

Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Effet des fruits additionnés au yaourt
sur la flore lactique et les paramètres
physico-chimiques au cours de la
conservation**

Présenté par :

AIT OUDJOURDI Amine et BANOUNE Mahmoud

Soutenu le : **23 Juin 2018**

Devant le jury composé de :

M^r BENDJEDDOU

MCB

Président

M^{me} BENACHOUR

MAA

Encadreur

M^{me} FARADJI

MCA

Examineur

Année universitaire : 2017 / 2018

Dédicace

*Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots
qu'il faut... tous les mots ne sauraient exprimer...*

*Ce travail je le dédie à mon défunt cher père que
dieu l'accueille dans son vaste paradis. Tombé en
champ d'honneur pour que nous vivions des jours
meilleurs.*

Mahmoud

Dédicaces

Je dédié ce modeste travail à :

Mes très chers parent et ma grande mère pour leurs soutiennent, leurs encouragements, leurs sacrifices, Eux qui m'ont guidé durant toutes mes années d'étude vers le chemin de la réussite « merci pour tout ».

Mes frères, Mes sœurs

Ma deuxième famille qui sont mes amis : Fatiha, Lyes, Faissal, Lhachemi, Zaid

*Mon camarade et mon binôme Mahmoud
Toute la promotion de Microbiologie Appliqué 2017/2018.*

Merci à tous d'être dans ma vie.

Amine

Remerciements

Avant tout, nous remercions "Allah" le tout puissant qui nous a accordé le courage, la volonté et la force pour accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

*Nous exprimons toute notre reconnaissance et notre plus grand respect à **M^{me}. Benachour K.** pour avoir assuré l'encadrement de ce mémoire, pour nous avoir fait confiance et pour nous avoir fait bénéficier de ses larges compétences, et notamment de ses précieux et judicieux conseils scientifiques et surtout pour sa patience dans la correction de ce mémoire.*

*Nous ne pouvons que sincèrement vous exprimer notre respect et notre gratitude. Nous sommes particulièrement reconnaissant à Mr **BENDJEDDOU** d'avoir accepté d'examiner ce travail en tant que présidente ainsi que, **Mme FARADJI** d'avoir voulu évaluer et examiner ce mémoire.*

*Nous tenons à remercier le gérant de Ela fruit et la responsable qualité : **M^{elle} SOUAGHI Sohila** d'avoir mis à notre disposition tout ce dont nous avons besoin au cours de notre stage. Nos remerciements vont également au personnel du laboratoire (Amel, Lmadjid, Mustafa, Fatma Nassima, Merieme et Dyhia) pour leur aide et leurs conseils.*

Sans oublier, nos amis ISMAIL et OMAR pour leur aide durant notre stage pratique.

Enfin, nos remerciements s'adressent à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Liste des figures

N° Figure	Titre	Page
Figure 01	Themomix TM5 (VORWERK)	13
Figure 02	Diagramme d'élaboration des fruits de fraise.	14
Figure 03	Diagramme de stérilisation de la fraise fraiche	15
Figure 04	Réfractomètre portable ATAGO	16
Figure 05	Schéma indiquant le principe de mesure de la consistance d'un produit.	16
Figure 06	Histogramme des pH de différentes préparations de fruits de la fraise.	20
Figure 07	Histogramme de la quantité soluble-solide des différentes préparations de fruits de fraise.	21
Figure 08	Histogramme de la viscosité des différentes préparations de fruit de fraise.	22
Figure 09	Evolution de pH au cours du stockage à 6°C de yaourt avec différente préparation du fruit de la fraise	24
Figure 10	Evolution d'acidité Dornic au cours du stockage à 6°C de yaourt avec différente préparation du fruit de la fraise	25
Figure 11	Histogramme de suivie du nombre de <i>Streptococcus thermophilus</i> dans les échantillons pendant 30 jours.	27
Figure 12	Histogramme de suivi du nombre de <i>Lb. bulgaricus</i> dans les échantillons pendant 30 jours.	28

Liste de tableaux

N° Tableaux	Titre	page
Tableau I	Résistance à la chaleur des enzymes d'altération endogènes dans quelque fruit à haute teneur en acide.	3
Tableau II	Présente un résumé des micro-organismes les plus résistants à la chaleur de putréfaction dans les produits à base de fruits à haute teneur en acide	4
Tableau III	Représentant les différentes mesures physico-chimiques des préparations de fruit de fraise	20
Tableau IV	Résultats microbiologiques de la préparation de la fraise	22

Liste de tableaux en annexe

N° Tableaux	Titre	page
Tableau I	La composition du milieu MRS	Annexe 2
Tableau II	La composition du milieu M17	Annexe 2
Tableau III	Résultats du suivi du pH et de l'acidité Dornic au cours de stockage dans 6°C	Annexe 4
Tableau IV	Résultats du suivi de l'acidité Dornic au cours de stockage à 6°C	Annexe 4
Tableau V	Résultats de l'évolution de la croissance de <i>Lb. bulgaricus</i> sur les milieux MRS au cours du stockage du yaourt à 6°C.	Annexe 5
Tableau VI	Résultats de l'évolution de la croissance de <i>St. thermophilus</i> sur les milieux M17 au cours du stockage du yaourt à 6°C.	Annexe 5

Liste des abréviations

ABS : Absence

AFNOR : Association française de normalisation

IQF : Individual Quick Frozen ou surgélation rapide individuelle

Lb : *Lactobacillus*

MRS : Milieu de Man Rogosa et Sharpe

M17: Milieu de tarzaghi

NA : Norme Algérienne

NaOH : Soude

PH : potentiel Hydrogène

SS: soluble-solide

St : *Streptococcus*

PCA : Plate Count Agar

UFC : Unité Format Colonies

VRBL : Milieu lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre

YA : yaourt de préparation de la fraise A

YB : yaourt de préparation de la fraise B

YC : yaourt de préparation de la fraise C

YD : yaourt de préparation de la fraise D

YE : yaourt de préparation de la fraise E

YF : yaourt de préparation de la fraise F

YGC : Yeast extract Glucose Chloramphenicol

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction1

Partie synthèse bibliographique

I. Pasteurisation et traitement osmotique de fruit

I.1.Pasteurisation des fruits2

I.2.Pasteurisation pour des fruits a haute acidité stable.....2

I.3.Cibles fréquemment utilisées pour la pasteurisation.....2

I.3.1. Les enzymes3

I.3.2. Les micro-organismes3

I.4.Traitements osmotiques4

I.5. Paramètres de Processus de déshydratation Osmotique.....4

I.5.1. Prétraitements 4

I.5.2. Temps d'immersion..... 5

I.5.3. Température de la solution osmotique5

I.5.4. Concentration de solution osmotique.....5

I.5.5. Agents osmotiques.....5

I.5.6. Agitation5

I.5.7 Le stockage des produits osmotiquement déshydratés.....5

II. Le yaourt et le yaourt aux fruits

II.1. Définition du yaourt.....6

II.2. Historique des yaourts :.....6

II.3. Processus de fabrication du yaourt6

II.3.1. Matières utilisées pour la production du yaourt6

II.3.2. Traitement thermique7

II.3.3. Fermentation lactique..... 7

II.3.4. Conditionnement et stockage	8
II.4. Caractéristiques des bactéries du yaourt	8
II. 4.1. <i>Streptococcus thermophilus</i>	8
II.4.2. <i>Lactobacillus delbreukii ssp bulgaricus</i>	8
II.5. Comportement associatif des deux bactéries.....	9
II.6. Intérêt et fonction des bactéries lactiques	9
II.6.1. Activité aromatique	9
II.6.2. Activité texturant	10
II.6.3. Activité acidifiante	10
II.6.4. Activité protéolytique	10
II.6.5. Activité antimicrobienne.....	11
II.7. Effet probiotique	11
II.8. Les yaourts aux fruits	11
II.8.1. Yaourt suprême aux fruits	12
II.8.2. Yaourt aux pelures et pulpes de fruits.....	12
II.8.3. Yaourt aux fruits desséchés	12
II.8.4. Yaourt aux fruits ayant subi un traitement spécial.....	12

Partie pratique

I. Matériel et méthode

I.1. Préparation des fruits (fraise).....	13
I .1.1. Processus de fabrication (Elaboration).....	13
I.2. Analyse physico-chimique des préparations	15
I.2.1. Mesure du pH.....	15
I.2.2. Mesure du degré de Brix.....	15
I.2.3 Mesure de la viscosité	16
I.3. Analyses microbiologiques de la préparation du fruit.....	17
I.3.1 Etape 1 : Enrichissement.....	17
I.3.2. Etape 2 : Recherche de la flore totale mésophile, Coliformes, levure et moisissures ...	17
I.4. Processus de fabrication de la masse blanche du yaourt au laboratoire	17
I.5. Incorporation des fruits de fraise dans le yaourt	17
I.6. Analyse physico-chimique du yaourt élaboré.....	18

I.6 .1. Mesure de pH	18
I.6.2. Mesure de l'acidité Dornic.....	18
I.7. Analyse microbiologique	19
I.7.1. Préparation des dilutions décimales.....	19
I.7.2. Dénombrement de la flore lactique.	19

II.Résultats et Discussion

II.1. Caractérisation physico-chimiques et microbiologiques La préparation de la fraise.....	20
II.1.1.Le pH	20
II.1.2. Brix.....	21
II.1.3. La viscosité.....	22
II.1.3.Les paramètres microbiologiques de la préparation de fraise.....	22
II.2. Caractérisation physico-chimiques et microbiologiques du yaourt élaboré.....	23
II.2.1.Suivi de pH.....	23
II.2.2.Suivi de l'acidité Dornic	25
II.2.3.Suivi des paramètres microbiologiques	26
Conclusion	31
Référence bibliographiques	
Annexes	
Résumé	

Introduction

Afin de subvenir à la précarité des apports alimentaires, l'homme a de tout temps recherché le meilleur moyen de conserver ses aliments. Ceci pour répondre à deux impératifs : sur le plan diététique et économique.

Le but de la conservation alimentaire est de prolonger la vie de l'aliment en réduisant les phénomènes d'altération, aussi bien sur le plan nutritionnel, hygiénique, qu'organoleptique (**Simoès, 2016**).

Il existe plusieurs types de conservation de fruit : méthode traditionnelle, le froid, la chaleur mais aussi par le sucre. Le traitement thermique et la durée de conservation de fruit est généralement déterminé par le pH, les conditions de stockage, et aussi de la résistance thermiques des microorganismes (**Lund, 1975 ; Fellows, 1988**). En plus, il existe le prétraitement par déshydratation osmotique, qui dépend de la diffusion de l'humidité des aliments, en les immergeant dans des solutions hypertoniques (**Tortoe, 2010**). Durant ce processus, les activités chimiques, physiques et biologiques qui détériorent les aliments ont une faible considération ce qui prolonge encore la durée de conservation des produits alimentaires (**Ahmed et al., 2016**).

Les yaourts aux fruits sont les produits laitiers fermentés les plus consommés dans le monde (**Saint-Eveet et al., 2006**). Pour augmenter la fonctionnalité et la capacité antioxydant de ces produits, des ingrédients alimentaires sont ajoutés comme la fraise (**Coïsson et al., 2005 ; Trigueros et al., 2011**). L'incorporation des fruits dans le yaourt augmente la valeur nutritive et la saveur du produit (**Drug et al., 1986**).

Les formulations des fruits de fraise sont utilisées dans cette étude à cause de sa richesse en composés phénoliques, particulièrement l'anthocyanine, en plus c'est un fruit essentiel utilisé à l'échelle Européen (**Oliveira et al., 2014**) et même au niveau Algérien dans les yaourts enrichis de fruit.

Différentes préparations de fruits de fraise pasteurisées, sont incorporées dans un yaourt nature préparé au laboratoire, afin de déterminer l'influence de ces dernières sur les bactéries lactiques et les caractéristiques physico-chimiques du yaourt pendant 30 jours de stockage au froid (6°C).

Quel est l'effet des différentes préparations de la fraise sur la flore lactique et les paramètres physico-chimiques au cours de la conservation ?

La première partie de ce mémoire, correspondant à la synthèse bibliographique, rappelle sur quelques méthodes de conservation de fruit (pasteurisation et traitement osmotique) et la production de yaourt. La seconde partie de ce document rassemble le matériel et les méthodes utilisés, expose et discute les résultats obtenus. Enfin, la conclusion générale reprend les principaux points développés.

Synthèse bibliographique

I. Pasteurisation et le traitement osmotique de fruit

I.1 Pasteurisation des fruits

L'application de la chaleur pour conserver des aliments est une technique très antique qui est encore employée aujourd'hui. La sévérité du traitement thermique et la durée de conservation sont déterminés dont la plupart du temps par le pH du fruit et les conditions de stockage. Elle dépend également de la résistance thermique du micro-organisme cible et sa charge microbienne initiale, caractéristiques de transfert thermique de nourriture et les caractéristiques de milieu de chauffage (**Fellow, 1988**).

Les étapes de pasteurisation devraient permettre l'inactivation des micro-organismes de détérioration, cellules végétatives (bactéries, levures, et moisissures) et les enzymes (**Gaze et Betts, 1992**), et empêchent la dégradation originale de fruit et ces caractéristiques nutritif et organoleptique (**Fellow, 1988**).

Les températures inférieure à 100 °C et le temps relativement courts, sont exigées pour inactiver les micro-organismes pathogènes et les enzymes jusqu'à un degré qui assure un fruit avec une qualité pendant la durée de conservation prévue (**Gaze et Betts, 1992**).

I.2. Pasteurisation des fruits a haute acidité stable

Les aliments, à haute teneur en acide (pH < 4,6), sont conservées aux conditions ambiantes après le procédé de pasteurisation soi-même, parce que cet environnement acide n'est pas favorisant pour la croissance des micro-organismes et les formes sporulées qui pourraient résister au traitement thermique (**Ramaswamy et Abbatemarco , 1996**). La plupart des fruits ont un pH acide (pH < 4.6). Ces conditions inhibent la croissance, la germination et la production des toxines de *Clostridium* (**Lopez, 1986**).

Généralement les spores bactériennes seraient empêchées par un pH inférieur à 4,6 et seulement les micro-organismes tolérants l'acidité, tels que des bactéries lactiques, les bactéries acétiques, les levures, et les moisissures, peuvent se développer. Cette flore potentielle des produits à haute teneur en acide n'est pas très résistante aux traitements thermiques, ce qui fait que la pasteurisation est suffisante pour son inactivation et le stockage aux conditions ambiantes (**Ramaswamy et Abbatemarco, 1996**).

I.3. Les cibles de la pasteurisation

La cible de pasteurisation pour les produits à haute teneur en acide comme les fruits n'est pas très clair, parce qu'un micro-organisme de cible ou une enzyme et son condition d'inactivation ne sont pas définies (**Silva et Gibbs, 2004**).

I.3.1. Les enzymes : Dans certains fruits, les enzymes ont plus de résistance à la chaleur que les cellules microbiennes végétatives.

La résistance au traitement thermique des bactéries Gram positives non sporulées et les levures s'est révélées très faibles, comparées à la peroxydase et pectinesterase (**Pertalta et al., 1973**).

Plusieurs études ont rapporté l'utilisation de ces enzymes comme des cibles de pasteurisation. (**Dastur et al., 1968 ; Nath et Ranganna, 1983**). Le tableau (I) résume la résistance des enzymes d'altération endogènes à la chaleur dans quelque fruit à haute teneur en acide.

Pectinesterase : Les altérations du degré de polymérisation et d'estérification des pectines peut adoucir la texture des fruits pendant la maturation, après la récolte stockage ou traitement. Ainsi, le contrôle de l'activité des enzymes pectiques peut être important pour éviter la perte de qualité des fruits et légumes (**Reed, 1966 ; Birch et al., 1981**).

Peroxydase : C'est une enzyme endogène et résistante à la chaleur, et son activité nécessite l'oxygène. La peroxydase semble également avoir des effets sur la nutrition, la couleur et caractéristiques de saveur des aliments. Elle peut provoquer la destruction oxydative de la vitamine C, et catalyse également la dégradation des acides gras insaturés, ce qui contribue à l'arôme oxydé. Cette enzyme peut produire de flaveurs légumes et brunissement dans les fruits (**Whitaker, 1972**).

Polyphénolxydase : C'est une autre enzyme endogène responsable du brunissement enzymatique et des altérations de la saveur à la présence d'oxygène (O₂). L'activité de cette enzyme à une importance commerciale significative, en particulier dans les fruits et des légumes (**Reed, 1966**).

Tableau I : Résistance à la chaleur des enzymes d'altération endogènes dans quelques fruits à haute teneur en acide (**Silva et Gibbs, 2004**).

Le fruit	enzyme	pH	SS (°Brix)	T °C
Mandarin orange jeu	Pectinesterase	3,6	12	85
Papaye acidifiée pulpe	Pectinesterase	4,0	10-12	85
Fraise	Peroxydase	4,0	7-9	70
les raisins 'Malvasia'	peroxydase	4,0	7-9	70
Les raisins 'Concord'	polyphenolxydase	3,3	7-9	75
Pomme 'Gravenstein'	polyphenolxydase	3,1	7-9	75
Pêches 'Gravenstein'	polyphenolxydase	3,5	7-9	75
Abricots 'Royal'	polyphenolxydase	4,0	7-9	75

I.3.2. Les micro-organismes

Les cibles microbiennes sont plus fréquentes que les cibles enzymatiques dans la conception

des processus de pasteurisation. La flore d'altération et sa résistance à la chaleur dépendent de type de fruit (pH, solides-solubles, type d'acides organiques). Nombreuses études ont montré que les micro-organismes deviennent plus résistants à la chaleur lorsque la concentration de sucres augmente. Les acides organiques semblent modifier la sensibilité des micro-organismes chauffer (**Corry, 1976 ; Silva et al., 1999**). Le tableau II montre les micro-organismes les plus résistants à la chaleur de putréfaction dans les produits à base de fruits à haute teneur en acide. La plupart des moisissures sont inactivées lors de l'exposition à 60 ° C pendant 5 min (**Beuchat, 1998**).

Le tableau II : présente un résumé des micro-organismes les plus résistants à la chaleur de putréfaction dans les produits à base de fruits à haute teneur en acide (**Silva et Gibbs, 2004**).

Type de fruit	Le microorganisme	pH	SS (°Brix)	T°C
Jus de mangue	<i>Bacillus megaterium</i> (spores)	-	-	100
Pulpe de fraise	<i>Neosartorya fischeri</i> LT025 (ascospores)	3.0	15	80-93
	<i>Byssochlamys nivea</i> (ascospores)	3.0	15	80-93
	<i>Talaromyces flavus</i> (ascospores)	3.0	15	75-90
	<i>Eupenicillium javanicum</i> (ascospores)	3.0	15	80-90
jus de pomme	<i>Neosartorya fischeri</i> LT025	3.5	15	85-93
Pâte de tomate	<i>Bacillus coagulans</i> (spores)	4.0	30	75-90

I.4. Traitements osmotiques

Il est appelé déshydratation osmotique dans le domaine de la transformation des fruits, est un procédé de réduction de la teneur en eau obtenue par immersion des fruits, entiers ou en morceaux, dans une solution hypertonique de sucres divers (**Raoult-Wack et Guilbert, 1990**).

Il permet de préserver la couleur, la saveur, texture, et la teneur en vitamine C et pour empêcher le brunissement des fruits (**Hui et al., 2006**).

Le sucre sec ou sirops est utilisés comme cryoprotecteurs en retirant l'eau cellulaire des fruits par osmose et permet l'exclusion de l'oxygène sur les tissus (**Bing et Da-Wen, 2002 ; Zhao et Xie, 2004**).

I.5. Paramètres de Processus de déshydratation Osmotique

I.5.1. Prétraitements

Tout prétraitement tel que le blanchiment ou la congélation avant l'élimination de

l'eau osmotique était préjudiciable au produit qualité. Trempage dans une solution d'acide citrique à 1 % avant le séchage ou la déshydratation osmotique a été utilisé pour prévenir le brunissement enzymatique des fruits. L'immersion du produit dans des solutions alcalines ou acides d'esters oléiques avant séchage des fruits ont effet de prévention de la décoloration (**Hussain *et al.*, 2004; Sunkja et Raghara, 2004**).

I.5.2. Temps d'immersion

Permet de garder la concentration de la solution constante, l'augmentation du temps d'immersion entraîne l'augmentation de la perte d'eau. L'étude sur l'optimisation de la durée du processus d'osmose indique que l'échange de masse a eu lieu à la vitesse maximale dans les deux premières heures du traitement osmotique (**Tiwari et Jalali, 2004**).

I.5.3. Température de la solution osmotique

La température de la solution osmotique a nettement affecté le taux d'osmose. Bien que le taux augmente avec température, il était limité à 60 °C car une température plus élevée détruisait les membranes cellulaires (**Pokharkar et Prasad, 1998**).

I.5.4. Concentration de solution osmotique

La perte d'eau et le gain de sucre augmentaient linéairement avec l'augmentation de la concentration sucre et la température. Le taux de diffusion du sucre était en fonction de la concentration et de la température du sucre (**Rahman et Lamb, 1991**).

La concentration de la solution est un facteur clé dans le processus de déshydratation osmotique. En général, la concentration de sirop entre 60 à 70 °Brix s'est révélée optimale (**Chaudhary *et al.*, 1993**).

I.5.5. Agents osmotiques

Plusieurs études ont été menées pour connaître l'effet de différents agents osmotiques sur le processus déshydratation osmotique. Les agents osmotiques les plus couramment utilisés étaient le saccharose, le glucose pour les fruits et le NaCl pour les légumes (**Flink, 1975**).

I.5.6. Agitation

Lorsque les fruits sont ajoutés au sirop, la vitesse d'agitation avait un effet positif sur la perte d'eau au cours du traitement osmotique (**Tiwari, 2005**).

I.5.7. Le stockage des produits osmotiquement déshydratés

La stabilité des produits osmotiquement déshydratés varie de six mois à un an de stockage. Le produit de la papaye obtenu à partir du processus de déshydratation osmotique reste stable jusqu'à six mois de stockage à température ambiante (**Ahemed et Choudhary, 1995**).

II. Le yaourt et le yaourt aux fruits

II.1. Définition du yaourt

Le yaourt est un produit laitier coagulé obtenu par fermentation lactique grâce à l'action de *Lactobacillus delbrueckii* subs *pbulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* à partir du lait (pasteurisé, concentré, partiellement écrémé enrichi en extrait sec) (FAO,1975).

Les bactéries dans le produit fini doivent être vivantes et présentes en abondance, 10⁸ bactéries par gramme.

Les produits traités thermiquement après fermentation ne s'appellent donc pas yaourt.

Ces produits doivent notamment être maintenus jusqu'à leur consommation, à une température comprise entre 0 et 6 °C pour que les bactéries lactiques restent vivantes (FAO, 1975).

II.2. Historique des yaourts

Originaire d'Asie, le mot yaourt (yoghourt ou yogourt) vient de yoghurmark, mot turc signifiant « épaissir » (Tamime et Deeth, 1980).

Dans le sillage des découvertes de Louis Pasteur sur la fermentation lactique, de nombreux chercheurs s'intéressent aux micro-organismes présents dans le lait. En 1902, Ris et Khoury, deux médecins isolent la bactérie spécifique du yaourt « le bacille bulgare », analysent l'action acidifiante du lait caillé et suggèrent une méthode de production sûre et régulière (Rousseau,2005).

Les yaourts et les produits fermentés frais, identifiés comme aliments bénéfiques pour la santé, sont aujourd'hui des produits de grande consommation. Ainsi, selon une enquête du Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière, la production de yaourt et d'autres laits fermentés ne cesse de croître. La dynamique actuelle de ce marché oblige donc les industriels à formuler sans cesse de nombreux produits laitiers fermentés frais (Enkeljda,2004).

II.3. Processus de fabrication du yaourt

La fabrication des yaourts, à partir du lait enrichi, se fait en trois étapes principales qui sont :le traitement thermique, la fermentation, le conditionnement et le stockage.

II.3.1. Matières utilisées pour la production du yaourt

a) **Lait frais** : La principale matière première pour la fabrication des yaourts est le lait et essentiellement le lait de vache. Il est constitué d'environ 88% d'eau et de 12% de matière sèche contenant, elle aussi des glucides, protéines, des lipides et des minéraux. Après l'eau, les constituants les plus abondants sont les glucides particulièrement représentés par le

lactose. Les principaux constituants protéiques sont les caséines (82%), la β -lactoglobuline est la protéine sérique la plus abondante (45%) (**Tamime et Robinson, 1985**).

b) Poudre de lait :

Afin d'augmenter la viscosité apparente et la consistance des yaourts, la teneur en matière sèche du lait est augmentée au préalable jusqu'à 10-12% (**Schkodaet al.,2001 ; Van marle,1998**). Après concentration ou, plus fréquemment, par addition de poudre de lait ou de protéine de lactosérum, le lait obtenu est dit alors fortifié ou enrichi (**Mahaut et al.,2000**).

II.3.2. Traitement thermique

Le lait enrichi, éventuellement sucré, subit un traitement thermique. Le barème de traitement thermique le plus couramment utilisé est 90-95°C pendant 3 à 5min (**Mahaut et al.,2000**). Ce traitement a de multiples effets sur la flore microbienne ainsi que sur les propriétés physicochimiques et fonctionnelles du lait. Il crée des conditions favorables aux développements des bactéries lactiques, il détruit les germes pathogènes et indésirables (**Boudier, 1990**) et inactive les inhibiteurs de croissance tels que les lactopéroxydases (**Farkye et Imafidon, 1995**).

Le traitement thermique a également un effet sur la conformation tridimensionnelle des protéines, induisant la modification de leurs propriétés fonctionnelles. Il dénature la majorité des protéines du lactosérum (85%) qui se fixent ainsi sur les molécules de caséines (**Mahaut et al.,2000**).

II.3.3. Fermentation lactique

Le lait, enrichie et traité thermiquement, est refroidi à la température de fermentation, 40-45°C. Cette température correspond à l'optimum de développement symbiotique des bactéries lactiques (**Loones, 1994**). Leur inoculation se fait à un taux assez élevé, variant de 1 à 7% pour un ensemencement indirect à partir d'un levain avec un ratio *Streptococcus thermophilus/Lactobacillus bulgaricus* de(1,2) à (2) pour les yaourts naturels, et pouvant atteindre 10 pour les yaourts aux fruits (**Boudier, 1990 ; Mahaut et al.,2000**).

Le lait ensemencé est amené à une température généralement voisine de 45°C par un passage à travers des réchauffeurs à plaques. La température optimale de développement du streptocoque est de 42-45°C ; celle du lactobacille est de 47-50°C. Selon les régions, les consommateurs préfèrent des yaourts plus au moins acides et plus au moins aromatiques. Les caractères recherchés dépendent des souches utilisées et de la température d'incubation.

L'abaissement de celle-ci de 1 à 3°C (42-44°C), favorise le développement du streptocoque et donc la production d'arômes. L'augmentation légère de température (45-46°C), favorise le lactobacille donc la production d'acides (**Enkeljda, 2004**).

II.3.4. Conditionnement et stockage

L'ajout éventuel des fruits intervient avant le conditionnement. Enfin, les yaourts conditionnés dans des pots en verre ou en plastique, sont stockés en chambre froide à 4°C en passant au préalable dans des tunnels de refroidissement. A ce stade, ils sont prêts à être consommés. La durée limite de leurs consommations est de 28 jours. Pendant le stockage, les bactéries lactiques maintiennent une activité réduite. Cette évolution, appelée post acidification, se traduit par une légère baisse du pH, surtout pendant les 2 premiers jours de stockage (**Enkeljda, 2004**).

II.4. Caractéristiques des bactéries du yaourt

II.4.1. *Streptococcus thermophilus*

Il est un cocci à Gram positif, anaérobie facultatif, non mobile, se trouve dans les laits fermentés et les fromages (**Roussel et al., 1994**).

C'est une bactérie thermorésistante, sensible au bleu de méthylène (0,1%) et aux antibiotiques. Elle est aussi résistante au chauffage à 60°C pendant 30 minutes (**Dellaglio et al., 1994**).

Elle est isolée exclusivement du lait et des produits laitiers sous forme de coques disposées en chaînes de longueurs variables ou par paires. Sa température optimale de croissance varie entre 40 et 50°C. Son métabolisme est de type homofermentaire (**Lamoureux, 2000**).

Le rôle principal est la fermentation du lactose du lait en acide lactique, et il est responsable de la texture dans les laits fermentés. Il augmente la viscosité du lait par production de polysaccharides (**Bergamaier, 2002**).

II.4.2. *Lactobacillus delbreukii ssp bulgaricus*

C'est un bacille Gram positif, immobile, asporulé, micro-aérophile. Il est isolé sous forme de bâtonnets ou de chaînettes. Il possède un métabolisme strictement fermentaire avec production exclusive d'acide lactique comme principal produit final à partir des hexoses par voie d'Embden Meyerhof. Il est incapable de fermenter les pentoses. *Lactobacillus delbreukii ssp bulgaricus* est une bactérie thermophile, très exigeante en calcium et en magnésium et sa température optimale de croissance est d'environ 42 °C. Cette bactérie a un rôle essentiel dans

le développement des qualités organoleptiques et hygiéniques du yaourt (**Marty-Teyssset al., 2000**).

II.5. Comportement associatif des deux bactéries :

L'association de souche de *Streptococcus thermophilus* et de *Lactobacillus delbreukii ssp bulgaricus* pour la fabrication du yaourt est l'exemple le plus connu et probablement le plus stable.

Dans le lait, *Lb. bulgaricus* plus protéolytique que *St. thermophilus* fournirait les acides aminés et/ou les peptides dont cette souche a besoin et stimulerait ainsi sa croissance (**Desmazeaud et Hermier, 1972**). En retour, la croissance de *St. thermophilus* en absence de faible concentration d'oxygène produirait de l'acide formique stimulant le développement de *Lb. bulgaricus* (**Veringaet al., 1968**). En plus du formiate, le CO₂ produit par *St. thermophilus* à partir de l'urée présente dans le lait (**Tinson et al., 1982b**) serait lui aussi nécessaire pour stimuler la croissance de *Lb. bulgaricus* (**Driessenet al., 1982**).

Cette interaction peut aboutir à une augmentation de la croissance de ces souches (**Driessenet al., 1982**) et à une acidification du lait plus importante que la somme de ces activités propres à chacune des deux espèces (**Moon et Reinbold, 1976 ; Accolas et Auclair, 1983**).

Cependant la réussite de l'association dépend de la concentration des deux bactéries et des propriétés des souches elles-mêmes. Pour fabriquer un bon yaourt, le rapport entre les deux bactéries doit être de 1 : 1. La dominance du *St. thermophilus* conduit un yaourt sans arôme et celle du *Lactobacillus* à un yaourt trop acide (**Rasicnet Kurman, 1978**).

St. thermophilus pourrait aussi inhiber la croissance de *Lb. bulgaricus* quand la culture mixte arrive en phase stationnaire (**Moon et Reinbold, 1976**).

II.6. Intérêt et fonction des bactéries lactiques

II.6.1. Activité aromatique

Les cultures lactiques ont également un rôle important dans le développement des saveurs et des odeurs du yaourt. Durant la fermentation, le métabolisme du lactose, du lactate et du citrate mène à la production de plusieurs arômes importants tels que le lactate (acide lactique), l'acétaldéhyde, l'acétoïne et le diacétyl (**Cheng, 2010**). L'acétaldéhyde est le composé aromatique le plus important puisqu'il confère l'arôme caractéristique du yogourt (**Biliaderiset al., 1992**). Ce composé est produit majoritairement par *Lb. bulgaricus* lors de la fermentation (**Antunes et al., 2005**). D'autres composés aromatiques tels que le diacétyl et

l'acétoïne sont produits uniquement dans les co-cultures de *St. thermophilus* et *Lb. bulgaricus* (Oliveira *et al.*, 2009).

Les cultures lactiques peuvent également générer des arômes à partir des protéines, des peptides et des acides aminés, ou encore à partir des lipides dans les yaourts faits de lait entier (Boelrijket *et al.*, 2003).

II.6.2. Activité texturant

Les cultures lactiques agissent sur la texture d'abord en causant la précipitation des caséines et la formation d'un gel à la suite de la production d'acide lactique par la fermentation du lactose. Certaines cultures peuvent aussi produire des exopolysaccharides (EPS) à partir du lactose (Escalanteet *et al.*, 1998), ce qui modifie la texture du yaourt et affecte la viscosité, la fermeté et la synérèse (Wacher-Rodarte et Farres, 1993 ; Amatayakulet *et al.*, 2006).

II.6.3. Activité acidifiante

La fermentation lactique du yaourt est de type homo-fermentaire, c'est-à-dire qu'une mole hydrolysé par la β -D-galactosidase en glucose et galactose s'accumule et le glucose est utilisé pour la production d'acide lactique.

L'acidité d'un yaourt est communément exprimée en degrés Dornic (0,1 g/l acide lactique). L'acidité recherchée se situe entre 100 et 130°D. Par ailleurs, la production d'acide lactique a un effet inhibiteur sur les bactéries lactiques et plus particulièrement sur *St.thermophilus* (Loones, 1994).

- Une acidité trop forte, est la conséquence d'un déséquilibre en faveur de lactobacilles, ou d'une conservation à température trop élevée (Loones, 1994).

II.6.4. Activité protéolytique

Pour satisfaire leurs besoins en acides aminés, les bactéries du yaourt doivent dégrader la fraction protéique du lait constituée de caséine et de protéines sériques, leur système protéolytique est constitué de deux types d'enzymes distinctes : les protéases et les peptidases.

Lb. bulgaricus possède des protéases localisées, pour l'essentiel, au niveau de la paroi cellulaire (Marshall, 1987). Cette activité protéasique permet d'hydrolyser la caséine en polypeptides.

- L'amertume est provoquée par des souches à activité protéolytique trop forte (production des peptides amers) ; ce défaut apparaît particulièrement quand le yaourt est peu acide (Loones, 1994).

II.6.5. Activité antimicrobienne

Les cultures lactiques du ferment procurent un effet antimicrobien au yaourt via la production de substances inhibitrices, telles que de l'acide lactique (Wang *et al.*, 2015), des bactériocines (Yang *et al.*, 2012 ; Mohammed et Ijah, 2013), du peroxyde d'hydrogène (Dave et Shah, 1997b; Tamime et Robinson, 1999) et des surfactants (Rodrigues *et al.*, 2006). Elles peuvent également nuire à la croissance des pathogènes simplement par leur importante biomasse qui accapare les nutriments. En effet, en plus de leur nombre élevé au moment de l'inoculation, leur population peut augmenter de plus de deux log UFC/g durant la fermentation et demeurer stable lors de l'entreposage (Canganella *et al.*, 1998 ; Al-Kadamany *et al.*, 2002; Osailiet *et al.*, 2013; Tirloniet *et al.*, 2015; Cutrimet *et al.*, 2016). L'effet antibactérien du yaourt envers plusieurs bactéries pathogènes telles que *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* et *Shigella*, est d'ailleurs connu depuis longtemps (Jasjitet *et al.*, 1979; Rubin et Vaughan, 1979; Alm, 1983 ; Schaack et Marth, 1988; Kotzet *et al.*, 1990). L'ajout de bactéries lactiques, autres que les cultures du ferment, peut également augmenter l'effet antibactérien du yogourt et même lui procurer un effet antifongique (Reis *et al.*, 2012 ; Delavenne *et al.*, 2013).

II.7. Effet probiotique

Les probiotiques sont des micro-organismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, confèrent un bienfait à l'hôte.

Il a été démontré que la consommation de yaourt induisait des bénéfices sanitaires mesurables liés à la présence de bactéries vivantes. Un certain nombre d'études chez l'homme ont clairement démontré que le yaourt contenant des bactéries viables (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckiiispsbulgaricus*) améliore la digestion du lactose et élimine les symptômes d'intolérance au lactose. Ainsi, ces cultures répondent clairement au concept actuel de probiotique (Guarneret *et al.*, 2005).

II.8. Les yaourts aux fruits

Les fruits pasteurisés élaborés dans le yaourt peuvent être obtenus sous différentes formes, soit en grand morceaux ou soit sous forme de macération (extraits, confitures, concentrés). L'arôme peut être renforcé ou non par l'adjonction d'intensificateurs d'arôme ou à l'aide d'essences de fruits. La couleur est éventuellement améliorée par l'adjonction de jus de cerises ou de carottes pour certains fruits dont la coloration est trop pâle après la pasteurisation (exemple de la fraise).

II.8.1. Yaourt suprême aux fruits

C'est un yaourt additionné de fruits mais sans les mélangés. Un fruit est homogénéisé jusqu'à l'obtention d'une crème de fruits à laquelle on ajoute en plus des morceaux de fruits. Ce mode est appliqué pour les fraises, les framboises, les bananes, etc., (c'est-à-dire pour les fruits tendres) (Wolfra, 1956).

II.8.2. Yaourt aux pelures et pulpes de fruits

Pour certains fruits, on peut fabriquer des yaourts délicieux avec des mélanges de pulpes et de pelures des fruits finement découpées. Ceci est recommandable pour la mandarine, mais il serait éventuellement aussi applicable pour certaines variétés d'oranges, citrons, poires et pommes (Kurmann, 1966).

II.8.3. Yaourt aux fruits desséchés

Des fruits desséchés et finement découpés peuvent être employés pour la préparation de yoghourt aux fruits desséchés: abricots, pruneaux, pommes, cerises, poires, raisin') secs, figues, bananes. Le mélanges de fruits permet l'appellation comme yaourt de sport ou «tutti frutti », aux fruits desséchés (Kurmann ,1968).

II.8.4. Yaourt aux fruits ayant subi un traitement spécial

Les fruits confits traités dans une solution sucrée (cerises, citron, oranges, poires, etc.) et découpés en fins morceaux qui restent en suspension dans le yaourt, peuvent être employés pour des préparations spéciales de yaourt en petites quantités ou éventuellement ajoutés dans certains yaourt aromatisés (Kurmann,1968).

Matériel et méthodes

Le présent travail est réalisé en deux parties, un stage pratique effectué au sein de la société « Elafruit » qui est spécialisée dans la préparation et l'élaboration des fruits, destinés à l'industrie agroalimentaire des : yaourt, boissons, biscuits et glaces, d'une durée de deux mois. Au cours duquel quatre échantillons de la fraise avec différent degré de Brix et de pH, ont été préparé, et une partie réalisée au niveau de laboratoire de microbiologie à l'université de Bejaïa on avons préparé cinq échantillons d'une préparation de yaourt à base de fruit (fraise), le suivi de l'effet des préparations de la fraise dans le yaourt est réalisé pendant un mois.

I.1. Préparation des fruits (fraise)

I.1.1.Processus de fabrication (Elaboration)

La fraise surgelée est découpé en morceau puis mélangée avec du sucre (saccharose) dans un thermomix (figure 01). Les préparations de fruits sont généralement acidifiées à pH variant entre 3,4 et 4.1. L'acidifiant le plus couramment utilisé est l'acide citrique (**O'Rell et Chandan, 2006**).L'amidon, pectine, Gaume et l'arôme de la fraise ont été mélangés dans l'eau séparément et ces ingrédients ont été ajoutés à la fraise le tout est chouffé a 50 °C pendant 7 minute et avec une agitation de 40 tours/minute. A la fin, le mélange a été pasteurisé à 91° C pendant 3 min (**Silva et Gibbs, 2004**).



Figure 01 :Un Themomix TM5(VORWERK)

L'élaboration des fruits au niveau de l'usine se fait en suivant les étapes résumées dans la figure (02).

Au niveau de laboratoire de recherche et développement d' « Elafruit », nous avons élaboré des préparations de fruit de fraise avec différents pH et Brix. Le saccharose est utilisé pour varier le degré de Brix, et l'acide citrique pour varier le pH. Une autre préparation de fraise sans additif est élaborée dans le laboratoire de microbiologie à l'université de Bejaïa (figure03).

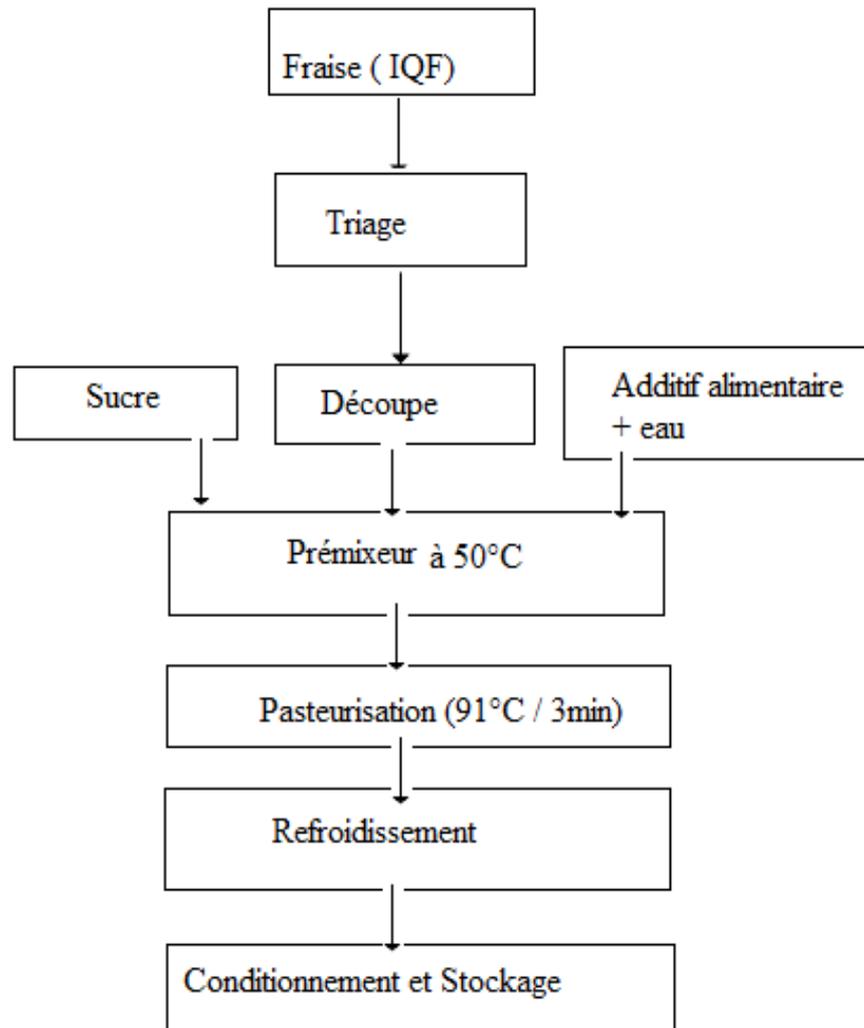


Figure02: Diagramme d'élaboration des fruits de fraise.

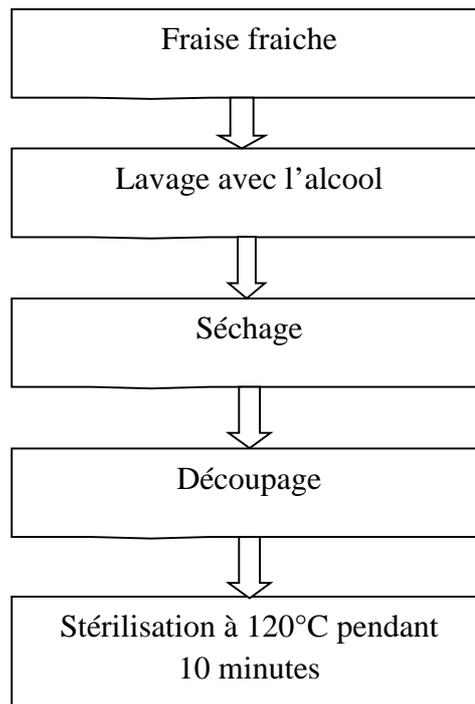


Figure03 : Diagramme de stérilisation de la fraise fraiche.

I.2. Analyse physico-chimique des préparations

I.2.1. Mesure du pH : (Norme AFNOR : V05-108)

Le principe consiste à la mesure de la différence de potentiel H^+ entre une électrode de mesure et une électrode de référence réunies dans un système d'électrode combinée.

Le pH a été mesuré avec des sondes de pH-mètres électroniques « HANNA ». Après étalonnage avec des solutions tampons (pH= 7) et (pH= 4), l'électrode du pH-mètre est plongée dans le pot de la préparation de fruits. La valeur du pH est obtenue par simple lecture sur l'écran du pH-mètre à température ambiante (22°C).

I.2.2. Mesure du degré de Brix (AFNOR : V05-109,1970)

Le degré Brix, également appelé indice réfractométrique, est basé sur la réfraction de la lumière ; le réfractomètre « Réfractomètre portable ATAGO Modèle PAL2 » (figure4) donnent par simple lecture, l'extrait sec soluble d'un liquide sucré à une température déterminée.

Pour cela, un prélèvement d'un volume de l'échantillon de la préparation de fruit est placé sur la surface du prisme, la valeur de degré Brix sera affichée sur l'écran.



Figure04 : Réfractomètre portable ATAGO

I.2.3 Mesure de la viscosité : (ASTM F 1080.93 (2013))

La consistance de la préparation de fruit est mesurée par le viscosimètre de « Brookfield ». Elle est mesurée en évaluant sa résistance à l'écoulement dans des conditions spécifiques et pendant un laps de temps donné.

L'échantillon à évaluer est mis dans le viscosimètre, la préparation doit être maintenue à température constante (généralement à 20°C) pendant plusieurs heures avant l'essai, afin de garantir une température uniforme. La mesure de la distance parcourue par le produit le long de la pente durant 60 secondes avec un chronomètre. La pente est munie de graduations indiquant la distance parcourue en centimètres tel que schématiser sur la figure (05). Cette valeur est enregistrée comme étant la consistance de ce produit.

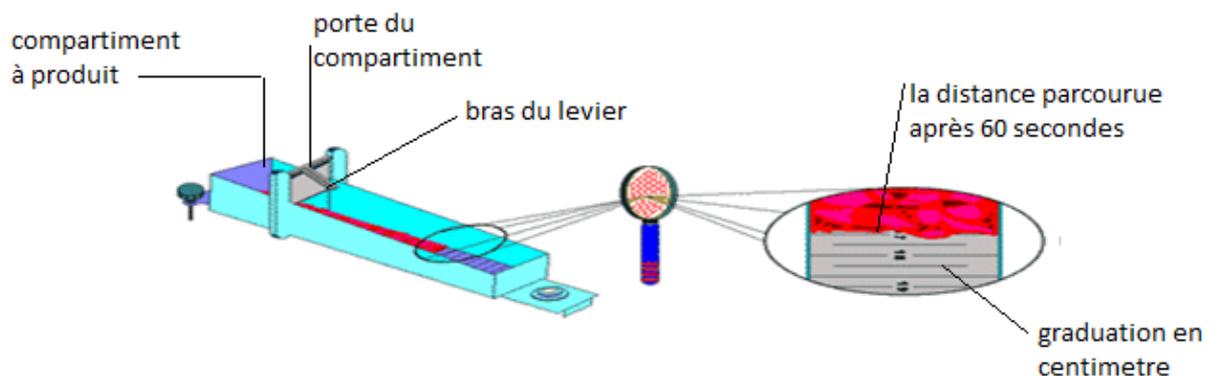


Figure 05: Schéma indiquant le principe de mesure de la consistance d'un produit

(www.labomat.eu).

I.3. Analyses microbiologiques de la préparation du fruit :

Afin de vérifier la qualité microbiologique de la préparation du fruit et d'éviter la contamination du produit final, les analyses microbiologiques réalisées, consistent à la recherche des levures et moisissures, la flore totale mésophile et les coliformes. Tout est réalisé avec deux étapes :

I.3.1 Etape 1 : Enrichissement

a) Levures et moisissures :

L'enrichissement des levures et moisissures se fait avec la mise de 10g de préparation de la fraise dans 250 ml d'extrait de Malte incubation à 25°C pendant 48h.

b) Flore totale mésophile et / ou coliforme

L'enrichissement des coliforme et/ou la flore total se fait avec la mise de 10g de la préparation de la fraise dans 100ml de bouillon nutritif incubation à 25°C pendant 48h.

I.3.2. Etape 2 : Recherche de la flore totale mésophile, Coliformes, levure et moisissures

a) Recherche de la flore total mésophile et Coliformes (NA ISO 7218 : NA 1199 : 2008)

Un volume d'un 1 ml de la suspension d'enrichissement (bouillon nutritif) contenant le fruit prélevé et déposé aseptiquement (sous hotte) dans une boîte de Pétri, puis couler la gélose en surfusion. La gélose VRBL est utilisée pour la recherche des coliformes et la gélose PCA pour la recherche de la flore totale. Après solidification des géloses, l'incubation se fait à 30 °C pendant 48 h.

b) Recherche des Levures et Moisissures (NA ISO 7218)

Un volume d'un 1 ml de la suspension d'enrichissement (extrait de Malte) contenant le fruit Prélever et déposer aseptiquement (sous hotte) dans une boîte de Pétri, puis couler la gélose YGC en surfusion. Après solidification, l'incubation se fait à 25 °C pendant 5 jours.

I.4. Processus de fabrication de la masse blanche du yaourt au laboratoire

On prend 03 litre de lait entier pasteurisé, puis on ajoute 02 pots de yaourt nature. Après une bonne homogénéisation, on le met à l'étuve pendant 18 heures à 37°C.

I.5. Incorporation des fruits de fraise dans le yaourt

Les préparations de la fraise sont incorporées dans le yaourt directement après sa fabrication. Ces préparations de fraises ont été ajoutées dans une proportion 15% de poids de yaourt, le tout est homogénéisé puis stockée à 6°C dans le réfrigérateur (30 jours).

Le suivi de l'évolution de la croissance des ferments du yaourt est réalisé par le suivi des paramètres physico-chimiques (pH et acidité Dornic) et par le dénombrement des

Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus et *Streptococcus thermophilus* pendant 30 jours de stockage à 6°C.

I.6. Analyse physico-chimique du yaourt élaboré

I.6.1. Mesure de pH

La mesure de pH pour la masse blanche et pour le yaourt au fraise ont été mesurées à l'aide de pH-mètres « HENNA ».

I.6.2. Mesure de l'acidité Dornic (ISO 11869 :2012 (Fr))

Dans les yaourts, on mesure le degré Dornic qui est le 1/10 de la quantité de l'acide lactique dans un litre ($1^{\circ}\text{D} = 0,1 \text{ g/l}$ d'acide lactique).

Pour un yaourt le degré Dornic doit être de 80°D à 100°D et pour le lait, il doit être inférieur à 22°D .

Cet acide lactique est libéré par les ferments lors de la fermentation du yaourt. C'est cette molécule qui rend le pH du yaourt acide.



La détermination de l'acidité Dornic se base sur un titrage de l'acidité par la soude (N/9) en présence de la phénolphthaléine (1%) comme indicateur de couleur.

Pour cela, 10g de l'échantillon est placé dans un bécher, et 2 à 3 gouttes de phénolphthaléine (1%) sont ajoutées. Ainsi un titrage est effectué avec une solution de NaOH à N/9, jusqu'au virage de la couleur en rose, ce qui correspond à la zone d'équivalence. Le volume de NaOH ajouté est noté. Le calcul du degré d'acidité Dornic est déterminé par la formule suivante:

$$\text{°D} = \text{V} \times 10$$

°D : acidité en acide Dornic.

V : volume de soude ajouté dans le bécher pour avoir le virage de couleur en rose.

I.7. Analyse microbiologique des yaourts préparés

Il s'agit de dénombrer la flore lactique qui est constituée de deux espèces, *St. thermophilus* et *Lb. bulgaricus* dans des yaourts aux fruits (fraise) stockés à 6°C.

I.7.1. Préparation des dilutions décimales : (NF EN ISO 6887-1 :1999)

A fin de dénombrer la flore lactique du yaourt, des séries de dilution ont été réalisées :

Après avoir mélangé soigneusement le contenu du pot de yaourt, 1 ml du pot de yaourt est pris avec micropipette et ajouter à 9 ml d'eau physiologique aseptiquement. L'homogénéisation se fait par un appareil vibreur « Bosco ». On obtient ainsi la dilution (10^{-1}).

Un millilitre de la dilution (10^{-1}) est prélevé aseptiquement à l'aide d'une micropipette stérile et introduit dans un tube à essai contenant 9 ml de l'eau physiologique (cette opération est poursuivie jusqu'à la dilution 10^{-7}).

A noter qu'avant chaque prélèvement de chaque dilution une agitation (par un appareil vibreur « Bosco ») est réalisée pendant 10 secondes.

I.7.2. Dénombrement de la flore lactique

Un volume d'un ml des trois dernières dilutions (10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7}) effectuées, ont fait l'objet d'un ensemencement en masse dans la gélose M17(Biokar) et sur gélose MRS(Pronadisa) à raison de deux boîtes par dilution qui seront ensuite incubée à 37°C pendant 48 et 72 heures respectivement.

Les boîtes dont le nombre de colonies est compris entre 15 et 300 sont retenues et ces colonies sont comptées. Le calcul de la concentration cellulaire se fait à partir de la formule ci-dessous et le résultat est exprimé en UFC/g de yaourt.

$$N = \frac{\Sigma C}{V (n_1 + 0,1n_2) d} \text{ UFC/g}$$

(ΣC) : somme des colonies comptées sur toutes les boîtes de deux dilutions successives et dont une au moins contient au moins 15 colonies ;

(V): volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte, en ml ;

(n_1): nombre de boîtes retenues à la première dilution ;

(n_2): nombre de boîtes retenues à la deuxième dilution ;

(d) : facteur de dilution correspondant à la première dilution retenue.

Résultats et discussion

I.1 Caractérisation physico-chimiques et microbiologiques La préparation de la fraise

Les résultats des analyses physico-chimiques de la variété étudiée sont illustrés dans le tableau III.

Tableau III: Tableau représentant les différentes mesures physico-chimiques des préparations de fruit de fraise; (SS : soluble-solide).

Echantillon	B	C	D	E	F
SS (°Brix)	8	58	55.2	45.8	44.4
pH	4.02	4.0	3.6	4.01	3.57
Viscosité (cm /60 s)	-	6	6.5	7.5	7.5

Les échantillons, présentés dans le tableau I, sont variés en fonction de la quantité soluble-solide et du pH.

I.1.1. Le pH

Les pH des préparations sont classés en deux. Les pH proches de la valeur 4 telles que les échantillons B, C et E. et ceux proches de la valeur 3,57 telles que les échantillons D et F, ainsi représentés dans la figure 06.

Le pH de toutes les préparations, sauf l'échantillon B, est diminué par l'ajout de l'acide citrique qui a été largement utilisé comme conservateur efficace, car il est capable de réduire le pH des fruits (**Pao et Petracek, 1997**). L'échantillon F qui est le plus acide avec une valeur du pH=3,57, cependant l'échantillon B présente un pH =4,02 sans ajout de l'acide citrique, parce que la fraise est un fruit à haute teneur en acide (**Silva et Gibbs, 2004**).

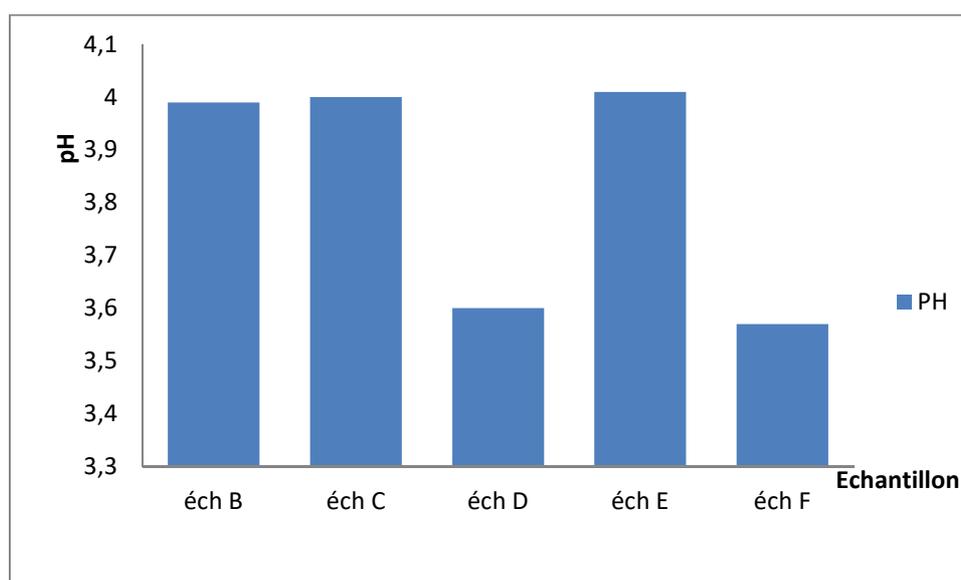


Figure 06: Histogramme des pH de différentes préparations de fruits de la fraise.

Le pH est un paramètre déterminant de l'aptitude des aliments à la conservation. Il constitue parmi l'un des principaux obstacles, que la flore microbienne doit franchir pour assurer sa prolifération. Ainsi, un pH de l'ordre de 3 à 6 est très favorable au développement des levures et moisissures (**Brissonnet et al., 1994**).

I.1.2. Brix

Le degré Brix est la mesure de la matière sèche soluble qui est exprimée en pourcentage dans le secteur agroalimentaire. Le réfractomètre est couramment utilisé pour déterminer la teneur en sucre d'un produit alimentaire tel que les jus de fruits, confiture, purée de fraise...etc. La mesure du degré Brix est fortement liée à la température car elle a une influence sur l'indice de réfraction.

Les valeurs du degré de Brix de fruit a été augmenté par l'ajout des différentes quantités de saccharose qui à un Brix de 98 %, pour ajuster les préparations de fruit de la fraise au Brix voulu (**Sinha, 2006**).

Selon la figure 7, les mesures du degré de Brix obtenue donne deux groupes d'échantillons : ceux qui ont un Brix élevé (55,2 % et 58%), et ceux qui ont un Brix moyen (44,4 % et 45,8 %).

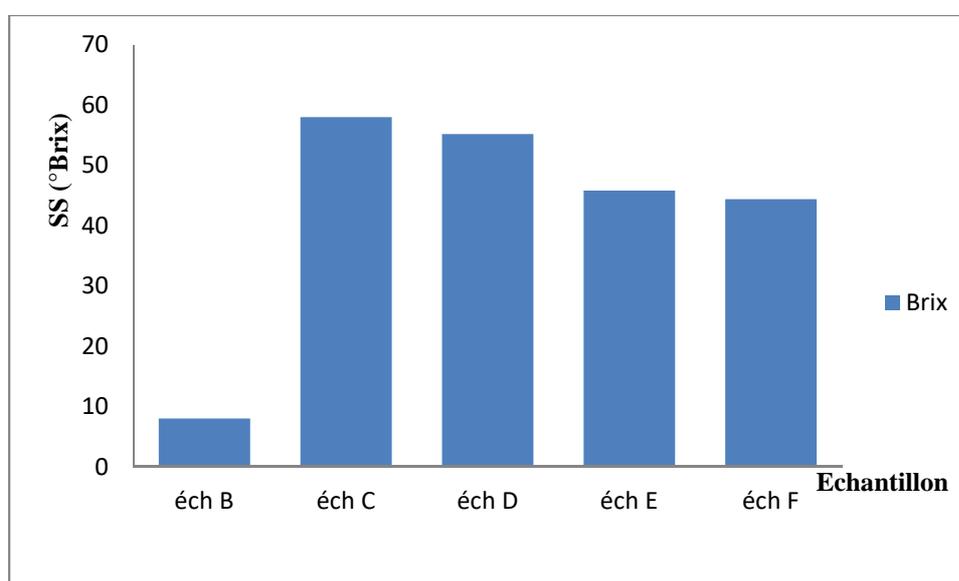


Figure07: Histogramme de la quantité soluble-solide des différentes préparations de fruits de fraise.

L'échantillon B a donné une valeur de Brix égale à 8, ce qui correspond à l'étude menée par **Silva et Gibbs, (2004)** où ils ont trouvé que le degré Brix de la fraise varie entre 7 et 9.

I.1.3. La viscosité

La viscosité a été diminuée dans échantillon C et D (Figure 08) qui ont plus de concentration de saccharose, toutes les préparations (C, D, E et F) ont une même quantité de la gomme et de la pectine qui sont utilisé pour la stabilisation et la gélification optimisée pour donner, à la fois, des gels durs et mous (Hui *et al.*, 2006), et l'effet de température permet l'évaporation d'une quantité d'eau. (William *et al.*, 1955) qui ont également montrés qu'il y à une variation de la viscosité en fonction de la température et de la teneur en eau.

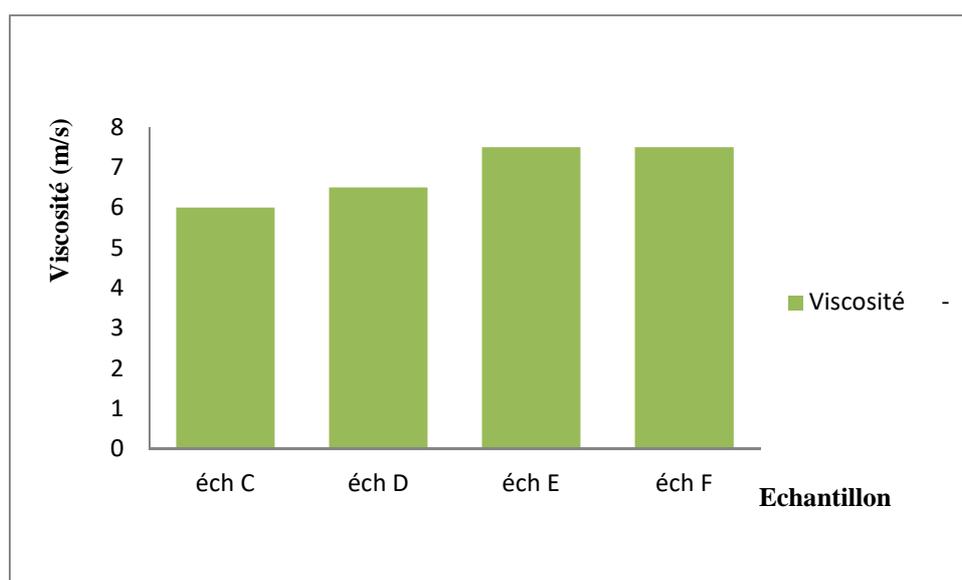


Figure 8: Histogramme de la viscosité des différentes préparations de fruit de fraise.

I.1.4. Les paramètres microbiologiques des préparations de fraise

Les résultats obtenus des analyses microbiologiques de la préparation du fruit sont illustrés dans le tableau IV :

Tableau IV: Résultats microbiologiques de la préparation de la fraise. (-) : indéterminé

Le micro-organisme	Le milieu de culture	Echantillon et résultat				
		B	C	D	E	F
Coliforme	VRBG	-	0	0	0	0
flore totale mésophile	PCA	-	0	0	0	0
Levure et moisissures	YGC	Présent	absent	absent	absent	absent

On constate que les résultats microbiologiques concernant la préparation du fruit sont satisfaisants pour les échantillons C, D, E et F. Ils montrent l'absence des germes d'altération dans la préparation du fruit, suite aux bonnes pratiques d'hygiène adoptées lors du découpage du fruit, préparation du sirop au niveau du laboratoire (conditions d'asepsie rigoureuses).

La matière première issue de la surgélation rapide individuelle (IQF : Individual Quick Frozen) utilisé au sein de l'industrie est réceptionné et noté conforme à la production avec un bulletin d'analyse microbiologique signalant l'absence des germes d'altération recherchés.

Le pH des préparations a permis d'éliminer la flore totale mésophile et les coliformes. L'acide citrique a été principalement utilisé dans des produits à base de fruits, représentant plus de 60% de tous les acides alimentaires utilisés. Leur mode d'action est bactéricide, agissant pour réduire le pH, minimisant la croissance microbienne (**Hui et al, 2006**). Il est supposé que les spores bactériennes seraient inhibées par un pH <4,6 (**Ramaswamy et Abbatemarco, 1996**).

En plus, le traitement thermique (pasteurisation à 91 °C pendant 3 minutes) a éliminé les levures et moisissures qui ont la résistance au pH de fruit (**Silva et Gibbs, 2004**). Cette flore potentielle des produits à haute teneur en acide ne résiste pas à la chaleur, la pasteurisation est suffisante pour leur inactivation (**Hui et al, 2006**). Pour l'échantillon B, on a remarqué après 5 jours il y a l'apparition des moisissures sur la fraise. Ce phénomène est dû au pH =4,2 qui est favorable pour la croissance des moisissures et l'absence des bons paramètres de pasteurisations.

I.2. Caractérisation physico-chimiques et microbiologiques du yaourt élaboré

Les résultats obtenus des analyses physico-chimiques du produit fini sont illustrés dans les figures 3 et 4.

II.2.1. Suivi de pH

La baisse de pH dans le yaourt par rapport au lait entier trouve son explication par le fait que les bactéries lactiques utilisent le lactose pour produire de l'acide lactique. Il en découle une acidification du milieu et donc une baisse de pH.

Le changement du pH du yaourt pendant le stockage a été rapporté dans plusieurs études. En effet **Dave et Shah (1997)** ont constaté que généralement, le pH du yaourt diminue avec l'augmentation du nombre des cellules du ferment.

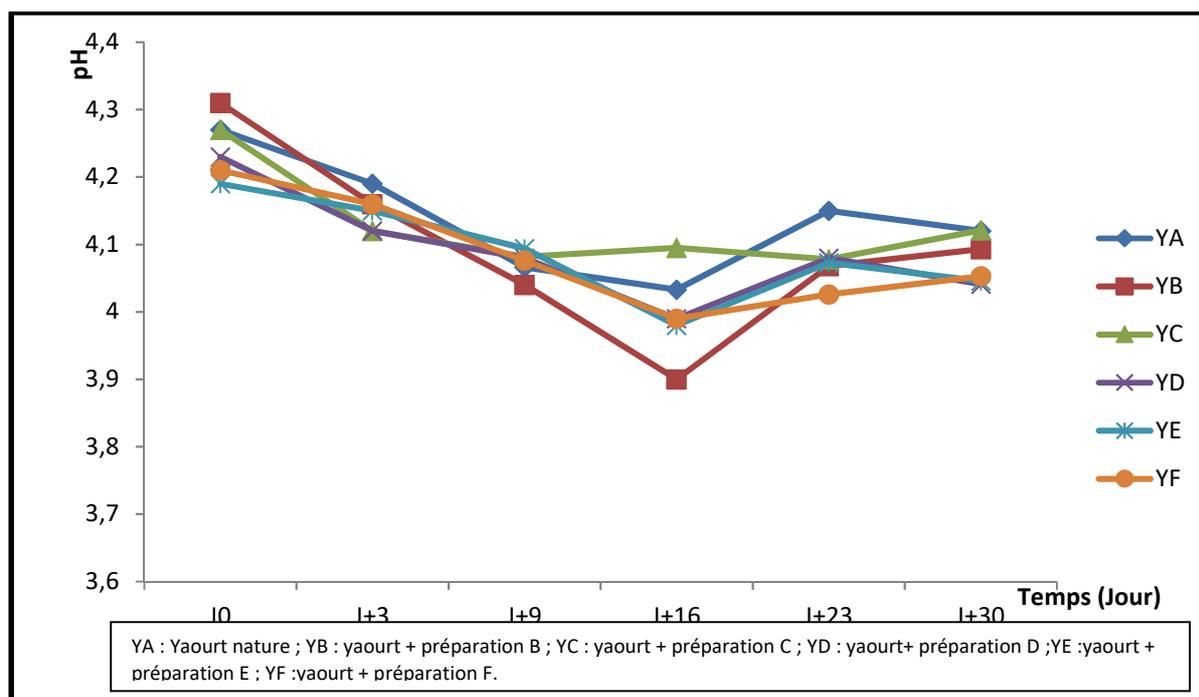


Figure 09 : Evolution de pH au cours du stockage à 6°C de yaourt avec différentes préparations de fruit de la fraise.

Le pH joue un rôle non négligeable dans la qualité organoleptique du yaourt.

La valeur obtenue pour le yaourt blanc (YA) est de 4,12 (figure 09). Cette valeur concorde également avec celles rapportées par **Jimoh et Kolapo (2007)** et qui sont entre 3,39 et 5,68. On peut dire qu'il a eu un temps d'incubation convenable et un taux de ferments lactiques satisfaisant pour atteindre cette valeur.

On a remarqué une différence entre le pH de la masse blanche avant incorporation du fruit qui est évalué à (4,27) et celui du yaourt élaboré (YD, YE et YF), donc le fruit a baissé le pH du produit fini puisque ce dernier est un fruit acide. Par contre l'échantillon YB, le pH a augmenté jusqu'à (4,32) à cause de la teneur d'eau.

Après 9 jours de conservation à 6°C, la diminution du pH de l'échantillon (YC) est faible cela est due à l'arrêt de la multiplication des bactéries lactiques du yaourt mais elles conservent néanmoins une activité métabolique en ralenti (**Loones, 1994**).

Les résultats obtenus montrent qu'après 16 jours de stockage à 6°C, la diminution du pH est importante, elle est de l'ordre $\Delta pH = 0,24$ pour les échantillons YD, YE, YF et l'échantillon YC de l'ordre $\Delta pH = 0,18$. Cependant, on remarque une grande diminution de pH ($\Delta pH = 0,4$) dans le YB avec une valeur de 3,9. Cette diminution est expliquée par l'accumulation d'acide lactique produite par les bactéries lactiques lors de la fermentation du lactose.

Au jour j+ 23, on constate que les pH ont été augmentés jusqu'à 4,8 par contre celui de l'échantillon C à une valeur stable.

Après 30 jours de conservation, tous les échantillons de yaourt ont un pH inférieur à 4,6.

Les valeurs de pH de yaourt enrichi à la fraise YC montrèrent relativement stable pendant le stockage. Ces résultats sont confirmés par **Olivera et al., (2014)**.

Dans les laits fermentés, particulièrement, les yaourts, la cinétique d'acidification des deux espèces lactiques, est d'évolution différente, voir contradictoire: Ce trait, est lié aux caractéristiques physiologiques, biochimiques des deux espèces lactiques utilisées: *Streptococcus thermophilus*, ayant une vitesse élevée d'acidification (**Meribaiet al., 2010**), cette espèce est victime d'abaissement du pH, contrairement à *Lb.bulgaricus*, ayant un pH optimum de croissance, au tour de 04,90 (espèce acido-tolérante) (**Angelovet al., 2009**).

II.2.2.Suivi de l'acidité Dornic

L'évolution de la variation de l'acidité en fonction du temps de la base lactée et du yaourt au fruit et est représentée dans la figure 10.

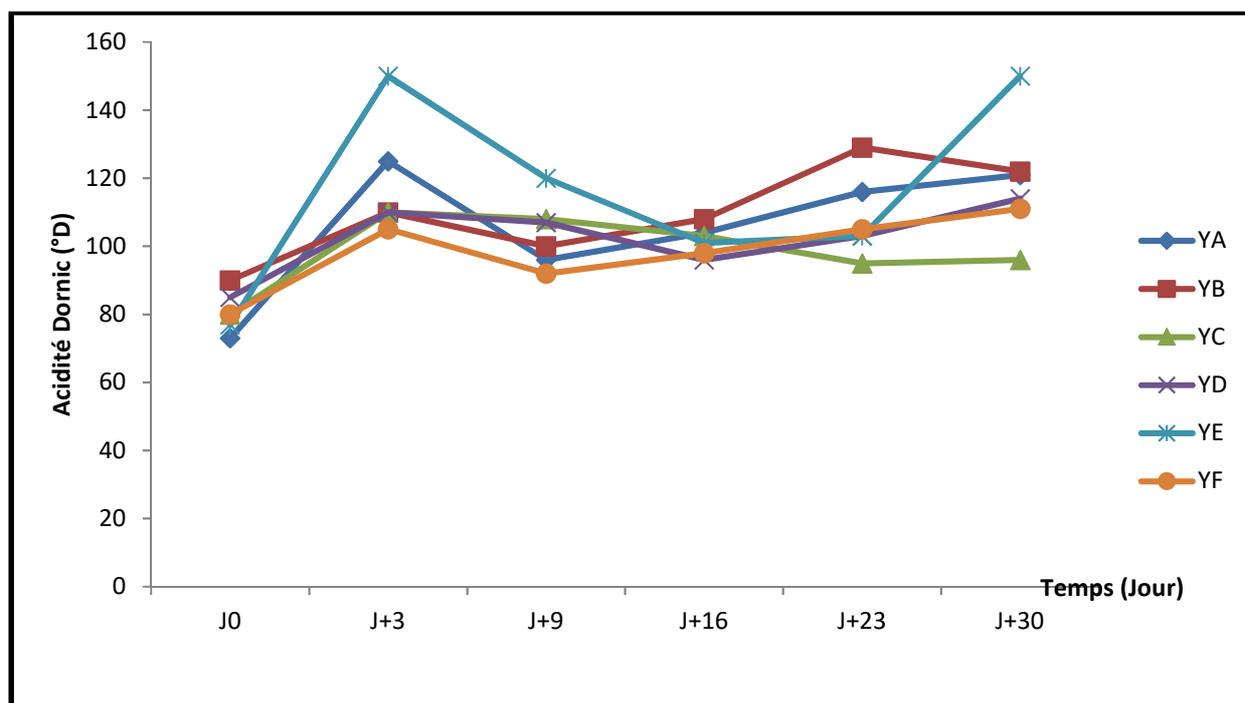


Figure 10 : Evolution d'acidité Dornic au cours du stockage à 6°C de yaourt avec différente préparation du fruit de la fraise.

D'après les résultats, nous avons constaté que la durée de conservation influence l'acidité du yaourt.

J0 : L'acidité est très élevée avant le stockage de nos échantillons(YA) probablement est due à la durée du caillage (incubation) assez longue (48h) et à l'absence d'utilisation précoce du froid (**NgassamTchamba, 2007**).

L'acidité Dornic(YA) a été augmenté au coure des trois premiers jours de conservation qui a donnée une valeur maximale 125 °D. Mais après neuf jours de conservation une diminution rapide du taux d'acidité dans l'échantillon (YA) jusqu'à 96°D. Puis l'acidité remonte pour atteindre une valeur de 120°D a la fin de stockage.

Au début de l'incorporation des préparations de fruit dans la base lactée ; l'acidité Dornic n'est pas influencée et se situe entre 77°D pour YE et 90°D pour YB. Au troisième jour de conservation, le taux d'acidité de la majorité des échantillons (YB, YC et YD) est 110°D, et le taux maximal est 150 °D pour YE, par contre le taux le plus faible (105 °D) pour l'échantillon YF.

Au neuvième jour (J+9) de conservation, il y à une diminution de l'acidité de tout les échantillons puis augmente lentement jusqu'à J+16, ils ont des valeurs entre 96 et 110 °D. Il apparait que la croissance et la production de l'acide lactique sont inhibé lorsque le pH diminue à 4,02 cela est dû à la forte acidité (pH bas) qui résulte l'accumulation de l'acide lactique (**Amrane, 2001**).

Une forte acidité Dornic dans l'échantillon YB est notée au 23^{ième} jour de la conservation avec un taux de 129 °D.

A la fin de la durée de conservation, l'acidité Dornic de l'échantillon YE est la maximale avec 150 °D et la plus faible est celle de YC avec 96 °C. Par contre les autres échantillons YF est de 110 °D et pour YD est de 114 °D.

Cependant, les valeurs obtenues pour le yaourt YA, YB, YC, YD, YE et YF sont conformes aux **Costa et al(2013)**. Ces derniers auteurs affirment que l'acidité des produits laitiers doit être entre 60 et 150°D.

De ces résultats nous avons constaté que la quantité d'acide lactique produite change selon le stade de vie de la bactérie. Cette différence de production peu être expliqué par une déficience dans le système du transport des substances fermentescibles du milieu vers le cytoplasme cellulaire (**Albenzino et al., 2001**).

II.2.3.Suivi des paramètres microbiologiques

Le suivi de la croissance des *Streptococcus thermophilus* dans la base lactée et des yaourts enrichis à la fraise est présenté dans la figure 11 :

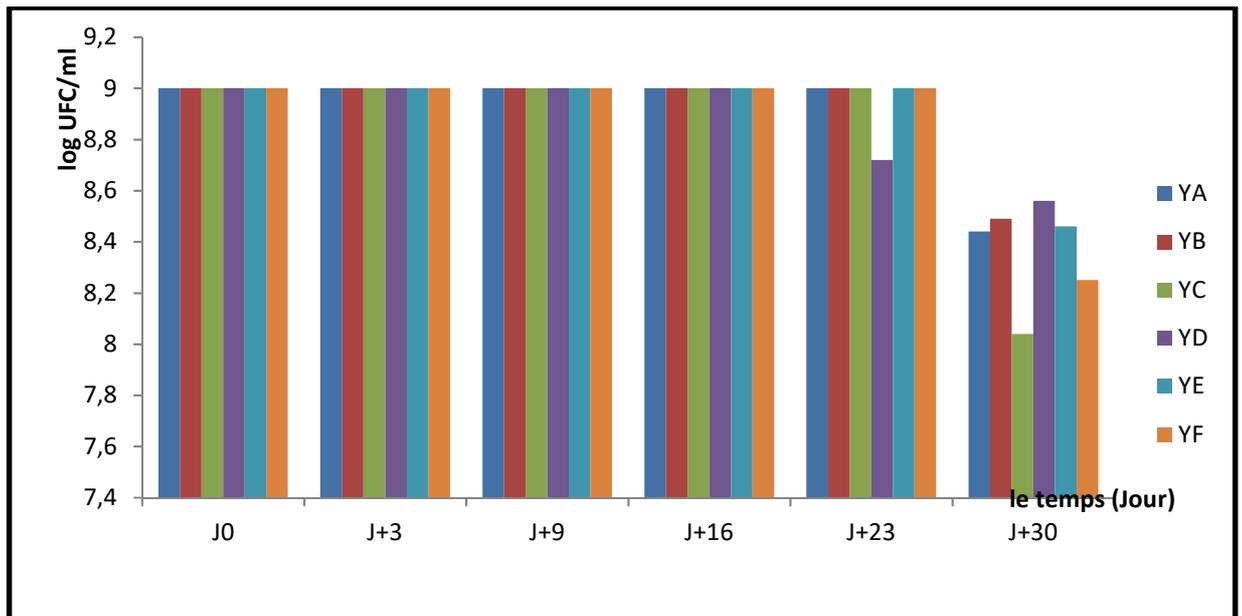


Figure 11: Histogramme de suivi du nombre de *Streptococcus thermophilus* dans les échantillons pendant 30 jours.

Le dénombrement des *Streptococcus thermophilus* est stable durant toute la période de suivie avec une concentration supérieure ou égale à 10^9 UFC/ml pour tous les échantillons incorporés de préparation de fruit de la fraise (YB, YC, YD, YE et YF), ainsi que la base lactée du yaourt qui est le témoin. La figure 11 montre les différentes quantités de *Streptococcus thermophilus* pendant la durée de conservation à 6°C (23 jours).

Ces valeurs montrent que les streptocoques sont en général plus résistants que les lactobacilles durant la conservation réfrigérée. Plusieurs auteurs rapportent la même constatation (**Bills et al., 1972 ; Walter et al., 1978 ; Hamann et Marth, 1984**). Ceci pourrait être expliqué par la constitution même des cellules bactériennes, les streptocoques possédant un meilleur système de défense que les lactobacilles (**Lacroix et Lachance, 1988**). **Cruz et al (2013)** ont signalé que le dénombrement des *Streptococcus thermophilus* dans le yaourt varie entre 8,92 et 9,83 log UFC/ml. Donc nos résultats sont proches de ces valeurs.

Au J+30, il y a une diminution du nombre de *Streptococcus thermophilus* dans tout le yaourt préparé (YA, YB, YC, YD, YE et YF). Ce résultat peut être lié à la concentration de l'acide lactique dans le milieu. **Koning et Olto (1983)**, ont démontré que l'acide lactique a un effet inhibiteur sur les bactéries lactiques et plus particulièrement *Streptococcus thermophilus*.

Dans l'autre côté des paramètres microbiologiques, le suivi de la croissance de *Lb.bulgaricus* dans la base lactée et le yaourt enrichi à la fraise est présenté dans la figure 12 :

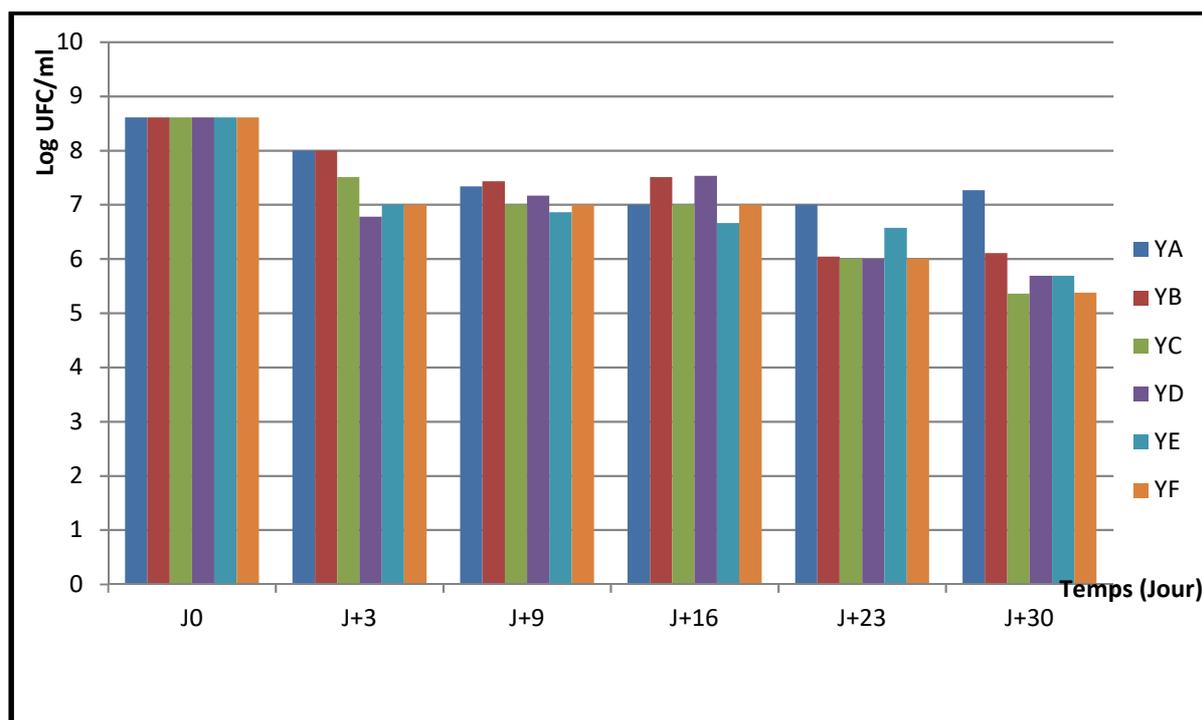


Figure 12: Histogramme de suivi du nombre de *Lb. bulgaricus* dans les échantillons pendant 30 jours.

Les comptes initiaux de *Lb. bulgaricus* dans la base lactée du yaourt est de 10^8 UFC/ml (échantillon YA).

J+3 : après l'incorporation de la fraise, le nombre de lactobacilles est resté stable pour les échantillons YA et YB qui est de 10^8 UFC/ml. Une diminution à 10^7 UFC/ml pour les échantillons YC, YE et YF est révélée. Notant aussi que l'échantillon YD a une baisse du nombre jusqu'à 10^6 UFC/ml.

J+10 : Les échantillons YA et YB ont une diminution du nombre jusqu'à 10^7 UFC/ml, les échantillons YC et YF sont jusqu'à 10^7 UFC/ml, les échantillons YC et YF sont restés tel qu'ils sont en J+3 et l'échantillon YE a fait une diminution avec 10^6 UFC/ml. Par contre une augmentation de nombre des lactobacilles de 10^6 à 10^7 UFC/ml est constatée.

J+16 : Le même nombre de 10^7 UFC/ml est obtenu pour la majorité des échantillons (YA, YB, YC, YD et YF). En outre une stabilité de la quantité à 10^6 UFC/ml sur l'échantillon (YE).

J+23 : Tous les yaourts incorporés de préparation de la fraise ont le même nombre de lactobacille qui est 10^6 UFC/ml, sauf dans le témoin (échantillon YA), où le nombre est de 10^7 UFC/ml.

J+30 : A la fin du suivi, le témoin a une charge considérable (10^7 UFC/ml). L'échantillon YB, la charge n'est pas diminuée et elle est restée à 10^6 UFC/ml. Par contre la plupart des échantillons (YC, YD, YE et YF) ont une quantité de 10^5 UFC/ml.

La figure 12 montre les différentes quantités de *Lb.bulgaricus* pendant la durée de conservation (30 jours).

En général, pour tous les échantillons, la même tendance est observée en fonction du temps avec une diminution de la viabilité de *Lb. bulgaricus* et ces résultats sont en concordance avec plusieurs auteurs **Walter et al.,(1978)** ; **Hamann et Marth, (1984)**.

Vinderola, Costa, Reghenhardt et Reinheimer (2002) reportent que cette diminution de charge de *Lb. bulgaricus* est due à l'incorporation de yaourt par la fraise.

Bien que la quantité des lactobacilles contenue dans les échantillons de yaourt diminue au cours de l'entreposage au froid, il est à remarquer qu'elle demeure relativement élevée à la fin de la période de conservation, tous les échantillons contiennent plus de 10^5 UFC/ml. Ces résultats sont confirmés par les résultats trouvés par **Lacroix et Lachance(1988)**.

Signalant que les échantillons pendant la période de stockage à 6°C sont restés sans mauvaise odeur ni développement de moisissure.

Une diminution de *Lb.bulgaricus* au cours de 30 jour de stockage, dans cette étude peut être liée à la sensibilité à l'oxygène puisque ce dernier était introduit dans le yaourt au moment de l'incorporation de fraise préparé. **Beshkova et al (2002)** décrit que *Lb. bulgaricus* a une grande sensibilité à l'oxygène par rapport au *Streptococcus thermophilus*, ce dernier connu par leur résistance à l'oxygène.

D'après les résultats, le taux de *St. thermophilus* est supérieur à celui de *Lb.bulgaricus* dans le produit fini. En effet d'après les données de la littérature, les proportions individuelles des différents ferments lactiques dans le produit fini ne sont pas identiques à leurs proportions initiales, le nombre de *St. thermophilus* est plus élevé que celui de *Lb.bulgaricus*. En effet, **Bielecka et Majkowska (1998)**, ont trouvé dans un yaourt nature, $1,4 \times 10^9$ UFC de *St. thermophilus*/g et $9,9 \times 10^8$ UFC de *Lb. bulgaricus*/g, malgré le fait que le lait était inoculé par une proportion identique de ces bactéries.

L'ajout de saccharose dans le lait a pour effet de diminuer l'activité acidifiante des bactéries du yaourt, et de diminuer la production d'acétaldéhyde (**Bills et al., 1972**).

L'effet du saccharose sur la production d'acétaldéhyde et d'acides par les bactéries de culture de yaourt. En général, la croissance de *Lb. bulgaricus* et de *St.thermophilus* et la production d'acide ont été inhibées dans des milieux contenant 4% ou plus de saccharose. La

production d'acétaldéhyde a diminué dans les milieux contenant 8% ou plus de saccharose (Canganella *et al.*, 1998).

Les bactéries ont également un pH optimal et des seuils de tolérances qui influencent leur activité métabolique. Les conditions de pH pour la croissance optimale de *St. thermophilus* et de *Lb. bulgaricus* sont respectivement de 6,5 et 5,8 (Beal *et al.*, 1989). Ainsi, le pH initial du lait, près de 6,6 favorise initialement la croissance de *St. thermophilus*. Durant la fermentation, la production d'acide lactique par les bactéries du ferment abaisse le pH du lait jusqu'aux environ 4,5, rendant ainsi les conditions plus favorables à *Lb. bulgaricus* en fin de fermentation. La baisse du pH peut même se poursuivre lors de l'entreposage (Beal *et al.*, 1989; Dave & Shah, 1998). Par ailleurs durant l'entreposage, les lactobacilles peuvent généralement tolérer des valeurs de pH plus faibles, cela varie grandement selon les espèces et les souches (Andriantsoanirina *et al.*, 2013; Tripathi et Giri, 2014).

Conclusion

L'efficacité de la stérilisation des fruits est très remarquable à cause de l'utilisation de plusieurs procédés ensemble ; à dire : le traitement thermique, la diminution du pH, la diminution de l'activité de l'eau ainsi les conditions strictes d'asepsie. Par conséquent de cela, un produit fini de haute qualité est obtenu avec l'absence totale des germes d'altération.

L'effet du pH et du saccharose sur la flore lactique et les paramètres physico-chimiques du yaourt nature aux fruits montre que la forte teneur en saccharose dans la préparation de fruit (58% °Brix) diminue l'activité physiologique des ferments de yaourt et stabilise le pH ($\Delta\text{pH}= 0,18$) du yaourt aux fruits durant la période de conservation.

La variation du pH avec l'ajout de la préparation de fruit de fraise B est la plus forte lors d'un abaissement de maximal de l'acidité à J+16 jusqu'à pH= 3,9. Ce qui donne le ΔpH ($\Delta\text{pH}=0,4$) le plus variable de tous les yaourts aux fraises préparés.

Les valeurs maximales de l'acidité Dornic au cours de la conservation sont notées avec l'ajout de la préparation de fruit de fraise E avec 150°D. Par contre les minimales sont celles avec l'ajout de la préparation de fruits de fraise C avec 96°D.

Les proportions individuelles des ferments lactiques dans le yaourt à la fraise ne sont pas identiques à leurs proportions initiales. La quantité de *St. thermophilus* est nettement plus élevée que celle de *Lb. bulgaricus*.

Après 30 jours de conservation à 6°C, le nombre de *St. thermophilus* est de 10^8 UFC/ml, et celui de *Lb. bulgaricus* est de 10^5 UFC/ml.

En perspectives, de nombreux paramètres à suivre durant l'incorporation des préparations de fruit dans le yaourt seraient nécessaires comme le suivi de l'activité de l'eau, la viscosité des yaourts aux fruits et la synthèse des exopolysaccharides par les ferments lactiques et l'influence des fortes teneurs en saccharose sur l'activité physiologique de la flore lactique du yaourt.

A

- Accolas J.P. et Auclair J. (1983).** Thermophilic lactic starters. *Ir. J. Food Sci. Technol.*, **7**: 27-38.
- Ahemed, J., & Choudhary, D. R. (1995).** Osmotic dehydration of papaya. *Indian Food Pack*, **49**, 5-11.
- Al-Kadamany, E., Toufeili, I., Khattar, M., Abou-Jawdeh, Y., Harakeh, S., et Haddad, T. (2002).** Determination of shelf life of concentrated yogurt (labneh) produced by in-bag straining of set yogurt using hazard analysis. *Journal of Dairy Science*, **85**(5), 1023-1030.
- Alm, L. (1983).** Survival rate of *salmonella* and *shigella* in fermented milk products with and without added human gastric juice: An in vitro study. *Progress in Food and Nutrition Science*, **7**(3/4), 19-28.
- Amatayakul, T., Sherkat, F., et Shah, N. P. (2006).** Syneresis in set yogurt as affected by EPS starter cultures and levels of solids. *International Journal of Dairy Technology*, **59**(3), 216-221.
- Amrane A. (2001).** Lactic acid production during the associated and the deceleration growth phases of *Lactobacillus helveticus* cultivated in various conditions and media. Physiology, metabolism. *Lait*, N° 81, pp91-103.
- Angelov M, Kostov G, Simova E, Beshkova D & Petia Koprinkova-Hristova P. (2009)** Protocoopération factors in yogurt starter cultures. *Revue de Génie Industriel* **3**, 5- 12.
- Antunes, A. E. C., Cazetto, T. F., et Bolini, H. M. A. (2005).** Viability of probiotic microorganisms during storage, post acidification and sensory analysis of fat-free yogurts with added whey protein concentrate. *International Journal of Dairy Technology*, **58**(3), 169-173.

B

- Bergamaier. D. (2002).** Production d'exopolysaccharides par fermentation avec des cellules immobilisées de *Lb. rhamnosus* RW-9595M d'un milieu à base de perméat de lactosérum. Thèse de Doctorat. Université de Laval, Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation, Quebec, 108p.
- Beshkova, D., Simova, E., Frengova, G., Simov, Z. I., & Spasov, Z. (2002).** Effect of oxygen on batch yoghurt cultures. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **18**(4), 365–369.
- Bielecka M et Majkowska A. (1998).** Survival of synergistic sets of *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*

cultures during spray drying of yogurt. *Polish Journal of Food and Nutrition Science*, 48, 267-274.

Biliaderis, C. G., Khan, M. M., et Blank, G. (1992). Rheological and sensory properties of yogurt from skim milk and ultrafiltered retentates. *International Dairy Journal*, 2(5), 311-323.

Bills d.D., Yang C.S., Morgan M.E., Bodyfelt F.W. (1972). Effect of sucrose on the production of acetaldehyde and acids by yogurt culture bacteria. *Dairy science*, 55, 1570.

Bing, L., Da-Wen, S. (2002). Novel methods for rapid freezing and thawing of foods: a review. *Journal of Food Engineering* 54(3),175–182.

Birch, G.G., Blakebrough, N., and Parker, K.J. (1981). *Enzymes and Food Processing*. London: Applied Science Publishers Ltd.

Brissonnet F., M. Bouix, G. Loiseau , A . Russel., et Y. Leveauj (1994). Le stress bactérien et ses conséquences en génie de l'hygiène.IAA .3 106-114.

Boelrijk, A. E. M., de Jong, C., et Smit, G. (2003). Flavour generation in dairy products. *Dairy Processing: Improving Quality* (pp. 130-154): Elsevier.

Boudier J.F. (1990). Produits frais, In laits et produits laitiers. Vache-brebis-chèvre. Luquet, F, M. (Ed), technique et documentation, Lavoisier, Paris, 35-66.

C

Canganella, F., Ovidi, M., Paganini, S., Vettraino, A. M., Bevilacqua, L., and Trovatelli, L. D. (1998). Survival of undesirable micro-organisms in fruit yoghurts during storage at different temperatures. *Food Microbiology*, 15(1), 71-77.

Cheng, H. (2010). Volatile flavor compounds in yogurt: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(10), 938-950.

Chaudhari, A. P., Kumbhar, B. K., Singh, B. N. N., & Narain, M. (1993). Osmotic deshydration of fruits and vegetables. *Indian Food Industry*, 12, 20-27.

Coisson, J. N., Travaglia, F., Piana, G., Capasso, M., & Arlorio, M. (2005). *Euterpe oleracea* juice as a functional pigment for yoghurt. *Food Research International*, 38(8-9), 893-897.

.Corry, J.E.L. (1976). The effects of sugars and polyols on the heat resistance and morphology of osmophilic yeasts. *J. Appl. Bacteriology*, 40(3):269–276.

Costa, A. V. S., Nicolau, E. S., Torres, M. C. L., Fernandes, P. R., Rosa, S. I. R., and Nascimento, R. C. (2013). Desenvolvimento e caracterização físico-química,microbiológica

e sensorial de bebida láctea fermentada elaborada com diferentes estabilizantes/espessantes. *Semina: Ciências Agrárias*, 34, 209–226.

Cruz, A., Castro, W., Faria, J., Bolini, H., Celeghini, R., Raices, R., et al. (2013). Stability of probiotic yoghurt added with glucose oxidase in plastic materials with different permeability oxygen rates during the refrigerated storage. *Food Research International*, 51(2), 723–728.

Cutrim, C. S., de Barros, R. F., da Costa, M. P., Franco, R. M., Conte-Junior, C. A., and Cortez, M. A. S. (2016). Survival of *Escherichia coli* O157: H7 during manufacture and storage of traditional and low lactose yogurt. *LWT - Food Science and Technology*, 70, 178-184.

D

Dastur, K., Weckel, K.G., and Elbe, J. (1968). Thermal processes for canned cherries, *Food Technol.*, 22:1176–1182.

Dave r.I., Shah N.P., (1997). Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. *International Dairy Journal*, 17, 31-41.

Delavenne, E., Ismail, R., Pawtowski, A., Mounier, J., Barbier, G., et Le Blay, G. (2013). Assessment of lactobacilli strains as yogurt bioprotective cultures. *Food Control*, 30(1), 206-213.

Dellaglio F, De Roissart H, Torriani S, Curk MC et Janssens D. (1994). Caractéristiques générale des bactéries lactiques. In : De Roissart H et Luquet M. Bactéries lactiques (Eds.), Tec et Doc, Lavoisier. Paris, pp. 25-116.

Desmazeaud M., Hermier J.H. (1972). Isolement et détermination de la composition qualitative des peptides issus de la caséine, stimulant la croissance de *Streptococcus thermophilus*. *Eur. J. Biochem.*, 28 : 190-198.

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

Driessen F. M., Kingma F., Stadhouders J. (1982). Evidence that *Lactobacillus bulgaricus* in yogurt is stimulated by carbon dioxide produced by *Streptococcus thermophilus*. *Neth. Milk Dairy J.*, 22: 135-144.

Durga, C.L., Sharda, D. and Shastry, P.M. (1986). Effect of storage condition on keeping quality of plain and fruit yoghurt. *Indian J. Dairy Science*, 39(4), 404.

E

Enkelejda P. (2004). Interactions physico-chimiques et sensorielles dans le yaourt brassé aromatisé : quels impacts respectifs sur la perception de la texture et de la flaveur, thèse de Doctorat en science des aliments. institut national agronomique parisgrignon.

Escalante, A., Wachter-Rodarte, C., Garcia-Garibay, M., et Farres, A. (1998). Enzymes involved in carbohydrate metabolism and their role on exopolysaccharide production in *Streptococcus thermophilus*. *Journal of Applied Microbiology*, 84(1), 108-114.

F

Farkye N. Y et Imafidon G. I (1995). Thermal denaturation of indigenous milk enzymes. In Heat-induced changes in milk. Deuxième édition. Fox, P. H. (Ed), International Dairy, Federation, Brussels, 331-345.

FAO (1975). Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. Les besoins en eau des cultures. J. Doorenbos, & W.O. Pruitt (Eds.). FAO.

Fellows, P. (1988). *Food Processing Technology: Principles and Practice*. Chichester, uk:ellis Horwood.

Flink, J. M. (1975). Processing conditions for improved flavour quality of freeze-dried foods. *J. Agric. FoodChem*, 23 (6), 1019-1026.

G

Gaze, J.E. and Betts, G.D. (1992). *Food Pasteurisation Treatments*, Gloucestershire. United Kingdom: Campden Food and Drink Research Association Technical Manual No. 27.

H

Hui et al ., 2006. Handbook of Fruits and Fruit Processing. Blackwell publishing professional. 186 p.

Hussian, I., Iqbal, M., & Arub, N. (2004). Effect of sucrose and glucose mixture on the quality characteristics of osmotically dehydrated banana slices. *Pakistan J. Nutrition*, 46, 83-92.

Hamann, W.T., Marth, E.H., (1984). Survival of *S. thermophilus* and *L. bulgaricus* in commercial and experimental yogurts. *J. Food Protection* 47, 781.

J

Jasjit, S., Adarsh, K., et Harish, C. (1979). Antibacterial activity of yogurt starter in cow and buffalo milk. *Journal of Food Protection*, 42(8), 664-665.

Jimoh K.O., Kolapo A.L, (2007), Effect of different stabilizers on acceptability and shelfstability of soy-yoghurt *African Journal of Biotechnology*, 6 (8), pp. 1000–1003.

K

Koning W.N et Otto,(1983). .Mécanismes de transport des nutriments dans les bactéries lactiques *in: Les Bactéries lactiques T1, Aspects fondamentaux et technologiques.*Ed Loriga, Lavoisier .604p.

Kotz, C. M., Peterson, L. R., Moody, J. A., Savaiano, D. A., et Levitt, M. D. (1990). In vitro antibacterial effect of yogurt on *Escherichia coli*. *Digestive Diseases and Sciences*, 35(5), 630-637.

L

Lacroix et Lachance, (1988). Effet de l'Aw sur la survie de *L. bulgaricus* et *S. thermophilus* et le développement d'acidité dans le yogourt conserve au froid. *Institute of Food Science and Technology, Can. Ins!. Food Sci. Technol. J.* Vol. 21, No. 5, pp. 501-510.

Lamoureux L. (2000). Exploitation de l'activité β -galactosidase de culture de bifidobactéries en vue d'enrichir des produits laitiers en galacto- oligosaccharides. Mémoire de maîtrise. Université de Laval, Canada. 88p.

Loones A. (1994). Laits fermentés par les bactéries lactiques. In *Bactéries Lactiques : aspects fondamentaux et technologiques.* Vol 2, De Roissart, H and Luquet F. M. (Eds), Loriga, Uriage, 135-154.

Lopez, A. (1987). Heat penetration de terminations and thermal process calculations. Chapter1. In *A Complete Course in Canning and Related Products. Book II: Packaging, Aseptic Processing, Ingredients*, pp. 12. Baltimore, MD: The Canning Trade, Inc.

Référence bibliographique

Lund, D.B. (1975). Effects of blanching, pasteurization, and sterilization on nutrients. In *Nutritional Evaluation of Food Processing*, pp. 205–239. Harris, R.S. and Karmas, E., Eds. New York: AVI Publishing Co.

M

Mahaut, M., Jeantet, R., Brulé, G et Schuck , P. (2000). Les produits industriels laitiers Tech&Doc, Lavoisier, Paris.

Marshall VM. (1987). Fermented milks and their future trends: I. Microbiological aspects. *J.Dairy Res.*54, 559. In. Bactéries lactiques et probiotiques, Luquet F-M. et Corrieu G. Ed. *Toc & Dec*, Paris, 307p.

Marty-Teyssset C, de la torre F et Garel, J-R. (2000). Increased production of hydrogen peroxide by lactobacillus delbreuckiissp bulgaricus upon acration : involvement. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(1), 262-267.

Meribai A, Ait-Abdeslam A, Krantar K, Mahi Med , Benzeguir FM, Slimane N, Maghnia D, Mouadene R & Bensoltane A. (2010) Biotechnological study of a thermophilic acid starter isolated from Algerian cow's raw milk. *Egypt. Jo. of Appl. Sci*, 25(4B), 243– 254.

Mohammed, S. S. D., et Ijah, U. J. J. (2013). Isolation and screening of lactic acid bacteria from fermented milk products for bacteriocin production. *Annals Food Science and Technology*, 14(1), 122-128.

Moon N.J., Reinbold G.W. (1976). Commensalism and competition in mixed cultures of *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. *J. Milk Food Technol.*, 39, 337-341.

N

Nath, N. and Ranganna, S. (1983). Heat transfer characteristics and process requirements of hot-filled guava pulp. *J. Food Technol.*,18 (3):317–326.

O

Oliveira, R. P. D. S., Perego, P., Converti, A., et Oliveira, M. N. D. (2009). Effect of inulin on growth and acidification performance of different probiotic bacteria in co-cultures and mixed culture with *Streptococcus thermophilus*. *Journal of Food Engineering*, 91(1), 133-139.

Olivera et al ., (2014).Incorporation of strawberries preparation in yoghurt: Impact on phytochemicals and milk proteins. *Food Chemistry* 171 (2015) 370–378.

Osaili, T. M., Taani, M., Al-Nabulsi, A. A., Attlee, A., Odeh, R. A., Holley, R. A., Obaid, R. S. (2013). Survival of *Escherichia coli* O157: H7 during the manufacture and storage of fruit yogurt. *Journal of Food Safety*, 33(3), 282-290.

P

Panagiotou, N. M., Karathanos, V. T., & Maroulis, Z. B. (1998). Mass transfer modeling of the osmotic dehydration of some fruits. *Int. J. Food Sci. Technol*, 33, 267-284.

Peralta, E.I., Albastro, E. F., Legaspi, G. R. A., and Apolinario, K. M. (1973). Growth characteristics and thermal resistance of spoilage organisms isolated from canned peachy papaya given minimal heat treatment. *Philippine J. Sci.*, 102(1/2):69–80.

Pokharkar, S. M., & Prasad, S. (1998). Mass transfer during osmotic dehydration of banana slices. *J. Food Sci. Technol*, 35 (4), 336-338.

R

Rahman, M. S., & Lamb, J. (1991). Air-drying behaviour of fresh and osmotically dehydrated pineapples. *J. Food Process Engi*, 14, 163-171.

Ramaswamy, H.S. and Abbatemarco, C. (1996). Thermal processing of fruits. In *Processing Fruits: Science and Technology*, Vol. I, pp. 25–65. Somogyi, L.P., Ramaswamy, H.S., and Hui, Y.H. Eds. Lancaster Basel, USA: Technomic Publishing Co., Inc.

Rasic J.L., Kurmann J.A. (1978). Yoghurt scientific grounds, technology, manufacture and preparation. In. *Microbiologie industrielle: Les micro-organismes d'intérêt industriel*, Leveau J.Y., Boux M. Ed. Tec & Doc. Paris. 175p.

Reed, G. (1966). In *Enzymes in Food Processing*, pp. 176-196. Anson, M.L., Chichester, C.O., Mraak, E.M., and Stewart, G.F., Eds. New York: Academic Press.

Reis, J. A., Paula, A. T., Casarotti, S. N., et Penna, A. L. B. (2012). Lactic acid bacteria antimicrobial compounds : Characteristics and applications. *Food Engineering Reviews*, 4(2), 124-140.

Rodrigues, L. R., Teixeira, J. A., van der Mei, H. C., et Oliveira, R. (2006). Isolation and partial characterization of a biosurfactant produced by *Streptococcus thermophilus* A. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 53(1), 105-112.

Rousseau .M (2005). La fabrication du yaourt, les connaissances. INRA. p9.

Roussel Y, Pebay M, Guedon G, Simonet JM et Decaris B. (1994). Physical and genetic map of *Streptococcus thermophilus* A054. *Journal of Bacteriology* 176 Suppl 24: 7413-7422.

Rubin, H. E., et Vaughan, F. (1979). Elucidation of the inhibitory factors of yogurt against *Salmonella typhimurium*. *Journal of Dairy Science*, 62(12), 1873-1879.

S

Saint-Eve, A., Lèvy, C., Martin, N., and Souchon, I. (2006). Influence of proteins on the perception of flavored stirred yoghurts. *Journal of Dairy Science*, 89(3). 922-933.

Schaack, M. M., et Marth, E. H. (1988). Survival of *Listeria monocytogenes* in refrigerated cultured milks and yogurt. *Journal of Food Protection*, 51(11), 848-852.

Silva, F.M., Gibbs, P., Vieira, M.C., and Silva, C.L.M. (1999). Thermal inactivation of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores under different temperature, soluble solids, and pH conditions for the design of fruit processes. *Int. J. Food Microbiol.*, 51(2/3), 95–103.

Silva et Gibbs, 2004. Target Selection in Designing Pasteurization Processes for Shelf-Stable High-Acid Fruit Products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44, 353–360.

Sinha NK. 2006. Infused-dried and processed frozen fruits as food ingredients. *Cereal Food World* 43 (9), 699–701.

Sodini, I., Remeuf, F., Haddad, S., & Corrieu, G. (2004). The relative effect of milk base, starter, and process on yoghurt texture: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(2), 113–137.

Sunkja, P. S., & Raghavan, G. S. V. (2004). Assessment of pre treatment methods and osmotic dehydration of Cranberries. *J. Canadian Bio systems*, 46, 52-56.

T

Tamime A.Y et Deeth H.C (1980). Yoghurt: technology and biochemistry. *Journal of Food protection*, 43, 12 939-977.

Tamime A. Y et Robinson R. K. (1985). Backroud to manufacturing practice In Yoghurt. *Science and technology*. (Eds), Pergamon press, Paris, 7-90.

Tinson w., Broome M. C., Hillier a. J., Jago G. R. (1982). Metabolism of *Streptococcus thermophilus*. 2. Production of CO₂ and NH₃ from urea. *Aust. J. Dairy Technol.*, 37: 14-1

- Tirloni, E., Bernardi, C., Colombo, F., et Stella, S. (2015).** Microbiological shelf life at different temperatures and fate of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* inoculated in unflavored and strawberry yogurts. *Journal of Dairy Science*, 98(7), 4318-4327.
- Trigueros, L., Pérez-Alvarez, J. A., Viuda-Martos, M., and Sendra, E. (2011).** Production of low-fat yoghurt with quince (*Cydonia oblonga* Mill.) scalding water. *LWT – food Science and Technology*, 44(6), 1388-1395.
- Tiwari, R. B., and Jalali, S. (2004).** Studies on osmotic dehydration of different varieties of mango. In proceeding of First Indian Horticulture congress-2004, New Delhi.
- Tiwari, R. B. (2005).** Application of osmo air dehydration for processing of tropical fruits in rural areas. *Indian Food Industry*, 24(6), 62-69.
- Tortoe, C. (2010).** A review of osmodehydration for food industry. *African Journal of Food Science*, 4(6), 303-324.

V

- Veringa H. A., Galestloot T. E., Davelaar H. (1968).** Symbiosis in yoghurt (II) Isolation and identification of a growth factor for *Lactobacillus bulgaricus* produced by *Streptococcus thermophilus*. *Netherlands Dairy Journal*, In : Bactéries lactiques et probiotiques, Luquet F-M. et Corrieu G. Ed. *Toc & Dec*, Paris. 307p.
- Vinderola, C. G., Costa, G. A., Regenhardt, S., & Reinheimer, J. A. (2002).** Influence of compounds associated with fermented dairy products on the growth of lactic acid starter and probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, 12(7), 579–589.

W

- Wacher-Rodarte, C., et Farres, A. (1993).** Yogurt production from reconstituted skim milk powders using different polymer and non-polymer forming starter cultures. *Journal of Dairy Research*, 60(2), 247-254. doi: 10.1017/S0022029900027564.
- Waiter, J., Haselmann, M., Castillo, M., (1978).** Aspects quantitatifs de la flore bactérienne normale des yogourts. *Revue Laitière Française*, 362: 117.
- Wang, C., Chang, T., Yang, H., et Cui, M. (2015).** Antibacterial mechanism of lactic acid on physiological and morphological properties of *Salmonella Enteritidis*, *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 47, 231-236.
- Whitaker, J.R. (1972).** *Principles of Enzymology for the Food Sciences*. New York and Baser: Marcel Dekker.

Référence bibliographique

William, M. L., Landel, R. F., Ferry, J. D., (1955).temperature dependence of relaxation mechanisms of carbohydrate polymers and others glass forming liquids. *J. Am. Chem. Soc.* 77, 3701-6.

Y

Yang, E., Fan, L., Jiang, Y., Doucette, C., et Fillmore, S. (2012). Antimicrobial activity of bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from cheeses and yogurts. *AMB Express*, 2(1), 1-12.

Z

Zhao, Y., Xie, J. (2004). Practical applications of vacuum impregnation in fruit and vegetable processing. *Food Science and Technology* 15, 434–451.

Annexe 1

Présentation de l'entreprise

1. Historique

2006 – création de la société par Monsieur Boussaad Batouche.

2007 - Partenariat avec Frulact Portugal

2011- Certification ISO 22000 : 2005 HACCP

2013 – Rachat de parts portugaises par Monsieur Boussaad Batouche et création d'Elafruits.

Monsieur Boussaad Batouche a décidé dans l'intérêt des clients, de racheter les parts portugaises pour créer Elafruits, une entreprise 100% algérienne.

Suite au rachat, Elafruits a totalement réorganisé sa production en modernisant des équipements.

Elle a étendu ses compétences en créant un département Recherche & Développement au sein de son unité de production.

Elle a recruté de nombreux cadres dirigeants en local et à l'étranger pour offrir à ses clients une compétence internationale.

Parce que la qualité est la motivation principale d'Elafruits, elle a étendu et réorganisé son département Qualité.

2. Système de Management Qualité et Sécurité Alimentaire de la société

La Qualité est la clé d'orientation d'Elafruits dans la réalisation et la validation de ses produits et services offerts. Permettant ainsi d'offrir des produits de qualité supérieure grâce à son savoir-faire et son contrôle strict de qualité.

Le service Qualité s'engage à respecter les exigences légales dans le cadre de la Qualité et la Sécurité Alimentaire, veille en continue sur les évolutions réglementaires, les alertes sanitaires et les nouveautés, dans le but de garantir en permanence l'efficacité du Système de Management Qualité et Sécurité Alimentaire, permettant ainsi d'adapter et de mettre à jour les procédures de travail, encadrées par des objectifs, cibles et processus significatifs clairement orientés vers les besoins des clients.

3. Le rôle du service qualité au sein d'Elafruits : dispose d'un rôle déterminant. Il surveille chaque étape de la production pour assurer la sécurité alimentaire.

Le service qualité intervient au quotidien auprès des opérateurs de production pour garantir la sécurité alimentaire des produits fabriqués tout au long de la chaîne de production et de sa durée de vie et répondre aux exigences du marché.

L'équipe qualité met à jour en permanence les plans de contrôles, forme et sensibilise les opérateurs de production aux bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication, répond aux différentes demandes clients (cahiers des charges, spécifications, ...) et évalue les fournisseurs et leurs produits (audits, cahiers des charges, ...).

La qualité s'intègre ainsi sur toute la filière de l'approvisionnement des fruits, matières premières et emballages à la livraison des produits finis.

La sécurité de nos produits est garantie grâce à une identification des dangers, une évaluation des mesures de maîtrise, l'établissement d'un plan HACCP, planification de la vérification, système de traçabilité, maîtrise des non conformités, des audits internes et externes pour garantir des procédures de travail et normes de production certifiées. Nous portons une attention particulière à la hausse constante des normes en matière d'hygiène et de qualité.

La bonne maîtrise de la traçabilité et des principes de l'HACCP permet d'obtenir la certification ISO 22000, gage d'un produit sain fabriqué dans des conditions maîtrisées.

4. Le service Recherche et développement

Parmi les services clés de l'entreprise, la Recherche & Développement (R&D) participe activement à la stratégie d'innovation et à l'amélioration de la qualité de nos produits.

Le département R&D est dynamique, géré par une direction R&D autonome et participe au comité de direction. Une structure est en synergie permanente avec la qualité, la production, les achats, le commercial et le contrôle de gestion de l'entreprise.

Annexe 2 : Les milieux de cultures

1. Bouillon Nutritif

Pour la culture de micro-organismes non exigeants dans l'eau, les fèces et autres matériaux.

pH final : $6,8 \pm 0,2$ à 25°C

Formule en grammes par litre d'eau distillée:

Gelatin peptone 5,0 g

Extrait de boeuf 5,0 g

Preparation:

Suspendez 8 grammes du milieu dans un litre d'eau distillée. Bien mélanger et dissoudre en chauffant avec une agitation fréquente. Bouillir pendant une minute jusqu'à dissolution complète. Distribuer dans des récipients appropriés et stériliser en autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

Conda a établi 1960 pronadisa (CAT: 121600)

Extrait de Malte:

L'extrait de malt est largement utilisé dans les milieux de culture pour la culture de champignons, en tant qu'ingrédient nutritif. IL est préparé en extrayant la fraction sulfureuse de l'orge maltée, suivie d'une évaporation à basse température pour préserver les teneurs maximales en composants azotés et hydrates de carbone.

Ingrédients:

Cendres 1,6 %

Eau 3%

Sucres réducteurs (exprimés en maltose) 76%

pH $5,5 \pm 0,2$

2. Peptone bactériologique

Pour la préparation de milieux de culture bactériologiques.

Ingrédients:

Azote total 14,4 %

Azote amine 2,6 %

Eau 4,0 %

Cendres 6,6 %

Peptone bactériologie est une peptone standardisée des milieux de culture bactériologique.

L'azote qu'il contient est parfaitement disponible pour les besoins de croissance bactérienne. Il

est complètement soluble donnant une solution transparente aux concentrations utilisées dans les milieux de culture.

3. Milieu de culture PCA (plat Count Agar)

Pour le dénombrement des micro-organismes par la technique de comptage des colonies.

Formule typique g / l:

Digestion enzymatique de casei	5,0
Extrait de levure	2,5
Glucose anhydre	1,0
Agar	15,0
pH	7,0 ± 0,2

4. Eau peptonée tamponnée

Recommandé comme diluant pour l'homogénéisation des échantillons dans l'analyse microbiologique des aliments.

Ingrédients: (g/l)

Digestion pancréatique de caséine 5,0

Disodium phosphate 3,5

Mono potassium phosphate 1,5

Equivalent à 9,0 g d'hydrogénophosphate disodique déodécahydraté.

Préparation :

Suspendre 20 grammes de milieu dans un litre d'eau distillée. Bien mélanger et dissoudre en chauffant avec une agitation fréquente. Bouillir pendant une minute jusqu'à dissolution complète. Distribuer dans des récipients appropriés et stériliser en autoclave à 121 ° C pendant 15 minutes.

5. Gelose VRBL

Pour la détection et l'énumération des bactéries coliformes.

Formule typique : (g/l)

Digestion enzymatique des tissus animaux	7,000
Extrait de levures	3,000
Lactose	10,000
Chlorure de sodium	5,000
Sels biliaires	1,500
Rouge neuter	0,030

Crystal violet 0,002

Agar 15,000

pH 7,4 ± 0,2 à 25°C

preparation :

Dissoudre 41,5 g dans 1L d'eau purifiée en portant à ébullition en agitant fréquemment. Après les gardes ne pas bouillir plus de 2 minutes. Ne stérilisez pas le milieu dans l'autoclave.

6. Gelose Sabouraud dextrose + chloramphenicol

Pour l'isolement sélectif de la culture de la levure.

Ingrédients : (g/l)

Mono hydrate de glucose 40,0

Peptone (viande et caseine) 10,0

Chloramphenicol 0,05

Agar bactériologique 15,0

Preparation :

Suspendez 65 grammes de milieu dans un litre d'eau distillée. Bien mélanger et dissoudre en chauffant avec une agitation fréquente. Bouillir pendant une minute jusqu'à dissolution complète. Distribuer et stériliser en autoclave à 118-121 ° C pendant 15 minutes. Eviter la surchauffe car elle facilite l'hydrolyse des composants et le milieu reste mou.

7. Milieu MRS (CONDA prodinisa ; norme NF ISO 15214)

La gélose MRS (De Man, Rogosa, Sharpe, 1960) est utilisée pour la culture et le dénombrement de *Lactobacillus* dans les produits laitiers et les autres produits alimentaires.

Pour la préparation de cette gélose, 67,3 g de milieu de culture déshydraté ont été dissous dans 1 L de l'eau distillée puis le mélange est porté à l'ébullition lentement en agitant jusqu'à dissolution complète. Par la suite le milieu est reparti à raison de 250 ml par flacons puis autoclavé à 120°C pendant 20 minutes.

Tableau I : la composition du milieu MRS

Composition	(grammes/litre)
pepton	10,0
Extrait de viande de boeuf	8
Extrait de levure	4,0
Glucose	20,0
Hydrogénophosphate de potassium	2,0
Acétate de sodium 3 H ₂ O	5,0
Citrate d'ammonium	2,0
Sulfate de magnésium 7 H ₂ O	0,2
Sulfate de manganèse 4 H ₂ O	0,05
Tween 80	1,0
Agar	10,0
pH 6,2 ± 0,2	

8. Milieu M17 (biokar) : (xp CEN ISO/TS 11133-2 2004)

La gélose M17 (ou gélose de Tezaghi) est utilisée pour le dénombrement des streptocoques lactiques dans les produits laitiers. Il est bien adapté pour le dénombrement de *Streptococcus thermophilus* dans le yaourt.

Pour la préparation de cette gélose, 57,2 g de milieu de culture déshydraté ont été dissous dans 1 L de l'eau distillée puis le mélange est porté à l'ébullition lentement en agitant jusqu'à dissolution complète. Par la suite le milieu est reparti à raison de 180ml par flacons puis autoclavé à 120°C pendant 20 minutes.

Tableau II : la composition du milieu M17

Composition	Gramme/litres
Trypton	5
Peptone pepsique de viande	5
Peptone papainique de soja	5
Extrait de levure déshydraté	2 ,5
Di-sodium-βglycerophosphate	19
Sulfate de magnésium 7 H ₂ O	0,25
Acide ascorbique	0,50
Agar	11
pH 6,9 ± 0,2	

Annexe 3 : Appareillage, verreries et réactifs

1. Appareillage

- o **L'autoclave (Systec)** : pour stériliser (par la chaleur humide : 120°C/20 min) des équipement en verrerie ainsi que des milieux de culture.
- o **Bain Marie** : Pour liquéfier les milieux de culture.
- o **Balance de précision** : pour peser des ingrédients des milieux de culture et les sels de la solution Ringer.
- o **Etuve (37°C)** : pour incuber les boîtes pétries ensemencées.
- o **pH-mètre**
- o **Plaque chauffantes agitatrices** : faire agiter la solution ringer jusqu'à la dissolution complète des sels et les milieux de culture durant leur préparation jusqu'à l'ébullition.
- o **Réfrigération** : pour conserver les milieux de culture et les réactifs.
- o **Réfractomètre portable ATAGO** : mesure de Brix
- o **Thermomix TM5** : pasteurisation et agitation de préparation de fruit
- o **Viscosimètre de « Brookfield »** : mesure La consistance de la préparation de fruit

2. verreries

Béchers à différents volume, burettes, entonnoirs, erlenmayer, flacons en verre (180ml), pipettes (1, 2, 5,10ml), tubes à essai.

3. Réactifs et milieux de cultures

Alcool, eau distillé, milieu MRS, milieu M17, milieu PCA ,milieu YGC ,milieu VRBL , extrais de malte, bouillon nutritif, solution NAOH (0.1N), la phénolphtaléine (1%).

4. Les additifs alimentaires

Acide citrique, le saccharose, la Gomme, la pectine, colorant et l'arôme.

Annexe 4 : Les résultats du suivi des paramètres physicochimiques de yaourt au fruit et la masse blanche

Tableau II : Résultats du suivi du pH au cours de stockage dans 6°C

Le temps Echantillons	J0	J+3	J+9	J+16	J+21	J+30
A	4,27	4,19	4,066	4,033	4,15	4,12
B	4,31	4,16	4,04	3,9	4,068	4,093
C	4,27	4,12	4,082	4,095	4,078	4,121
D	4,23	4,12	4,08	3,99	4,08	4,041
F	4,19	4,15	4,094	3,98	4,073	4,046
F	4,21	4,16	4,076	3,99	4,026	4,053

Tableau III : Résultats du suivi de l'acidité Dornic au cours de stockage à 6°C

Le temps Echantillons	J0	J+3	J+9	J+16	J+21	J+30
A	73	125	96	104	116	121
B	90	110	100	108	129	122
C	80	110	108	103	95	96
D	85	110	107	96	103	114
E	77	150	120	101	103	150
F	80	105	92	98	105	111

Annexe 5 : Dénombrement des ferments du yaourt :

Tableau I: Suivie et dénombrement de *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* dans le yaourt pendant 30 jours.

Echantillon Temps (Jour)	YA	Y B	YC	YD	YE	YF
Jour 0	4,14 10 ⁸					
Jour 3	10 ⁸	10 ⁸	3,3 10 ⁷	6 10 ⁶	10 ⁷	10 ⁷
Jour 9	2,18 10 ⁷	2,7 10 ⁷	10 ⁷	1,5 10 ⁷	7,3 10 ⁶	10 ⁷
Jour 16	10 ⁷	3,3 10 ⁷	10 ⁷	3,4 10 ⁷	4,6 10 ⁶	10 ⁷
Jour 23	10 ⁷	1,1 10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	3,8 10 ⁶	10 ⁶
Jour 30	1,9 10 ⁷	1,3 10 ⁶	2,6 10 ⁵	2,3 10 ⁵	4,9 10 ⁵	2,4 10 ⁵

Tableau II: Suivie et dénombrement de *Streptococcus thermophilus* dans le yaourt pendant 30 jours.

Echantillon Temps (Jour)	YA	Y B	YC	YD	YE	YF
Jour 0	10 ⁹					
Jour 3	10 ⁹					
Jour 9	10 ⁹					
Jour 16	10 ⁹					
Jour 23	10 ⁹	10 ⁹	10 ⁹	5,3 10 ⁸	10 ⁹	10 ⁹
Jour 30	2,7 10 ⁸	3,9 10 ⁸	1,1 10 ⁸	3,6 10 ⁸	2,8 10 ⁸	1,7 10 ⁸

Résumé :

Cinq différentes préparations de fruits de fraise B (Brix= 8%, pH= 4,02), C (Brix= 58%, pH= 4,02), D (Brix= 55,2% ; pH= 3,6), E (Brix= 45,8% ; pH= 4,01) et F (Brix= 44,4 ; pH= 3,57) ont été incorporés à raison de 15% (m/m) dans un yaourt nature. Les yaourts aux fruits obtenus (YB, YC, YD, YE et YF) sont conservés pendant 30 jours à 6°C. La mesure du pH, de l'acidité Dornic et le nombre des bactéries lactiques dans ces derniers était faite à J0, J+3, J+9, J+16, J+23 et J+30. Les résultats montrent que la stabilité des paramètres physico-chimiques est remarquable avec le degré Brix 58%, et le nombre de *Streptococcus thermophilus* à la fin de la durée de conservation est de 10⁸ UFC/ml, et celui *Lactobacillus delbrueckii sub sp bulgaricus* est de 10⁵ UFC/ml.

Mots clés : Pasteurisation, fruit, fraise, yaourt, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii sub sp bulgaricus*.

Abstract :

Five different strawberry fruits preparations B (Brix= 8%, pH= 4,02), C (Brix= 58%, pH= 4,02), D (Brix= 55,2% ; pH= 3,6), E (Brix= 45,8% ; pH= 4,01) et F (Brix= 44,4 ; pH= 3,57) was incorporated at 15% (m/m) in natur yaghurt. Fruits yughurt obtened (YB, YC, YD, YE et YF) was conserved a long 30 days at 6°C. The mesur of pH, Dornic acidity and the count of lactic acid bacteria have been done at J0, J+3, J+9, J+16, J+23 et J+30. Results show that physico-chemical parameters stability is better with 58% °Brix, and the count 30 days conservation at 6°C for *Streptococcus thermophilus* was 10⁸ UFC/ml, and *Lactobacillus delbrueckii sub sp bulgaricus* was 10⁵ UFC/ml.

Keywords : Pasteurization, fruit, strawberry, yaghurt, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii sub sp bulgaricus*.