. 1001-1025.
200. Leal-Calderon, F., V. Schmitt, and J. Bibette, *Emulsion science: basic principles*. 2007: Springer Science & Business Media.
201. M. Isleten, Y.K.-Y., *Effects of Dried Dairy Ingredients on Physical and Sensory Properties of Nonfat Yogurt*. Journal of Dairy Science, 2006. **89**(8): p. 2865-2872.
202. Bruzantin, F.P., et al., *Physicochemical and sensory characteristics of fat-free goat milk yogurt with added stabilizers and skim milk powder fortification*. Journal of Dairy Science, 2016. **99**(5): p. 3316-3324.
203. Krempel, M., K. Griffin, and H. Khouryieh, *Hydrocolloids as Emulsifiers and Stabilizers in Beverage Preservation*. 2019: p. 427-465.
204. Shinoda, K. and H. Saito, *The stability of O/W type emulsions as functions of temperature and the HLB of emulsifiers: the emulsification by PIT-method*. Journal of colloid and interface science, 1969. **30**(2): p. 258-263.
205. Boyd, J., C. Parkinson, and P. Sherman, *Factors affecting emulsion stability, and the HLB concept*. Journal of Colloid and Interface Science, 1972. **41**(2): p. 359-370.
206. Tan, H.L. and K.M. McGrath, *Na-caseinate/oil/water systems: emulsion morphology diagrams*. J Colloid Interface Sci, 2012. **381**(1): p. 48-58.
207. Eric Dickinson, M.G., Malcolm J. W. Povey, *Creaming and Flocculation of Oil-in-Water Emulsions Containing Sodium Caseinate*. Journal of colloid and interface science, 1997. **185**: p. 515-529.
208. Morell, P., et al., *How is an ideal satiating yogurt described? A case study with added-protein yogurts*. Food Research International, 2015. **78**: p. 141-147.
209. Derkach, S.R., *Rheology of emulsions*. Adv Colloid Interface Sci, 2009. **151**(1-2): p. 1-23.
210. El-Hininaway, S.I., El-Saied, H. M., Fahmy, A., El-Shireeny, A. A., & El-Sahy, K. M. , *Viscosity and Gelatinization Characteristics of Hydroxyethyl Starch*. Starch-Starke, 1982. **34**(4): p. 112-114.
211. Mi, J., et al., *Effect of hydroxypropyl distarch phosphate on the physicochemical characteristics and structure of shrimp myofibrillar protein*. Food Hydrocolloids, 2021: p. 107417.
212. Cui, B., et al., *The interaction between casein and hydroxypropyl distarch phosphate (HPDSP) in yogurt system*. Food Hydrocolloids, 2014. **37**: p. 111-115.

213. Walstra, P., *Principles of emulsion formation*. Chemical engineering science, 1993. **48**(2): p. 333-349.
214. Guzey, D. and D.J. McClements, *Formation, stability and properties of multilayer emulsions for application in the food industry*. Advances in colloid and interface science, 2006. **128**: p. 227-248.
215. Van de Voort, F.R., & Ismail, A. A., *Interfacial, foaming and emulsifying characteristics of sodium caseinate as influenced by protein concentration in solution*. Food Hydrocolloids, 2005. **19**: p. 407-416.
216. McClements, D.J., *Food emulsions: principles, practices, and techniques*. 2004: CRC press.
217. Takamura, A., et al., *Effect of homogenization conditions on the physicochemical properties of emulsion bases*. Chemical and pharmaceutical bulletin, 1983. **31**(8): p. 2786-2792.
218. Dickinson, E., *Properties of emulsions stabilized with milk proteins: overview of some recent developments*. Journal of Dairy Science, 1997. **80**(10): p. 2607-2619.
219. Perrechil, F.A. and R.L. Cunha, *Oil-in-water emulsions stabilized by sodium caseinate: Influence of pH, high-pressure homogenization and locust bean gum addition*. Journal of Food Engineering, 2010. **97**(4): p. 441-448.
220. Schuster, D., *Encyclopedia of emulsion technology: basic theory*. Vol. 1. 1983: CRC Press.
221. Canselier, J.-P. and M. Poux, *Procédés d'émulsification. Mécanismes de formation des émulsions*. Techniques de l'ingénieur. Génie des procédés, 2004. **2**(J2152): p. J2152. 1-J2152. 12.
222. Schultz, S., et al., *High-pressure homogenization as a process for emulsion formation*. Chemical Engineering & Technology: Industrial Chemistry-Plant Equipment-Process Engineering-Biotechnology, 2004. **27**(4): p. 361-368.
223. Anne-Marie, P.-L., *Conception des produits cosmétiques: la formulation*. 2014: Lavoisier.
224. Li, Y. and D. Xiang, *Stability of oil-in-water emulsions performed by ultrasound power or high-pressure homogenization*. PLoS One, 2019. **14**(3): p. e0213189.
225. Lawless, H.T. and H. Heymann, *Sensory evaluation of food: principles and practices*. Vol. 2. 2010: Springer.
226. Karagul-Yuceer, Y. and M. Drake, *Sensory analysis of yogurt*. Manufacturing yogurt and fermented milks, 2006: p. 265-270.
227. Pense-Lheritier, A.-M., *Analyse sensorielle et univers cosmetique*. Acta Chim, 2008: p. 323-324.
228. Amerine, M.A., R.M. Pangborn, and E.B. Roessler, *Principles of sensory evaluation of food*. 2013: Elsevier.
229. Keetels, M. and J. Vroomen, *Perception of synchrony between the senses*. The neural bases of multisensory processes, 2012.
230. Matlin, M.W. and H.J. Foley, *Sensation and perception*. 1992: Allyn & Bacon.
231. Krishna, A., *An integrative review of sensory marketing: Engaging the senses to affect perception, judgment and behavior*. Journal of consumer psychology, 2012. **22**(3): p. 332-351.
232. Finke, R.A. and M.J. Schmidt, *The quantitative measure of pattern representation in images using orientation-specific color aftereffects*. Perception & Psychophysics, 1978. **23**(6): p. 515-520.

233. Strigler, F., et al., *Les épreuves discriminatives et descriptives. Évaluation sensorielle: Manuel méthodologique* (3 ed., pp. 99–197). Paris: Lavoisier, 2009.
234. Akalın, A.S., et al., *Microstructural, textural, and sensory characteristics of probiotic yogurts fortified with sodium calcium caseinate or whey protein concentrate*. Journal of Dairy Science, 2012. **95**(7): p. 3617-3628.
235. Gambaro, A., A.N.A. Gimenez, and J. Burgueño, *Sensory and instrumental evaluation of strawberry yogurt color*. Journal of sensory studies, 2001. **16**(1): p. 11-22.
236. Routray, W. and H.N. Mishra, *Scientific and technical aspects of yogurt aroma and taste: a review*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2011. **10**(4): p. 208-220.
237. Tomaschunas, M., et al., *Effects of casein-to-whey protein ratio, fat and protein content on sensory properties of stirred yoghurt*. International dairy journal, 2012. **26**(1): p. 31-35.
238. Lease, H., et al., *<A sensory-diet database- a tool to characterise the sensory qualities of diets.pdf>*. Food Quality and Preference, 2016. **49**: p. 20-32.
239. Meilgaard, M.C., B.T. Carr, and G.V. Civille, *Sensory evaluation techniques*. 1999: CRC press.
240. Sharif, M.K., et al., *Sensory evaluation and consumer acceptability*. Handbook of food science and technology, 2017: p. 361-386.
241. Lefebvre, A. and J.-F. Bassereau, *L'analyse sensorielle, une méthode de mesure au service des acteurs de la conception: ses avantages, ses limites, ses voies d'amélioration*. Application aux emballages, 2003. **10**: p. 3-11.
242. Bi, J., *Sensory discrimination tests and measurements: Sensometrics in sensory evaluation*. 2015: John Wiley & Sons.
243. Stone, H., et al., *Sensory evaluation by descriptive sensory analysis*. Food Technol, 2004. **28**: p. 11-24.
244. Hough, G., et al., *Number of consumers necessary for sensory acceptability tests*. Food quality and preference, 2006. **17**(6): p. 522-526.
245. Galmarini, M.V., et al., *Understanding apple consumers' expectations in terms of likes and dislikes. Use of comment analysis in a cross-cultural study*. Appetite, 2013. **62**: p. 27-36.
246. Chollet, M., et al., *Acceptance of sugar reduction in flavored yogurt*. Journal of dairy science, 2013. **96**(9): p. 5501-5511.
247. Lawless, H.T. and H. Heymann, *Acceptance and preference testing*, in *Sensory evaluation of food*. 1999, Springer. p. 430-479.
248. Benjelloun, S., B. Bouchra, and O. Tilila, *Les produits laitiers dans le comportement alimentaire du consommateur marocain*. Lait et produits laitiers en Méditerranée. Des filières en pleine restructuration, 2006: p. 235.
249. Mkik, S., A. Aomari, and A. Chakor, *Produits d'origine animale et comportement du consommateur marocain: Quelle intégration de l'éthique animale dans les pratiques de consommation?* Revue Marocaine de Recherche en Management et Marketing, 2020. **12**(1): p. 215-238.
250. Moussaid, H. and M.N. Benmoussa, *Les antécédents de l'attitude du consommateur marocain en matière des aliments fonctionnels: Une approche qualitative exploratoire*. Revue Internationale du Marketing et Management Stratégique, 2019. **1**(4).

251. Kissi, L., *Perception des consommateurs marocains vis à vis du marketing santé dans l'agroalimentaire et considération éthique*. La Revue Marocaine de Contrôle de Gestion, 2019(8).
252. marché, s.d.l.a.a., *Profil des consommateurs maroc*. Agriculture et agro-alimentaire canada, 2014.
253. Heertje, I., J. Visser, and P. Smits, *Structure formation in acid milk gels*. Food Structure, 1985. **4**(2): p. 10.
254. El Bouchikhi, S., et al., *Syneresis investigations of lacto-fermented sodium caseinate in a mixed model system*. BMC Biotechnol, 2019. **19**(1): p. 57.
255. John A. Boxall, C.A.K., E. Dendy Sloan, Amadeu K. Sum, David T. Wu, *Measurement and Calibration of Droplet Size Distributions in Water-in-Oil Emulsions by Particle Video Microscope and a Focused Beam Reflectance Method*. Industrial & Engineering Chemistry Research, 2010. **49**: p. 1412-1418.
256. Jurado, E., et al., *Estimation of the distribution of droplet size, interfacial area and volume in emulsions*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2007. **295**(1-3): p. 91-98.
257. Van Vliet, T., et al., *Relation between syneresis and rheological properties of particle gels*. Colloid and Polymer Science, 1991. **269**(6): p. 620-627.
258. Kunitz, M., *Syneresis and swelling of gelatin*. Journal of General Physiology, 1928. **12**(2): p. 289-312.
259. Ratnayake, W.S. and D.S. Jackson, *Starch gelatinization*. Advances in food and nutrition research, 2008. **55**: p. 221-268.
260. Zuo, J.Y., et al., *Effect of the extent of pasting on the dynamic rheological properties of acidified skim milk gels containing normal rice starch*. Food Hydrocolloids, 2008. **22**(8): p. 1567-1573.
261. Mizrahi, S., *Syneresis in food gels and its implications for food quality*. 2010: p. 324-348.
262. Lobato-Calleros, C., et al., *Impact of native and chemically modified starches addition as fat replacers in the viscoelasticity of reduced-fat stirred yogurt*. Journal of Food Engineering, 2014. **131**: p. 110-115.
263. Soukoulis, C., et al., *Industrial Yogurt Manufacture: Monitoring of Fermentation Process and Improvement of Final Product Quality*. Journal of Dairy Science, 2007. **90**(6): p. 2641-2654.
264. Williams, R.P.W., O. Glagovskaia, and M.A. Augustin, *Properties of stirred yogurts with added starch: effects of alterations in fermentation conditions*. Australian Journal of Dairy Technology, 2003. **58**(3): p. 228.
265. Wade, T., et al., *Electroacoustic determination of size and zeta potential of casein micelles in skim milk*. Journal of dairy research, 1996. **63**(3): p. 387-404.
266. Lee, W.J. and J.A. Lucey, *Structure and physical properties of yogurt gels: Effect of inoculation rate and incubation temperature*. Journal of dairy science, 2004. **87**(10): p. 3153-3164.
267. Ropciuc, S. and A. Dabija, *Monitoring the fermentation process and the quality improvement of yogurt with added starch*. International Multidisciplinary Scientific GeoConference: SGEM, 2016. **3**: p. 293-300.
268. Dickinson, E., *Strategies to control and inhibit the flocculation of protein-stabilized oil-in-water emulsions*. Food Hydrocolloids, 2019. **96**: p. 209-223.

269. Eric Dickinson, M.G., *Depletion flocculation of emulsions containing unadsorbed sodium caseinate*. Food Hydrocolloids, 1997. **11**: p. 13-18.
270. Huck-Iriart, C., et al., *New insights about flocculation process in sodium caseinate-stabilized emulsions*. Food Res Int, 2016. **89**(Pt 1): p. 338-346.
271. Yerramilli, M. and S. Ghosh, *Long-term stability of sodium caseinate-stabilized nanoemulsions*. J Food Sci Technol, 2017. **54**(1): p. 82-92.
272. Paul Jenkinsa, M.S., *Depletion flocculation in colloidal dispersions*. Advances in Colloid and Interface Science. **68**: p. 57-96
273. Santos, J., N. Calero, and J. Muñoz, *Optimization of a green emulsion stability by tuning homogenization rate*. Rsc Advances, 2016. **6**(62): p. 57563-57568.
274. Bonnet, C., M. Corredig, and M. Alexander, *Stabilization of caseinate-covered oil droplets during acidification with high methoxyl pectin*. Journal of agricultural and food chemistry, 2005. **53**(22): p. 8600-8606.
275. Everett, D.W. and R.E. McLeod, *Interactions of polysaccharide stabilisers with casein aggregates in stirred skim-milk yoghurt*. International Dairy Journal, 2005. **15**(11): p. 1175-1183.
276. M Temesgen, S.Y., *Effect of Application of Stabilizers on Gelation and Syneresis in Yoghurt*. Food Science and Quality Managemen, 2015. **37**.
277. Damin, M.R., et al., *Effects of milk supplementation with skim milk powder, whey protein concentrate and sodium caseinate on acidification kinetics, rheological properties and structure of nonfat stirred yogurt*. LWT-Food Science and Technology, 2009. **42**(10): p. 1744-1750.
278. Guzmán-González, M., et al., *Influence of skimmed milk concentrate replacement by dry dairy products in a low fat set-type yoghurt model system. I: Use of whey protein concentrates, milk protein concentrates and skimmed milk powder*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1999. **79**(8): p. 1117-1122.
279. Marafon, A.P., et al., *Effects of partially replacing skimmed milk powder with dairy ingredients on rheology, sensory profiling, and microstructure of probiotic stirred-type yogurt during cold storage*. Journal of Dairy Science, 2011. **94**(11): p. 5330-5340.
280. Marafon, A.P., et al., *Optimization of the rheological properties of probiotic yoghurts supplemented with milk proteins*. LWT-Food Science and Technology, 2011. **44**(2): p. 511-519.
281. Delikanli, B. and T. Ozcan, *Improving the textural properties of yogurt fortified with milk proteins*. Journal of Food Processing and Preservation, 2017. **41**(5): p. e13101.
282. Tournier, C., et al., *A study on texture–taste–aroma interactions: Physico-chemical and cognitive mechanisms*. International Dairy Journal, 2009. **19**(8): p. 450-458.
283. Furtado, G.F., et al., *Breaking oil-in-water emulsions stabilized by yeast*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2015. **128**: p. 568-576.
284. Supavitpatana, P., T.I. Wirjantoro, and P. Raviyan, *Effect of sodium caseinate and whey protein isolate fortification on the physical properties and microstructure of corn milk yogurt*. CMU. J. Nat. Sci, 2009. **8**(2): p. 247-263.
285. Chua, D., et al., *Altering the casein to whey protein ratio to enhance structural characteristics and release of major yoghurt volatile aroma compounds of non-fat stirred yoghurts*. International Dairy Journal, 2017. **74**: p. 63-73.

286. Kora, E.P., et al., *Texture-flavor interactions in low fat stirred yogurt: How mechanical treatment, thickener concentration and aroma concentration affect perceived texture and flavor*. Journal of Sensory Studies, 2003. **18**(5): p. 367-390.
287. Saint-Eve, A., E. Paçi Kora, and N. Martin, *Impact of the olfactory quality and chemical complexity of the flavouring agent on the texture of low fat stirred yogurts assessed by three different sensory methodologies*. Food Quality and Preference, 2004. **15**(7-8): p. 655-668.
288. de Araujo, I.E., et al., *Cognitive Modulation of Olfactory Processing*. Neuron, 2005. **46**(4): p. 671-679.
289. Tournier, C., C. Sulmont-Rossé, and E. Guichard, *Flavour perception: aroma, taste and texture interactions*. 2007, Global Science Books.
290. Kora, E.P., *Interactions physico-chimiques et sensorielles dans le yaourt brassé aromatisé: quels impacts respectifs sur la perception de la texture et de la flaveur?* 2004, INAPG (AgroParisTech).
291. Fabra, M.J., et al., *Aroma barrier properties of sodium caseinate-based films*. Biomacromolecules, 2008. **9**(5): p. 1406-1410.
292. Landy, P., et al., *Effect of chemical modification of sodium caseinate on diffusivity of aroma compounds in aqueous solutions*. Journal of agricultural and food chemistry, 1997. **45**(7): p. 2649-2653.
293. Saint-Eve, A., et al., *Influence of proteins on the perception of flavored stirred yogurts*. Journal of dairy science, 2006. **89**(3): p. 922-933.
294. Saint-Eve, A., et al., *How can protein ratio affect aroma release, physical properties and perceptions of yoghurt?*, in *Developments in Food Science*. 2006, Elsevier. p. 391-394.

Résumé : Dans cette recherche une approche intégrée galénique et sensorielle a été mise en œuvre pour la conception d'un produit fonctionnel, un yaourt assimilé à base de l'huile d'argan. Des tests pharmaco-techniques et d'analyse sensorielle ont été réalisés afin d'optimiser sa formulation. La première partie de ce travail a permis de mettre en évidence l'influence du caséinate de sodium, de l'amidon, du lactose et du ferment, sur la formation d'un gel acide et d'évaluer sa stabilité en mesurant sa synérèse. Le niveau de synérèse optimal a été atteint quand les concentrations en caséinate de sodium et en amidon dépassent 5% et 1% respectivement. La deuxième partie, a consisté en la formulation d'une émulsion à base de l'huile d'argan à 20% H/E stabilisée par Lacto-fermentation. Une conception expérimentale a donc été proposée avec un mélange de facteurs sélectionnés: huile d'argan (10-20%), caséinate de sodium (0-2%) et amidon (0-1,5%) ainsi que la vitesse d'homogénéisation (V) (10000-20000 tr / min) et la durée d'homogénéisation (T) (5-20min). Le résultat optimal a été atteint pour l'émulsion préparée avec tous les facteurs à leur maximum, présentant la granulométrie la plus faible (11,27 µm) et l'indice de crémage le plus élevé. La troisième et dernière partie de cette recherche a permis de réaliser un ensemble de tests sensoriels, répondant à un protocole spécifique (NF ISO 13299), pour définir le profil sensoriel du produit formulé et optimiser sa formulation. Les conditions appliquées pour optimiser la formulation étaient la réduction de la concentration en caséinate de sodium de 2% à 1% avec une adaptation du processus de production et l'aromatization du produit.

Mots clés : Aliments fonctionnels, Produits laitiers fermentés, Lacto-fermentation, Synérèse, Caseinate de sodium, Amidon, Huile d'argan, Émulsions H/E, Indice de crémage, Analyses sensorielles.

ABSTRACT: This research implemented an integrated galenic and sensory approach to design a functional yogurt-like product based on argan oil. Physicochemical and sensory analysis tests were conducted to optimize its formulation. A first study made it possible to highlight the influence of sodium caseinate, starch, lactose, and ferment on the formation of an acid gel and to evaluate its stability by measuring its syneresis. The results showed that in a mixed sodium caseinate-starch system, syneresis was reduced to its optimum level when the concentration of sodium caseinate was greater than 5% and the concentration of starch was more significant than 1%. The second study aimed to formulate an emulsion based on 20% O / W argan oil stabilized by Lacto-fermentation. An experimental design was proposed with a mixture of selected factors: argan oil (10-20%), sodium caseinate (0-2%), and starch (0-1.5%), as well as the homogenization rate. (V) (10,000-20,000 rpm) and the homogenization time (T) (5-20min). The optimum result was achieved for the emulsion prepared with all the factors at their maximum, whose average particle size was 11.27 µm, and creaming index the highest. The third and final part of this research made it possible to carry out a set of sensory tests, responding to a specific protocol (NF ISO 13299), to define the formulated product's sensory profile and optimize its formulation. The conditions applied to optimize formulation were reducing sodium caseinate concentration from 2% to 1% with an adaptation of the production process and the flavoring of the product.

Keys words: Functional foods, Fermented milk products, Lacto-fermentation, Syneresis, Sodium caseinate, Starch, Argan oil, O/W Emulsions, Creaming index, Sensory analysis,

Structure de Recherche: Laboratoire de Biotechnologie.