

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique

Université Abderrahmane Mira de Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie

Mémoire de fin de cycle

En vue d'obtention de Diplôme
d'Ingénieur d'Etat en Génie Biologique

Thème

*Suivi de la croissance de la flore lactique issue de
ferment lyophilisé et congelé du yaourt étuvé
aromatisé « Ramdy » durant le stockage*

Réalisé par :

M^{elle}. OUBRAHAM Loubna

M^{elle}. YUCEF KHODJA Sabrina

Membres du jury :

Président : M. DJOUDI F.

Promotrice : M^{elle}. TITELI F.

Examinatrice : M^{me}. BOUDERIES S.

PROMOTION : 2011-2012



Avant tout, nous remercions le Dieu le tout puissant de nous avoir donné la chance, le courage et la patience d'avoir accompli notre travail.

Nos remerciements les plus chaleureux et les plus vifs s'adressent tout d'abord à notre promotrice, M^{lle} TITELI F. de nous avoir encadré ainsi à M. DJOUDI F. qui nous a fait l'honneur de présider le jury et à M^{me}. BOUDERJES S. d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous tenons à remercier sincèrement et profondément tout les membres de la laiterie « Ramdy » et plus particulièrement les responsables de service qualité M. Karim AZZOUG et M^{me} Dalila IDJOUADIENE pour leur aide et leurs conseils et de nous avoir permis de réaliser notre stage dans de très bonnes conditions.

Nous remercions les techniciens du laboratoire tous sans exception à commencer de Lynda, Amel, Samira, Karima, Zouina, Sedda, Souad, Mourad, Kaci, Chafaa, Redha, Karim et L'hadî pour leurs encouragements, leur aide et d'avoir partagé leur savoir faire avec nous.

Et tous ceux qui nous ont aidé de près ou de loin.





Édificaces

*Au nom du tout puissant
Je dédie ce travail*

A

✪ La mémoire de mon oncle « Hmidouche » et mon grand-père « Jeddi L'hacene » que Dieu les accueille dans son vaste paradis.

✪ Mes très chers parents « Lahlou » et « Khadidja » qui m'ont soutenu tout au long de mon parcours, en leurs souhaitant une longue et heureuse vie.

✪ Mes grands parents auxquels je souhaite une longue vie.

✪ Mes adorables et très chères sœurs : Saâdia et Nesrine.

✪ Mes adorables et très chers frères : Idir et L'houas.

✪ Tout mes oncles et mes tantes.

✪ Toutes mes cousines et mes cousins.

✪ Toute personne qui m'a aidé de près ou de loin à la réalisation de ce travail et surtout à celle qui m'est chère au cœur « K, L'hocine ».

✪ Ma collègue Loubna avec laquelle j'ai partagé ce travail et à qui je souhaite tout le bonheur et la réussite « Incha Allah ».

✪ Mes amies Kamélia, Malika et Sonia avec lesquelles j'ai passé que de bons moments.

✪ A toute la promotion de Génie Biologique : 2011/2012

Que Dieu nous rassemble tous au Paradis

Y.K.Sabrina





Dédicaces



✎ Je dédie ce travail à mes **chers parents** pour leur soutien et leur aide et pour leur encouragement constamment, que dieu vous garde en bonne santé et à mes cotés et que ce travail soit le témoignage de notre amour.

✎ A la mémoire de mes grands pères (**Mahfoud et Yahia**) et de ma grand mère **Seltana** que Dieu les accueille dans son vaste paradis et que leurs âmes reposent en paix et Dieu garde ma grand mère **Zahra** en vie.

✎ A mes chers frères **Jugurta (Dada)** et sa femme **Zahia, Hilal**, et mon petit frère **Youba** dont l'amour pour eux ne cessera jamais.

✎ A mon unique sœur **Sihem** qui m'a toujours encouragé et soutenu dans les moments de joie comme dans les moments de peines et à ses deux anges **Rinas** et **Missipsa** sans oublier son mari **Nacer**.

✎ A mon mari **Karim** de m'avoir accompagné et encouragé pour accomplir ce travail.

✎ A tout mes oncles et mes tentes (**Khlidja,,Nouara, Nora, Malika, Samia, Chafia, et Chrifa, Mira Lynda et Katia**).

✎ A mes cousins et cousines surtout **Faroudja , Thiziri et Mima**.

✎ A ma collègue **Sabrina** avec laquelle j'ai passé des moments agréables et inoubliables et je lui souhaite de réussir dans sa vie personnelle et professionnelle.

✎ A mes ami(e)s **Lydia, Kamelia** avec lesquelles j'ai passé de très bons moments et sans oublier **Fouad et Racim**.

✎ A mes chères copines de chambre (**Nacima, Sihem, Wacila, Rabiaa et Lynda**).

Sans oublier toute la promotion Génie biologique 2011/2012.

O.Loubna



Liste des tableaux

| | |
|--|---|
| Tableau I : Les différents genres de bactéries lactiques..... | 3 |
| Tableau II : Teneur moyenne des composés du yaourt pour 100 grammes de produit..... | 9 |
| Tableau III : Caractéristiques microbiologiques du yaourt..... | 9 |

Liste des tableaux en annexes

Tableau I : Résultats du suivi du pH et d'acidité Dornic au cours de la maturation pour le ferment lyophilisé**Annexe I**

Tableau II: Résultats du suivi du pH et d'acidité Dornic au cours de la maturation pour le ferment congelé.....**Annexe I**

Tableau III : Résultats du suivi du pH et d'acidité Dornic au cours de stockage pour le ferment lyophilisé.....**Annexe I**

Tableau IV: Résultats du suivi du pH et d'acidité Dornic au cours de stockage pour le ferment congelé.....**Annexe I**

Tableau V : Résultats de l'évolution de la croissance de *Lb. bulgaricus* et *St. thermophilus* sur les milieux MRS et M17 respectivement du yaourt au cours de stockage pour le ferment lyophilisé.**Annexe I**

Tableau VI : Résultats de l'évolution de la croissance de *Lb. bulgaricus* et *St. thermophilus* sur les milieux MRS et M17 respectivement du yaourt au cours de stockage pour le ferment congelé.....**Annexe I**

Tableau VII : Composition des milieux de culture.....**Annexe II**

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 01 : Schéma représentant le métabolisme du glucose chez les bactéries lactiques | 4 |
| Figure 02: Chaîne de production du yaourt ferme | 7 |
| Figure 03: Chaîne de production du yaourt brassé..... | 8 |
| Figure 04: Diagramme technologique de fabrication du yaourt..... | 12 |
| Figure 05: Schéma des facteurs stimulants la coopération interespèces..... | 17 |
| Figure 06: Organigramme de la laiterie Ramdy | 21 |
| Figure 07: Schéma illustrant la méthode de dénombrement de la flore lactique du yaourt..... | 26 |
| Figure 08: Evolution du pH au cours de la maturation pour les deux types de ferment..... | 28 |
| Figure 09: Evolution de l'acidité au cours de la maturation pour les deux types de ferment... | 29 |
| Figure 10 : Evolution du pH au cours du stockage pour les deux types de ferment | 30 |
| Figure 11: Evolution de l'Acidité au cours du stockage pour les deux types de ferment..... | 31 |
| Figure 12: Evolution de la flore lactique au cours du stockage pour le ferment lyophilisé..... | 33 |
| Figure 13 : Evolution de la flore lactique pour le ferment congelé durant le stockage | 34 |

Liste des abréviations

| L'abréviation | Signification |
|----------------------|--|
| ADP | Adénosine Di Phosphate |
| ATP | Adénosine Tri Phosphate |
| BL | Bactérie lactique |
| °C | Degré Celsius |
| CAQCE | Centre Algérien de Contrôle de Qualité et d'Emballage |
| °D | Degré Dornic |
| DLC | Date Limite de Consommation |
| EMP | Embden -Mayerhoff Parnas Pathway |
| EPS | Exopolysaccharide |
| FAO | Food and Agriculture Organization |
| FC | Ferment congelé |
| FIL | Fédération International des Laits |
| FL | Ferment lyophilisé |
| G | Gram |
| G-C | Guanine - Cytosine |
| JORA | Journal Officiel de la République Algérienne |
| kJ | kilo Joule |
| Lb | <i>Lactobacillus</i> |
| LR | Liquide de Ringer |
| M17 | Milieu de Terzaghi |
| M | Molaire |
| MRS | Man Rogosa Sharp |
| NAD | Nicotinamide Adénine Dinucléotide |
| NADP | Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate |
| Pa | Pascal |
| PEP | Phosphoénol pyruvate |
| pH | Potentiel d'Hydrogène |
| St | <i>Streptococcus</i> |
| T | Température |
| UFC | Unités Formant Colonies |

Liste des abréviations

Introduction 1

Synthèse bibliographique

Chapitre I- Bactéries et ferments lactiques

I -Bactéries lactiques 2

I-1-Définition 2

I-2-Classification..... 2

I-3-Habitat 3

I-4-Métabolisme des bactéries lactiques..... 3

II- Ferments lactiques 5

II-1-Définition 5

II-2- Différents Types de ferment 5

Chapitre II- Yaourt et ses ferments

I- Lait fermentés et yaourt 6

I-1- Définition..... 6

I-2-Différents Types de lait fermentés 6

I-3- Yaourt 6

I-3-1-Définition du yaourt 6

I-3-2- Types du yaourt 7

I-3-3-Caractéristiques physicochimiques et microbiologiques du yaourt..... 9

I-3-4-Technologie de production du yaourt..... 10

I-3-5-Caractères sensorielles du yaourt..... 13

I-3-6-Conservation du yaourt..... 13

I-3-7-Intérêts nutritionnels et thérapeutiques du yaourt..... 13

| | |
|--|----|
| II-Les deux ferments du yaourt | 14 |
| II-1- <i>Streptococcus thermophilus</i> | 14 |
| II-2- <i>Lactobacillus delbruekii ssp bulgaricus</i> | 15 |
| II-3- Classification des deux souches | 15 |
| II-4-Propriétés technologiques des deux souches | 15 |
| II-4-1-Activité acidifiante | 15 |
| II-4-2-Activité aromatisante | 16 |
| II-4-3- Production d'exopolysaccharides | 16 |
| II-4-4-Activité protéolytique..... | 16 |
| II-4-5- Activité antimicrobienne | 16 |
| II-5-Synergie entre les deux souches..... | 17 |
| II-6- Différents modes de conservation | 18 |
| II-6-1- Lyophilisation | 18 |
| II-6-2-Congélation | 18 |
| II-6-3-Repiquages successifs..... | 18 |
| II-7- Viabilité des souches du ferment lactique | 19 |

Partie pratique

Matériel et méthodes

| | |
|---|----|
| I-Présentation de l'organisme d'accueil..... | 20 |
| II-Tests de confirmation de l'identité des deux souches du yaourt | 22 |
| III-Echantillonnage | 23 |
| IV-Analyses physicochimiques..... | 24 |
| IV-1- Acidité titrable | 24 |

| | |
|---|----|
| IV-2 – Mesure du pH | 24 |
| V-Dénombrement de la flore lactique | 24 |
| V-1-Préparation des dilutions | 24 |
| V-2-Méthode de dénombrement de la flore lactique..... | 25 |

Résultats et discussion

| | |
|---|----|
| I-Résultats des tests de confirmation de l'identité des deux souches..... | 27 |
| I-1-L'état frais | 27 |
| I-2-Coloration de Gram | 27 |
| I-3-L'aspect des colonies sous la loupe | 27 |
| I-4- Test de la catalase..... | 27 |
| II-Résultats d'analyses physicochimiques | 28 |
| II-1- Résultats du Suivi du pH et d'acidité au cours de la maturation pour les deux types de ferment | 28 |
| II-1-1- Evolution du pH au cours de la maturation | 28 |
| II-1-2- Evolution de l'acidité au cours de la maturation | 29 |
| II-2-Résultats du suivi de l'évolution du pH et d'acidité durant le stockage pour les deux types de ferment | 30 |
| II-2-1- Evolution du pH pour le ferment lyophilisé et congelé..... | 30 |
| II-2-2-Evolution de l'acidité pour le ferment lyophilisé et congelé..... | 31 |
| III-Evolution de la flore lactique des deux types de ferment durant le stockage | 32 |
| Conclusion | 36 |

Références bibliographiques

Annexes

Le lait est le produit intégral de la traite totale d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée.

L'évolution des processus technologiques, des techniques de conservation et des circuits de distribution a permis à l'élaboration à divers époques de produits nouveaux, qui ne sont pas tous destinés au même usage, mais qui tous, présentent un intérêt propre. Les destinés à la consommation humaine se distinguent en deux catégories : lait cru (sans traitement thermique) et lait traité thermiquement (Luquet, 1990).

L'usage des laits fermentés remonte à la domestication des animaux, mais l'industrialisation de la production n'a démarré qu'au XX^e siècle. Une large variété de laits fermentés, sans cesse renouvelée par l'innovation de l'industrie laitière, est proposée aux consommateurs (Jeantet et *al.*, 2000).

Les bactéries lactiques sont utilisées à grande échelle dans la production de ces laits fermentés comme *Lb. bulgaricus*, *Sc. thermophilus*, *Bifidobacterium*,...Elles contribuent à la texture, à la saveur des aliments par la production des arômes et inhibent la prolifération des microorganismes pathogènes, par la production des bactériocines et l'abaissement du pH et donc avoir un produit sain.

La production des yaourts est basée sur l'utilisation de deux espèces de bactéries lactiques thermophiles en symbiose pour avoir un produit fini avec des propriétés technologiques et nutritionnelles intéressantes, qui sont toujours très recherchées pour chaque produit mis sur le marché.

Ce mémoire est présenté principalement en trois parties; une synthèse bibliographique qui donne un aperçu général sur les bactéries lactiques et la technologie de fabrication du yaourt, une partie expérimentale comportant la partie matériel et méthodes et une autre pour les résultats et discussion.

La partie expérimentale se porte sur le suivi de la croissance de la flore lactique issue de deux ferments lyophilisés et congelés ainsi que la cinétique d'acidification durant la période de stockage (30 jours) du yaourt ferme aromatisé étuvé produit par la laiterie «Ramdy » à la température de conservation de 6°C. Il consiste aussi à la vérification de la possibilité de pousser la DLC de 10 jours.

I- Bactéries lactiques :

I-1- Définition :

Les bactéries lactiques (BL) sont des microorganismes qui se caractérisent par une très forte production d'acide lactique à partir du lactose. Ce sont des coques ou des bâtonnets à Gram positif, généralement immobiles non sporulés dépourvus de catalase et de nitrate réductase (De Roissart et Luquet, 1994).

Ce sont des bactéries auxotrophes aux acides aminés, aux vitamines et aux acides gras. (Dellagio et *al.*, 1994).

I-2-Classification :

Traditionnellement, les BL ont été classées en se basant sur les critères phénotypiques (la morphologie, le mode de fermentation de glucose, la croissance à différentes températures, l'isomère de l'acide lactique produit et la fermentation des différents hydrates de carbone) (Ouahghiri, 2009).

Selon Nokuthula et *al.* (2000), la classification des BL se base sur des techniques génétiques telles que :

- ❖ Le pourcentage en G-C.
- ❖ Techniques d'hybridation des Acides nucléiques.
- ❖ Séquençage de l'ARN 16S.

Jusqu'à 1997, les BL regroupent 12 genres, dont les plus étudiés sont : *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus* et *Pediococcus* (Larpent-Gourgaud et *al.*, 1997). Les différents genres de BL sont représentés dans le tableau I.

Tableau I : Les principaux genres de bactéries lactiques (Novel, 1993).

| Genre | Cellule | | Fermentation | ADN G-C (%) |
|----------------------|------------------------|--------------------|------------------------|-------------|
| | Forme | Arrangement | | |
| <i>Leuconostoc</i> | Coque | Chaîne ou en paire | Hétérolactique | 36-43 |
| <i>Streptococcus</i> | Coque | Chaines | Homolactique | 34-46 |
| <i>Pediococcus</i> | Coque | Tétrade | Homolactique | 34-42 |
| <i>Lactobacillus</i> | Bacille ou cocobacille | Chaîne ou isolé | Homo et hétérolactique | 32-53 |

I-3- Habitat :

Les BL sont fréquentes dans de nombreux milieux naturels, des végétaux (plantes et fruits) des animaux et des humains (cavités buccales et vaginales, fèces) et dans le lait (De Roissart, 1986).

L'espèce *Streptococcus thermophilus* est isolée du lait pasteurisé, du matériel de laiterie et des levains artisanaux (Bekhouché, 2006).

Les espèces du genre *Lactobacillus* sont fréquentes dans le lait, les fromages, les laits fermentés, dans les produits végétaux fermentés, les marinades, l'ensilage, le vin, et dans les viandes fraîches ou fermentées (Desmazeaud, 1996).

I-4- Métabolisme des bactéries lactiques :

Les BL convertissent les glucides en acide lactique par fermentation. Dans le cas où l'acide lactique est le seul produit terminal, il s'agit d'une homofermentation, contrairement à l'hétérofermentation, il s'ajoute à ce dernier de l'éthanol, de l'acétate et du CO₂ (Ballows et al., 1992).

Les bactéries homofermentaires utilisent la voie EMP (Embden - Mayerhoff Parnas Pathway) dans la dernière étape de la glycolyse. Celles hétérofermentaires utilisent les voies du tagatose -6-phosphate et de la glycolyse, ainsi que celle des pentoses phosphate. Une production d'acide formique et acétique peut avoir lieu et notamment en anaérobiose

(Desmazeaud, 1996). Les voies de fermentation du glucose par les BL sont présentées sur la figure 01.

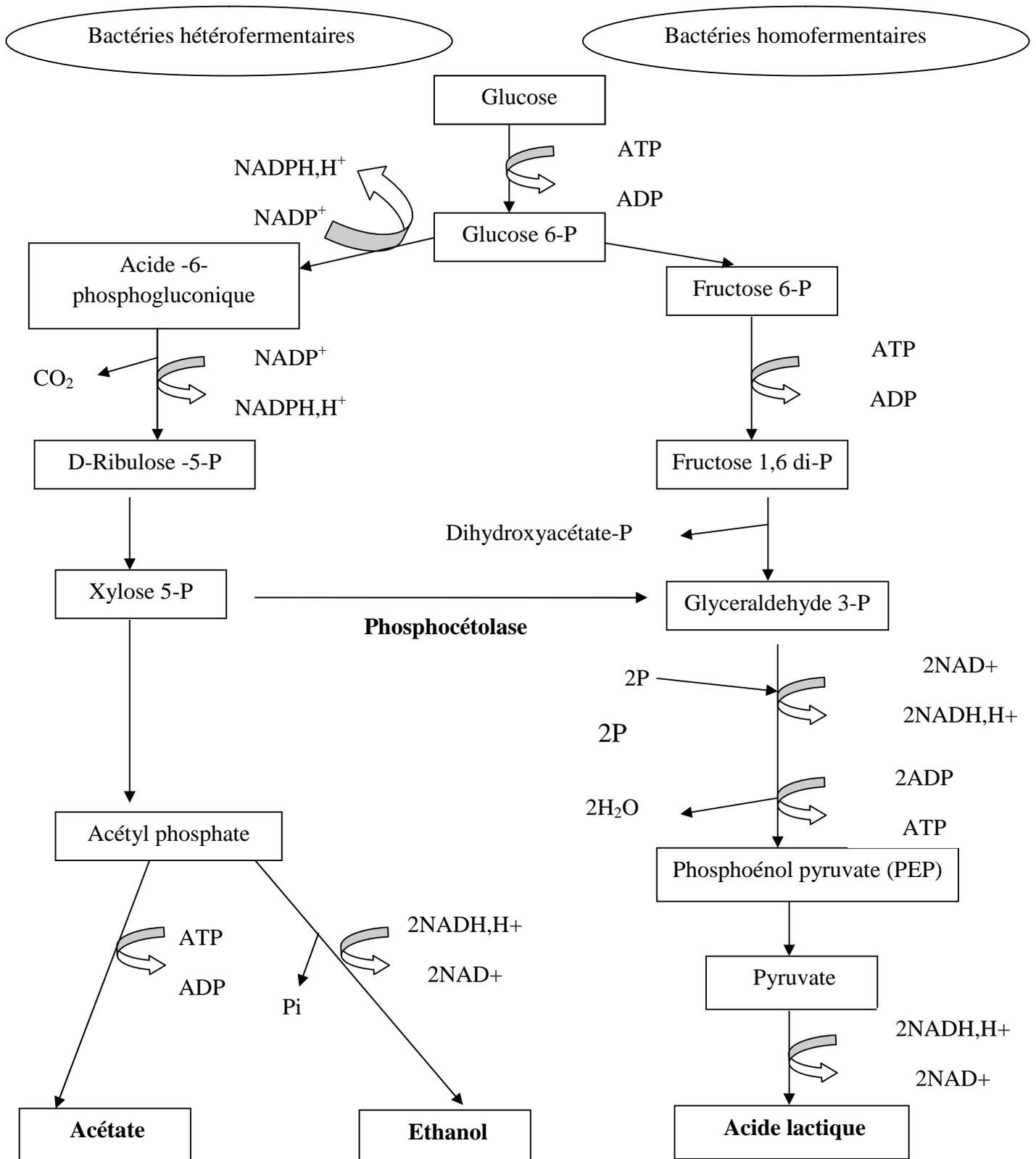


Figure 01 : Schéma représentant le métabolisme du glucose chez les bactéries lactiques

(De Vuyst, 2000).

Les BL sont auxotrophes pour plusieurs acides aminés, seules celles à protéinase positive peuvent hydrolyser la caséine (Garaut et *al.*, 2000).

Elles sont dépourvues d'une catalase, mais possèdent une peroxydase qui est moins efficace que cette dernière, donc n'éliminent pas facilement le peroxyde, elles sont dites micro-aérophiles (Doleyres, 2003).

II-Ferments lactiques :

II-1-Définition :

Levains ou ferments lactiques sont des cultures pures ou mélange de bactéries sélectionnées, qui sont utilisés pour la fabrication de produits laitiers fermentés. Au cours de la fermentation, les bactéries se multiplient et produisent des composés conférant à l'aliment ses propriétés physicochimiques (pH et acidité) et organoleptiques (la saveur, l'arôme et la texture) (Doleyres, 2003).

II-2- Différents types de ferments :

La production de produits laitiers fermentés fait appel à deux types de ferment :

II-2-1-Ferments lactiques naturels :

Ils proviennent du lait n'ayant subi aucun traitement thermique, ils sont de composition complexe et variable. On peut distinguer les ferments thermophiles utilisés pour la fabrication des fromages à pâte cuite, et ceux mésophiles pour la fabrication d'autres types de fromage et du beurre. Ils contiennent toujours des bactéries acidifiantes souvent associées à des bactéries aromatisantes (Poulain, 1994).

II-2-2- Ferments lactiques sélectionnés :

Ils sont composés de souches pures contribuant à réguler les propriétés organoleptiques et acidifiantes. Cela exige une sélection rigoureuse (Stadhouders et Leeders, 1984).

I- Laits fermentés et yaourt :

I-1-Définition :

Le lait peut être transformé par des réactions enzymatiques ou microbiennes en produits ayant acquis de nouvelles qualités organoleptiques et présentant une meilleure conservation. Un lait fermenté est un lait cru ou pasteurisé qui est seulement transformé par l'action des microorganismes et ne subit pas d'égouttage : yaourt, lait acidifié,... (Guiraud, 2003).

I-2-Types de laits fermentés :

I-2-1- Yaourt :

Il est obtenu suite à la fermentation du lait par deux espèces thermophiles (*Streptococcus termophilus* et *Lactobacillus delbueckii ssp bulgaricus*) qui sont sélectionnées pour leurs caractéristiques technologiques d'acidification et d'aromatisation (Federighi, 2005).

I-2-2- Ribot :

C'est un lait fermenté issu par utilisation des levains mésophiles par association des *Leuconostoc* et des *Lactococcus* (Federighi, 2005).

I-2-3- Kéfir et koumiss :

Ce sont d'autres types de laits fermentés moins répandus en Europe. Ils sont fabriqués à partir du lait de différentes espèces animales (vache, chèvre, jument, chamelle) et qui est fermenté par une flore complexe associant les levures et les bactéries lactiques (Federighi, 2005).

I-3- Yaourt

I-3-1- Définition du yaourt :

Le yaourt ou yoghourt est le lait fermenté le plus consommé. Cette fermentation conduit à la prise en masse du lait. Le coagulum obtenu est ferme, sans exsudation. Il peut être consommé en l'état ou après brassage lui donnant une consistance crémeuse ou liquide.

La dénomination « Yaourt » est réservée au lait fermenté obtenu par le développement des seules bactéries lactiques thermophiles spécifiques (*Lb. bulgaricus* et *St.*

thermophilus) qui doivent êtreensemencées simultanément et se trouver vivantes dans le produit fini, à raison d'au moins 10 millions de bactéries par gramme rapportées à la partie lactée (FAO, 1995).

I-3-2-Types de yaourt :

Il existe deux types de yaourt qui sont le ferme et le brassé.

I-3-2-1-Yaourts fermes :

Ce sont généralement les yaourts nature et aromatisés dont la fermentation a lieu en pots. Les différentes étapes de production de ce type de yaourt sont présentées sur la figure suivante :

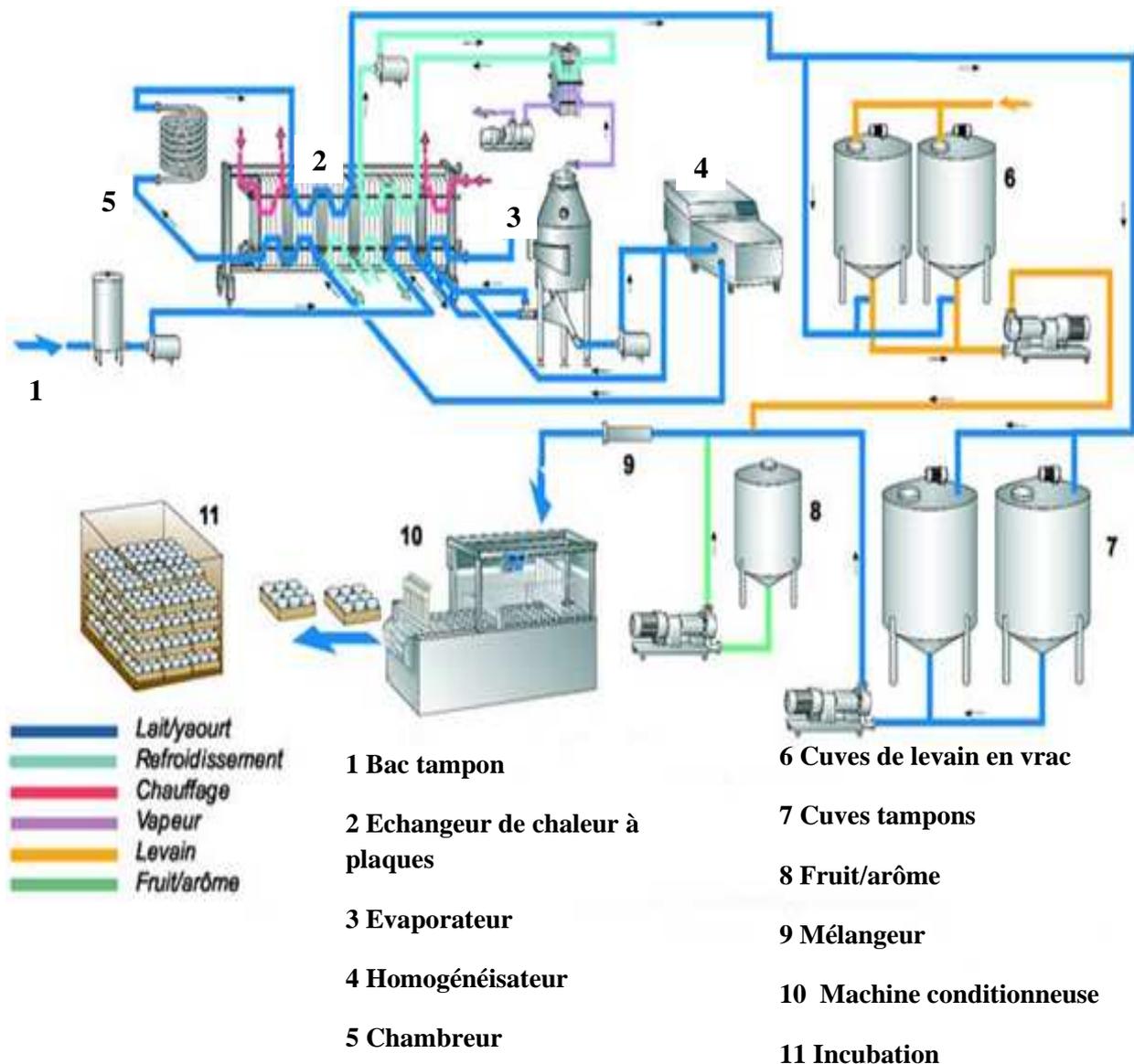


Figure 02: Chaîne de production du yaourt ferme (Tamime et Robinson, 2007).

I-3-2-2- Yaourt brassé :

C'est le cas des yaourts veloutés naturels ou aux fruits dont la fermentation a lieu en cuve avant brassage et conditionnement (Jeantet et *al.*, 2008). La figure 03 représente le schéma général de la chaîne de production du yaourt brassé.

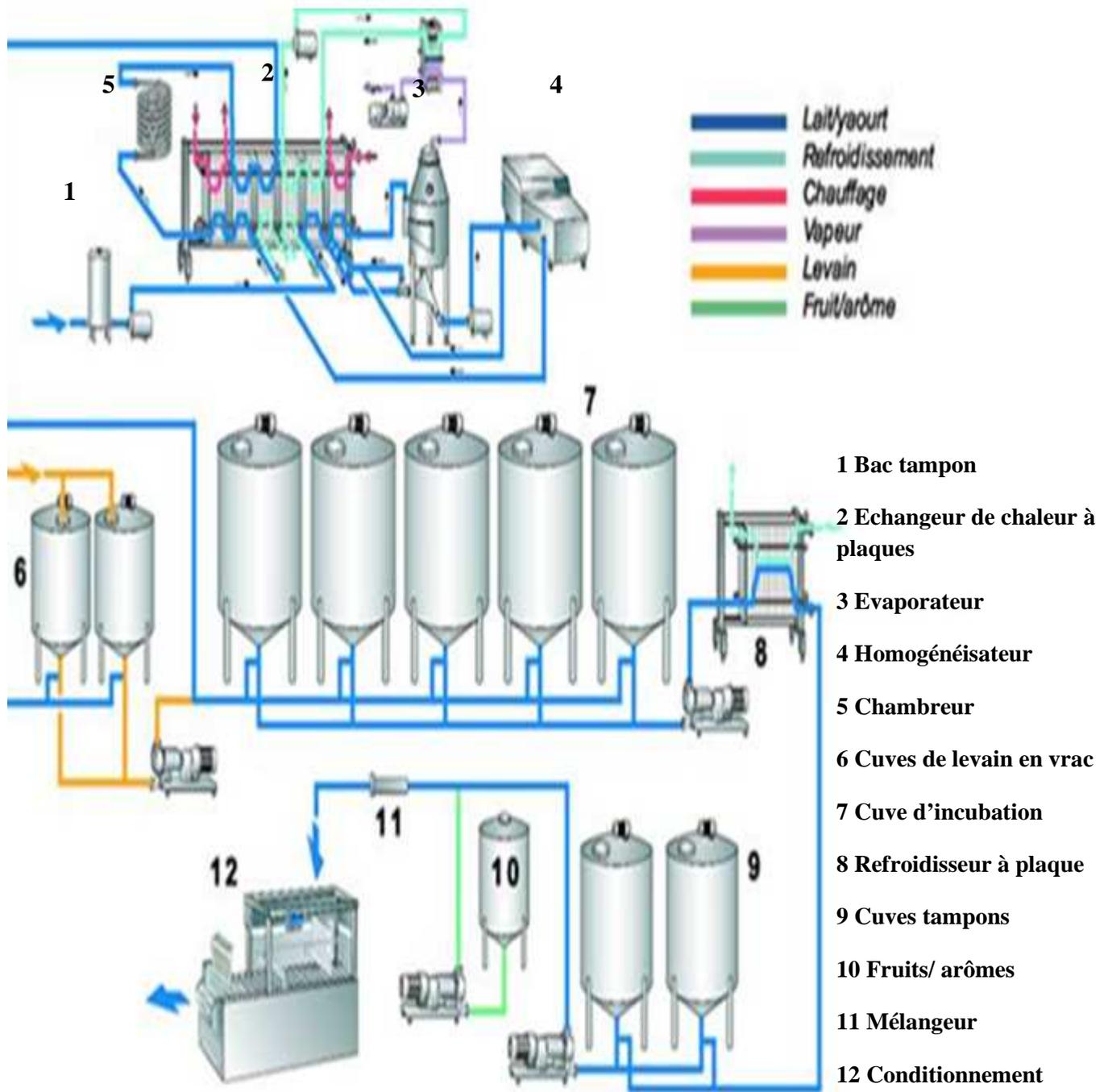


Figure 03: Chaîne de production du yaourt brassé (Tamime et Robinson, 2007).

I-3-3-Caractéristiques physicochimiques et microbiologiques du yaourt

I-3-3-1-Caractéristiques physicochimiques

Le yaourt est très digestif, et contient deux fois plus d'acides aminés libres : cette propriété résulte du traitement thermique, de l'acidification et de l'activité protéolytique des bactéries. La teneur moyenne des composés du yaourt est présentée dans le tableau II.

Tableau II: Teneur moyenne des composés du yaourt pour 100 gramme de produit (Jeantet et al., 2008).

| Composition | Teneur moyenne pour 100 grammes |
|------------------------------|---------------------------------|
| Protéines (g) | 3,2 |
| Lipides (g) | 3,2 |
| Glucides (g) | 12 |
| Calcium (mg) | 140 |
| Sodium (mg) | 50 |
| Potassium (mg) | 190 |
| Phosphore (mg) | 106 |
| Valeur énergétique (kJ) :372 | |

I-3-3-2-Caractéristiques microbiologiques du yaourt :

Les yaourts ne doivent contenir aucun germe pathogène. Ils doivent en outre satisfaire aux critères bactériologiques qui sont fixés dans le tableau III.

Tableau III: Caractéristiques microbiologiques du yaourt (JORA 35, 1998).

| Détermination | n | Norme (UFC/ml) |
|------------------------------|---|------------------|
| Coliformes totaux | 5 | 10 |
| Coliformes fécaux | 5 | 1 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 5 | 10 |
| Levures | 5 | <10 ² |
| Moisissures | 5 | Absence |
| Salmonelles | 5 | Absence |
| La flore lactique | 5 | >10 ⁷ |

n : nombres d'unités composant l'échantillon.

I-3-4-Technologie de production du yaourt :

I-3-4-1-Préparation du lait

✓ Enrichissement en matière sèche

La teneur en matière sèche du lait mis en œuvre dans la fabrication du yaourt est un facteur qui conditionne la viscosité et la consistance du produit fini. Les protéines ont un rôle déterminant sur la texture et la matière grasse sur les caractéristiques organoleptiques. La teneur en matière grasse est ajustée en fonction des produits de 0,5 à 3,5%, et celle de l'extrait sec dégraissé à environ 14% (Jeantet et *al.*, 2008).

I-3-4-2-Homogénéisation :

Ce traitement est pratiqué surtout dans le cas des laits gras (10 à 25.10⁶ Pa à 60-90°C) (Jeantet et *al.*, 2008). L'homogénéisation vise, avant tout, à réduire la taille des globules gras et est indispensable pour éviter la remontée de la matière grasse pendant la fermentation (Luquet et Corrieu, 2005).

I-3-4-3-Traitement thermique :

Le lait subit un traitement thermique (pasteurisation, tyndallisation, stérilisation,...) qui a pour buts :

- La destruction des germes pathogènes (bactéries, levures et moisissures) ;
- Favorisation de développement de la flore lactique spécifique par la formation de d'acide formique et d'autres facteurs de croissance ;
- L'induction de modifications physicochimiques au niveau de la fraction du lait, notamment par dénaturation des protéines sériques. Il en résulte une augmentation de la fermeté du coagulum, ce qui limite la synérèse et améliore la texture du yaourt et sa stabilité (Jeantet et *al.*, 2008).

I-3-4-4-Ensemencement et étuvage:

L'ensemencement d'une culture de *Lb. bulgaricus* et de *St. thermophilus* doit se faire après refroidissement et avec un taux assez élevé (10⁷ UFC/ml) pour assurer une acidification correcte: il varie selon la viabilité des cultures (Jeantet et *al.*, 2008), avec l'utilisation des

levains concentrés congelés ou lyophilisés. C'est l'ensemencement direct des cuves qui se fait et qui apporte une sécurité dans la mesure où il supprime la fabrication des ferments dans l'usine et leur transfert dans les cuves (Luquet et Corrieu, 2005). L'étuvage se fait à 40-45°C pendant 2-4heure.

I-3-4-5-Aromatisation et Conditionnement :

L'ajout du sucre ou des arômes se fait suite à l'ensemencement pour les yaourts fermes alors que l'addition des fruits se fait juste après le refroidissement. Deux types d'emballage sont utilisés : les pots en verre et les pots en plastique (par thermoformage) (Jeantet et *al.*, 2008).

I-3-4-6-Arrêt de la fermentation :

Lorsque le pH approprié est atteint, un refroidissement rapide est effectué pour bloquer la fermentation (Jeantet et *al.*, 2008). Cet arrêt doit se faire vers un pH=4,5 pour éviter une poste acidification et donc une contraction du gel (Branger et *al.*, 2007). Dans le cas des pots étuvés, ce refroidissement est effectué soit dans des chambres froides ventilées, soit dans un tunnel. Dans le cas des yaourts brassés, un brassage est réalisé au préalable par différentes techniques permettant d'améliorer l'onctuosité du produit et de réduire la synérèse, il se fait à une température de 2 à 5°C (Jeantet et *al.*, 2008). La procédure de fabrication des différents types de yaourt est résumée dans la figure 04.

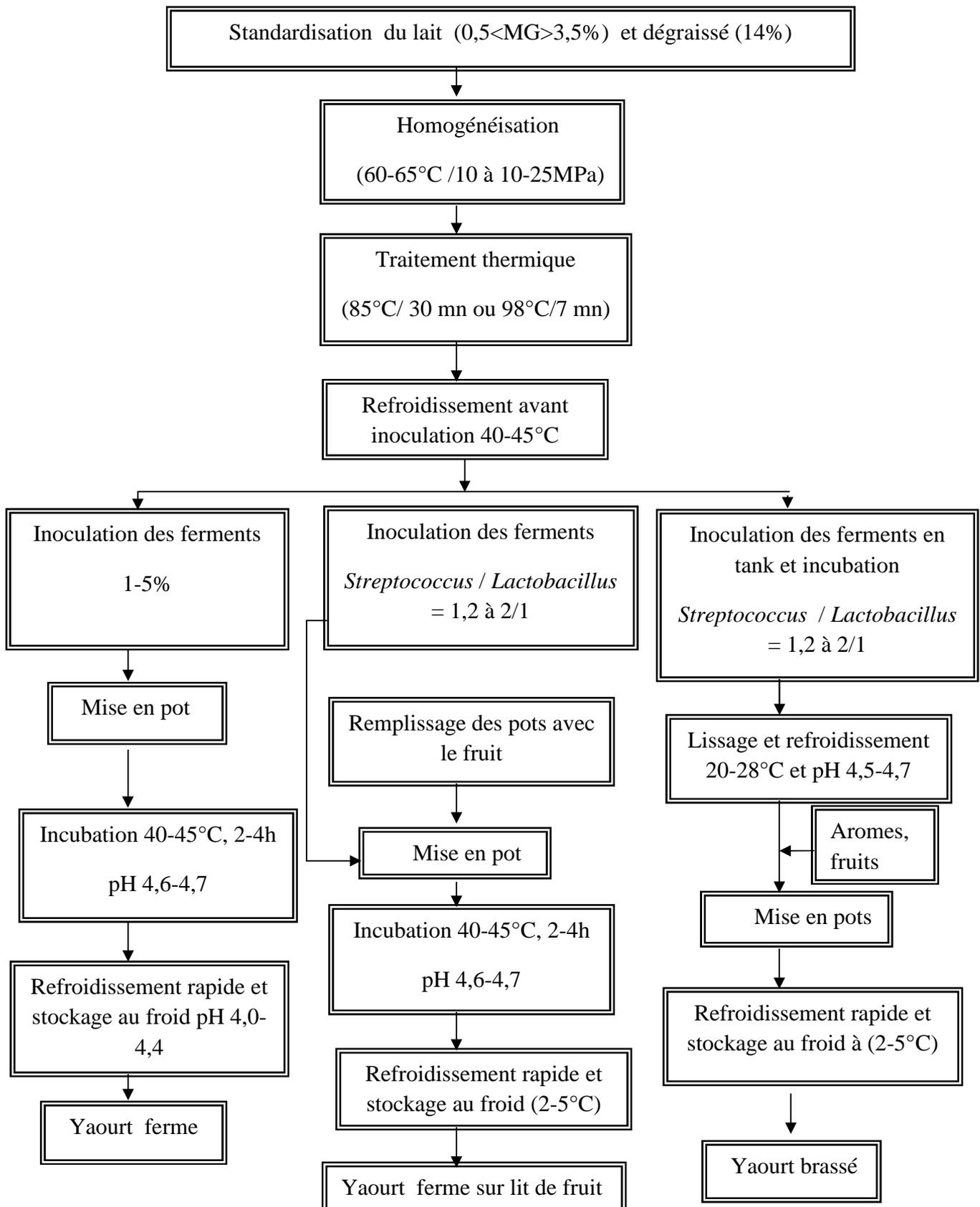


Figure 04: Diagramme technologique de fabrication du yaourt (Jeantet et al., 2008).

I-3-5- Caractères sensoriels du yaourt :

L'analyse sensorielle a pour but de décrire les caractéristiques organoleptiques des produits, de façon objective et qualifiable selon des critères bien définis d'aspect, de texture, de saveur et d'arôme (Luquet et Corrieu, 2005).

La norme FIL 99C (1997) indique la méthode de référence d'évaluation sensorielle des produits laitiers qui est basée sur l'apparence, la consistance, la flaveur et l'odeur.

- ❖ L'évaluation de l'apparence portera sur le remplissage, la couleur, la pureté visible, la présence de matière étrangère, de points de moisissures et l'exsudation du sérum.
- ❖ L'évaluation de la consistance porte sur l'épaisseur, le caractère collant et le caractère granuleux. Elle est réalisée en mélangeant le produit à l'aide d'une cuillère avant de malaxer l'échantillon dans la bouche.
- ❖ L'évaluation de la flaveur est réalisée en goûtant le produit, et celle de l'odeur en le flairant.

I-3-6-Conservation du yaourt:

Les yaourts doivent être maintenus à une température susceptible d'éviter leur altération et qui est fixée à :

- ✚ 6°C pour le stockage et le transport.
- ✚ 8°C pour la remise directe au consommateur (Document CAQCE, 1996).

Si le maintien des yaourts au froid empêche la multiplication bactérienne, leur activité métabolique ne s'arrête pas complètement. Bien que lente, la production d'acide lactique se poursuit (FAO, 1995).

I-3-7-Intérêts nutritionnels et thérapeutiques du yaourt:

Un pot de yaourt possède la même valeur nutritive d'un pot du lait et parmi ses intérêts:

- Amélioration de l'absorption du lactose : Le yaourt présente une meilleure absorption que le lait surtout pour les sujets intolérants au lactose (Moreau, 2005).
- Amélioration de la digestibilité des protéines : Une étude est faite sur l'hypothèse que les bactéries lactiques ont un rôle dans l'activité lactasique de la muqueuse intestinale

et la libération de lactase bactérienne lors de la destruction de BL pendant le transit intestinal (Gérard, 2001).

- **Activité antibactérienne :** La production d'acides organiques principalement l'acide lactique conduit à l'abaissement du pH qui inhibe la croissance des microorganismes (Herrerosa et *al.*, 2005).
- **Stimulation du système immunitaire :** Les BL présentent une action qui stimule le système immunitaire en agissant sur les cellules spécifiques et non spécifiques de l'immunité (Marteau et *al.*, 1994). Le yaourt a un effet immunorégulateur, qui permet d'augmenter la production d'interférons et d'exciter l'activité des lymphocytes B, cet effet peut être attribué aux *Lb. bulgaricus* (Mahaut et *al.*, 2000).
- **Action préventive contre les cancers de la sphère digestive :**
Les BL modifient les enzymes bactériennes à l'origine des carcinogènes dans le tube digestif en inhibant la formation des substances précancéreuses (Drouault et Corthier, 2001).
- **Action hypocholestérolémiante:** Le taux du cholestérol diminue suite à la consommation des produits laitiers fermentés. Parmi les hypothèses proposées pour expliquer cette diminution est que les BL absorbent le cholestérol (Drouault et Corthier, 2001).

II- Les deux ferments du yaourt :

Il y a deux souches qui sont exclusivement utilisées pour produire du yaourt. Il s'agit de:

II-1- *Streptococcus thermophilus* :

C'est un cocci à Gram positif, anaérobie facultatif, immobile, qui ne produit pas de gaz à partir du glucose. Cette espèce se distingue d'autres streptocoques par une croissance thermophile avec un optimum de 40 à 45°C, mais une inhibition à 10°C, sa thermorésistance à 60°C pendant 30 minutes et une forte sensibilité au NaCl (4%) (De Roissart et Luquet, 1994). Il est caractérisé par l'absence de tout antigène du groupe D, et une activité fermentaire réduite à quelques sucres. Le type de muréine est le Lys-Ala, et le pourcentage G-C varie entre 37 et 40% (Leveau et Bouix , 1993).

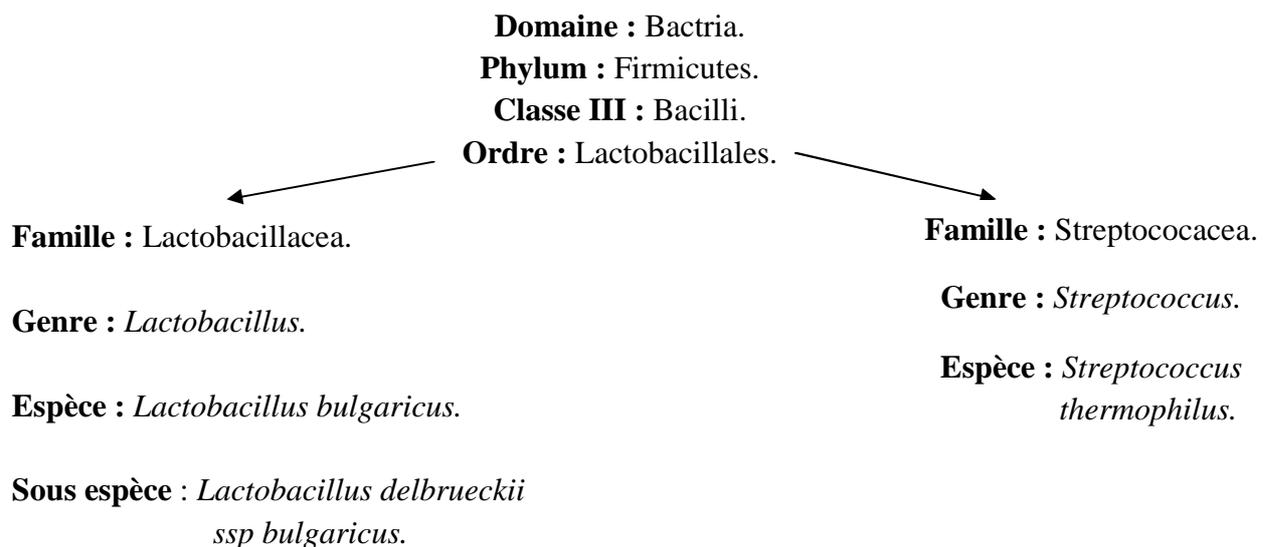
II-2- *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* :

C'est un bacille à Gram positif, non sporulé, immobile, micro-aérophile, métabolisant un nombre limité de glucides, et incapable de fermenter le galactose. Il se développe à 45°C et à un pH de 7 avec une production uniquement de l'isomère D(-) de l'acide lactique (De Roissart et Luquet , 1994). Son peptidoglycane est de type Lys-Asp, le pourcentage G-C varie ente 49 et 51% (Steele, 1997).

II-3-Classification des deux espèces :

D'après la seconde édition du Bergey's Manual of Determinative Bacteriology , les deux souches sont regroupées dans le volume (III) qui représente les bacteria à Gram (+) pauvres en G-C (Prescott *et al.* , 2010).

Leurs rangs taxonomiques sont comme suit:

**II-4- Propriétés technologiques des deux souches****II-4-1- Activité acidifiante :**

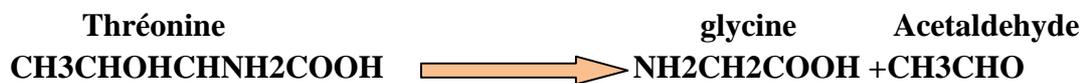
La production d'acide lactique influence la texture, le goût et la qualité microbiologique du yaourt. Elle contribue à un abaissement du pH qui joue un rôle dans l'inhibition de plusieurs types bactériens contaminants (Enterobacteriaceae et Pseudomonaceae) ainsi que des bactéries pathogènes comme *Listeria monocytogenes* et *Salmonella* (Desmazeaud, 1996).

L'acide lactique est produit sous l'une des formes isomériques L(+), ou D(-) ou bien en mélange racémique (Béal et Sodini, 2003). La portion de L(+) est la forme la plus assimilable de l'acide lactique présent dans le yaourt, avec un pourcentage de 40 à 70%.

St. thermophilus produit l'acide lactique de forme L(+), tandis que *Lb. bulgaricus* produit majoritairement celui de forme D(-) et le racémique (Loones, 1994).

II-4-2-Activité aromatisante :

L'acétaldehyde est un composé important de l'arôme du yaourt (Leveau et al., 1994). Il est produit principalement par *Lbs bulgaricus* à partir de la thréonine. La réaction est réalisée par la thréonine aldolase comme suit (Loones, 1994):



Tréonine aldolase

II-4-3- Production d'exopolysaccharides:

La fermeté et la consistance sont des caractéristiques importantes dans le yaourt (Loones, 1989). Elles sont dues à l'excrétion de polymères de glucides (EPS), ce qui donne leur pouvoir épaississant, gélifiant et stabilisant (Bouzar et al., 1997).

II-4-4-Activité protéolytique :

Ces ferments possèdent des protéases qui dégradent la caséine du lait ; *Lb. bulgaricus* contient des protéases localisées au niveau de la paroi cellulaire ce qui permet la dégradation des caséines par l'activité endopeptidasique.

St. thermophilus possède une faible activité endopeptidasique donc dégrade les polypeptides en acides aminés libres par son activité exopeptidasique (Monnet et Gripon, 1994).

II-4-5- Activité antimicrobienne :

Les deux souches produisent plusieurs composés antimicrobiens naturels, à savoir les acides organiques (lactique, acétique, formique, ...), le dioxyde de carbone, le peroxyde d'hydrogène, le diactyle, l'éthanol et des bactériocines (Yao, 2009).

II-5-Synergie entre les deux souches :

L'association de deux souches du yaourt est dite protocoopération qui est bénéfique pour les deux espèces (Driessen, 1981). Ce phénomène de synergie est une stimulation qui concerne principalement la croissance, l'acidification et la production de composés aromatiques (Mahaut *et al.*, 2000).

Au cours de cette symbiose, les phases de croissance des deux souches sont décalées dans le temps. En effet, la première phase est celle de la croissance de *St. thermophilus*, dans un deuxième temps, celle-ci ralentit du fait de l'effet inhibiteur de l'acide lactique produit, alors que le taux de croissance de *Lb. bulgaricus* augmente (Rasic et Kurmann, 1978).

La stimulation de cette coculture s'explique par différentes exigences en facteurs de croissance des deux espèces. *St. thermophilus* est peu protéolytique, du fait d'une faible activité ou l'absence d'une protéase de paroi et par conséquent sa croissance est limitée étant donné l'insuffisance des acides aminés et les peptides présents initialement dans le lait pour couvrir ses besoins (Marshall, 1987). Par contre, *Lb. bulgaricus* possède cette dernière qui va permettre la libération de ces acides aminés et peptides. Quant à *St. thermophilus* produit de l'acide formique et dioxyde de carbone stimulant *Lb. bulgaricus* en synthétisant des purines (Veringa *et al.*, 1968). Cette symbiose permet d'améliorer les critères de sélection et une réduction de la phase de latence des cultures et une meilleure résistance aux concentrations élevées en saccharose dans les produits sucrés (Luquet et Corrieu, 2005). La synergie entre *Lb. bulgaricus* et *St. thermophilus* est présentée dans la figure 05.

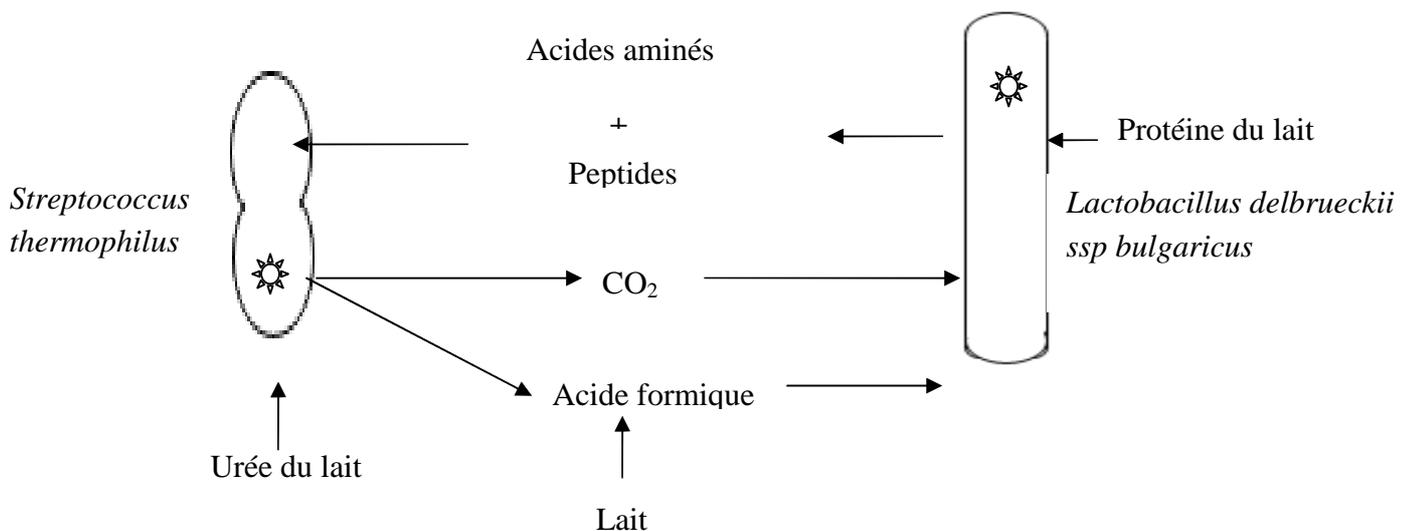


Figure 05: Schéma des facteurs stimulants la coopération interspécies (Loones, 1994).

II-6-Différents modes de conservation :

Plusieurs méthodes sont utilisées en fonction de la souche et le but recherché. La technique courante de conservation des souches est celle des repiquages successifs, mais elle est limitée dans le temps. En effet, certaines souches accumulent des déchets toxiques en modifiant le pH : il est nécessaire de les repiquer très vite après la fin de la croissance. Pour augmenter la durée de conservation ou pour conserver des cultures importantes, il est nécessaire de recourir à la congélation ou à la lyophilisation (Guiraud, 2003).

II-6-1-Lyophilisation :

Elle consiste en une congélation suivie d'une sublimation. De nombreuses cellules sont tuées mais les survivants gardent toutes leurs propriétés pendant un temps atteignant souvent plusieurs années.

Cette méthode est utilisée pour la conservation de quantités importantes de germes et a donc un grand intérêt industriel. Le liquide de suspension est un colloïde hydrophile comme le lait. Il est possible d'utiliser également du glycérol (10%), de la gélatine et de sérum inactif (Guiraud, 2003).

II-6-2-Congélation :

Elle permet la conservation d'une quantité importante de germes et pendant plusieurs années. Les cultures sont centrifugées stérilement et mises en suspension dans un milieu à 10% de glycérol ou dans du lait écrémé, puis congelées à l'azote liquide qui permet une congélation rapide et limite la mortalité. Ces souches sont conservées à -25 °C ou mieux à -80°C (Guiraud, 2003).

II-6-3- Repiquage successif :

C'est une méthode qui utilise des tubes de milieux solides inclinés ou en culot. Une fois ensemencés, les tubes sont placés à l'étuve pour que la croissance débute puis avant qu'elle ne soit trop abondante, les tubes sont placés dans une armoire réfrigérée à 4°C ou parfois laissés à température ambiante. La vitalité de la souche se maintient pendant des durées variables, selon la température et l'espèce microbienne (Guiraud, 2003).

II-7- Viabilité des souches du ferment lactique :

La conservation des microorganismes par différentes méthodes de séchage facilite la manipulation et le stockage et en réduit les coûts. Ces méthodes sont assez agressives vis-à-vis des microorganismes car elles impliquent de fortes variations de la T° du produit (Mille et *al.*, 2005).

L'utilisation de cryoprotecteurs au cours de la lyophilisation et de la congélation et d'antioxydant pendant le stockage augmente significativement le taux de viabilité des cellules (Coulibaly, 2010).

Le séchage est responsable de différentes formes de dommages cellulaires, principalement en raison des changements dans l'état physique des lipides membranaires et dans la structure des protéines sensibles, qui conduisent souvent à une perte sévère de la viabilité bactérienne (Leslie et *al.*, 1995).

I-Présentation de l'organisme d'accueil :

Historique :

- En 1983, le groupe Batouche a créé une petite unité de fabrication de yaourt dans la région d'Ighzer Amokrane avec une capacité de production de 1000 pots /heure.
- En 1986, l'unité a réussi à acquérir une conditionneuse thermo-formeuse d'une capacité de 4000 pots /heure.
- En 1988, l'entreprise s'est dotée d'un atelier de fabrication de fromage fondu et de camembert.
- En 1991, se fut l'acquisition d'une ligne de production de crème dessert.
- En 1993, une nouvelle conditionneuse est arrivée avec une capacité de 9000 pots /heure.
- En 1995, l'entreprise a acquis deux conditionneuses 12000 et 9000 pots /heure et une remplisseuse de 7000 pots /heure.
- Suite à la création de la zone industrielle d'Akbou en 1996, le groupe Batouche inaugure sa nouvelle unité.
- En 1999, une construction d'une deuxième usine de fabrication des produits laitiers (fromage fondu en portion 8 et 16, fromage à pate pressée et camembert).
- En 2001, signature de l'accord de partenariat avec le groupe DANONE avec une participation de 51% dans la société « DDA SPA ».

La marque DANONE a été lancée en Août 2002.

Situation géographique :

L'entreprise « Ramdy » s'est implantée avec une superficie de 2397 m² :

- Dans une zone industrielle de 50 unités agroalimentaires
- A quelques dizaines de mètres de la voie ferrée.
- A 60 km de Bejaia.
- 170 km à l'est de la capitale Alger.

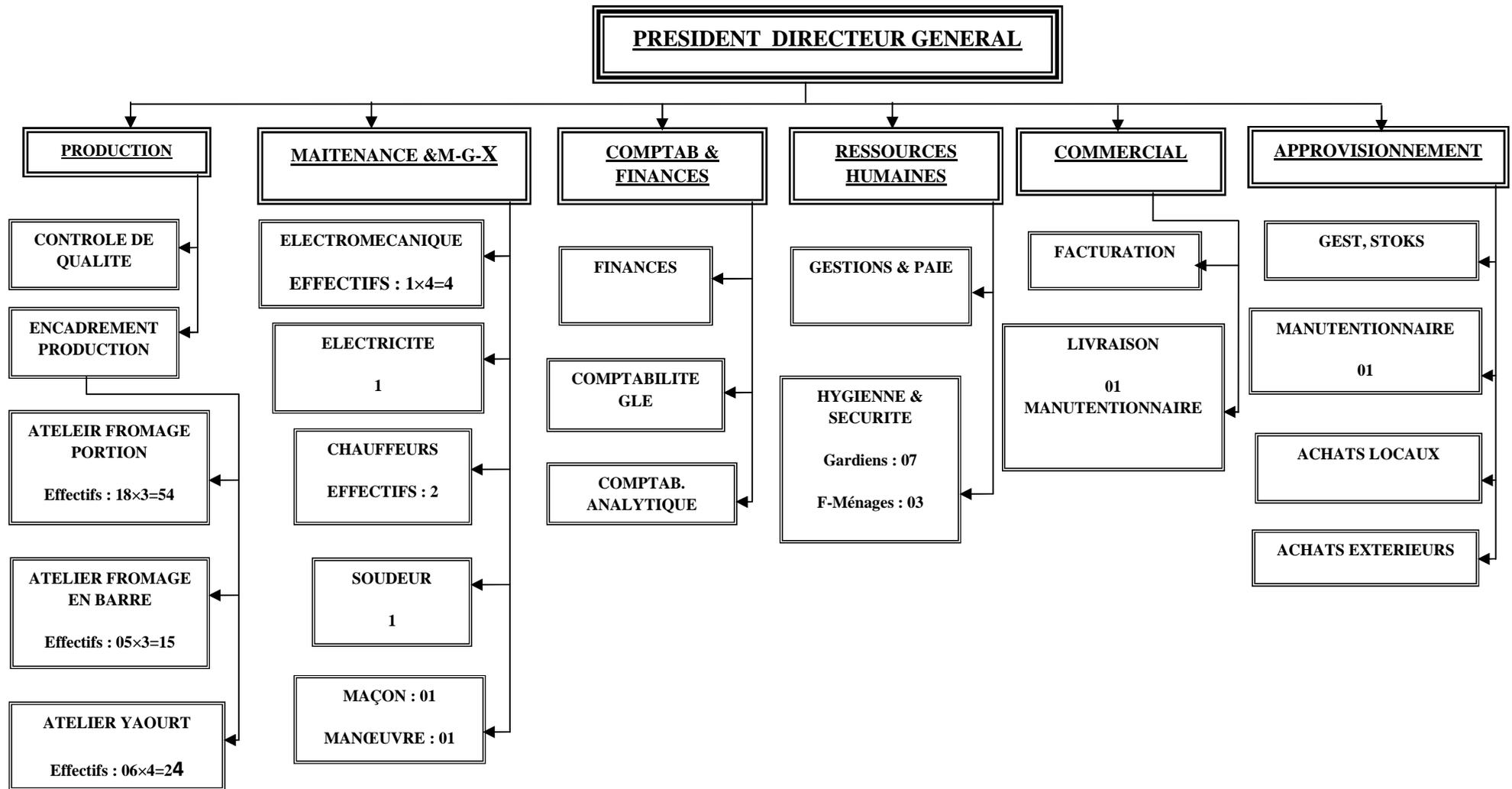


Figure 06: Organigramme de la SARL Ramdy.

Notre stage pratique a été effectué au « Laboratoire de contrôle de qualité et d'analyses », de la laiterie-fromagerie « Ramdy » durant 60 jours (du 02 Février au 02 Avril 2012).

Ce travail consiste entre autre à un suivi de la croissance de la flore lactique du yaourt étuvé « Ramdy » fabriqué par ensemencement de deux ferments différents ; lyophilisé et congelé, ainsi de vérifier la possibilité de pousser la DLC de ce produit de 10 jours.

Afin de lutter contre les phages qui s'attaquent aux ferments lactiques, la laiterie ensemence ses ferments congelé et lyophilisé dans les cuves d'une manière alternée, car les ferments sont doués d'un système de défense contre les phages et pour que ces derniers ne s'adaptent plus à ce mécanisme de résistance, il faut changer à chaque fois le type du ferment.

II- Tests de confirmation de l'identité des deux souches du ferment :

Avant d'ensemencer les ferments dans les cuves, nous avons procédé à une identification des deux souches constituant les deux types de ferment.

Les tests de confirmation de *St. thermophilus* et *Lb. bulgaricus* des deux types de ferment du yaourt ont été réalisés par certains tests de base d'identification à savoir : l'état frais, la coloration de Gram, le test de catalase et l'aspect des colonies sous une loupe binoculaire.

Après avoir suspendu 1g de ferment lyophilisé ou congelé dans 9 ml de liquide Ringer (LR) à partir de cette même dilution, réaliser des dilutions décimales (jusqu'à 10^{-8}), un ensemencement sur les deux milieux MRS (*St. thermophilus*) et M17 (*Lb. bulgaricus*) avec les dilutions (10^{-5} jusqu'à 10^{-8}) est réalisé. Les colonies obtenues sur les deux milieux vont servir pour les différents tests de confirmation.

II-1-L'aspect des colonies :

Après l'incubation des milieux gélosés ensemencés, on peut observer sous une loupe binoculaire les colonies bactériennes et noter quelques caractères cultureux comme la taille des colonies, leur forme et leur transparence.

II-2-L'état frais :

Il permet l'observation des bactéries à l'état vivant, la détermination de leur morphologie, leur mode de regroupement et leur mobilité éventuelle, et ça après avoir effectué une coloration au bleu de méthylène.

II-3-La coloration de Gram :

La coloration de Gram est une coloration dite différentielle qui se base sur l'utilisation de deux colorants (Violet de gentiane et fuchsine), un fixateur (lugol) et de l'alcool (l'éthanol) qui va solubiliser les lipides de la paroi des Gram négatifs. Ainsi cette coloration nous permet de distinguer entre deux groupes bactériens dont les G^- et les G^+ .

Avec cette coloration, les bactéries Gram positives apparaissent en violet foncé tandis que les bactéries Gram négatives sont colorées en rose.

II-4-Test de la catalase :

Sur une lame de verre propre, une goutte de la solution de l'eau oxygénée (30%) est déposée (HO, 2008), puis mise en contact avec une colonie isolée, prélevée directement avec une pipette Pasteur boutonnée. S'il ya effervescence, la bactérie possède la catalase donc elle est catalase (+) et si rien n'est observé, la bactérie ne possède pas l'enzyme, donc elle est catalase(-) (Dellaras, 2007).

III-Echantillonnage :

Pour le suivi de la croissance de la flore lactique du yaourt étudié, des échantillons ont été prélevés pour les deux types de ferment à différents niveaux :

- ❖ Juste après la production (à la sortie de la machine conditionneuse); 5 pots sont prélevés;
- ❖ Durant l'étuvage (45 ± 2 °C durant quatre heures), pendant 4 heures de maturation, 5 pots sont prélevés à chaque heure;
- ❖ Après la maturation, 10 plaquettes (de 8 pots) sont prises et conservées dans la chambre de stockage à 6°C;
- ❖ Chez le consommateur, le prélèvement concerne 2 pots de yaourt d'une manière que les échantillons préservent leurs température à 9°C durant le transport et ça dans une glacière.

IV-Analyses physicochimiques :

Les analyses physicochimiques sont effectuées à chaque heure durant la maturation du yaourt, ainsi que chaque trois jour durant le stockage et Jusqu'à J+40.

IV-1- Acidité titrable :

C'est la quantité de l'acide lactique contenant dans un litre du lait (Guiraud et Rose, 2004). Elle est dite aussi acidité Dornic, car elle est titrée par la soude Dornic (MOLAB014-ISO6091-190). Elle s'exprime en (%) d'équivalents d'acide lactique ou bien en (°D) (Vignola, 2010).

❖ Principe :

Il se base sur le titrage de l'acidité par l'hydroxyde de sodium (1/9N) en présence de la phénolphaléine (1% m/v) comme indicateur de couleur.

❖ Mode opératoire :

Dix ml du yaourt sont versés dans un erlenmeyer à l'aide d'une seringue après avoir bien mélanger le pot. 3 à 4 gouttes de phénol phtaléine sont ajoutées, puis le titrage est réalisé avec de la solution NaOH jusqu'au virage à la couleur rose pale persistante.

❖ Expression des résultats :

L'acidité en (°D), sera égale au volume (ml) de la chute de la burette fois 10.

Soit : $1^{\circ}\text{D} = 0,01 \text{ g d'acide lactique} / 100 \text{ g du produit fini}$.

IV-2-Mesure du pH :

Le pH est mesuré avec un pH mètre (Symphony) à la température correspondant au milieu de prélèvement. Les mesures sont prises après deux minutes environ afin de permettre la stabilité d'électrode. Après chaque utilisation, cette dernière doit être rincée avec de l'eau distillée et la plonger dans la solution saturée de KCl (3M) (ISO-7218-1996).

V- Dénombrement de la flore lactique :**V-1-Préparation des dilutions :**

La préparation de la solution mère se fait dans un flacon stérile, par ajout de 10 g d'échantillon à 90 ml de LR en proportion de 1/9, ensuite l'ensemble est homogénéisé durant 2 min.

Afin de dénombrer la flore lactique, une série de dilutions décimales est réalisée d'une manière à prélever 1 ml de cette solution mère et l'introduire dans 9 ml de LR et des dilutions successives ont été réalisées jusqu'à l'obtention de la dilution 10^{-9} en homogénéisant à chaque dilution.

V-2- Méthode de dénombrement de la flore lactique :

Le dénombrement s'effectue à : jour, J+1, J+9, J+14, J+21, J+28, DLC et J+40, pour les échantillons de la laiterie, à J+18 pour le FL (Ferment lyophilisé) et à J+8 pour le FC (Ferment Congelé).

Il s'agit de dénombrer la flore lactique qui est constituée de deux espèces, *Sc. thermophilus* et *Lb. bulgaricus* issues de deux types de ferment: congelé et lyophilisé.

A partir des dilutions 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} et 10^{-9} , 1 ml de la solution est introduit dans deux boites de Pétri, la procédure est représentée dans la figure 07.

- Pour le dénombrement de *Sc. thermophilus*, la gélose M17 estensemencée en masse et bien homogénéisé. Les boites sont incubées à 37°C pendant 48h.
- Pour le dénombrement de *Lb. bulgaricus*, la gélose MRS estensemencée en double couche. Les boites sont incubées à 37°C pendant 72h.

Après incubation, un dénombrement des colonies sur les différentes boites est réalisé. Le nombre de colonies est déterminé selon la formule suivante :

$$N = \frac{\Sigma C}{(n_1 + 0,1 n_2) d}$$

ΣC : La somme des colonies comptées sur toutes les boites contenant entre 10 et 200 colonies.

n_1 : Le nombre de boites comptées à la dilution la plus faible.

n_2 : Le nombre de boites comptées à la dilution la plus élevée.

D : La valeur correspondant à la dilution des premiers dénombrements retenus.

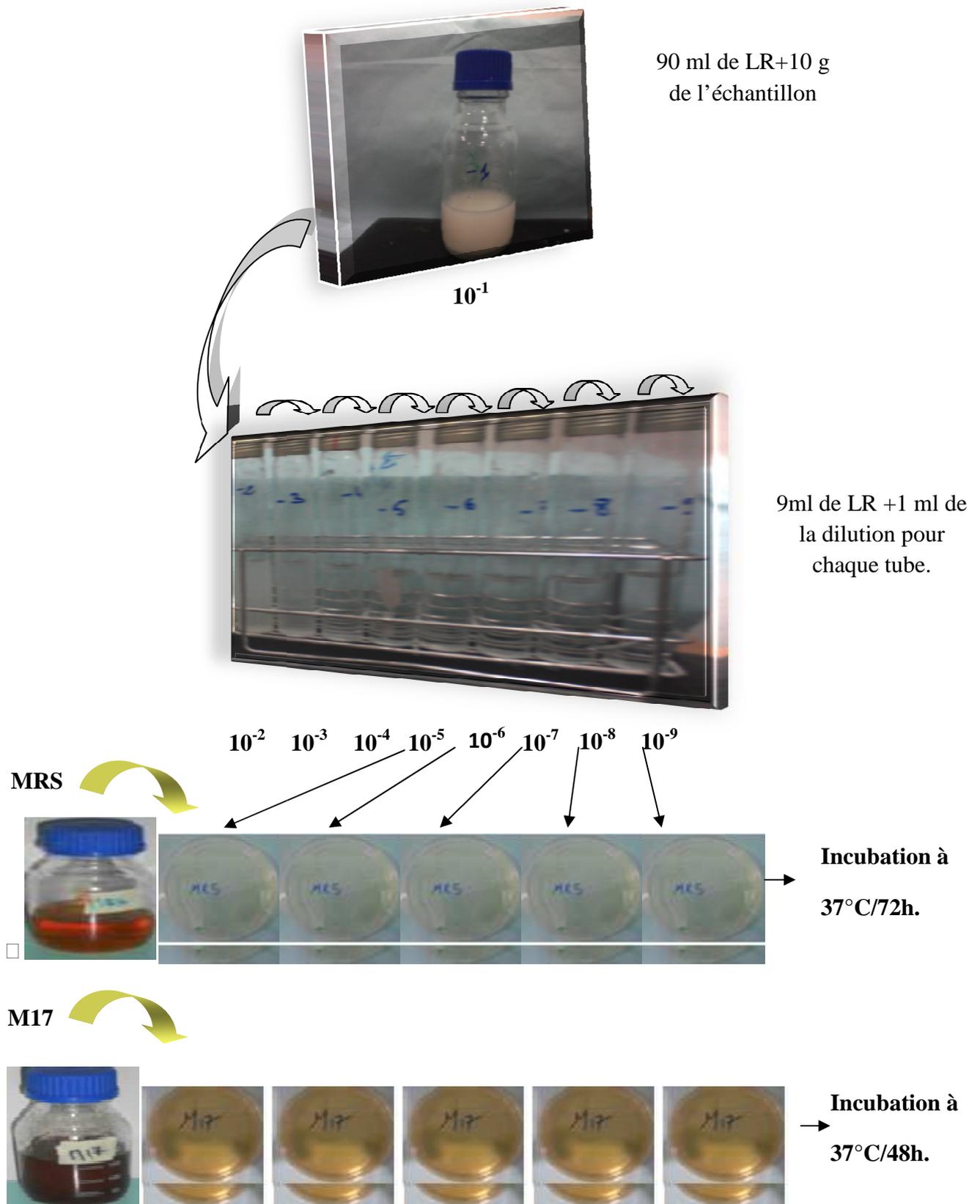


Figure 07 : Schéma illustrant la méthode de dénombrement de la flore lactique du yaourt.

I-Résultats des tests de confirmation de l'identité des deux souches :**I-1-L'état frais :**

Après la coloration au bleu de méthylène, les cellules bactériennes ont été observées sous microscope optique avec le Grossissement (G×40) :

- ✓ Sur le milieu MRS: des bacilles en chaînette qui sont immobiles ;
- ✓ Sur le milieu M17: des coques aussi en chaînette et immobiles.

I-2-Coloration de Gram :

Une observation sous microscope optique (G×100) montre que les cellules sur le milieu MRS avaient une forme de bâtonnets colorés en violet (Gram positif) et sur le milieu M17 elles avaient une forme cocci, soit en paire (diplocoque) ou en chaînette d'une couleur violette (Gram positif).

I-3-L'aspect des colonies sous la loupe :

Les colonies de *St. thermophilus* apparaissent sur milieu M17 sous forme lenticulaire, d'une taille entre 1 et 2 mm et d'une couleur blanchâtre.

Celles de *Lb. bulgaricus* apparaissent sur milieu MRS sous forme lenticulaire, d'une taille de 1 à 3 mm et toujours d'une couleur blanchâtre.

I-4- Test de la catalase :

Juste après l'ajout de l'eau oxygénée, aucune effervescence n'apparaît pour les deux espèces, donc elles sont catalase négative.

II-Résultats d'analyses physicochimiques:

II-1- Résultats du suivi du pH et d'acidité au cours de la maturation pour les deux types de ferment :

II-1-1-Evolution du pH au cours de la maturation :

L'évolution du pH et de l'acidité est marquée par la production d'acide lactique qui est une des principales fonctions des bactéries lactiques en technologie laitière. Cet acide organique permet de concentrer et de conserver la matière sèche du lait en intervenant comme coagulant et antimicrobien (Schmidt *et al.*, 1994).

Les mesures du pH et d'acidité du yaourt étuvé aromatisé «Ramdy» au cours de la maturation, ont été prises à chaque heure à une T de 45 ± 2 °C.

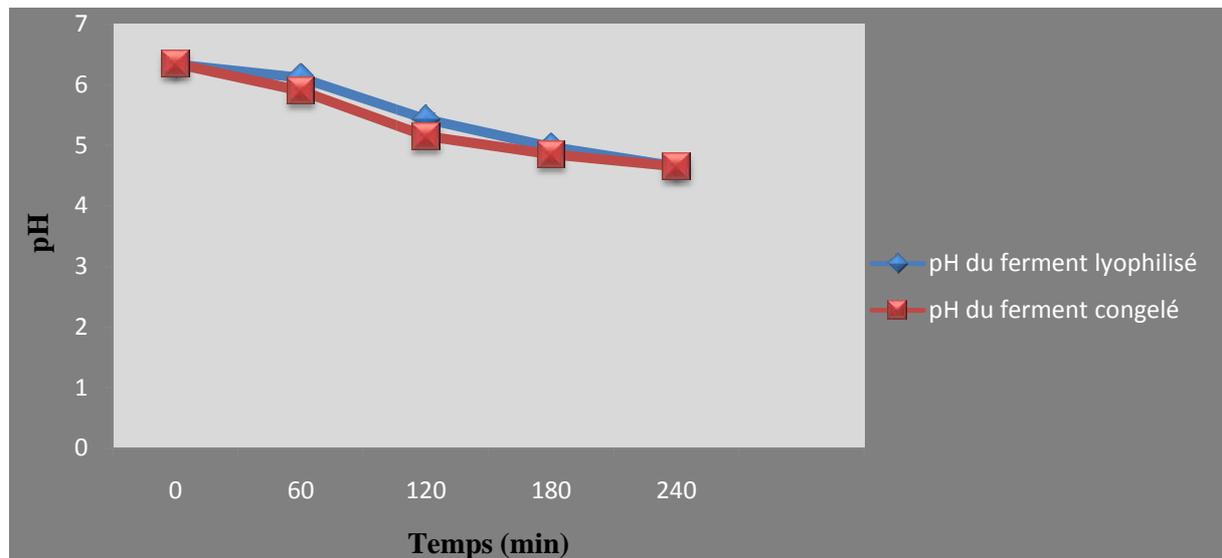


Figure 08: Evolution du pH au cours de la maturation pour les deux types de ferment.

La figure 08 montre que durant la première heure, le pH diminue en ralenti pour le FL de 6,34 à 6,12, contrairement à celui du FC qui diminue rapidement de 6,35 à 5,9. Ce la peut-être expliqué par l'adaptation immédiate des souches du FC par rapport à celles du FL.

Au delà des valeurs citées précédemment, le pH diminue progressivement pour les deux ferments jusqu'à atteindre 4,65 au bout de quatre heures (l'arrêt de la maturation).

Cette diminution est due à la production progressive d'acide lactique par les ferments et ça à partir du pyruvate en libérant des H^+ par une lactate déshydrogénase.

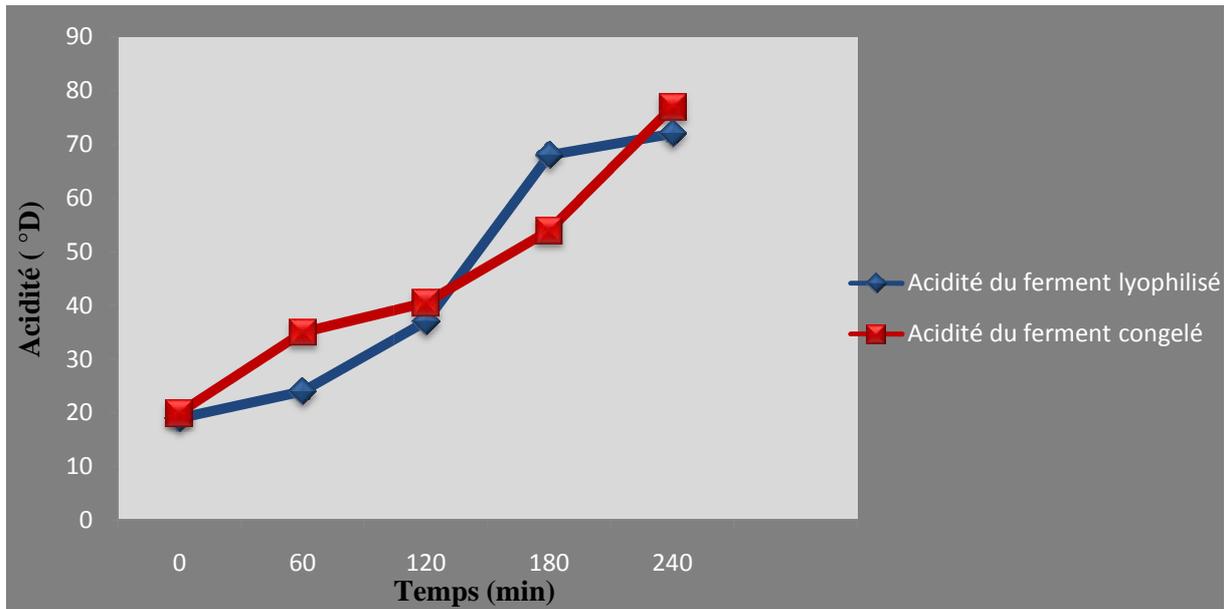
II-1-2- Evolution de l'acidité au cours de la maturation:

Figure 09: Evolution de l'acidité au cours de la maturation pour les deux types de ferment.

Durant les 2 premières heures, l'acidité augmente lentement de 19 à 37 °D pour le FL, tandis qu'elle augmente rapidement de 20 à 40,5 °D pour le FC. Au bout de 4 heures elle atteint 72°D pour le FL et 77 °D pour le FC (L'arrêt de la maturation).

Il est remarquable que la cinétique d'acidification évolue d'une manière différente pour les deux types de ferment, cela peut-être dû à :

- L'accoutumance du ferment aux nouvelles conditions du milieu (Luquet et Boudier, 1981).
- La qualité du lait, particulièrement l'apport en lactose et en composés azotés qui peut influencer sur la cinétique d'acidification (Loones, 1994).
- Les exigences nutritionnelles prononcées des BL, couplées à la faible concentration du lait en substances azotées facilement assimilables.
- La nature du ferment.

II-2-Résultats du suivi de l'évolution du pH et d'acidité durant le stockage pour les deux types de ferment :

Après la maturation du yaourt, au cours de sa conservation à basse température (6°C), l'activité acidifiante des bactéries lactiques se poursuit (Pernoud *et al.*, 2005).

Un suivi de l'évolution du pH et de l'acidité du yaourt étuvé durant son stockage a été effectué. Afin de vérifier la possibilité de pousser la DLC, une comparaison de la post-acidification de ce yaourt maintenu à une T stable à savoir 6°C au sein de la laiterie « Ramdy », avec celle d'un échantillon prélevé chez un consommateur à une température de 9°C, ainsi qu'un prolongement de stockage jusqu'à 40 jours on été réalisés.

II-2-1- Evolution du pH pour le ferment lyophilisé et congelé :

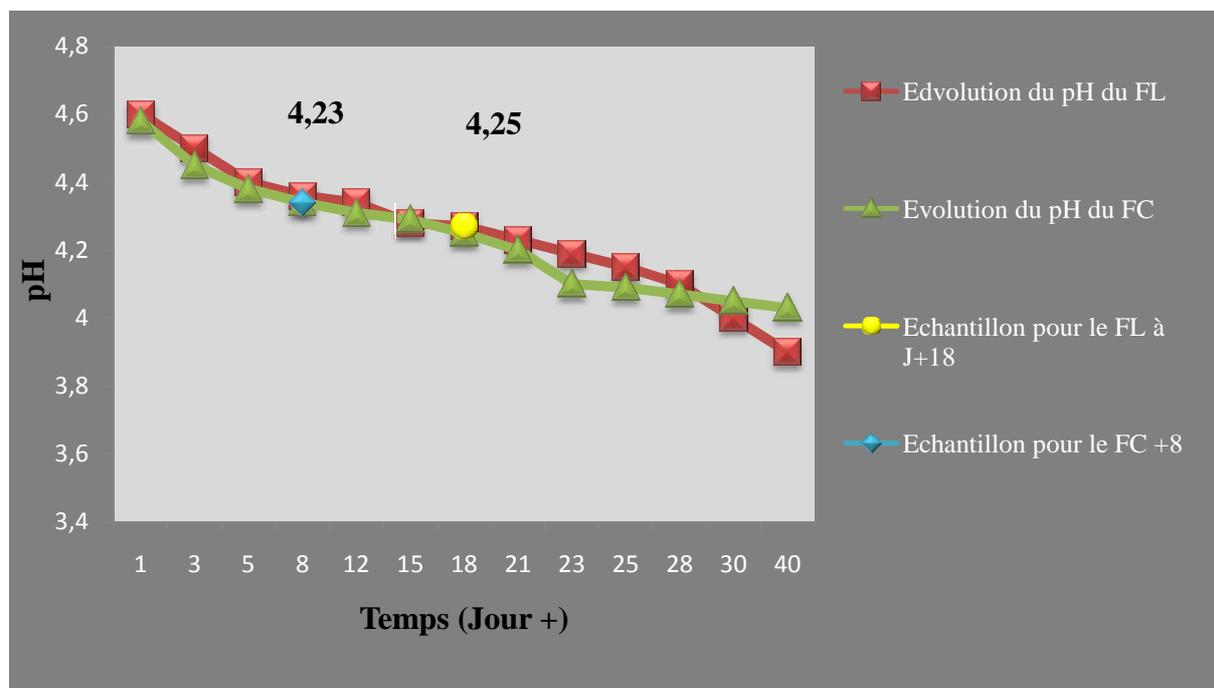


Figure 10: Evolution du pH au cours du stockage pour les deux types de ferment.

La figure 10 montre que durant les 18 premiers jours après la production du yaourt, la diminution du pH est importante (de 4,6 à 4,27) dans le cas d'utilisation du FL. Pour le FC la diminution est importante (4,58 à 4,10) durant les 23 premiers jours, cela est associé à une croissance de bactéries assez élevée ce qui engendre une production d'acide lactique en grande quantité par les deux espèces bactériennes. Le pH inhibe progressivement la croissance de la flore lactique, ce qui est suivi d'une faible diminution du pH (4,27 à 4,00)

du 18^{ème} jour à la DLC pour le FL, et (4,10 à 4,05) pour le FC du 23^{ème} jour à la DLC, sachant que la valeur du pH à la DLC doit être comprise entre 4,0 et 4,5. A J+40 le pH diminue à 3,9 pour le FL, et à 4,03 pour FC.

Les échantillons prélevés chez le consommateur doivent normalement avoir des valeurs correspondantes à celles trouvées au sein de la laiterie pour les deux types de ferment mais les analyses effectuées ont donné comme résultats, un pH de 4,25 pour le FL prélevé à J+18 et une valeur de 4,23 pour le FC prélevé à J+8.

II-2-2 Evolution de l'acidité pour le ferment lyophilisé et congelé

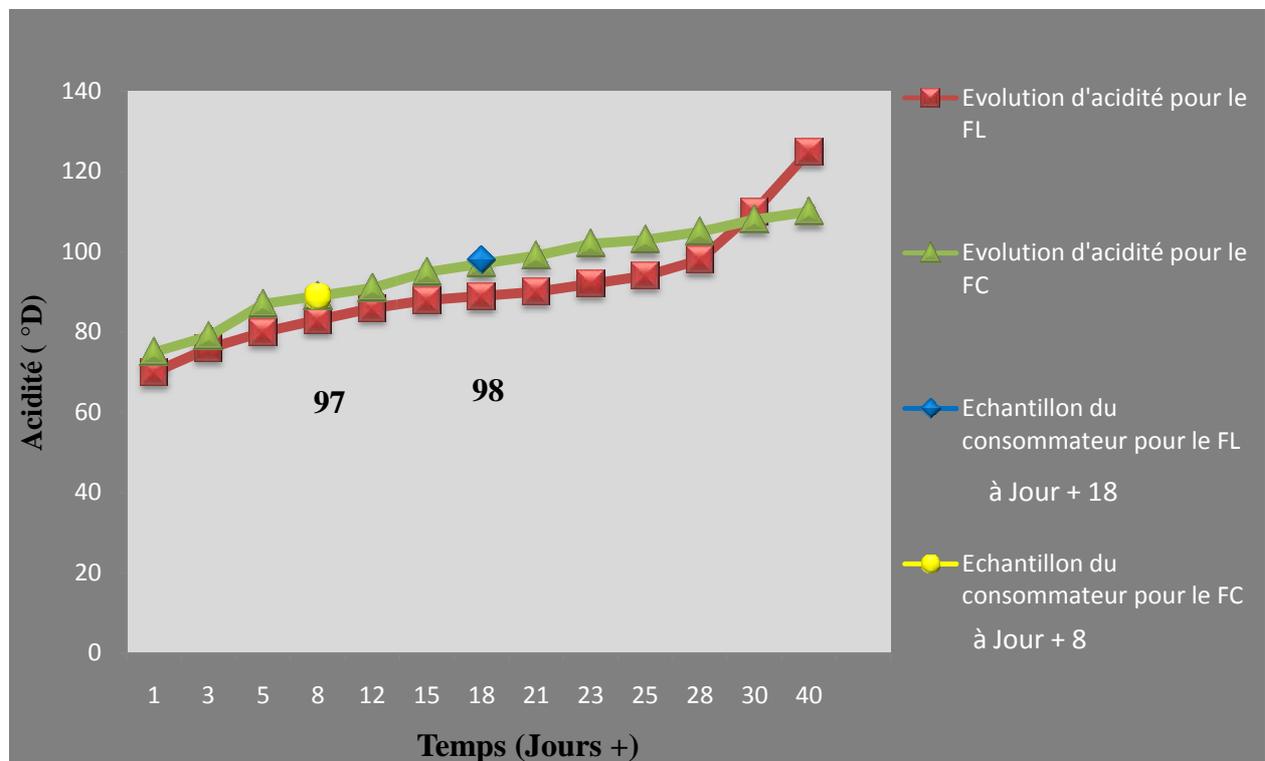


Figure 11: Evolution de l'acidité au cours du stockage pour les deux types de ferment.

L'acidité augmente progressivement pour les deux types de ferment. La valeur 89°D est atteinte à J+18 pour le FL, alors que le FC atteint la même valeur à J+8, car les souches du FC produisent de l'acide lactique en grande quantité par rapport à celles du FL, ce qui est dû à l'accumulation de cet acide vu l'adaptation supposée immédiate du FC.

A J+30 (DLC), le FL atteint une valeur d'acidité de 110 °D, alors que le FC atteint une acidité de 108 °D, cette augmentation est due à l'accumulation de l'acide lactique produit par les deux souches des deux types de ferment.

A J+40, l'acidité atteint 125°D pour le FL, et de 110°D pour le FC.

L'acidité des échantillons du consommateur à J+18 est de 98°D au lieu de 89°D pour le FL. Alors que la valeur de 98°D est atteinte à J+28 pour les échantillons prélevés au niveau de la laiterie. A J+8 l'acidité est de 97°D au lieu de 89°D pour le FC. La valeur de 97°D correspond à celle retrouvée à J+18 au niveau de la laiterie. Cette augmentation est due à la production d'acide lactique en quantité élevée par la flore lactique.

Les variations importantes du pH et d'acidité pour les deux types de ferment peuvent être expliquées par :

- La présence des nutriments nécessaires à la croissance de la flore lactique, par conséquent l'activité acidifiante augmente et le pH diminue ;
- Le pH est encore favorable pour la croissance, c'est-à-dire il est non inhibiteur pour l'activité acidifiante ;
- Non inhibition de la croissance de la flore lactique par la basse T (6°C).

La diminution du pH et l'augmentation de l'acidité des échantillons prélevés au niveau du consommateur par rapport aux échantillons de la laiterie, peut-être due à la perturbation de la chaîne de froid allant de laiterie jusqu'au consommateur, ce qui favorise une multiplication bactérienne accélérée, par conséquent cela influence sur la saveur et le goût du yaourt.

La cinétique d'acidification évolue différemment pour les deux types de ferment, néanmoins le yaourt reste conforme. Concernant les échantillons prélevés chez le consommateur à J+18 pour le FL et J+8 pour le FC, les résultats correspondent à ceux du J+28 et J+18 des échantillons de la laiterie pour les deux types de ferment respectivement.

III-Evolution de la flore lactique des deux types de ferment durant le stockage :

Le suivi de la croissance de la flore lactique du yaourt durant le stockage et 10 jours après la DLC (40 jours), et une comparaison de la charge de la flore lactique avec celle correspondante au yaourt prélevé chez un consommateur ont été réalisés.

Les figures 12 et 13 représentent l'évolution de la flore lactique pour les deux types de ferment.

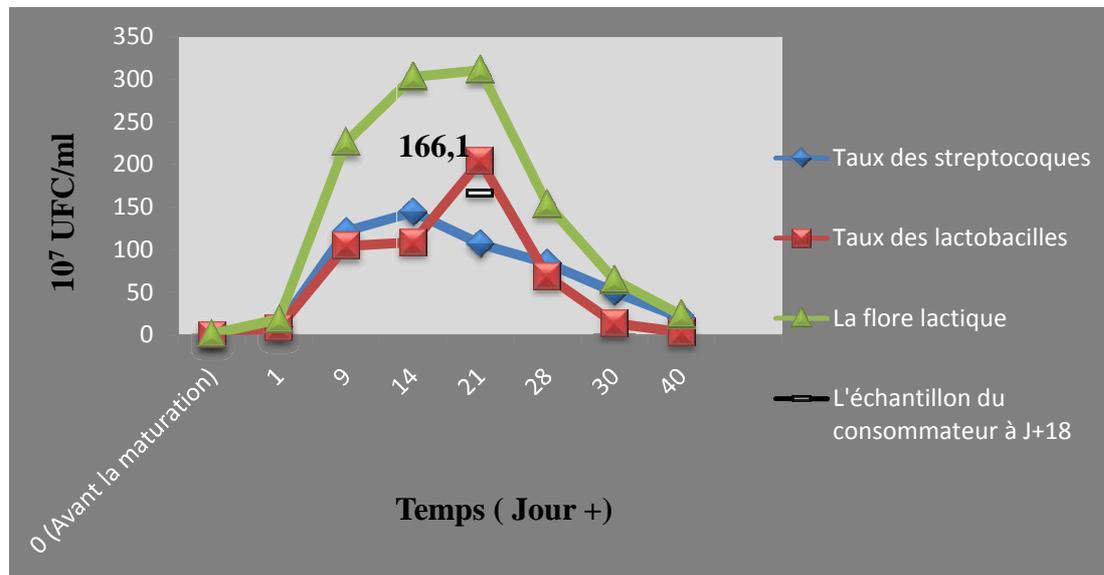


Figure 12: Evolution de la flore lactique au cours du stockage pour le ferment lyophilisé.

La figure 12 montre qu'avant la maturation (J+0), le taux de la flore lactique pour le FL est de $1,46 \cdot 10^7$ UFC/ml.

Le taux des streptocoques à J+14 atteint le maximum, il est de $1,44 \cdot 10^9$ UFC/ml, alors que celui des lactobacilles atteint un maximum de $2,04 \cdot 10^9$ UFC/ml à J+21. Cette différence est due à la synergie entre les deux espèces d'une manière que les streptocoques croissent avant les lactobacilles.

La flore lactique atteint son maximum de $3,10 \cdot 10^9$ UFC/ml à J+21 et diminue jusqu'à une valeur de $6,42 \cdot 10^8$ UFC/ml à J+30 (DLC).

A J+40, le taux de la flore lactique diminue jusqu'à $2,33 \cdot 10^8$ UFC/ml ce qui est dû à la poursuite de l'activité acidifiante des BL, donc accumulation de l'acide lactique qui inhibe la croissance de la majorité de bactéries lactiques du yaourt.

L'échantillon prélevé chez le consommateur à J+18, contient une flore lactique équivalente à $1,66 \cdot 10^9$ UFC/ml, qui se rapproche de celle du J+28 correspondant au résultat de l'échantillon de laiterie.

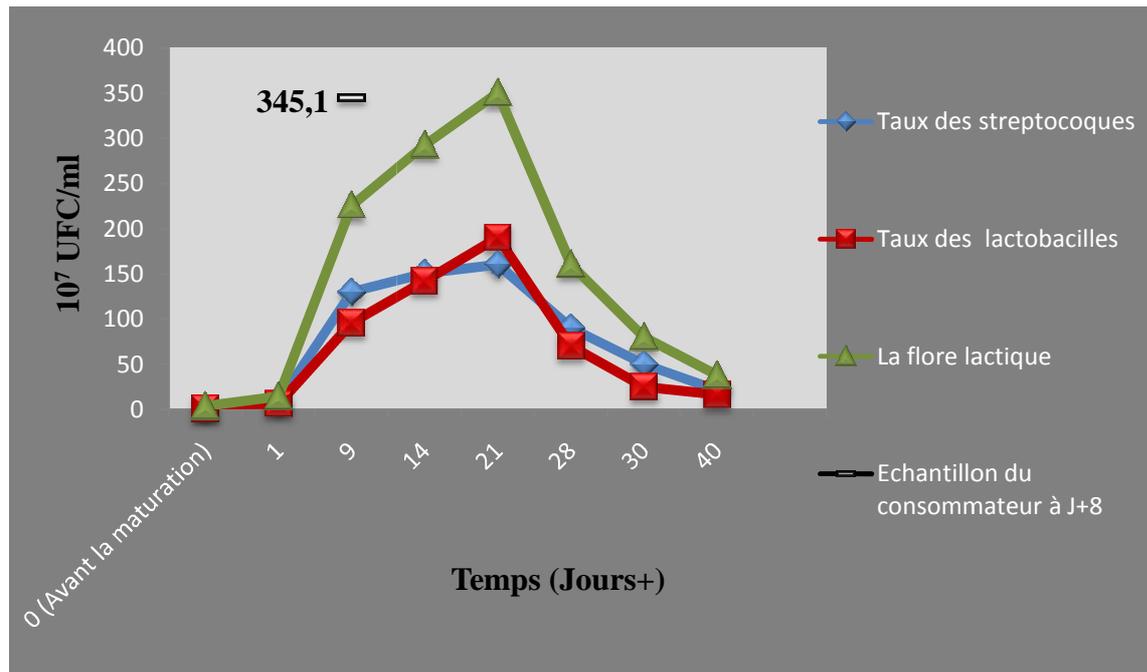


Figure 13: Evolution de la flore lactique pour le ferment congelé durant le stockage.

La figure 13 montre que pour le FC, le taux de la flore lactique avant la maturation est de $3,7 \cdot 10^7$ UFC/ml. Au bout de 21 jours elle augmente à un maximum de $3,50 \cdot 10^9$ UFC/ml, et elle diminue à $8,02 \cdot 10^8$ UFC/ml à la DLC.

Les taux des streptocoques et des lactobacilles atteignent leurs maximums à J+21: $1,60 \cdot 10^9$ UFC/ml et $1,90 \cdot 10^9$ UFC/ml respectivement donc la synergie entre les deux espèces s'effectue d'une manière que les streptocoques croissent en même temps que les lactobacilles.

A J+40, le taux de la flore lactique diminue jusqu'à $3,8 \cdot 10^8$ UFC/ml ce qui est dû à la poursuite de l'activité acidifiante des BL, donc accumulation de l'acide lactique qui inhibe la croissance de la majorité de bactéries lactiques.

L'échantillon prélevé chez le consommateur à J+8 pour le FC contient une flore lactique équivalente à $3,45 \cdot 10^9$ UFC/ml $2,25 \cdot 10^9$ UFC/ml au lieu qu'elle soit normalement comprise entre $3,02 \cdot 10^9$ UFC/ml et $3,10 \cdot 10^9$ UFC/ml du j+14 et j+28 respectivement, correspondant au résultat de l'échantillon de la laiterie. Ce qui est toujours dû à la perturbation de la chaîne de froid.

D'après les deux figures 12 et 13, la croissance des deux espèces est biphasique; une phase croissante et une autre décroissante.

La phase de croissance est due:

- Au pH favorable du milieu,
- A la présence des nutriments nécessaires à la croissance des deux espèces,
- Aux variations peu élevées de la température du stockage.

La phase de décroissance peut être expliquée par :

- Une production d'acide lactique en ralenti qui engendre un arrêt progressif de la croissance des BL (Schmidt et *al.*, 1994).
- L'accumulation d'acide lactique et donc un pH défavorable du milieu.
- Substances inhibitrices produites par les BL telles que les bactériocines (Juillard et *al.*, 1987).

La différence de la cinétique de croissance des deux souches issues des deux types de ferments peut s'expliquer par :

- ❖ La différence du mode de conservation à savoir la congélation et la lyophilisation.
- ❖ Le taux initial des streptocoques pour le FC qui est supérieur à celui du FL.

D'après le résultat de la cinétique de croissance de la flore lactique qui diffère pour les deux types de ferments, le taux reste toujours dans les normes à savoir une flore lactique supérieure à 10^7 UFC/ml.

La différence des taux de croissance des échantillons prélevés au niveau du consommateur par rapport aux échantillons de la laiterie est due à la perturbation de la chaîne de froid allant de la laiterie jusqu'au consommateur, donc une augmentation de la température qui a favorisé une multiplication bactérienne accélérée.

Notre travail avait pour objectifs de réaliser : un suivi de la croissance de la flore lactique issue de deux types de ferment (lyophilisé et congelé) du yaourt aromatisé ferme « Ramdy » conservé à une température de 6°C, ainsi qu'un suivi des paramètres physicochimiques et en parallèle, une vérification de la possibilité de pousser la DLC de 10 jours.

Les résultats de l'analyse physicochimique réalisée pour le ferment lyophilisé et congelé durant la maturation et le stockage du yaourt ont montré une stabilité et une bonne qualité de ce produit fini.

Durant le stockage, le suivi de la croissance de *Sc. thermophilus* et *Lb. bulgaricus* effectué pour le ferment lyophilisé montre que les deux souches croissent en deux phases distinctes. Pendant que le taux de la première souche diminue celui de la deuxième souche augmente. Alors que pour le ferment congelé, les deux souches croissent et décroissent simultanément, tout en gardant le taux de la flore lactique des deux ferments dans les normes.

D'après les résultats des analyses microbiologiques et physicochimiques effectuées pour les deux types de ferment lyophilisé et congelé, aucune différence n'est observée concernant les propriétés organoleptiques et microbiologiques ce qui amènent à conclure que le yaourt produit est de bonne qualité rependant aux normes.

Le résultat de l'analyse physicochimique, et du dénombrement de la flore lactique au bout de quarante jours, et le résultat de l'échantillon prélevé au niveau du consommateur, montrent que la possibilité de pousser la DLC de dix jours n'est pas envisagée vu les perturbations qui peuvent toucher la chaine de froid allant de la laiterie jusqu'au consommateur. Ces perturbations vont influencer sur le taux de la flore lactique et par conséquent l'instabilité de la qualité organoleptique (goût, texture,...).

Néanmoins, des études plus approfondies peuvent être réalisées afin de vérifier les résultats obtenus concernant la possibilité de pousser la DLC de 10 jours.

Références bibliographiques

B

Ballows A., Trupe R-H G., Dworkin M., Harder W et Schleifer K-H. (1992).The prokaryotes, 2nd Ed. Vol II, springer verlag, New York. In: Microbiologie alimentaire, aliments fermenté et fermentations alimentaires, Ed : Tec et Doc, Lavoisier, pp 4-32.

Béal C et Sodini I. (2003). Fabrication des yaourts et des laits fermentés. In : Techniques de l'ingénieur, traité agroalimentaire. Ed : Tec et Doc, Lavoisier. Paris. 315p.

Bekhouche F. (2006). Bactéries lactiques du lait cru de vache de microorganismes pectinolytiques des olives noires et vertes:1. Isolement et identification biochimique. 2. Evaluation et Optimisation de la production d'enzymes polygalacturonase. Thèse de doctorat d'état. Institut de la nutrition de l'alimentation et des technologies agro-alimentaires. Université de Mentouri, Constantine. 104p.

Bouzar F., Cerining J et Desmazeaud M. (1997). Exopolysaccharide, production and texture. Producting abilities of mixed-strain starter cultures in yougurt production. Dairy Science. 80, pp 2310-2317.

Branger A., Richer M-M et Roustel S. (2007). L'utilisation du vivant Microbiochimie et alimentation. Ed: edugari, Dijon. 343p.

C

Coulibaly I. (2010). Contribution à l'étude de la résistance au séchage des bactéries lactiques. Gembloux Agro-Bio Tech (Belgique). Université de Liège. 260p.

D

De Roissart H. (1986). Bactéries lactiques. In : Lait et produits laitiers, **Luquet F-M.** Ed Tec et Doc, Lavoisier. Paris, pp 343-402.

De Roissart H et Luquet F-M. (1994). Bactéries lactiques, Aspects fondamentaux et technologie. Ed: Loria. 604p.

Delarras C. (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Ed: Tec et Doc. 476p.

Références bibliographiques

Dellagio F., De Roissart H., Torriani S., Curk M et Janssens D. (1994). Caractéristiques des bactéries lactiques. In : Bactéries lactiques Vol 1, De roissart H et Luquet F.M. Ed : Tec et Doc, Lorica. Paris, pp 25-60.

Desmazeaud M-J. (1996). Maîtrise des bactéries lactiques par la connaissance de leur métabolisme. In: Les bactéries lactiques, Ed: Adria, Normandie, pp 59-66.

De Vuyst. (2000). Technology aspects related to the application of functional starters cultures. Reviews : Food technology. Biothechnology, pp 105-112.

Document CAQCE. (1996).

Doleyres Y. (2003). Production en continue du ferment lactique probiotique par la technologie des cellules immobilisées. Thèse de Doctorat. Université Laval, Québec. 167p.

Driessen F-M. (1981). Mixed Culture Fermentation. Eds. ME Bushed et JH Scater. Academic, London. In: Les produits laitiers. **Romain Jeantet. (2008).**

Drouault S et Corthier G. (2001). Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés sur la santé. Veterinere et Reserche. 32, pp 101-117.

F

FAO. (1995). Lait et produits laitiers dans la nutrition humaine Collection FAO alimentation et nutrition N°28. Source:

http://www.fao.org/documents/show_cdr.asp?url_file=/docrep/T4280F/T4280F0E.HTM

Federighi M. (2005). Bactériologie alimentaire. Ed: Economica. 292p.

FIL (1997). Normes FIL Internationale 99C :1997.

G

Garaut P., Letrot C., Juillard V et Monnet V. (2000). Branched -chain amino acid Biosynthesis essentiel for optimal growth of *Streptococcus thermophilus* in milk, pp12-66.

Gérard D. (2001). Lait nutrition et santé. Ed : Tec et Doc, Lavoisier, Paris. 966p.

Guiraud J-P. (2003). Microbiologie alimentaire. Ed: Dunod, Paris. 651p.

Références bibliographiques

Guiraud J-P et Rose J-P. (2004). Pratique des normes en biologie alimentaire. Ed: AFNOR, Paris. 279p.

H

Herrerosa M-A., Sandovalb H., Gonzaleza et Castro J- M. (2005). Antimicrobial activity and antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from armada cheese (a Spanish goat's milk cheese). Food microbial, pp 455-459.

HO T-N-T. (2008). Etude de la flore lactique du Nem Chua, produit carné fermenté cru traditionnel du sud Vietnam et maîtrise du processus de fermentation par ajout de souches lactiques sélectionnées spécifiques du produit. Thèse de doctorat en Sciences des Aliments et Nutrition. Ecole doctorale de science de la vie et de la sante. Université Bordeaux 1. 201p.

J

Jeantet R., Brulé G et Schuk P. (2000). Les produits industriels laitiers. Ed: Tec et Doc, Lavoisier Paris. 185p.

Jeantet R., Croguenec T., Mahaut M., Schuk P et Brulé G. (2008). Les produits laitiers. Ed: Tec et Doc. 178p.

JORA N°35. Arrêté interministériel du 07/10/1998 relatif aux spécifications microbiologiques de certains laits et denrées alimentaires.

Juillard V., Spinnler H-E., Desmazeaud M-J et Boquien C-V. (1987). Phénomènes de cooperation et d'inhibition entre les bactéries lactiques utilisées en industrie laitière. Le lait, 67, pp 149-172.

L

Larpent-Gourgaud M., Michaux O., Larpent J-P., Desmazeaud M., Mangin F., Mason F., Montel M-C et Tailliez P. (1997). Divisions industries et environnement de biominéraux. In : microbiologie alimentaire, techniques de laboratoire, Larpent J.P. Ed : Tec et Doc, Lavoisier. Paris, pp 159-255.

Références bibliographiques

Leslie S-B., Lighthart I-B., Crowe J-H et Crowe L-M. (1995). Trehalose and sucrose protect both membranes and proteins in intact bacteria during drying. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61, pp 3592-3597.

Leveau J-Y et Bouix M. (1993). Contrôle microbiologique. In : *Biotechnologie*, Scriban R. Ed : Tec et Dec, Lavoisier. Paris, pp 550-585.

Leveau J-Y., Bouix M et Branger A. (1994). Contrôle et validation des performances des ferments lactiques industriels. In: *Bactéries lactiques Vol II*, De Roissart et Luquet F-M. Ed: Lorica, Paris, pp 381-384.

Loones A. (1989). Modifications de la composition du lait durant la fermentation du yaourt. *Les laits fermentés. Actualité de la recherche*, pp 129-137.

Loones A. (1994). Lait fermentés par les bactéries lactiques. In : *Bactéries lactiques Vol II*, De Roissart H et Luquet F.M. Ed : Lorica. Paris, pp 37-151.

Luquet F-M et Boudier J-R. (1981). Dictionnaire laitier. 2^{ème} édition. Ed : Tec et Doc. Lavoisier, pp 93-121.

Luquet F-M. (1990). Lait et produits laitiers Vache-Brebis-Chèvre. 2^{ème} édition. *Les produits laitiers transformation et technologies*. Ed : Tec et Doc, Lavoisier. 637p.

Luquet F-M et Corrieu G. (2005). *Bactéries lactiques et probiotiques*. Ed : Tec et Doc. 307p.

M

Mahaut M., Jeantet R., Brulé G et Schark P. (2000). *Les produits industriels laitiers*. Ed : Tec et Doc, Lavoisier, Paris. 185p.

Marshall V-M. (1987). Fermented milks and their future trends. I. Microbial aspects. *J Dairy Reserche*, 54 (4), pp.559-574. In : *Bactéries lactiques et probiotiques* **Luquet F-M et Corrieu G. (2005).** 307p.

Marteau P., Pochart P et Bouhnik Y. (1994). Survie et effets de lactobacilles acidophiles et bifidobactéries des produits laitiers fermentés dans le tube digestif de l'Homme. *Cahier de la nutrition et de diététique*, pp 321-384.

Références bibliographiques

Mille Y., Beney L et Gervais P. (2005). Compared tolerance to osmotic stress in various microorganisms: towards a survival prediction test. *Biotechnol. Bioeng*, 92, pp 479-484.

Monnet V et Gripon J-C. (1994). Métabolisme azoté des bactéries lactiques. In : *Bactéries lactiques*, Vol II. De Roissart H et Luquet F-M. Ed: Loriga, Paris, pp 331-345.

Moreau M.C. (2005). Bactéries lactiques probiotiques et immunité. In: *Bactéries lactiques et probiotiques*, **François- Marie Luquet, Gérard Corrieu.** Ed: Tec et Doc Lavoisier. 307p.

N

Nokuthula F., Geornas I., Vontt A et Hastings J.W. (2000). Characterization and determination of lactic acid bacteria from a sorghum-based fermented weaning food by analyses of soluble proteins and amplified fragment length polymorphism finger printing. *Applied Environmental Microbiology*. 1084p.

Novel G. (1993). Les bactéries lactiques. *Microbiologie industrielle*. Ed : Tec et Doc, Lavoisier, Aprica, pp 170-330.

O

Ouadghiri M. (2009). Biodiversité des Bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés « Lben » et « Jben » d'origine Marocain. Thèse de Doctorat. Université Mohamed V- Agdal faculté des sciences Rabat. 132p.

P

Pernoud S., Schneid-Citrain N., Agnetti V., Breton S., Faurie J. M., Marchal L., Obis D., Oudot E., Paquet D et Robinson T. (2005). Application des bactéries lactiques dans les produits laitiers frais et effets probiotiques. In : *Bactéries lactiques et probiotiques*. Luquet F-M. Ed : Tec et Doc. 307p.

Poulain F. (1994). Evolution des préparations commerciales des ferments lactiques. In : *Bactéries lactiques Tom II*. **De Roissart H et Luquet F.M.** Ed : Loriga, pp 495-498.

Prescott H., Klein W., Sherwood et Woolverton (2010). *Microbiologie*. Ed: De Boeck, Bruxelles. 1088p.

R

Références bibliographiques

Rasic JL et Kurmann JA. (1978). Fermented fresh milk products. Yoghurt Scientific grounds, technology, manufacture and preparations. Technical Dairy Publishing House Copenhagen, Danmark. In: Bactéries lactiques et probiotiques. **Luquet F-M et Corrieu G. (2005).** Ed : Tec et Doc. 307p.

S

Schmidt J-L., Tourneur C et Lenoir J. (1994). Fonction et choix des bactéries lactiques en technologie laitière. In: Bactéries lactiques, Vol II, De Roissart H et Luquet F-M. Ed: Lorica, pp 37-54.

Stadhouders J et Leeders G-J- M. (1984). Spontanously developed mixed strain cheese starters. Their behavior to wards phages and their use In the dutch cheese industry. *Neth. Milk Dairy.* 38, pp 157-181.

Steele J. (1997). Biology and application of rod and coccus cultures. Marschall Italian and speciality cheese Seminars, pp 1-8.

T

Tamime A-Y et Robinson R-K. (2007). Tamime and Robinson's yoghurt, Science and technology. Ed: CRC press. 791p.

V

Veringa HA., Galesloot TE et Davelaar H. (1968). Symbiosis in yoghurt. II. Isolation and identification of a growth factor for *Lactobacillus bulgaricus* produced by *Streptococcus thermophilus*. *Netherland Dairy Journal*, 22: 114. In: Bactéries lactiques et probiotiques. **Luquet F-M et Corrieu G. (2005).** 307p.

Vignola C-L. (2010). Science et technologie du lait. Ed : Polytechnique, Canada. 600p.

Y

Yao A. (2009). La fermentation du manioc en gari dans l'Afrique de l'ouest : production d'un starter de bactéries lactiques lyophilisées. Thèse de doctorat en sciences. Académie Universitaire Wallonie-Europe, Faculté des sciences centre Wallon de biologie Industrielle. 213p.

Annexe I : Résultats des analyses physicochimiques et microbiologiques du yaourt étuvé aromatisé « Ramdy ».

❖ **Résultats du suivi des paramètres physicochimiques :**

Tableau I: Résultats du suivi du pH et d'acidité Dornic au cours de la maturation pour le ferment lyophilisé.

| | | | | | |
|---------------------|------|------|------|------|------|
| Temps (min) | 0 | 60 | 120 | 180 | 240 |
| pH | 6,34 | 6,12 | 5,43 | 4,97 | 4,65 |
| Acidité (°D) | 19 | 24 | 37 | 68 | 72 |

Tableau II : Résultats du suivi du pH et d'acidité Dornic au cours de la maturation pour le ferment congelé.

| | | | | | |
|---------------------|------|------|------|------|------|
| Temps (min) | 0 | 60 | 120 | 180 | 240 |
| pH | 6,35 | 5,90 | 5,15 | 4,85 | 4,65 |
| Acidité (°D) | 20 | 35 | 40,5 | 54 | 77 |

Tableau III: Résultats du suivi du pH et d'acidité Dornic au cours de stockage pour le ferment lyophilisé.

| | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|--------------------|
| Temps (Jour) | 1 | 3 | 5 | 8 | 12 | 15 | 18 | 21 | 23 | 25 | 28 | 30 | 40 | <u>18C</u> |
| pH | 4,60 | 4,50 | 4,40 | 4,36 | 4,34 | 4,28 | 4,27 | 4,23 | 4,19 | 4,15 | 4,10 | 4,00 | 3,90 | <u>4,25</u> |
| Acidité (°D) | 70 | 76 | 80 | 83 | 86 | 88 | 89 | 90 | 92 | 94 | 98 | 110 | 125 | <u>98</u> |

N.B : l'indice « C » revient aux échantillons prélevés chez le consommateur.

Tableau IV: Résultats du suivi du pH et d'acidité Dornic au cours de stockage pour le ferment congelé.

| | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|--------------------|
| Temps (Jour) | 1 | 3 | 5 | 8 | 12 | 15 | 18 | 21 | 23 | 25 | 28 | 30 | 40 | <u>8C</u> |
| pH | 4,58 | 4,45 | 4,38 | 4,34 | 4,31 | 4,29 | 4,25 | 4,20 | 4,10 | 4,09 | 4,07 | 4,05 | 4,03 | <u>4,23</u> |
| Acidité (°D) | 75 | 79 | 87 | 89 | 91 | 95 | 97 | 99 | 102 | 103 | 105 | 108 | 110 | <u>97</u> |

Annexe I : Résultats des analyses physicochimiques et microbiologiques du yaourt étuvé aromatisé « Ramdy ».

❖ **Résultats du suivi de la flore lactique du yaourt :**

Tableau V : Résultats de l'évolution de la croissance de *Lb. bulgaricus* et *St. thermophilus* sur les milieux MRS et M17 respectivement du yaourt au cours de stockage pour le ferment lyophilisé.

| Temps (Jour+) | Dénombrement de colonies (10⁷ UFC/ml) | | |
|-----------------------------------|---|---|--------------------------|
| | <i>Streptococcus thermophilus</i> | <i>Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus</i> | La flore lactique |
| 0(Avant la maturation) | 1,07 | 0,39 | 1,46 |
| 1 | 10,4 | 8,5 | 18,54 |
| 9 | 121,87 | 104 ,54 | 226,41 |
| 14 | 144,09 | 108,83 | 302,92 |
| 21 | 106,81 | 204 | 310,81 |
| 28 | 84,09 | 68,91 | 153 |
| 30 | 50,45 | 13,78 | 64,23 |
| 40 | 20 | 3,33 | 23,33 |
| <u>18C</u> | <u>90,6</u> | <u>75,5</u> | <u>166,1</u> |

**Annexe I : Résultats des analyses physicochimiques et microbiologiques du yaourt
étuvé aromatisé « Ramdy ».**

Tableau VI: Résultats de l'évolution de la croissance de *Lb. bulgaricus* et *St. thermophilus* sur les milieux MRS et M17 respectivement du yaourt au cours de stockage pour le ferment congelé.

| Temps (Jour+) | Dénombrement de colonies (10⁷ UFC/ml) | | |
|------------------------------------|---|---|--------------------------|
| | <i>Streptococcus thermophilus</i> | <i>Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus</i> | La flore lactique |
| 0 (Avant la maturation) | 2,4 | 1,3 | 3,7 |
| 1 | 8,1 | 6,13 | 14 ,23 |
| 9 | 129,8 | 96 | 225,8 |
| 14 | 150,6 | 142,3 | 292,9 |
| 21 | 160,34 | 190,5 | 350,4 |
| 28 | 90,3 | 70,2 | 160,5 |
| 30 | 50,8 | 24,9 | 80,2 |
| 40 | 21,4 | 16,5 | 37,9 |
| <u>8C</u> | <u>159 ,5</u> | <u>185,6</u> | <u>345,1</u> |

N.B : l'indice « C » revient aux échantillons prélevés chez le consommateur.

Annexe II : Composition des milieux de culture

Tableau I : Composition des milieux de culture.

| Milieu de culture | Composition | Quantité g/l |
|-------------------|---|--------------|
| MRS | Peptone 1 | 10 |
| | Extrait de viande | 10 |
| | Extrait de levure déshydraté | 5 |
| | Glucose | 20 |
| | Tween 80 (Sorbitanne monoléate) | 1ml |
| | Hydrogène-orthophosphate dipotassique (K_2HPO_4) | 2 |
| | Acétate de sodium trihydraté ($CH_3CO_2Na_3O$) | 2 |
| | Citrate d'ammoniaque ($C_6H_6O_7 (NH_4)_2$) | 2 |
| | Sulfate de magnésium heptahydraté ($MnSO_4 \cdot 7H_2O$) | 0,2 |
| | Sulfate de manganèse tétrahydraté ($MnSO_4 \cdot 4H_2O$) | 0,05 |
| | Agar-agar | 9-18 |
| | Eau distillée | 1 l |
| | pH= 5,7 | |
| M17 | Peptone 1 (hydrolysats tryptique de caséine). | 2,50 |
| | Peptone 2 (hydrolysats peptique de viande). | 2,50 |
| | Peptone 3(hydrolysats papaénique de soja). | 5,00 |
| | Extrait de levure déshydratée. | 2,50 |
| | Extrait de viande. | 5,00 |
| | B-glycérophosphate (sel disodique) ($C_3H_7O_6PN_2$). | 19,00 |
| | Sulfate de magnésium heptahydraté ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$). | 0,25 |
| | Acide ascorbique ($C_6H_8O_6$). | 50 |
| | Lactose | 10% |
| | Agar-agar. | 9-18 |
| | Eau distillée | 950 ml |
| | pH=7,2 | |

Annexe II : Composition des milieux de culture

| | | |
|----------------|-------------------------------|-------|
| Liquide Ringer | Bicarbonate de Sodium | 0,05 |
| | Chlorure de Sodium | 2,25 |
| | Chlorure de Calcium dihydraté | 0,06 |
| | Chlorure de Potassium | 0,105 |

Annexe III : Matériel et réactifs

1-Appareillage :

-L'Autoclave (VARIOKLAV) : Pour stérilisation (par la chaleur humide : T°120°C/15min) des équipements en verrerie ainsi que des milieux de culture.

-Bain Marie (GFL): Pour liquéfier les milieux de culture.

-Balance de précision (Precisa): Pour peser des ingrédients de milieux de culture.

-Etuves (37°C): pour l'incubation des boîtes ensemencées.

-Four Pasteur : Pour la stérilisation (par la chaleur sèche : 140°C/45min) des équipements en verrerie (erlenmeyers, tubes et pipettes dans des contenaires).

-pH-mètre (SympHony).

-Plaque chauffantes agitatrices (VELP scientifique) : Faire agiter les milieux de culture durant leur préparation jusqu'à l'ébullition.

-Réfrigérateur : Pour la conservation des milieux de culture.

-Thermomètre : Pour vérifier la T° de la chambre chaude, de la chambre froide ainsi que la celle de salle de stockage.

2-Equipements :

Anse de platine, bec Bunsen, boîtes de Petri, contenant pour pipettes, cristallisateur, papier aluminium, portoirs, seringues (10ml), spatules de laboratoire.

3-verreries

Béchers à différents volumes, burette, distributeur manuel, entonnoir, erlenmeyers, flacons en verre (250 ml), lames et lamelles en verre, Pipettes (1, 2, 5 et 10 ml), tubes à essai.

4-Réactifs et milieux de culture :

Alcool, Eau distillée, Lugol, Milieu MRS, Milieu M17, Solution d'eau oxygénée (30 %) Solution NaOH (1/9 N), Solution de Ringer.

Annexe III : Matériel et réactifs

5- Additifs :

L'huile à immersion, Tween 80.

6- Colorants :

Bleu de méthylène, Fuchsine, Violet de gentiane.

Résumé

Notre travail avait pour but de réaliser un suivi de la croissance de la flore lactique du yaourt aromatisé ferme « Ramdy » fabriqué par utilisation de deux types de ferment l'un lyophilisé et l'autre congelé durant la maturation et le stockage et en parallèle un suivi du pH et d'acidité Dornic.

La cinétique d'acidification diffère pour les deux ferments, d'une manière que l'évolution du pH présente un effet inhibiteur sur la croissance de la flore lactique tout en gardant le taux de ces ferments conforme à la norme lors de la DLC, ainsi qu'une bonne qualité du yaourt.

Les résultats du suivi de la croissance de *Lb. bulgaricus* et *St. thermophilus* montrent que la cinétique des deux espèces se fait différemment pour le ferment lyophilisé, tandis qu'elle s'effectue simultanément pour le ferment congelé, tout en préservant le taux de la flore lactique dans la norme.

Mots clés : yaourt, ferment lyophilisé, ferment congelé, *Lb. bulgaricus*, *St. thermophilus*, flore lactique.

Abstract

Our work had for aim to realize a monitoring of the growth of lactic flora of the set yoghurt manufactured using two types of ferments frozen one and freeze-drying during maturation and storage and in same time a monitoring of pH and Dornic acidity.

The kinetic acidification defers for the two ferments in manner that the evolution of pH present an inhibitor effect on the growth of lactic flora by keeping the rate of these ferments in compliance in the standard during the DLC, also a well quality of yogurt.

The results of monitoring growth of *Lb. bulgaricus* and *St. Thermophilus* show that the kinetic of the both species is made differently for the freeze-dried ferment while it's made in the same time for the frozen ferment keeping the rate of lactic flora in standard.

Key words: yoghurt, freeze-dried ferment, frozen ferment, *Lb. bulgaricus*, *St. thermophilus*, lactic flora.