

---

Soumis le : 30 Juin 2013  
 Forme révisée acceptée le : 16 Avril 2014  
 Email de l'auteur correspondant :  
 hadjith@yahoo.fr

---



---

**Nature & Technology**

---

## **Effet du jus de cladodes d'*Opuntia ficus indica* sur la fermentation du lait et la croissance des bactéries lactiques et probiotiques**

HADJ SADOK T.<sup>a</sup>, AID F.<sup>b</sup>, DOUMANDJI A.<sup>a</sup> et BELLAL M.<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Laboratoire de biochimie, département Agronomie, Faculté des Sciences .Agrovétérinaires, Sâad Dahleb Blida, Algérie

<sup>b</sup> Laboratoire de Physiologie Végétale, LBPO, Faculté des Sciences Biologiques, USTHB, BP 32 El Alía, Algérie

<sup>c</sup> Département Technologie alimentaire et nutrition, ENSA, Algérie

---

### **Résumé**

Le jus de jeunes cladodes d'*Opuntia ficus indica* dont la composition met en évidence une teneur intéressante en polyphénols, fibres et vitamines C, peut justifier son utilisation comme additif dans le yaourt. Il stimule parallèlement la croissance des bactéries lactiques, en cours de fermentation. La cinétique de croissance montre qu'en présence de 20% de jus les *Streptococcus thermophilus* atteignent en 6h d'incubation  $182,25.10^7$  UFC/ml u soit une augmentation de 20% comparée au témoin sans jus  $126 \times 10^7$  UFC/ml, l'effet est hautement significatif au seuil de 5%.. La croissance de *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* atteint une augmentation de plus de 100% en présence du jus comparé au témoin avec respectivement  $440,50.10^3$  UFC/ml et  $223,50.10^3$  UFC/ml.

Cette croissance est accompagnée par un effet significatif sur la cinétique d'acidification du lait (masse blanche) en 6 heures ( $P < 0.05$ ). Concernant les *Bifidobacterium longum*, leur croissance et leur survie est moins influencée par le jus, mais la différence reste significative en 6 h ( $P < 0.05$ ) avec  $3,14.10^7$  comparé au témoin  $2,20.10^7$  (soit plus de 30%). Les nutriments dont les sucres, acides aminés et mucilages apportés par le jus ont un effet significatif sur la cinétique de croissance et la survie de ces bactéries.

La diminution du taux de sucres réducteurs du jus et de la solution de mucilage en présence des bactéries lactiques confirme leur métabolisation et leur influence sur la croissance malgré la présence de polyphénols et autres substances secondaires. En présence de bactéries lactiques et probiotiques le taux de sucres réducteurs du jus diminue de façon significative ( $P < 0.05$ ) en 6 heures soit de 36%.

L'addition des bactéries lactiques à une solution de mucilage à 10% (p/v) a mis en évidence une réduction du taux de sucres réducteurs de 0,86 à 0,39 g/100g MS en 6h soit une diminution de 55%, ce qui est indicateur de la contribution des mucilages à la croissance des bactéries lactiques. Par conséquent, la croissance observée est liée aux sucres du jus et notamment aux mucilages qui se comportent comme des prébiotiques.

En présence de chacune des bactéries lactiques isolées, le jus a eu pour effet un ralentissement de la croissance de *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* et *Bifidobacterium longum*, mais a eu une influence stimulatrice sur *Streptococcus thermophilus* et *Bifidobacterium infantis* comparé au témoin.

**Mots clés:** *Opuntia ficus indica*, jus de cladodes, composition, mucilage, bactéries lactiques et probiotiques, acidité, Sucres réducteurs.

### **Abstract:**

Juice of *Opuntia ficus indica* young cladodes whose composition emphasize an interesting content in polyphenols, fibers and vitamins can justify its use as additive in yoghurt. In the same time, It stimulates the growth of lactic bacteria while fermentation. The growth kinetic showed that in presence of 20% juice, the *Streptococcus thermophilus* reached within 6h of incubation  $182.5.10^7$  UFC/ml representing an increasing higher than 20% compared to the control without juice  $126.10^7$  UFC/ml, the effect is highly significant at 5% threshold. The *Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus* growth reached an increasing higher than 100% in presence of juice compared to the control with respectively  $440.50.10^3$ UFC/ml and  $223.50.10^3$ UFC/ml.

**Revue « Nature & Technologie ». B- Sciences Agronomiques et Biologiques, n° 11/Juin 2014. Pages 17 à 29**

This growth is accompanied with a significant effect on the milk (white mass) acidification kinetic ( $P < 0.05$ ) within 6 hours. Regarding the *Bifidobacterium longum*, their growth and survival is less influenced by the juice, but the difference is still significant within 6 h ( $P < 0.05$ ) with  $3.14 \cdot 10^7$  compared to the control  $2.20 \cdot 10^7$  (so be it more than 30%). Nutrients of which sugars, amino-acids and mucilage brought by the juice had a significant effect on the growth kinetic and bacteria survival.

Decreasing of the juice reducing sugars rate and of the mucilage solution in presence of lactic bacteria, confirm their metabolisation and their influence on growth in spite of the presence of polyphenols and other secondary substances. In presence of lactic bacteria and probiotics\*, the juice reducing sugars rate decreases in a significant way ( $P < 0.05$ ) within 6 hours, so be it 36%.

Addition of lactic bacteria to a solution of mucilage at 10% (p/v) showed a decrease of reducing sugars rate from 0.86 to 0.39 g/100 g DM in 6 hours, thus a decrease of 55% indicating a contribution of mucilage in the growth of lactic bacteria. Therefore, the observed growth is related to the juice sugars and in particular to the mucilage which behave as prebiotics.

In presence of each of the isolated lactic bacteria, the juice has had as effect the *Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus* and *Bifidobacterium longum* slowing down growth, but had a stimulating influence on *Streptococcus thermophilus* and *Bifidobacterium infantis* if compared to the control.

**Key words :** Opuntia ficus indica, cladodes juice, composition, mucilage, lactic bacteria and probiotics, acidity, reducing sugars.

## 1. Introduction

L'*Opuntia ficus indica* ou figuier de barbarie, est une plante de type CAM (Crassulacean Acid Metabolism) [1] qui présente des adaptations physiologiques et morphologiques, lui permettant de résister aux conditions difficiles des régions arides et semi arides.

Elle est actuellement intégrée dans les stratégies de lutte contre la désertification dans différents pays [2;3; 4; 5 et 6].

Dans certains pays, l'*Opuntia ficus indica* fait l'objet d'une culture à part entière, pour l'exploitation fourragère et maraichère [7 et 8]. En effet, c'est une plante dont toutes les parties peuvent être consommées : les tiges (ou cladodes) et les fruits.

La variété inerme présente par rapport à la variété épineuse, l'avantage d'être facilement manipulée et exploitée comme fourrage. Les cladodes peuvent constituer 35 à 40% de la ration alimentaire de base [9], et peuvent constituer une source d'eau pour les animaux.. Dans le cas d'agneaux nourris avec une part importante d'*Opuntia*, les besoins en eau sont pratiquement nuls [5]. Ils peuvent aussi être utilisés dans l'alimentation des petits animaux [10]

Les cladodes sont également valorisées dans l'industrie des cosmétiques. Elles sont utilisées comme additifs dans la fabrication de shampoing, lotions astringentes, crème, savon humectant, gel hydratants pour le visage, assouplissant de cheveux [11; 7 et 12]. Elles peuvent aussi stimuler leur régénération et leur mise en forme [13].

Elles sont aussi valorisées dans l'industrie chimique pour la préparation des adhésifs, du papier et du caoutchouc [14] et comme source de bioénergie et de biogaz. [15]. Leur mucilage composé essentiellement de polysaccharides complexes peut être utilisé comme additif dans de nombreux produits industriels et alimentaires [16 et 17]. Cependant, le mucilage a montré une différence de composition significative selon les variétés [18]

En outre, les jeunes cladodes ou "nopalitos" sont consommés comme légume dans certains pays d'Amérique du Sud, dont le Mexique [19 et 20]. Ces cladodes qui contiennent différentes molécules bioactives et fonctionnelles dont les flavonoïdes, sont particulièrement riches en fibres et minéraux [21].

Dans le domaine alimentaire, les jeunes cladodes sont utilisées au Chili et au Mexique, pour préparer la poudre de cladodes, les confitures, marmelade et divers plats [22]. Leurs mucilages qui constituent un apport de fibres alimentaires, améliorent la digestion [23], ont aussi des propriétés gélifiantes et épaississantes [24; 25 et 17]. Ce qui justifie leur introduction comme épaississant à la place des carboxyméthylcellulose (CMC) provenant de la modification de la cellulose [26]. Leurs fibres ouvrent ainsi, de nouvelles perspectives dans la préparation et la formulation des aliments [27; 21].

En plus de leur apport nutritionnel du à leur richesse en sucres, vitamines et minéraux et leur apport en substances bioactives : fibres, polyphénols et pigments (28 27; 29, 30 et 31), les cladodes ont un potentiel médicinal intéressant [32;33]. En effet, il est reconnu à cette plante un effet antioxydant, anti ulcère, diurétique, anti inflammatoire et cicatrisant [34;35 ; 36 ; 37]. Un effet hypoglycémique et hypochol

estérolémiant a été également observé [38; 39]. D'autres travaux mettent en évidence chez cette plante, des propriétés antivirales et antitoxiques vis à vis de l'insecticide Chlorpyrifos [27; 40].

Ainsi, cette plante constitue un candidat potentiel pour le développement d'aliments fonctionnels et sains [29 ; 27], répondant à la demande du consommateur, en aliment équilibré en calories, cholestérol, graisse, fibres alimentaires et antioxydant.

En Algérie, comme dans les autres pays du Maghreb, l'utilisation fourragère des cladodes est peu développée si l'on excepte leur utilisation pendant les périodes de sécheresse difficiles [41 et 42]. Quand à l'utilisation des jeunes cladodes dans l'alimentation humaine, elle est pratiquement méconnue. Les habitudes alimentaires constituent encore un frein à l'utilisation maraîchère des jeunes cladodes, contrairement aux pays d'Amérique du Sud ou la consommation qui ne cesse d'augmenter dépasse 6.36 kg/ an/personne [43 et 44].

Afin de tirer profit du potentiel nutritif et médicinal des cladodes d'*Opuntia*, leur incorporation sous forme de jus dans les aliments, pourrait constituer une alternative pour leur exploitation [30].

Nos travaux s'inscrivent dans cette perspective, en abordant la composition des cladodes selon le stade développement et les possibilités d'enrichissement des produits laitiers en vitamine C, fibres, polyphénols, avec le jus de cladodes. Les cladodes qui seront exploitées seront sélectionnées, en fonction du stade de croissance offrant une composition optimale en molécules bioactives et d'intérêt nutritionnel . Il sera ainsi abordé l'impact lié à l'addition du jus de cladodes pour l'enrichissement des produits laitiers, à travers leur effet sur la croissance des bactéries lactiques et probiotiques , d'une part ,et sur le procédé de fabrication notamment : l'acidification, l'évolution des sucres et des mucilages en cours de fermentation, et l'effet sur les caractéristiques sensorielles du yaourt, d'autre part.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1- Matériel d'étude

Les cladodes d'*Opuntia* ont été prélevées au niveau du piémont de Bou Arfa à 203m d'altitude. Cette région jouit d'un climat de type méditerranéen avec des températures moyennes de 24°C et des maxima et minima respectifs de 33,6°C et de 7°C

Le prélèvement des cladodes a été réalisé durant le mois de mai à partir de 10 arbustes. Ces cladodes âgées de moins de 3 mois, sont classées en 5 lots dont les poids sont compris entre 34g et 342g. Les échantillons sont conservés à 4°C pendant une durée n'excédant pas 3 jours avant leur analyse et exploitation. Celle-ci doit permettre le choix des stades dont la composition satisfait au maximum les besoins nutraceutiques [30]

#### 2.1.1- Préparation du matériel végétal

##### - Extraction du jus

Les cladodes sont nettoyées, découpées et leur jus est extrait et séparé par centrifugeuse à jus ménagère de marque Robotic, à 6200g. Le jus recueilli représente 35 à 37% du poids frais (P/P). Il est filtré sur papier Whatman N° 4 et concentré sous vide à 60% et conservé à -18°C ou directement lyophilisé.

##### - Préparation du mucilage

Le mucilage est préparé à partir du jus de jeunes cladodes fraîches de poids compris entre 80 et 120g, [30] par précipitation à l'éthanol. Le mucilage récupéré après centrifugation à 2000g pendant 20mn, est séché à 70°C pendant 4h [45 et 46].

Une solution mucilagineuse à 10% (p/v) est préparée après solubilisation de l'extrait sec dans de l'eau distillée.

##### - Préparation de la solution amylasique brute

La solution amylasique brute a été préparée à partir de graines d'orge germées pendant 72h et broyées dans 25 mL de solution de chlorure de sodium à 5‰, puis centrifugé à 1500g pendant 20mn et filtré. L'activité de l'amylase est mise en évidence à une température de 25°C en présence d'amidon à 1%, et de quelques gouttes de lugol (solution iodo-iodurée)

#### 2.1.2- Recueil des échantillons

Les échantillons sont recueillis au niveau de la chaîne de production de yaourt de laiterie Trèfle (Blida) juste après l'addition du ferment et le scellage des pots. Le produit est communément appelé «masse blanche» par les industriels.

##### - Préparation du lait et de la masse blanche (lait juste après addition de ferment)

Le lait utilisé pour la fabrication du yaourt au niveau de l'usine est un lait reconstitué préparé à partir d'un mélange de poudre de lait écrémée à 0% de matière grasse et de poudre partiellement écrémé avec 26% de MG. I.e lait obtenu est composé de 15.1% d'extrait sec total, dont 12.3% d'extrait sec dégraissé et de 2.8% de

matière grasse. Il est pasteurisé à 92°C puis refroidi à la température d'incubation (42-44°C).

#### - Addition des ferments et nature

Les ferments lactiques ensemencés sont *Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* dans le cas de la fabrication du yaourt, et un mélange de souches, comprenant les ferments lactiques et probiotiques dont *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium breve* et *Bifidobacterium longum* pour la préparation de produits probiotiques. Dès l'injection des ferments, les masses blanches destinées à la fabrication du yaourt et probiotiques sont récupérées de la chaîne de production, puis additionnées de jus de cladodes et incubées dans une étuve ventilée à 44°C et 40°C.

#### - Origine des bactéries lactiques et probiotiques utilisés :

- Les bactéries (*Bifidobacterium* spp) utilisées par l'unité TREFLE pour la préparation des yaourts probiotiques sont commercialisées sous le nom de «probiotique». Les ferments lactiques sont de marque «yomix» et proviennent du Danemark. Ils ont subi un contrôle de pureté avant leur utilisation.

- Les bactéries lactiques et probiotiques\* lyophilisées, conditionnées en capsules renferment 7 souches de bactéries, ont été utilisées pour suivre leur effet sur les sucres et mucilage, il s'agit de : *Bifidobacterium breve* (2%), *Bf\* longum* (2%), *Lactobacillus acidophilus* (5%), *Lb\* bulgaricus* (1%), *Lb\* casei* (50%), *Lb\* rhamnosus* (30%) et *Streptococcus thermophilus* (9%). Quelques milligrammes (1-3mg) de ce lyophilisat sont dilués dans 10mL de bouillon TSE (Tryptophane/Sel/Eau), avant d'être additionnés à la solution composée de 10% de mucilage et au jus de cladodes dans un rapport de 1/10mL.

## 2.2- Analyses chimiques et tests sensoriels

La teneur en matière sèche (MS) a été déterminée à une température de 105°C selon AOAC (1990). [47] et la teneur en matières minérales par incinération à 550°C pendant 4heures30 [48] (AOAC 1984), La concentration en degrés Brix (extrait sec soluble) est déterminée par

réfractomètre à 20°C. La teneur en fibre brute est déterminée par la méthode de référence [49] (AOAC, 1980). Le dosage des éléments minéraux a été effectué par spectrophotométrie de masse et le phosphate par colorimétrie

L'acidité est dosée selon la méthode normalisée (NFV05-101- 1974) avec NaOH 0,1N à pH8. Les résultats sont exprimés en % pour les jus et en degré Dornic (D°) pour le lait et les dérivés ( $1D^{\circ} = 0,01\%$ ). La cinétique d'acidification a été déterminée avec différentes doses de jus lyophilisé (réajusté à pH 6,8) (0, à 20 g p.100g MS de lait). Le mélange est incubé à 44°C lors de la fabrication du yaourt.

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé par le réactif de Folin-Ciocalteu à 760 nm, [50]. Les résultats sont exprimés en mg d'acide galliques / 1 L de jus par rapport à une gamme étalon. Les tanins sont dosés par la méthode colorimétrique avec le réactif Folin –Denis. Les résultats sont exprimés en mg d'acide tannique / L [51].

La teneur en caroténoïdes a été déterminée selon la méthode Lichtenthaler après extraction par l'acétone à 80% et centrifugation à 3000 g ; les résultats ont été exprimés en mg/L [52] et la teneur en acide ascorbique (vitamine C) par la méthode volumétrique selon la méthode AOAC [53]. (1990) par DCPIP (2,6 Dichlorophen olindophénol).

Les sucres totaux ont été dosés selon la méthode au phénol acide sulfurique [54]. Les résultats sont exprimés en g de glucose pour 100g de MS. Le dosage des sucres réducteurs est réalisé par la méthode au DNSA (acide dinitrosalicylique). Après dissolution de 1g d'échantillon dans 50 mL d'eau distillée pendant 30 mn et centrifugation (à 200 tr/10 mn), des dilutions de  $10^{-1}$  à  $10^{-3}$  sont préparées. Après prélèvement de 1 mL d'échantillon et addition de 2 mL de D.N.S.A, la solution est agitée et chauffée au bain marie pendant 7 mn puis refroidie et complétée par 20mL d'eau distillée. La densité optique est lue à 540 nm et les résultats sont exprimés par rapport à une gamme étalon de glucose en g/100g MS.

L'effet des bactéries lactiques et probiotiques \* (7souches) et des enzymes amylases sur les mucilages et le jus de cladodes a été étudié indirectement, par le suivi de l'évolution des sucres réducteurs. Le protocole a consisté au préalable, à mettre en évidence l'activité enzymatique de l'amylase provenant d'orge germé et celle des bactéries lactiques en préparant : - La solution 1 : de jus de cladodes (1mL) + solution d'amylase (1mL) et - la solution 2 de

mucilage à 10% (1mL) + solution amylase (1mL) et à doser la teneur en sucre réducteur du témoin et après incubation à 40°C, en présence de 0,1mL de solution bactérienne\* seule, et en présence de l'amylase dans les jus ou solutions de mucilage. Le spectrophotomètre

Bf\*: *Bifidobacterium* Lb\* : *Lactobacillus*

\* probiotiques commercialisés par laboratoire «probiotique»

utilisé pour l'ensemble des dosages est de marque UV mini 1240 SHIMADZU

**Tests sensoriels :** Pour évaluer l'acceptabilité du produit selon la dose de jus de cladodes additionné, le test a été réalisé de façon hédonique avec 50 personnes de différents âges et sexes Les paramètres évalués sont le goût, l'arome, la couleur et l'aspect.

## 2. 3- Analyse microbiologique en cours de fermentation

### 2.3.1- Effet du jus de cladodes sur la croissance des bactéries

Les travaux ont consisté à suivre le comportement des bactéries lactiques et probiotiques, en présence de doses croissantes de jus de cladodes additionné au lait (masse blanche). Le jus de cladodes représente 2,5 – 5 – 10 – 15 et 20% par rapport à la matière sèche du lait. Le mélange est incubé à 44°C pour la préparation du yaourt et 40°C pour la préparation de probiotiques. Des prélèvements de 0,1mL sont effectués après T= 0h ,1h30, 3h, 4h30, 6h et 24 heures et ensemencés sur gélose pour le dénombrement des bactéries. Le dénombrement est fait par référence à la méthode de Luquet et de Bourgeois: [ 55 ; 56].

Pour les bactéries *Streptococcus thermophilus*, le dénombrement est réalisé après ensemencement en profondeur sur gélose M17 et incubation à 37°C pendant 48 heures en conditions d'anaérobiose.

Dans les mêmes conditions d'anaérobiose est réalisé l'ensemencement de *Lactobacillus bulgaricus* sur milieu gélosé MRS (Man Rogosa et Shap) l'incubation est faite à 37°C pendant 72h.

Pour *Bifidobacterium longum* ensemencé sur gélose MRS–cystéiné, qui la croissance l'incubation se déroule à 37°C pendant 48 heures en conditions d'anaérobiose, en jarre pour culture en anaérobiose, après addition de poudre d'anaérogène (de marque oxoid fabriqué en Grande Bretagne). La cinétique de croissance des bactéries est déterminée parallèlement à celle de l'acidification.

### 2. 3. 2- Effet du jus de cladodes sur la croissance de chaque bactérie lactique isolée et incubée seule dans le lait

Avant utilisation, il est procédé à la réactivation et au contrôle de pureté des souches lactiques lyophilisées et Conservées à -18°C: *Streptococcus thermophilus*; *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus bulgaricus*

#### Isolement et développement en présence du jus de cladodes

Les souches *Streptococcus thermophilus*, sont réactivées après addition dans 5 ml de bouillon nutritif (BN) et incubation à 42°C pendant 24h. Les souches de *Lactobacillus bulgaricus* subissent un double repiquage sur BN et sont incubés à 37°C pendant 48h ;

*Bifidobacterium infantis*, et *Bifidobacterium longum* sont repiqués deux fois sur bouillon MRS et incubé à 37°C.

Aux tubes contenant ces souches est additionnée avant incubation une couche fine de l'huile de vaseline ou de paraffine stérile pour maintenir l'anaérobiose.

L'isolement et le développement des souches sont réalisés après ensemencement en profondeur : sur gélose M17 pour *Streptococcus thermophilus*, et MRS pour *Lactobacillus bulgaricus* et MRS Cystéiné pour *Bifidobacterium longum*, l'ensemencement est réalisé en profondeur sur gélose Columbia pour *Bifidobacterium infantis*, et incubation à 37°C pendant 24 heures.

La préparation des précultures est réalisée après incubation en ensemencant une colonie de chaque souche de bactéries dans le lait reconstitué stérilisé. Elles sont incubées pendant 18h à 37°C, et pour *Sc. thermophilus* à 42°C

Un volume de chaque pré culture de bactéries est ensemencé dans des tubes contenant du lait écrémé seul (9mL) et des tubes contenant du lait additionné de jus de jeunes cladodes concentré et réajusté à PH 6,8. Durant l'incubation, des prélèvements de 1ml sont effectués aux temps T0 (15-30mn), jusqu'à 6h et en 24 heures (T24) et additionnés à 9ml de TSE. Ils constituent la **suspension mère ou dilution 10<sup>-1</sup>** à partir de laquelle sont préparées les autres dilutions et le repiquage en double sur gélose approprié - L'incubation se déroule en jarre pour culture en anaérobiose.

Les résultats sont exprimé en Log UFC/mL (unité formant colonie/mL)

Les analyses statistiques ont été effectuée selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5% avec le logiciel STATITCEF version 4 copy right 87 / 88. Si la probabilité est supérieure ou égale à 0.05, l'effet n'est pas significatif.

## 3. Résultats et discussion

### 3.1- Caractéristiques et composition chimique des cladodes et du jus selon les stades de croissance

Lots	1	2	3	4	5	Probabilité	Test Newman et keuls
Poids en g	34,67± 3,51	60,23± 9,51	105 ±14,35	172 ±12,21	342± 24,54	0,0000	T H S
Longueur (cm)	12,5 ±0,77	15 ± 2,11	20,19 ±2,00	24,5 ±2,2	30±2,00	0,0000	T H S
Largeur (cm)	6,47 ± 0,95	8,10 ± 0,50	9,28 ±0,75	11,83±0,88	13,65±0,58	0,0001	T H S
Matière sèche en % MF	8,14±0,045	7,73±0,26	7,47±0,036	6,83±0,045	5,77± 0,065	0,139	NS
Matière minér. en % MS	13,04±0,091	13,63±0,072	14,12±0,052	14,73±0,069	15,30±0,03	0,0418	S
Polyphénols en mg/ 100g	41,6±04,00	38,72 ± 0,7	32,6±0,3	30,1±0,373	23,4±0,2	0,0000	T H S
Tanins condensés mg/100g	7,167±0,15	7,70±0,30	7,501±0,60	6,67±0,12	7,06±0,15	0,0183	S
Acide ascorbique en mg/ 100g	14,73±1,32	13,52±0,90	11,07±1,00	9,87±0,78	7,28±0,32	0,0000	THS

**Tableau 1:** répartition des lots de cladodes et caractéristiques selon le stade de croissance



Une corrélation hautement significative entre les paramètres de croissance des cladodes (poids, longueur et largeur) a été mise en évidence ; les échantillons sont donc homogènes. La teneur en matière sèche des cladodes diminue en cours de croissance (8,14 à 5,77 %), indiquant une teneur en eau élevée (Tableau 1). Celle des jeunes cladodes du stade 1 à 3, se rapproche de celle des légumes feuillus dont les endives, les épinards et le céleri [57]. Les jeunes cladodes sont les mieux pourvus en polyphénols et acide ascorbique notamment au stade 1 à 3 avec respectivement 41,6 à 32,6 mg/100g et 14,73 à 11,07mg/100g (Tableau 1). La teneur en acide ascorbique diminue de manière significative en fonction du stade de croissance (Tableau 1); Elle est proche de celle observée par DeKock [58] dans les cladodes entières avec 13,0 à 20,0mg/100g, mais elle est plus faible comparée à celle du fruit où elle atteint 26 à 45,0mg/100g [59 et 60]. En tenant compte du poids des cladodes et de la composition, nos jeunes cladodes du stade 1 à 4, sont les mieux adaptées pour l'alimentation et l'exploitation [30].

Les caroténoïdes avec 0,023 à 0,069mg/g, sont faiblement représentés comparés aux cladodes de variétés mexicaines dont les teneurs sont de 0,33 à 0,38 mg/g MF [61]. Elles sont nettement plus faibles que celles des fruits qui atteignent 2,5mg/100g [59].

Mais leur teneur est proche de celles des organes verts et légumes qui contiennent entre 0,01 et 9mg/100g [57].

Les tanins condensés représentent près de 7,1mg/100g de jus de cladodes, leurs taux sont moins liés au stade de croissance que les polyphénols dont la teneur reste plus élevée que celle du fruit avec 29 mg/kgMF [59] et des jus d'orange [62]. La teneur en polyphénols diminue de façon significative selon le stade de développement.

La teneur en matières minérales ~~qui~~ augmente de façon significative en cours de croissance (13 à 15,30% de la matière sèche); est plus élevée que celle des légumes d'utilisation courante (Tableau 1).

L'acidité du jus de cladodes augmente de façon significative

**Tableau 2:** Caractéristiques des jus de cladodes

Composition Jus de cladodes	Stade1	Stade2	Stade3	Stade4	Stade5	probabilité au Seuil de 5%	Test Newman et keuls
Acidité en %	0,28±0,02	0,6±0,08	0,76±0,06	0,82±0,04	0,93±0,02	0,000	T H S
extrait sec soluble en % (°Brix)	4,47±0,04	4,4±0,03	4,37±0,07	4,33±0,06	4,22±0,088	0,000	H S
Acide ascorbique en mg/L(vitC)	93±2,32	85±0,92	69±1,10	46±0,78	23±1,32	0,0000	T H S

\* THS : très hautement significatif, HS : hautement significatif S : significatif

selon les stades de croissance passant de 0,28 à 0,93% (Tableau 2). Alors que, l'extrait sec soluble du jus diminue en cours de croissance de 4,47 à 4,22 au stade 5. Cette teneur en extrait sec soluble est faible comparée à celle de la pulpe de fruit qui est de 12 – 17 % [30].

La teneur en acide ascorbique est plus faible dans les jus par rapport aux cladodes, est notamment mieux représentée dans les jus issus des cladodes des stades 1 à 3.

La diminution significative ( $p < 0,05$ ) des constituants bioactifs en fonction de la croissance montre que parmi les cladodes du stade 1 à 4, un équilibre optimal est observé pour les stades 2 et 3 un équilibre optimal est observé pour les stades 2 et 3 en tenant compte de la composition minérale des cladodes, des constituants bioactifs et de la biomasse (rendement) [30]; ces stades ont été retenus pour l'extraction du jus et les applications expérimentales. Leur composition en vitamine C, sucre, fibres et minéraux est donnée par le tableau 3.

**Tableau 3 :** composition du mélange des jus issus des cladodes du stade 2 et 3

Constituants du mélange de jus issu des stades 2 et 3							
Polyphénols en mg/L de jus	Acide ascorbique (vitamine C) en mg/L	sucres totaux en g/L	fibres brutes en g/L	Matière minérale en g/L	minéraux en g/L		
					Ca <sup>2+</sup>	K <sup>+</sup>	Mg <sup>2+</sup>
326 ± 2,00	123,2 ± 3,1	11,71 ± 0,5	12,3 ± 1,11	8,3 ± 1,4	1,64 ± 0,01	2,305 ± 0,078	0,092 ± 0,0017

La teneur en sucres totaux du jus de cladodes est inférieure à celle du jus d'orange [31] par contre les cladodes sont mieux pourvus en fibres (mucilages). La composition de la matière minérale des cladodes a montré une richesse en Ca<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup> et Mg<sup>2+</sup> [63; 64 et 30]. Celle des jus (Tableau 2) comme celle des cladodes, confirme leur intérêt et la possibilité de valorisation par l'enrichissement des produits laitiers en minéraux, constituants bioactifs (polyphénols, vitamines C) et fibres.

### 3.2 – Croissance des bactéries dans le lait écrémé additionné de jus de cladodes.

3.2.1 - Effets du jus de cladodes sur la croissance des bactéries lactiques en cours de fermentation du yaourt (masse blanche) :

#### 3.2.1.1. *Streptococcus thermophilus*

L'évolution de la croissance de *Streptococcus thermophilus* dans la masse blanche seule (yaourt à T0) et additionnée de différentes quantités de jus de cladodes (lyophilisé) a montré durant les 6 premières heures, une croissance plus marquée en présence du jus. (Figure 1).

L'augmentation de la part du jus de cladodes jusqu'à 20%, montre une croissance plus élevée de cette bactérie, celle-ci atteint  $182,25 \cdot 10^7$  UFC/mL en 6heures, alors qu'elle est de  $126 \times 10^7$  UFC/mL en absence de jus. Ce qui représente une augmentation de 30%. La variation de la croissance de *Sc. thermophilus* est hautement significative en fonction de la dose du jus additionnée ( $P < 0.05$ )

Après 6heures, la croissance des *Streptococcus thermophilus* connaît un ralentissement sensible, selon la dose additionnée.

### 3.2.1.2. *Lactobacillus bulgaricus*

En absence de jus de cladodes, la croissance de *Lb bulgaricus* montre une augmentation de  $47,4 \cdot 10^3$  à  $223,5 \cdot 10^3$  UFC/mL en 6h, avant de diminuer jusqu'à  $79,7 \times 10^3$  UFC/mL après 24h (Figure 2)

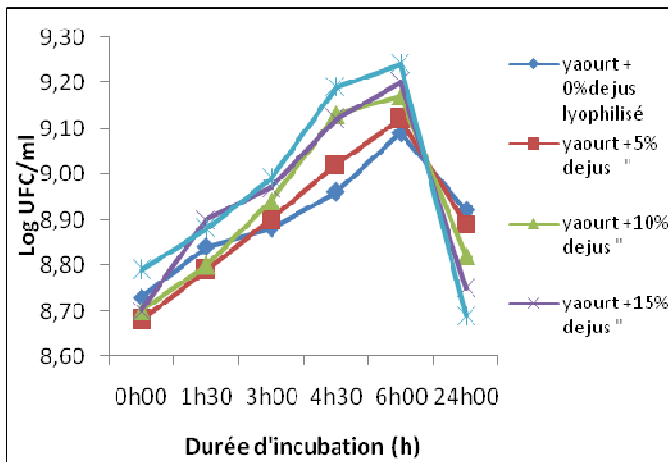


Figure 1: Evolution de la croissance de *Streptococcus thermophilus* dans le yaourt (masse blanche + ferments à T0) additionné de jus de cladodes lyophilisés

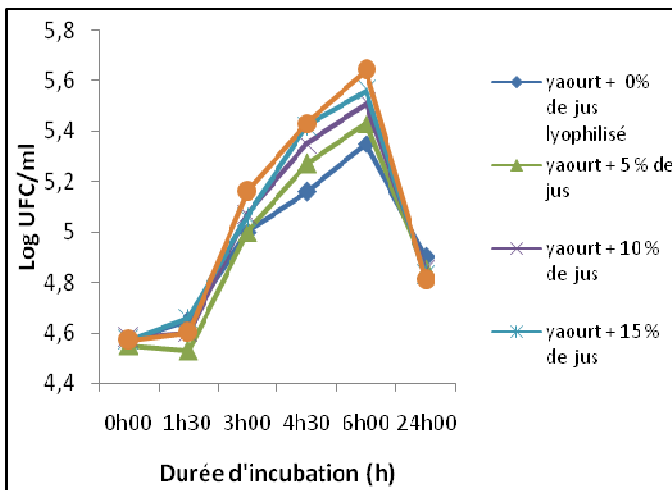


Figure 2: Evolution de la cinétique de croissance de *Lactobacillus bulgaricus* dans le yaourt (masse blanche + ferments à T0) additionnée de jus de cladodes lyophilisé

Alors qu'en présence du jus de cladodes à différentes doses, la croissance de *Lb bulgaricus* est toujours supérieure qu'en absence de jus de cladodes. Durant les 6 premières heures d'incubation, le nombre est de  $223,5 \cdot 10^3$  UFC/mL pour le témoin (jus 0%) et  $440 \cdot 10^3$  UFC/mL en présence du jus à 20%. Soit une augmentation de 100% de la masse bactérienne. Le facteur jus et les doses utilisées ont eu un effet significatif sur la croissance de *Lb bulgaricus ssp* ( $P < 0.05$ ).

En 24 heures, la baisse de la croissance de *Lb bulgaricus* est pratiquement identique en absence et en présence du jus (Figure 2).

### 3.2.2. *Bifidobacterium longum*

Après 3 heures de fermentation, la masse bactérienne de *Bf longum* augmente en fonction des doses de jus additionnées ( $P < 0.05$ ) (figure 3), mais diminue faiblement après 24 heures d'incubation comparée à celle de *Sc. thermophilus* et *Lb. bulgaricus*.

En présence de jus de cladodes (20%) la masse bactérienne augmente de 25% et les bactéries ont après 6h et 24 heures un taux de survie plus élevée par rapport au témoin et en présence de jus à 10% (figure 3).

L'effet du jus des cladodes lyophilisé sur la cinétique de croissance et la survie des *Bf. longum* reste significatif ( $P = 0,0129$ )

La croissance et la survie des bactéries, *Bifidobacterium*, *Lb bulgaricus*, et *Sc thermophilus* est toujours plus élevée lorsque ces espèces sont cultivées dans le lait additionné de jus de cladodes qu'en son absence. Cependant leur sensibilité aux constituants du jus est différente.

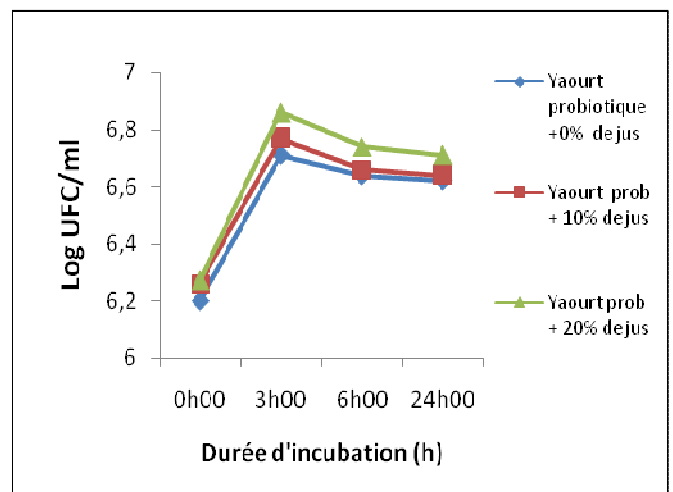


Figure 3: Evolution de la cinétique de croissance de *Bifidobacterium longum* dans le yaourt probiotique (masse blanche+ferments à T0) additionnée au jus de cladodes

Durant les 6 premières heures de fermentation, (Figures 1 et 2). La croissance de *Sc thermophilus* est plus élevée que celle de *Lb. bulgaricus* et la survie de *Bifidobacterium longum* est plus élevée en présence de jus notamment après 24 heures d'incubation.

Le même effet a été observé par certains auteurs [62; 64] sur le comportement et la croissance des bactéries lactiques et probiotiques en présence du fructo-oligosaccharide (FOS). Ces similitudes avec les jus de cladodes peuvent s'expliquer par la présence des sucres réducteurs et les mucilages.

Plusieurs travaux confirment l'effet de différents prébiotiques dont l'inuline et les FOS sur la viabilité des lactobacilles et des bifidobactéries et la fermentation [65; 66; 67 et 68].

La croissance et la survie des bactéries lactiques est également améliorée en cours de stockage par les fibres d'agrumes [69]. Les fibres des agrumes et les mucilages (fibres) des cladodes montrent ainsi une similitude de comportement en présence de FOS qui jouent sont des prébiotiques [63, 68, 70].

### 3.3 – Croissance de chaque bactérie isolée dans le lait écrémé additionné de jus de cladodes.

L'effet du jus de cladodes sur les ferments lactiques est plus ou moins sensible selon les souches:

**Tableau 4 :** Cinétique de croissance des ferments dans un milieu lait seul et lait + jus

Souches	milieu	Durée d'incubation (en heures)					probabilité	Test Newman et keuls
		0	2	4	6	24		
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Lait écrémé	7,45 ± 0,06	7,88 ± 0,12	8,90 ± 0,01	9,11 ± 0,02	7,98 ± 0,05	0,000	THS
	Lait écr. +jus	7,59 ± 0,04	8,19 ± 0,02	9,09 ± 0,06	8,52 ± 0,14	7,54 ± 0,07		
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	Lait écrémé	7,83 ± 0,02	8,17 ± 0,04	9,25 ± 0,02	8,88 ± 0,55	8,77 ± 0,03	0,0129	S
	Lait écr +jus	7,98 ± 0,03	7,98 ± 0,07	8,66 ± 0,01	8,78 ± 0,53	7,91 ± 0,00		
<i>Bifidobacterium infantis</i>	Lait écrémé	-	7,77 ± 0,06	9,32 ± 0,05	9,13 ± 0,05	8,65 ± 0,03	0,0112	S
	Lait écr +jus	-	7,93 ± 0,01	9,45 ± 0,00	9,16 ± 0,11	8,92 ± 0,06		
<i>Bifidobacterium longum</i>	Lait écrémé	7,77 ± 0,07	8,67 ± 0,05	8,45 ± 0,07	8,29 ± 0,09	8,18 ± 0,53	0,0316	S
	Lait écr +jus	7,57 ± 0,00	8,43 ± 0,04	8,24 ± 0,21	8,14 ± 0,05	8,12 ± 0,14		

- *Lactobacillus bulgaricus*: c'est le ferment le plus sensible à la présence des constituants du jus puisque sa croissance est ralenti par rapport au témoin (lait seul).

- pour *Bifidobacterium infantis* les constituants du jus de cladodes n'ont pratiquement pas d'effet sensible sur la croissance. Alors que l'effet est plus sensible sur le *Bifidobacterium longum*

- Pour *Streptococcus thermophilus* le jus de cladodes accélère leur croissance entre le temps T0 et T4 notamment après 2heures d'incubation par rapport au témoin.

Cette évolution modérée des bactéries lactiques utilisées seules met aussi en évidence l'effet lié à l'absence de la proto coopération

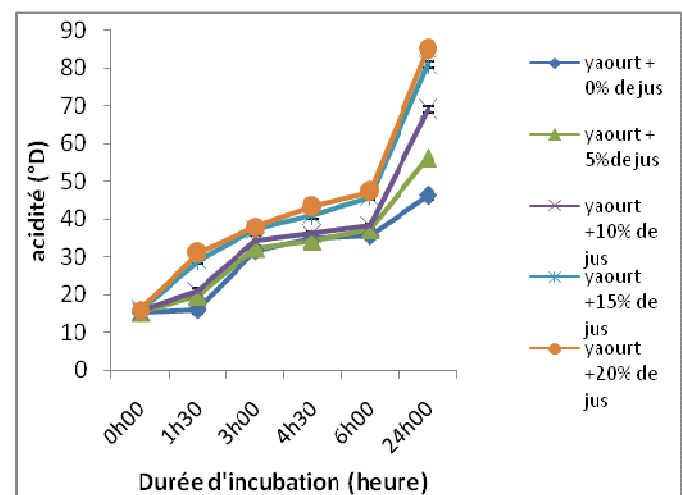
### 3.4- Evolution des caractéristiques physico- chimiques

#### 3.4.1 Effet du jus de cladode sur la cinétique d'acidification du lait

- Le pH du yaourt est de 6,6 après addition de ferment à 20%. Un pH de 4,24 est atteint après 5heures de croissance en présence de 20% de jus et de 4,31 en absence de jus

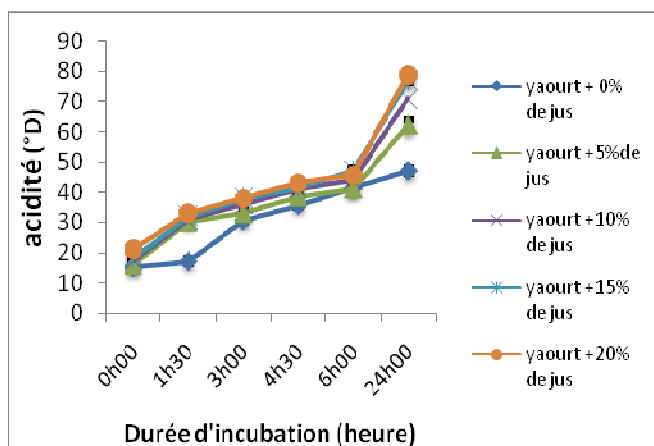
L'addition du jus des cladodes dans le yaourt accélère la cinétique d'acidification (figure 4a). Cette même tendance est observée après l'addition du jus à un pH préalablement réajusté à 6,8 avant son utilisation (figure 4b) ; l'effet jus et dose sur l'acidification est significatif ( $P < 0.05$ ) quelque soit le pH du jus ajouté notamment pour les doses de 15 et 20%.

Cette évolution confirme l'effet stimulant du jus de cladodes sur la croissance des bactéries.



**Figure 4a:** Evolution de l'acidité du yaourt seul et additionné de jus de cladodes à Ph ajusté à 6,8





**Figure 4b:** Evolution de l'acidité du yaourt additionnée de jus de cladodes à pH non ajusté

Cette accélération de la cinétique d'acidification a pour conséquence une réduction de la durée de fermentation en présence du jus. Ainsi les constituants du jus contribuent à la croissance de ces bactéries et parallèlement à l'acidification. La fermentation étant liée aux sucres dont le jus et les cladodes sont bien pourvus.

A cet effet, il a été abordé l'évolution des sucres réducteurs des jus de cladodes et de mucilages en présence de l'amylase et bactéries lactiques et probiotiques\* pour confirmer leur influence et leur métabolisation.

### 3.4.2 Evolution du taux de sucres réducteurs

La teneur en sucres réducteurs qui est de 0,71g/100g de MS du jus et 0,86g/100g de mucilages, reste assez proche de celle observée chez les cladodes par d'autres auteurs, avec 0,64g à plus de 1g/100g de matière sèche [27 et 30].

L'effet des amylases s'est traduit après incubation pendant 15 minutes à température ambiante (25°C) par une augmentation non significative ( $P > 0,05$ ) du taux de sucres réducteurs des jus de cladodes et de la solution mucilagineuse. Cette faible évolution peut s'expliquer par une activité amylasique limitée soit à des zones restreintes des polysaccharides (mucilage) ou d'amidon résiduel. Les bactéries lactiques et probiotiques\* montrent cependant, une dégradation sensible des polysaccharides et autres sucres présents dans les jus et dans la solution de mucilage (Tableau : 5)

**Tableau 5:** évolution des teneurs en sucres réducteurs des mucilages et jus de cladodes en présence d'amylase et de bactéries lactiques et probiotiques\* (en g/100g MS)

N° D'ESSAIS	Préparations pour incubation	temps d'incubation à 44°C				probabilité au Seuil 5%	Test newman et keuls
		T0	15mn	3h	6h		
Essai T							
Essai en présence du jus de cladodes							
Essai 1	Jus de cladodes+ amylase (solution 1A)	0,71± 0,03	0,74± 0,02	0,77± 0,05	///////	0,1304	NS
Essai 2	Jus de cladodes +solution bactérienne*	0,70± 0,06	///////	0,65± 0,06	0,45± 0,03	0,0000	THS
Essai 3	solution bactérienne*+ solution 1A	0,61± 0,04	///////	0,53± 0,02	0,47± 0,04	0,0000	THS
Essai T'							
Essai en présence de mucilage de cladodes							
Essai 4	Solution mucilage + amylase (solution 2A)	0,86± 0,05	0,99± 0,07	0,97± 0,04	///////	0,1636	NS
Essai 5	solution mucilage + solution bactérienne*	0,86± 0,06	///////	0,71± 0,06	0,46± 0,08	0,0000	THS
Essai 6	Solution 2 A+ solution bactérienne*	0,78 ± 0,05	///////	0,63± 0,05	0,39± 0,03	0,0002	THS

Solution1: jus de cladodes ; solution 2 : solution de mucilage à 10% ; Solution 1A : Jus de cladodes+ solution d'amylase ; Solution 2A : Solution mucilagineuse + solution amylase ; Solution bactérienne\* :bactéries lactiques et probiotiques (7souches)

En présence d'amylase et de solution bactérienne\*, une dégradation sensible des sucres réducteurs du jus et mucilages est observée ( $p < 0,05$ ) (essai 2 et 3 et essai 5 et 6). Cette dégradation atteint plus de 40% en 6 heures. En présence de l'amylase, la cinétique de dégradation est plus élevée durant les 3 premières heures d'incubation (Essai 3 et essai 6). Le taux de sucre réducteur se stabilise après 6 heures entre 0,39 - 0,46 g /100 g MS. Les sucres réducteurs non dégradés après 6 heures correspondent aux chaînes non hydrolysés (mucilage) et sucres non métabolisés par les bactéries.

L'évolution des sucres réducteurs est hautement significative en présence des bactéries, ce qui explique l'accélération de la croissance des bactéries lactiques et probiotiques observée en présence du jus.

En absence d'amylase, ces bactéries montrent une utilisation légèrement plus faible des sucres réducteurs du jus dont le taux passe de 0,71 à 0,65 g/100g et de 86 à 0,71 g/100g pour la solution de mucilage en 3heures. En présence d'amylase ce taux est plus élevé avec 0,53 et 0,63 g/100g.

L'augmentation de l'acidité peut s'expliquer au moins en partie par la fermentation de ces sucres réducteurs.

### 3.4.3 Analyse sensorielle

Le test sensoriel des différentes préparations, a donné un premier aperçu sur l'acceptabilité du produit car 80% des sujets trouvent bon l'arôme et le goût avec 10% de jus de cladodes. La coloration est légèrement modifiée mais n'a pas constitué un motif de rejet systématique. Après l'addition de 20% de jus, la texture a paru légèrement grumeleuse en raison de la présence des particules de

cladodes de couleur verdâtre ce qui a justifié une acceptabilité relativement moindre avec 60%.

L'astringence naturelle des constituants des cladodes est masquée par les constituants du lait explique ce taux d'acceptabilité.

#### 4. CONCLUSION

Le jus des jeunes cladodes, recèlent une composition en polyphénols, vitamines C, fibres et minéraux justifiant son intérêt.

L'enrichissement du yaourt et probiotique par le jus de jeunes cladodes a montré que :

La croissance des ferments lactiques, *Lb. bulgaricus*, *Sc. thermophilus* est stimulée par l'addition du jus de cladodes au lait écrémé, pendant les 6 premières heures de fermentation. La survie de *Bf. longum* est relativement améliorée. La même évolution a été observé par Sendra et al., [70] en présence de fibre d'agrumes. La teneur peu élevée en jus additionnée et la présence de mucilage semblent masquer l'action des facteurs inhibiteurs ; dont les polyphénols.

Cette évolution s'explique par la présence des nutriments du jus de cladodes

L'addition de jus de cladodes qui accélère la cinétique de fermentation du yaourt, a pour conséquence une réduction de la durée de fermentation, tout en apportant les métabolites dont les propriétés médicinales et diététiques sont reconnues [29]

L'accélération de la croissance des bactéries lactiques en présence du jus, est liée aussi à l'apport des sucres et à la contribution des mucilages comme c'est le cas en présence des fibres d'agrumes [70]. L'évolution du taux de sucres réducteurs de la solution de mucilage en présence des bactéries lactiques et probiotiques\* confirme sa métabolisation.

Cette étude a montré aussi une acceptabilité du yaourt enrichi par le jus de cladodes et confirme l'intérêt de l'utilisation du jus de cladodes comme additif naturel dans les systèmes alimentaire et dans la formulation d'aliment fonctionnel préservant le caractère « bio » et apportant des antioxydants, des fibres et des mucilages ...etc. Les mucilages de cladodes peuvent constituer une source de prébiotiques grâce à la stimulation et au maintien de la survie des bactéries.

Son addition peut être envisagée dans les yaourts probiotiques de type "activia" et dans la fabrication des boissons sous forme de cocktails. Alors que les résidus peuvent constituer un fourrage en l'état ou après complémentation par d'autres fourrages.

#### 5. Références bibliographiques

- [1]. Nobel, P.S, 1988, in Barbera, G., Inglese, P., et Pimienta-Barrios, P., (Eds.), *Agro ecology, cultivation and uses of cactus pear* (pp. 36-45). FAO Plant Production and Protection, Paper: 132.
- [2]. Oppenheimer HR, 1962: recherche sur la zone Aride échanges hydrique des milieux arides et semi aride. Compte rendu de la recherche de l'UNESCO
- [3]. Sudzuki Hills, 1995. Anatomy and morphology in Barbera G et al . J (eds), *Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear*, FAO. Plant product and protect Division Paper 132, Rome (Italy), 28-35.
- [4]. Kartez R., 1996. Nature. Le livre de Paris hachette imprimé en Italie par G.GANA.
- [5]. Mulas M., Mulas G., 2004, potentialités d'utilisation stratégique des plantes des genres atriplex et opuntia dans la lutte contre la désertification, groupe de recherche université de Sassari (Italie) <http://desa.uniss.it/mulas/desert>
- [6]. Nefzaoui A., Ketata H. and Mohammed El Mourid M.,2012, Agricultural Technological and Institutional Innovations for Enhanced Adaptation to Environmental Change in North Africa, (*ICARDA North Africa Program, Tunis, Tunisia* [www.intechopen.com](http://www.intechopen.com)
- [7]. Barbera G., 1995. History, economic and agro-ecological importance of cactus. In : Barbera, G., Inglese, P., & Pimienta-Barrios, P. (Eds.), *Agro-ecology, cultivation and uses of cactus pear*. Eds FAO plant production and protection, p132.
- [8]. Sudzuki, F., Muñoz, C., Berger, H., 1993. La culture du figuier de barbarie (Poire de cactus). . in Carmen Saenz (p 7-24) ,Bulletin Des Services Agricoles de la FAO N°162
- [9]. Nefzaoui, A.,1996, Nutritive value of spinless cactus (*Opuntia ficus indica*) and *Atriplex (Atriplex numularie)* based diets for sheep, vol. II, proceedings of the workshop on native and exotic fodder shrubs in arids and semi-arids zones 27 Oct.- 2 Nov., 1996, Hammamet (Tunisia),(eds) INRAT/ICARDA/SWP/ Ministry of Agriculture, (2001), 518-523.
- [10]. Andrade-Montemayora, M. \*, Cordova-Torresb A.V., García-Gascac T., Kawasd J.R. ,2011, Alternative foods for small ruminants in semiarid zones, the case of Mesquite (*Prosopis laevigata* spp.) and Nopal (*Opuntia* spp.)\_ *Small Ruminant Research*, 98 ( 83-92
- [11]. Pimienta -Barrios, E, 1994, cité par Mezzour M. dans actes de la deuxième journée nationale sur la culture du cactus, 30 mai 2000- Maroc -

- [12]. Saenze C., 2006, Utilisation agroindustrielle du cactus in Carmen Saenz (p 107-111) ,*Bulletin des Services Agricoles de la FAO* N°162
- [13]. Galati E.M, Mondello MR, Monforte MT, Galluzzo M, Miceli N, Tripodo MM. 2003. Effect of *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. cladodes in the wound healing process. *J PACD* 5: 1–16.
- [14]. Trachtenberg S. and Mayer A M., 1982. Mucilage cells, calcium oxalate crystals and soluble calcium in *Opuntia ficus indica*, *Annals of Botany* 50, pp. 549–557.
- [15]. Varnero T. et García de Cortázar V. In Saéñz - Hernandez C., 2006: Utilisation agroindustrielle du cactus. *Bulletin des services Agricoles de la FAO* 162, Roma, p 113-117.
- [16]. Saéñz, C., Vásquez, M., Trumper, S., Fluxá, C., 1992. Extracción y composición química de mucílago de tuna (*Opuntia ficus indica*). Actas: II Congreso Internacional de la tuna y cochinilla. Santiago, Chile, pp. 93–96. -
- [17]. Cardenas, A., Goycoolea, F., 1997. Reología en solución del mucílago del nopal (*Opuntia ficus indica*). Memorias VII Congreso Nacional y V Internacional sobre Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal. Monterrey, México, Pp. 171–172.
- [18]. Ayne O. Calvo–Arriaga, Arturo Hernández–Montes, Cecilia B. Peña–Valdivia, Joel Corrales–García1 and Eleazar Aguirre–Mandujano, 2010, Preference mapping and rheological properties of four nopal (*Opuntia* spp.) cultivars *J. PACD* , 12: 127–142
- [19]. Cantwell M., 1991. Quality and postharvest physiology of napolitos and tunas. Proc. Second annual Texas prickly pear conferences Mc Allen. Texas: 50-66p.
- [20]. Sáenz C., 2002. Cactus pear fruit and cladodes: a source of functional components for foods. *Acta Hort* 581, 253-263.
- [21]. Ayadi M.A. , Abdelmaksoud W., Ennouri M., Attia H. , 2009: Cladodes from *Opuntia ficus indica* as a source of dietary fiber: Effect on dough characteristics and cake making. , *Industrial Crops and Products*, 30 (1) 40–47
- [22]. Corrales-Garcia Joel et Saenz Carmen, 2006, Utilización agroindustrial del nopal in Carmen Saenz (p.51 – 69) ,Bulletin Des Services Agricoles de la FAO N°162
- [23]. Saenz C., Sepulveda E., Matsuhira B., 2004. *Opuntia spp* mucilage's: a functional component with industrial perspectives *Journal of Arid Environments* 57, 275–290
- [24]. Trachtenberg, S. and Mayer, A.M., 1981. Composition and properties of *Opuntia ficus indica* mucilage. *Phytochemistry* 20, pp. 2665–2668
- [25]. Nobel, S.P., Cavalier J. and Andrade J., 1992: Mucilage in cacti its apoplastic capacitance associated solutes, and influence on tissue water relation, *J. of Experimental Botany* 43 (250), pp. 641–642.
- [26]. Sepúlveda, E.C, Sáenz, C. y Vallejos, M. I. 2003b Comportement rhéologique du nectar fabriqué à partir d' hydrocolloïde: de nopales : effet du traitement thermique. pp 269-272. In: Actes. Congrès IX et VII Conférence Internationale sur les connaissances et l'utilisation du Nopal. Zacatecas. Mexique.
- [27]. Stintzing F. C., and R. Carle R, 2005. Cactus stems (*Opuntia* spp.): A review on their chemistry, technology, and uses - Review *Mol. Nutr. Food Res.* , 49, 175 – 194
- [28]. Saenz, C. (1998). Cladodes: A source of dietary fiber. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 2: 117–123.
- [29]. Feugang. J. M, Konarski. P, Zou. D, Stintzing. F. C and Changping Zou 2006: Nutritional and medicinal use of Cactus pear (*Opuntia* spp.) cladodes and fruits ,*Frontiers in Bioscience* ;11, 2574-2589,
- [30]. Hadj Sadok T., Aid F., Bellal M., Maria Stela Abdul Hussain, 2008, Composition chimique des jeunes cladodes d'*Opuntia ficus indica* et possibilité de valorisation alimentaire. *Agricultura, agricultural practice and science journal*, Vol 65, No 1-2
- [31]. Betancourt-Dominguez M. A. , Hernandez-Pérez T., Garcia-Saucedo P., Cruz- Hernandez A. and Parades-Lopez O., 2006, Physico-Chemical Changes In Cladodes (Nopalitos) From Cultivated And Wild Cacti (*Opuntia* spp.) *Plant Foods for Human Nutrition* 61:115-119.
- [32]. Mulas M., 1993, Medicinal properties and yield possibilities of the prickly pear (*Opuntia* spp.) in the Mediterranean Environment. *Acta Horticulturae* 331: 79–84.
- [33]. Saéñz - Hernandez C., Corrales Garcia J. Aquino-Perez in Park S. Nobel, 2002 , cacti: biology and uses ed ., *University of California Press Berkeley* , California, P.229 232
- [34]. Galati E. M.' ., Monforte M. T. Tripodo, M. M, d'Aquino A. and Mondello M. R., 2001. Antiulcer activity of *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. (Cactaceae): ultrastructural study, *J. of Ethnopharmacology*, 76, 1 , P 1-9
- [35]. Galati E. M., Monforte M. T., Miceli1 N., Mondello M. R., Taviano M. F., Galluzzo M. and Tripodo M. M., 2007, *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. mucilages

- show Cytoprotective Effect on Gastric Mucosa in Rat *Phytother. Res.* 21, 344–346
- [36]. Lee JC, Kim HR, Jang YS. , 2002, Antioxidant properties of an ethanol extract of the stem of *Opuntia ficus indica* var. saboten. *J Agric Food Chem* 50: 6490–6496.
- [37]. Galati, E.M., Tripodo, M.M., Trovato, A., d'Aquino, A., Monforte, M.T., 2002 . Biological effect *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. waste matter. note I: diuretic activity, *Journal of Ethnopharmacology.* 79: 17–21
- [38]. Galati E.M., Tripodo M.M., Trovato A., d'Aquino, A., Monforte, M.T., 2003 . Biological activity of *Opuntia ficus indica* (L.) MILL. cladodes, note II: effect on experimental hypercholesterolemia, *Pharmaceutical Biology.* 41, (3), 175-179.
- [39]. Cárdenas Medellín ML, Serna Saldívar S .O., and Velazco de la Garza J., 1998: Efecto de la ingestión de nopal crudo y cocido (*Opuntia ficus indica*) en el crecimiento y perfil de colesterol total, lipoproteína y glucosa en sangre de ratas, *Archivos Latinoamericanos de Nutrición:* 48, 316–323.
- [40]. Ncibi S, Ben Othman M., kacha A., Naceur Krifi M., and Zourgui L., 2008: Opuntia ficus indica extract protects against chlorpyrifos-induced damage on mice liver. *Food and chemical toxicology* 46 (2): 797–802
- [41]. Ben Salem, H., Nefzaoui, A., Abdouli, H., Ørskov, E.R., 1996. Effect of increasing level of spineless cactus (*Opuntia ficus indica* var. *inermis*) on intake and digestion by sheep fed straw-based diets. *J.Anim. Sci.* : 62, 293–299.
- [42]. Abidi S., Ben Salem H., Vasta V., 2009,A. Supplementation with barley or spineless cactus (*Opuntia ficus indica* f. *inermis*) cladodes on digestion, growth and intramuscular fatty acid composition in sheep and goats receiving oaten hay, *Small Ruminant Research* 87,(1-3), P 9-16
- [43]. Pimienta -Barrios, E. 1993, Vegetable cactus (*Opuntia*), in: Williams, J. T. (Ed.), *Pulses and Vegetables*, Chapman & Hall, London 1993, p. 177 – 191.
- [44]. Silva-Vale, M., 2006. El nopal, marca de fábrica de nuestra cultura. .in Ayne O.Calvo–Arriaga *J. PACD* (2010) 12:127–142
- [45]. Karawya MS, Wassel GM, Baghdadi HH, Ammar NM., 1980. Mucilages and pectins of *Opuntia*, *Tamarindus* and *Cydonia*. *Planta Med* (suppl.) 68 –75.
- [46]. Sepúlveda E. Sáenz, C. Aliaga E. and C. Aceituno , 2007. Extraction and characterization of mucilage in *Opuntia* spp. *Journal of Arid Environments:* 68:4, 534-545p
- [47]. AOAC, 1990 ; Official Methods of analysis of association of official analytical chimists 13<sup>th</sup> ed. AOAC. Washington., DC
- [48]. AOAC. 1984.In: S. Williams, (Ed), '*Official Methods of Analysis*' of the Association of Official Analytical Chemist International. 14th Ed. AOAC, Arlington, Virginia, USA.,
- [49]. AOAC, 1980 ; Official Methods of analysis of association of official analytical chimists 13<sup>th</sup> ed. AOAC. Washington., DC
- [50]. Piga, A., Del Caro A., Pinna I. and Agabbio M., 2003: Changes in ascorbic acid, polyphenol content and antioxidant activity in minimally processed cactus pear fruits *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie* 36, (2) , P 257-262
- [51]. Joslyn M. A., 1970. A serie of monographies. J. Food. Sci. Techn. 2 Edition Board.
- [52]. Lichtenthaler K.H., 1987, chlorophylls and caroténoids pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in enzymology:* 148, 349 - 382.
- [53]. AOAC, 1990 Official Method 967.21 Preparations and Juices In: K. Helrich, Editor, *Official methods of analysis of AOAC: food composition; additives; natural contaminants* Vol. II, AOAC, Arlington. USA
- [54]. Dubois M., Gilles K. A. Hamilton J. K., Rebers P. A.. Smith Fred, 1956, *Analytical chemistry*, 28, n°3 p 350-356).
- [55]. Luquet.F.M, 1986, lait et produits laitiers vaches. Brebis chevre Ed.;technique et documentation-LAVOISIER PP109 -110
- [56]. Bourgeois C. et Leveau J. Y (1991).Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires. Techniques et documentation ; Lavoisier, Paris.
- [57]. Tirilly et Bourgeois 1999 : Technologie des légumes ed. *Tec et Doc Lavoisier* p.550;
- [58]. DeKock G.C., 1965, Manejo y utilizacion del nopal sin espina. En: Congresso internacional de pasturas, Anales Sao Paulo, Brazil; 2:147p
- [59]. Sawaya W.N., Khatchadorian H.A., Safi WN et El-Hammad HM., 1983. Chemical characterization of prickly pear pulp of *Opuntia ficus indica* and the manufacturing of the prickly pear jam. *J. Food Technol.* 18:183-193p.
- [60]. Kuti O. Joseph , 2004, Antioxidant compounds from four *Opuntia* cactus pear fruit varieties *J.Food Chemistry* 85, ( 4 ), P 527-533

- [61]. Djidjelli Selma, 2012, Essai de stabilisation de la vitamine C du jus d'orange par le jus de cladodes d'*Opuntia ficus indica*, mémoire de Master en sciences alimentaires, Département Agronomie, Université Saad Dahlab (résultats non publiés)
- [62]. Répertoire général des aliments, CNEVA, INRA, TEC&DOC, Paris, 1995.
- [63]. Nefzaoui, A., et Charmiti A., 1991, Place et rôle des arbustes fourragers dans des zones semi-arides de la Tunisie. In option méditerranéenne. Série A. Séminaire N°16. Edition CEIHAM, 119-125.
- [64]. Nefzaoui, A. et Bensalem H., 1995: Ewe - lambs feeding with cactus based diets. Effect of the type of nitrogen supplement. IV th international symposium In *Annales de Zootechnie. INRAT*, pp 425-430.
- [65]. Akalin A S, Fenderya S., Akbulut N., 2004, Viability and activity of bifidobacteria in yoghurt containing fructooligosaccharide during refrigerated storage. *International Journal of Food Science & Technology*, 39 (6) P 613-621,
- [66]. Desai, A.R., Powell, I.B., Shah, N.P., 2004. Survival and activity of probiotic Lactobacilli in skim milk containing prebiotics. *J. Food Sci.* 69 (3), 57-60.
- [67]. Matsuhiro B., Lillo Luis E., Sáenz C., Urzúa Carlos C and Zárate Oriette, 2006, Chemical characterization of the mucilage from fruits of *Opuntia ficus indica* *Review Carbohydrate Polymers*, 63, (2), 263-267
- [68]. Gibson G.R. and Roberfroid M.B., 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*, 125, 1401-1412.
- [69]. Roberfroid M.B., Van Loo J.A E. et Gibson, G.R. (1998). The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. *Journal of Nutrition*, 128, 11-19.
- [70]. Sendra E., Fayos P., Lario Y., Juana Fernandez-L., Estrella Sayas-B., Jose´ Angel Perez-A., 2008, Incorporation of citrus fibers in fermented milk containing probiotic bacteria, *Food Microbiology* 25, Pp 13-2