

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de La Recherche Scientifique



CQ.03/13

Université de Jijel

Faculté des Sciences de la Nature et de La vie

Département de Microbiologie Appliquée et

Sciences Alimentaires

جامعة جيجل

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم الميكروبيولوجيا التطبيقية وعلوم التغذية

Mémoire De Fin De Cycle Pour L'obtention Du Diplôme D'ingénieur D'état en Biologie

Option : Contrôle de Qualité et Analyse

THEME

1/2

*Les ferments thermophiles locaux : contrôle
des aptitudes technologiques et application
en industrie laitière*

Membres de jury :

Présidente: Dr OULED HADDAR H

Examinatrice : M^{lle} BEKKA F

Encadreur : Dr IDOUI T



Présenté par :

BELAOURA. Imen

BENAYACHE. Kenza

Année Universitaire : 2012/2013

Sommaire

Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des photos	
Liste des abréviations	

Introduction	01
--------------------	----

I. Synthèse Bibliographique

Chapitre I : Bactéries lactiques et ferments

I.1. Les bactéries lactiques	02
I.1.1. Présentation des bactéries lactiques	02
I.1.2. Principales caractéristiques des bactéries lactiques	02
I.1.3. Origine et habitat des bactéries lactiques	02
I.1.4. Les principaux genres des bactéries lactiques	02
I.1.4.1. Le genre <i>Lactobacillus</i>	02
I.1.4.2. Le genre <i>Streptococcus</i>	03
I.1.4.3. Le genre <i>Lactococcus</i>	03
I.1.4.4. Le genre <i>Enterococcus</i>	03
I.1.4.5. Le genre <i>Leuconostoc</i> , <i>Oenococcus</i> et <i>Weissella</i>	04
I.1.4.6. Le genre <i>Bifidobacterium</i>	04
I.1.5. Principales voies fermentaire des bactéries lactiques	04
I.1.5.1. Voie homofermentaire	04
I.1.5.2. Voie hétérofermentaire	04
I.1.6. Les cultures mixtes des bactéries lactiques	05
I.1.6.1. Type d'interaction entre les bactéries lactiques	05
I.1.7. Application industrielles des bactéries lactiques	05
I.2. Les ferments lactiques	06
I.2.1. Types des ferments lactiques	06
I.2.1.1. Classification selon la composition	06
I.2.1.2. Classification selon la température de croissance	06
I.2.2. Critères de sélection des ferments lactiques	07
I.2.3. Aptitudes technologiques	07
I.2.3.1. Aptitude acidifiante	07

I.2.3.2. Aptitude protéolytique.....	07
I.2.3.3. Aptitude lipolytique.....	08
I.2.3.4. Aptitude aromatisante.....	08
I.2.3.5. Aptitude texturante.....	08
I.2.3.6. Activité antimicrobienne	08
I.2.3.7. Production d'autres métabolites d'intérêt.....	09
I.2.4. Conservation des ferments lactiques.....	09

Chapitre II : Le yaourt

II.1. Définition de yaourt et réglementation.....	10
II.2. Différents types de yaourt.....	10
II.3. Technologie de fabrication du yaourt.....	10
II.3.1. Préparation et standardisation du lait.....	10
II.3.2. Homogénéisation et traitement thermique.....	11
II.3.3. Fermentation et inoculation	11
II.3.4. Refroidissement.....	12
II.3.5. Conditionnement et stockage.....	12
II.3.6. L'étiquetage.....	12
II.4. Le métabolisme fermentaire du lactose.....	15
II.5. Les ferments thermophiles du yaourt.....	15
II.5.1. L'espèce <i>Streptococcus salivarius</i> ssp. <i>thermophilus</i>	15
II.5.2. L'espèce <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i>	15
II.5.3. Relation entre les deux sous espèces	16
II.6. Accidents de fabrication	17
II.7. Caractéristiques nutritionnelle et thérapeutique du yaourt.....	19
II.7.1. Amélioration de l'absorption de lactose	19
II.7.2. Amélioration de la digestibilité des protéines.....	19
II.7.3. Activité antimicrobienne.....	19
II.7.4. Stimulation du système immunitaire	18
II.7.5. Action préventive contre les cancers de la sphère digestive.....	20
II.7.6. Action anticholestérolante	20

II. Matériel et Méthodes

II.1. Matériel.....	21
II.1.1. Le lait.....	21
II.1.2. Les ferments lactiques.....	21
II.1.3. Les souches indicatrices.....	21
II.1.4. Les disques d'antibiotiques.....	22
II.1.5. Milieux de culture.....	22
II.1.6. Produits chimiques et réactifs.....	22
II.1.7. Appareillage.....	22
II.2. Méthodes.....	23
II.2.1. Préparation des ferments.....	23
II.2.1.1. Revivification et contrôle de la pureté des ferments.....	23
II.2.1.2. Examen microscopique.....	23
II.2.1.3. Obtention d'un ferment industriel.....	23
II.2.2. Courbe de croissance des ferments thermophiles locaux et industriels.....	23
II.2.3. Etude des aptitudes technologiques des ferments thermophiles locaux industriels.....	23
II.2.3.1. Aptitude acidifiante.....	23
II.2.3.2. Aptitude protéolytique.....	24
II.2.3.3. Aptitude lipolytique.....	25
II.2.3.4. Aptitude texturant.....	25
II.2.3.5. Aptitude aromatisant.....	26
II.2.3.6. Etude des aptitudes antagonisme et effets de surnageant.....	26
II.2.3.7. Résistance aux antibiotiques.....	26
II.2.4. Fabrication d'un yaourt étuvé nature et évaluation de sa qualité.....	27
II.2.4.1. Technologie de fabrication.....	27
II.2.4.2. Contrôle de la qualité des yaourts fabriqués.....	30
a. Mesure de l'acidité titrable et le nombre de cellules viables au cours de la	

Fabrication	30
b. Contrôle des paramètres physicochimiques	30
c. Contrôle microbiologique	32
d. Analyse sensorielle	33
II.2.5. Traitement statistique.....	33

III. Résultats et Discussion

III.1. Préparation des ferments	34
III.1.1. Revivification et confirmation de la pureté	34
III.1.2. Examen microscopique	34
III.1.3. Courbe de croissance des ferments	34
III.1.3.1. Mesure de la viabilité.....	34
III.2. Aptitudes technologiques des ferments thermophiles locaux et du ferment industriel	35
III.2.1. Pouvoir acidifiant	35
III.2.2. Pouvoir protéolytique	37
III.2.2.1. La protéolyse sur le milieu YMA	38
III.2.2.2. La protéolyse sur le bouillon nutritif	38
III.2.2.3. La protéolyse sur le milieu Agar au lait.....	39
III.2.3. Pouvoir lipolytique.....	39
III.2.4. Pouvoir texturant.....	40
III.2.4.1. Détection des colonies larges et gluantes sur gélose hypersaccharosé	40
III.2.4.2. Confirmation de production des EPS sur milieu hyper saccharose.....	41
III.2.4.3. Quantification des EPS	42
III.2.5. Pouvoir aromatisant.....	43
III.2.6. Pouvoir antibactérien.....	44
III.2.7. Résistance aux antibiotiques	48
III.3. Fabrication du yaourt	49
III.3.1. Le produit fini	49

III.3.1.1. Acidité titrable et nombre de cellules viables au cours de la fabrication.....	50
III.3.2. Qualité physico-chimique du yaourt élaboré.....	51
III.3.2.1. pH et acidité	51
III.3.2.2. Indice de synérèse des yaourts	53
III.3.2.3. Humidité et Matière sèche	53
III.3.2.4. Matière minérale et organique.....	55
III.3.2.5. Matière grasse.....	57
III.3.2.6. Matière protéique.....	58
III.3.3. Qualité microbiologique	58
III.3.4. Analyse organoleptique	59
Conclusion.....	62
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des Tableaux

Tableau 01 : Défauts de gout des yaourts.....	17
Tableau 03 : Défauts d'apparence des yaourts	18
Tableau 04 : La recette d'un yaourt étuvé nature sucré.....	27
Tableau 05 : Activité protéolytique des ferments F1, I1, I2 et S sur le milieu YMA.....	38
Tableau 06 : Activité protéolytique des ferments F1, I1, I2 et S sur milieu Agar au lait.....	39
Tableau 07 : Evaluation de l'activité lipolytique sur la gélose au triglycéride.....	39
Tableau 08 : Production d'exo polysaccharides par les ferments F1, I1, I2 et S.....	41
Tableau 09 : Quantité du glucose libérée par les ferments F1, I1, I2 et S.....	42
Tableau 10 : Résultats de l'activité antagonistique des ferments F1, I1, I2 et S	44
Tableau 11 : Activité inhibitrice des surnageant natifs	45
Tableau 12 : Activité inhibitrice des surnageant neutralisé.....	46
Tableau 13 : Activité de surnageant traité par les protéases.....	47
Tableau 14 : Résultats de la résistance et la sensibilité aux antibiotiques.....	48
Tableau 15 : Evolution du nombre de cellules viables au cours de la fabrication du yaourt	50
Tableau 16 : Résultat de pH et d'acidité dornic des yaourts	51
Tableau 17 : Indice de synérèse des yaourts.....	53
Tableau 18 : La fraction azotée des yaourts	58
Tableau 19 : Les résultats de l'analyse microbiologique des yaourts durant la conservation.....	58
Tableau 20 : Résultats du test de dégustation	60

Liste des Figures

Figure 01 : Voies homofermentaire et hétérofermentaire simplifiées des bactéries	05
Figure 02 : Diagramme de fabrication du yaourt brassé et ferme.....	14
Figure 03 : Schéma des interactions métabolique de <i>St. thermophilus</i> et <i>Lb. bulgaricus</i>	16
Figure 04 : Diagramme de fabrication du yaourt étuvé type nature sucré.....	28
Figure 05 : Evolution du nombre des cellules viables des ferments	35
Figure 06 : Production d'acide lactique par les ferments	36
Figure 07 : Evolution de l'acidité des deux yaourts au cours de la fermentation	50
Figure 08 : Evolution du nombre de cellules viables des ferments au cours de la fermentation	51
Figure 09 : Evolution du pH des yaourts	52
Figure 10 : Acidité dornic (°D) des yaourts.....	53
Figure 11 : Teneur en matière sèche des yaourts	54
Figure 12 : Teneur en eau des yaourts.....	55
Figure 13 : Teneur en matière minérale des yaourts.....	56
Figure 14 : Teneur en matière organique des yaourts.....	57
Figure 15 : Teneur en matière grasse des yaourts.....	57

Liste des Photos

Photo 01 : Aspect microscopique des cellules de <i>St. thermophilus</i>	15
Photo 02 : Aspect microscopique des cellules de <i>Lb. bulgaricus</i>	15
Photo 03 : Préparation du lait	29
Photo 04 : Ensemencement du lait par les ferments lactiques	29
Photo 05 : Etuvage des pots de yaourt	29
Photo 06 : Revivification sur bouillon MRS	34
Photo 07 : Purification sur gélose MRS	34
Photo 08 : Examen microscopique des ferments	34
Photo 09 : Aspect du gel formé après 24h	37
Photo 10 : Activité protéolytique des ferments F1, I1, I2 et S Sur le bouillon nutritif.....	39
Photo 11 : Zones de protéolyse sur milieu Agar au lait.....	40
Photo 12 : Résultat de l'activité lipolytique sur gélose au triglycéride	37
Photo 13 : Aspect des colonies des ferments F1, I1, I2 et S sur milieu hypersaccharosé.....	41
Photo 14 : Production des EPS par les ferments F1, I1, I2	42
Photo 15 : Résultat de l'activité aromatique des ferments F1, I1, I2 et S.....	43
Photo 16 : Activité inhibitrice des ferments F1, I1, I2 et S.....	44
Photo 17 : Activité inhibitrice de surnageant natif sur <i>S.aureus</i> et <i>B. subtilus</i>	46
Photo 18 : Activité inhibitrice du surnageant neutralisé sur <i>B. subtilus</i>	47
Photo 19 : Activité inhibitrice de surnageant traité par les protéases sur <i>B. subtilus</i> et <i>S.aureus</i>	48
Photo 20 : Aspect du yaourt fabriqué.....	49
Photo 21 : Yaourt YFL	59
Photo 22 : Yaourt YFI.....	59
Photo 23 : Aspect de la surface du yaourt YFL	61
Photo 24 : Aspect de la surface du yaourt YFL	61

Liste des Abréviations

°D : Degré dornic

DO : Densité Optique

EPS : Exopolysaccharides

FIL : Fédération International laitière

OGA : Gélose glucose à l'oxytétracyclique

YMA : Yeast milk agar

qsp : Quantité suffisante pour

U : unité

V/V : Volume par Volume

VRBL : Gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre.

YFL : yaourt a base du ferment locale

YFI : yaourt a base du ferment industriel

MRS: Man Rogosa et Sharp

Lb. Lactobacillus

St. Streptococcus

G+C: Guanine+Cytosine

ssp: Sous espèce

rpm : Rotation par minute

ATCC : American Type Culture Collection

Les bactéries lactiques sont très étudiées et révèlent des propriétés surprenantes en technologie agroalimentaire. Récemment, l'utilisation des nouveaux starters « ferments » d'un grand intérêt industriel et nutritionnel a été mise au point. Ces ferments lactiques étaient constitués d'un mélange inconnu, non maîtrisé et variable, de plusieurs souches ou espèces de bactéries. Ils provenaient d'une fermentation naturelle dans le produit considéré. Une partie de ce produit fermenté était conservée, pour ensuite être utilisée pour ensemencer les fermentations ultérieures. Actuellement, la production de ferments lactiques s'est développée au sein d'usines spécialisées, à partir de souches bactériennes isolées et sélectionnées (Béal et al., 2008).

Avec les progrès technologiques réalisés, le yaourt apparaît comme un produit laitier très digeste qui possède une grande valeur nutritionnelle et qui est apprécié pour son goût et sa texture. C'est un produit, consommé la plupart du temps comme dessert, très prisé de part le monde, car il convient à toutes les tranches d'âge et même chez les sujets intolérants au lait (Boubchir, 2011).

La transformation du lait au yaourt s'accompagne de la mise en place d'une structure complexe et d'un changement important des propriétés rhéologiques en passant d'un liquide Newtonien à un gel viscoélastique à destruction non réversible. Les additifs et les étapes du procédé de fabrication jouent un rôle majeur sur la qualité du yaourt qui sera apprécié par le consommateur (Paci Kora, 2004).

L'industrie laitière Algérienne se distingue par un marché à potentiel de croissance élevé. La demande sans cesse grandissante en lait et produits dérivés (fromages, yaourt, ...) se justifie par la forte démographie, l'urbanisation et l'amélioration du pouvoir d'achat de la population (Boubchir, 2011).

Mais, nous disposons d'un potentiel énorme en matière de bactéries lactiques autochtones, mais leurs potentiels technologiques sont jusqu'à présent méconnus. De plus, nous constatons qu'en Algérie peu de données relatives aux potentiels technologiques des ferments thermophiles destinés à la fabrication des yaourts subsistent. Ainsi, nous nous sommes intéressés à prendre en charge ce volet scientifique afin de contribuer à l'apport de renseignements pratiques à ce sujet.

Alors, à travers cette étude, nous allons essayer de répondre aux questions suivantes : nos ferments thermophiles locaux sont-ils aptes à servir comme starter en yaourterie ? Et par conséquent, est-ce qu'ils peuvent donner des produits de bonne qualité qui permettent de concurrencer les ferments industriels mis sur le marché ?

Notre manuscrit est structuré en trois parties, la première partie, sera consacrée à une synthèse bibliographique, qui portera sur les connaissances actuelles des bactéries lactiques, des ferments lactiques, ainsi que sur les yaourts. La seconde partie du manuscrit présente le matériel et les méthodes mises en œuvre dans le cadre de la réalisation de ce travail, ou seront détaillés les procédés d'évaluation et de contrôle des aptitudes technologiques des ferments thermophiles locaux et ceux du ferment industriel. L'essai de fabrication d'un yaourt étuvé en utilisant les ferments locaux et l'évaluation de sa qualité seront également présentés. Les résultats obtenus au cours de cette étude seront ensuite exposés dans la troisième partie et seront discutés.

Chapitre I : Bactéries Lactiques et Ferments

I.1. Les bactéries lactiques

I.1.1. Présentation des bactéries lactiques

Décrites pour la première fois par Orla- Jensen au début du XX^e siècle, les bactéries lactiques constituent un groupe hétérogène, qui n'est pas clairement défini du point de vue taxonomique. Elles rassemblent en effet un certain nombre de genres qui se caractérisent par la production, liée à un métabolisme exclusivement fermentaire, de quantités importantes d'acide lactique à partir des sucres (Leveau et Bouix, 1993 ; Pilet *et al.*, 2005).

I.1.2. Principales caractéristiques des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont des micro-organismes de catégorie alimentaire qui jouent un rôle essentiel dans la fermentation des matières premières animales et végétales, elles présentent plusieurs propriétés en commun (Dieng, 2001 ; Hogg, 2005 ; Ouadghiri, 2009) :

- Ce sont des bactéries Gram positif, généralement immobiles, jamais sporulées, catalase négatives, oxydase négative, généralement nitrate réductase négative ;
- Ce sont des cocci ou des bâtonnets, elles synthétisent leur ATP grâce à la fermentation lactique des glucides ;
- Leur ADN présente un pourcentage de G+C comprise entre 30 et 60% et une taille de génome comprise entre 1.8 et 3.3 Mpb ;
- Abaisser le pH en transformant le lactose en acide lactique ou en acide lactique, acide acétique, éthanol et CO₂. Cette acidification intervient comme facteur de la coagulation du lait et de la synérèse des caillés ;
- Seul l'abaissement du pH sera souvent utilisable comme facteur sélectif, ces bactéries tolèrent en effet des pH acides (pH = 5 parfois moins) ;
- Leur capacité de biosynthèse est faible, ce qui explique leur exigence nutritionnelle complexe pour divers acides aminés, les bases nucléiques, les peptides, les sels, les vitamines, les acides gras et les glucides fermentescibles.

I.1.3. Origine et habitat des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques ont été retrouvées dans des sédiments datant de 2,75 milliards d'années bien avant l'apparition d'oxygène dans l'atmosphère, ce qui pourrait expliquer leurs caractères anaérobies. De plus, des études sur la phylogénie bactérienne mentionnent leur apparition avant celle des cyanobactéries. Les bactéries lactiques sont ubiquistes, elles sont retrouvées dans différents niches écologiques comme le lait et les produits laitiers, les végétaux, la viande, les poissons, elles sont présentées à l'état libre dans l'environnement, dans un écosystème bactérien comme les muqueuses humaines et animales, le tractus gastro-intestinal ou génital des mammifères, ce qui explique leur température de croissance hétérogène (Quiberoni *et al.*, 2001 ; Makhloufi, 2011).

I.1.4. Les principaux genres des bactéries lactiques

I.1.4.1. Le genre *Lactobacillus*

Lactobacillus représente le genre principal de la famille des *Lactobacillaceae*, il contient de nombreuses espèces qui sont des agents de fermentation lactique. Il s'agit de bacilles longs et

fins (parfois incurvés) souvent groupés en paire ou en chaînes, immobiles, asporulés, catalase négative, se développent à un optimum de température situé entre 30 et 40°C. Les lactobacilles ont des exigences nutritionnelles très complexes en acides aminés, en vitamines, en acides gras, en nucléotides, en glucides et en minéraux. La taille du génome des *Lactobacillus* est comprise entre 1,9 - 3,3 Mb (Prescott et al., 2001; Madigan et Martinko, 2007).

Le genre *Lactobacillus* a été subdivisé par Orla- Jensen en trois groupes et cette classification est encore utilisée en milieu industriel (Tamime, 2002 ; Guiraud et Rosec, 2004) :

- **Groupe I « *Thermobacterium* »** : comprend les lactobacilles homofermentaires thermophiles qui se développent à 45°C mais pas à 15°C. Les espèces les plus fréquentes dans l'alimentation (lait, yaourt, fromage) sont *Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii*, *Lb. acidophilus*.
- **Groupe II « *Streptobacterium* »** : regroupe les lactobacilles homofermentaires mésophiles et peuvent être occasionnellement hétérofermentaires en fonction du substrat. Les espèces les plus fréquentes dans l'alimentation sont *Lb. casei*, *Lb. curvatus*, *Lb. sake* et *Lb. plantarum*.
- **Groupe III « *Betabacterium* »** : ce sont des lactobacilles hétérofermentaires. Il comporte les espèces *Lb. fermentum*, *Lb. brevis* et *Lb. sanfransisco*.

I.1.4.2. Le genre *Streptococcus*

Ce genre est généralement divisé en trois groupes : pyogène (la plus part des espèces pathogènes et hémolytiques), oral (tel que *St. salivarius*, *St. bovis*) et les autres streptocoques. La seule espèce de streptocoques qui soit utilisée en technologie alimentaire est *Streptococcus thermophilus* qui a été incluse dans le groupe des « autres streptocoques », mais ensuite transféré au groupe des streptocoques oraux à cause de leur degré d'homologie avec l'ADN de *Streptococcus salivarius* (Scheilfer, 1987 ; Stiles et Holzapfel, 1997).

I.1.4.3. Le genre *Lactococcus*

Le genre *Lactococcus* représente les streptocoques dits « lactiques », car ils sont associés à de nombreuses fermentations alimentaires et ne possèdent aucun caractère pathogène. Les produits végétaux constituent leur réservoir principal, mais aussi le lait et les produits laitiers. Ils se présentent sous forme de coques en paires ou en chaînes de longueur variable. Anaérobies facultatives, homofermentaires ne produisant que de l'acide lactique L(+), seul *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis* produit le diacétyl. Leur température optimale de croissance est proche de 30°C, capable de se développer à 10°C mais pas à 45°C (Tamime, 2002 ; Pilet et al., 2005).

Actuellement, le genre *Lactococcus* comprend cinq espèces, *Lactococcus lactis* est l'espèce la plus connue avec ses trois sous - espèces : *Lc. lactis* ssp. *lactis*, *Lc. lactis* ssp. *cremoris* et *Lc. lactis* ssp. *hordniae* (Pot, 2008).

I.1.4.4. Le genre *Enterococcus*

Ce genre regroupe les streptocoques fécaux. Ce sont des commensaux de l'intestin. Les espèces rencontrées dans l'alimentation sont essentiellement *En. faecalis* et les espèces proches. Les entérocoques sont des coques qui peuvent être mobiles, homofermentaires, généralement

différenciés par la fermentation de l'arabinose et le sorbitol, ils croissent entre 10°C et 45° C (Tamime, 2002).

I.1.4.5. Les genres *Leuconostoc*, *Oenococcus* et *Weissella*

Ils ressemblent à des coques lenticulaires en paires ou en chainettes mésophiles, qui possèdent un caractère hétérofermentaire marqué, avec production d'acide lactique (isomère D), de CO₂ et d'éthanol. Les caractéristiques telles que l'hydrolyse de l'esculine, la formation de dextrans, les conditions de croissance, la capacité à croître à différents pH et température, l'assimilation de citrate et/ou malate permettent la différenciation entre les genres *Leuconostoc* et *Weissella* (Pilet et al., 1998 ; Ho et al., 2007).

Actuellement, le genre *Leuconostoc* comprend quatorze espèces, ils sont également anaérobies facultatifs et exigeants au point de vue nutritionnel et leur croissance est toujours lente. Le développement des *Leuconostoc* entraîne souvent l'apparition d'une viscosité dans le milieu grâce à la production des exopolysaccharides. Les *Leuconostoc* principalement *Ln. mesenteroides* ssp. *cremoris* et *Ln. lactis* sont utilisés en association avec les lactocoques dans l'industrie laitière pour produire en plus de l'acide lactique et le CO₂, des substances aromatiques telles que le diacétyle et l'acétoïne à partir des citrates du lait (Hassan et Frank, 2001 ; Guiraud, 2003 ; Ogier et al., 2008).

I.1.4.6. Le genre *Bifidobacterium*

Le genre *Bifidobacterium* est considéré comme faisant partie du groupe des bactéries lactiques grâce à la similarité de ses propriétés physiologiques et biochimiques et à sa présence dans le même habitat écologique, tel que le tube gastro-intestinal. Des bactéries Gram positif. Les bifidobactéries se caractérisent par leur forme très irrégulière souvent en forme V mais pouvant être coccoïdes, la présence d'une enzyme, le fructose - 6- phosphate phosphocétolase, leur permet de fermenter les hexoses en produisant de l'acide acétique et de l'acide lactique. Leur température de croissance varie de 36°C à 43°C (Pilet et al., 2005 ; Ho et al., 2007).

I.1.5. Principales voies fermentaires des bactéries lactiques

I.1.5.1. Voie homofermentaire ou EMP

La voie homofermentaire, qui emprunte la glycolyse dans sa totalité, est généralement associée aux bactéries des genres *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, ainsi que certains lactobacilles. Cette voie conduit dans des conditions optimales de croissance à la production de deux molécules de lactate et deux molécules d'ATP par molécule de glucose consommée. la fructose - 1,6- biphosphate aldolase (FBA) est une enzyme clé indispensable au fonctionnement de la voie

I.1.5.2. Voie hétérofermentaire ou voie des pentoses phosphate

Les bactéries lactiques qui fermentent le glucose en produisant, en plus de l'acide lactique, de l'acétate, de l'éthanol et du CO₂ sont dites hétérofermentaires. Les groupes principaux de bactéries présentant ce type de métabolisme sont les *Leuconostoc* et certains lactobacilles. Ces microorganismes sont dépourvus d'une FBA et le système de transport PTS (Monnet et al., 2008).

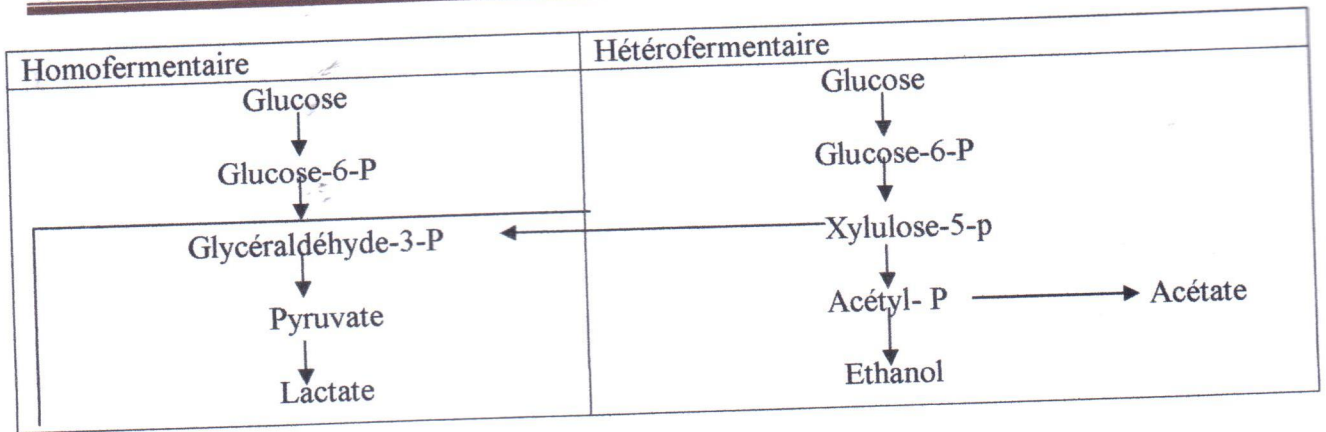


Figure 01 : Voies homofermentaire et hétérofermentaire simplifiées des bactéries lactique (Monnet et al., 2008).

I.1.6. Les cultures mixtes de bactéries lactiques

Lors de l'élaboration des produits fermentés, les bactéries lactiques sont très souvent associées, soit entre elles, soit avec d'autres micro-organismes (bactéries non lactiques, levures ou moisissures) formant ainsi des cultures mixtes. Ces cultures mixtes sont souvent très complexes et plus ou moins bien maîtrisées selon l'application considérée. Elles se caractérisent par l'équilibre variable selon le nombre et la nature des souches considérées, l'état d'avancement de la culture, le procédé considéré et les conditions d'environnement (Monnet et al., 2008).

I.1.6.1. Type d'interactions entre les bactéries lactiques

L'association de plusieurs souches ou espèces de micro-organismes n'est jamais un phénomène simple, les interactions peuvent être classées selon leurs caractères (Monnet et al., 2008):

- Direct, quand un contact physique est nécessaire entre les deux populations ;
- Indirect, lorsque l'interaction se fait par l'intermédiaire d'une substance produite ou dégradée, en absence de tout contact physique.
- Positif, indiquant une stimulation d'un micro-organisme par l'autre ;
- négatif, caractérisant le ralentissement ou l'inhibition d'un micro-organisme par l'autre.

I.1.7. Applications industrielles des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont largement utilisées dans les procédés de fermentation agro industrielles et présentent une parfaite innocuité. Leur application dans l'industrie laitière à plusieurs objectifs, que l'on peut, sans exhaustif, résumer comme suit (Corrieu et Luquet, 2008) :

- Production d'acide lactique à partir du lactose, ce qui entraîne une acidification qui, selon le produit considéré, a de nombreuses répercussions : coagulation du lait, synérèse des caillés fromagers, saveur acide, inhibition des flores d'altération ;
- Génération d'un large éventail de composés d'arômes qui contribuent à l'établissement des propriétés organoleptiques ;
- Production d'exopolysaccharides qui agissent comme des agents de texture et sont particulièrement recherchés dans certains lait fermentés ;
- Production de CO₂ contribuant à la formation d'ouvertures dans les fromages et au caractère pétillant des laits fermentés.

Les bactéries lactiques sont également utilisées dans l'industrie chimique (production d'acide lactique), dans le domaine médical (notamment pour le traitement de dysfonctionnements intestinaux) et dans l'industrie des additifs alimentaires (production d'exopolysaccharides). Elles sont aussi utilisées pour la production de bactériocines et des protéines thérapeutiques (Rodriguez et al., 2003).

I.2. Les ferments lactiques

Les ferments lactiques sont des cultures pures en proportion définies de différentes bactéries lactiques, qui en se multipliant dans le lait et dans les fromages, assurent deux fonctions essentielles : abaisser le pH du milieu en transformant le lactose en acide lactique, cette acidification intervient comme facteur de coagulation de lait, et contribuer aux caractères organoleptiques des produits (Gagnon, 2006).

I.2.1. Types des ferments lactiques

Les ferments lactiques peuvent être classés selon la composition et la température de croissance (Carminati et al., 2010).

I.2.1.1. Classification selon la composition

Selon la fédération internationale de laiterie (1997), les ferments lactiques peuvent être classés en trois catégories (Wouters et al., 2002 ; Monnet et al., 2008) :

- **Les ferments purs** : constitués d'une souche d'une seule espèce bien caractérisée c'est - à dire une culture provenant en principe d'une seule cellule bactérienne.
- **Les ferments mixtes** : ils sont formés d'un mélange de souches en nombre et en proportions indéfinis, ces souches appartiennent aux différents types lysotypiques et ont donc, en général, une bonne activité acidifiante.
- **Les ferments mixtes sélectionnés** : contiennent plusieurs souches bien définies, issues d'une ou de plusieurs espèces et les proportions entre les souches sont connues et définies selon le cahier des charges de l'utilisateur.

I.2.1.2. Classification selon la température de croissance

Les ferments lactiques sont, selon les productions industrielles à réaliser, des ferments mésophiles et des ferments thermophiles (Wouters et al., 2002 ; Domenico et al., 2010).

a. Les ferments mésophiles : Les bactéries de ce groupe ont une température optimale de croissance qui varie selon les souches entre 25°C et 30°C et peuvent atteindre une température maximale de fermentation de 38°C à 40°C. Ils sont constitués essentiellement des sous espèces : (*Lactis, cremoris*) et des espèces aromatisantes (*Lc. lactis* ssp. *lactis biovar. diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremoris*). Les ferments mésophiles sont habituellement utilisés dans la fabrication de plusieurs variétés de fromages, en particulier les fromages frais, de certains laits fermentés et du beurre (Chamba, 2008; Carminati et al., 2010).

b. Les ferments thermophiles : Ils comprennent les lactobacilles, les bifidobactéries et l'espèce *Streptococcus thermophilus*. Leur température optimale de croissance se situe entre 40°C et 50°C. Les ferments thermophiles sont souvent utilisés pour la fabrication

des yaourts, certains laits fermentés et quelques fromages à pâte cuite tels que l'Emmental et le Gruyère (Mäyrä-Mäkinen et Bigret, 2004 ; Carminati et al., 2010). 1

I.2.2. Critères de sélection des ferments lactiques

La sélection des ferments lactiques s'appuie sur de nombreux critères afin de répondre à la fois aux spécifications demandées par l'utilisateur et aux contraintes imposées par le producteur. Selon le type de produit désiré, les caractéristiques des matières premières à transformer et la technologie appliquée. Ces critères relèvent éventuellement des fonctionnalités technologiques des souches, de leur *performance* et de leur *sécurité* (Gagnon, 2006 ; Béal et al., 2008) :

- L'étude de la cinétique d'acidification permet de déterminer si la souche convient au domaine d'application visé ;
- La connaissance de leur capacité à produire des arômes ;
- Leur performance et de leur sécurité (Absence des caractères pathogènes) ;
- Le taux de croissance et une concentration cellulaire élevée ;
- L'aptitude à la séparation de la biomasse et la capacité de résistance aux techniques de Conservation ;
- Tolérance aux inhibiteurs de croissance (antibiotiques, chlorure de sodium, saccharose, l'acidité, l'éthanol et la température élevée) ;
- La connaissance de la sensibilité phagique ;
- Comportement en présence d'oxygène ;
- Croissance à des températures non optimales ;
- Compatibilité avec d'autres souches ;
- Facilité d'emploi.

I.2.3. Aptitudes technologiques

I.2.3.1. Aptitude acidifiante

La production d'acide lactique est l'une des principales fonctions des bactéries lactiques en technologie laitière, car cet acide organique permet de concentrer et de conserver la matière sèche du lait, en intervenant comme coagulant et antimicrobien. L'importance de l'acide lactique durant la fabrication peut se résumer comme suit (Leory et al., 2002 ; Singh et al., 2006) :

- Il aide à déstabiliser les micelles de caséine, ce qui conduit à la formation du gel ;
- Il donne au produit son goût distinct, comme il contribue à la saveur et l'aromatisation ;
- Il intervient comme inhibiteur vis-à-vis des micro-organismes indésirables.

I.2.3.2. Aptitude protéolytique

Pour assurer leur développement dans le lait, les ferments lactiques possèdent un système protéolytique capable de dégrader les caséines en acides aminés. Les lactobacilles sont très protéolytiques alors que le système protéolytique de *St. thermophilus* est plus limité que celui de la plupart des starters laitiers (Grattepanche, 2005 ; Harnett et al., 2011).

Le système protéolytique des bactéries lactiques est composé de protéases associées à la paroi cellulaire, qui catalysent l'hydrolyse de protéines en peptides. Ces peptides sont ensuite dégradés

par des endopeptidases ou exopeptidases en unités transportables d'acides aminés et de petits peptides (Rajagopal et Sandine, 2010).

I.2.3.3. Aptitude lipolytique

Les propriétés lipolytiques sont généralement faibles chez les bactéries lactiques, les lactocoques sont considérés comme plus lipolytiques que *Streptococcus thermophilus* et les lactobacilles. Elles peuvent cependant présenter un intérêt pour certaines applications fromagères (Béal et al., 2008).

D'une manière générale on distingue les estérases qui hydrolysent de façon préférentielle les esters formés avec les acides gras à chaîne courte (C2- C8) et les lipases qui sont actives sur des substrats émulsifiés contenant des acides gras à chaîne longue (>C8), ces enzymes sont impliquées dans l'hydrolyse de mono, di, et triglycérides (Béal et al., 2008 ; Serhan et al., 2009).

I.2.3.4. Aptitude aromatisante

Les bactéries lactiques sont capables de produire de nombreux composés aromatiques (tels que : l' α - acétolactate, l'acétaldéhyde, le diacétyl, l'acétoïne et 2,3- butanediol, l'éthanol, l'acétate, le formiate, ...etc.) Principalement à partir du lactose, du citrate, des acides aminés et des matières grasses. Cette fonctionnalité est particulièrement importante lors de l'élaboration des laits fermentés, des fromages frais, crèmes et beurre, dont l'arôme principal est lié à cette activité microbienne (Bourgeois et Larpent, 1996 ; Gerrit et al., 2005).

I.2.3.5. Aptitude texturante

La texture et l'onctuosité constituent, pour le consommateur, d'importants éléments d'appréciation de la qualité du yaourt. Certaines souches bactériennes produisent, à partir du glucose, des polysaccharides qui sont constitués de longues chaînes d'unités répétitives de sucres simple et /ou de dérivés de glucides plus ou moins ramifiées (Leroy et De Vuyst, 2004).

L'utilisation de ces bactéries produisant les EPS augmente la résistance du coagulat de yaourt aux chocs physiques et thermiques, et joue un rôle important en réalisant la fermeté satisfaisante et la viscosité apparente du yaourt. En effet, les EPS ont l'avantage d'être « naturels », requis en faible concentration (de l'ordre de mg/L) et de pouvoir remplacer les agents stabilisants par leurs propriétés de modifier positivement la texture, la viscosité et la sensation en bouche des laits fermentés (Ho et al., 2007).

I.2.3.6. Activité antimicrobienne

Les bactéries lactiques produisent une variété de composés antimicrobiens qui sont utilisés dans la fermentation et la bioconservation des aliments. Les acides organiques, comme l'acide lactique, l'acide acétique ou l'acide propionique, élaborés lors de la fermentation des glucides, peuvent inhiber des levures, des moisissures et des bactéries. Le peroxyde d'hydrogène produit par les bactéries lactiques s'accumule dans l'environnement et peut inhiber certains microorganismes. Les bactéries lactiques hétérofermentaires synthétisent du dioxyde de carbone comme métabolite secondaire. Son accumulation dans le milieu extérieur crée une anaérobiose qui s'avère toxique pour certains microorganismes aérobies présents dans l'aliment. Le diacétyl peut inhiber la croissance des bactéries à Gram négatif, des levures et moisissures (Labioui et al., 2005 ; Ammor et al., 2006 ; Abbara, 2012).

I.2.3.7. Production d'autres métabolites d'intérêt

a. La production du peroxyde d'hydrogène : Ces molécules peuvent agir sur les protéines (inactivation des enzymes cytoplasmiques), les lipides membranaires (augmentation de la perméabilité membranaire) et les acides nucléiques (induction de mutations de l'ADN) (Rousseau, 2004).

b. La production des bactériocines : Les bactériocines sont des produits protéiques de synthèse ribosomique bactériens, modifiés ou non, qui sont sécrétés à l'extérieur de la cellule, ce sont des substances antimicrobiennes de poids moléculaire variable. Elles ont un spectre d'action bactéricide restreint, caractérisé par l'inclusion d'au moins quelques souches semblables à la bactérie productrice et contre lesquelles, celle-ci a un mécanisme de protection spécifique (Jack *et al.*, 1995).

Le mode d'action est réalisé en deux étapes. La première est une étape d'adsorption de la bactériocine, à des récepteurs spécifiques ou non, sur la surface de la cellule grâce à son caractère hydrophobe marqué. La seconde étape est la formation de pores causée par un enchaînement de réaction qui altère la perméabilité membranaire. Ce phénomène entraîne alors une perturbation du transport membranaire et une dissipation de la force ionique inhibant ainsi la production d'énergie et la biosynthèse des protéines ou des acides nucléiques. Cela conduit à la mort de la cellule

Un grand nombre de ces substances ont été signalés à être produits par les lactobacilles, inhibant une large gamme de bactéries Gram-positif et négatif ainsi que les champignons (Lelay, 2009).

I.2.4. Conservation des ferments lactiques

Les levains peuvent être conservés (Bourgeois et Larpent, 1996 ; Streit, 2008):

- **A l'état liquide** dans du lait sec reconstitué qui, après incubation et inoculation à 30°C pendant 16-18h ou à 42°C pendant 3-4h, est conservé à une température inférieure à 10°C ;
- **A l'état sec**, après une lyophilisation qui nécessite l'emploi d'agent protecteurs, tels que le lait écrémé et le lactose ;
- **A l'état congelé**, à -40°C avec éventuellement un cryoprotecteur comme le glycérol ou à -196°C, dans l'azote liquide ces dernière nécessitent une attention spéciale par rapport au maintien de la chaîne du froid lors de leur transport et leur stockage. Il est aussi préconisé que les bactéries congelées soient stockées à des températures inférieures à -45°C, afin d'assurer la stabilité de la qualité et de l'activité des ferments.

Chapitre II : Le yaourt

II.1. Définition de yaourt et réglementation

D'après le *codex alimentarius*, le yaourt est un produit laitier coagulé obtenue par fermentation lactique grâce à l'action de *Lactobacillus delbrueckii* sous-espèce *bulgaricus* (*Lb.bulgaricus*) et de *Streptococcus salivarius*, sous espèce *thermophilus* (*St. thermophilus*) à partir de lait frais ainsi que du lait pasteurisé (ou concentré, partiellement écrémé, enrichie en extrait sec) avec ou sans addition de substances.(lait en poudre, poudre de lait écrémé, les protéines lactosériques concentrées ou non, la caséine alimentaire...etc.). Les microorganismes du produit final doivent être viables et abondants. La quantité d'acide lactique libre ne doit pas être inférieure à 0,8g /100g lors de la vente au consommateur. Les critères pris en compte par le *codex alimentarius* et la FIL (la fédération internationale laitière) dans la réglementation du yaourt sont les suivants (Francois et Carrieu, 2008) :

- **Dénomination du produit** : elle varie selon les langues, mais les termes les plus utilisés sont «yoghurt» ou « yaourt ».
- **Types de produit** : ils sont définis souvent en fonction de leur teneur en matière grasse ou de l'adjonction éventuelle d'ingrédients (yoghourt partiellement écrémé ou maigre, yoghurt écrémé, le yoghurt sucré et le yoghurt nature).
- **Type de ferment utilisé** : selon la FIL, et de nombreux pays, la dénomination « yaourt » nécessite l'utilisation obligatoire et exclusive des deux ferments caractéristiques *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus*.
- **Quantité de ferment contenue dans le produit fini** : la FIL fixe la quantité de ferments vivants, égale à 10^7 bactéries par gramme rapportés à la partie lactée jusqu'à la date limite de consommation.

II.2. Différents types de yaourt

En fonction de la technologie de fabrication, les yaourts sont divisés en deux groupes (Luquet et Corrieu, 2005) :

- **Yaourts fermes**, dont la fermentation a lieu en pots. Ce sont généralement des yaourts nature ou aromatisés.
- **Yaourts brassés**, dont la fermentation a lieu en cuves avant le conditionnement. Ce sont généralement des yaourts brassés nature ou aux fruits.

II.3. Technologie de fabrication du yaourt

La fabrication des deux types de yaourts peut être réalisée soit à partir de lait entier, soit à partir de lait partiellement ou totalement écrémé (3,5% ; 1% ; 0,0%) (Mahaut et al., 2000). La figure 2 illustre le diagramme de fabrication des yaourts étuvé et ferme :

II.3.1. Préparation et standardisation du lait

Afin de répondre aux critères d'acceptabilité d'un yogourt, il est important d'obtenir Les propriétés physiques désirées telles une viscosité et une consistance satisfaisante. Plusieurs étapes sont impliquées afin d'atteindre les attributs recherchés. Notamment, on compte l'étape d'enrichissement du lait, ou plus précisément la standardisation du mélange laitier. La teneur en matière sèche est un facteur important, car elle conditionne la viscosité et la consistance du produit (Amiot et Ai, 2002).

Il est d'usage de réaliser une concentration (évaporation ou osmose inverse), ou d'ajouter des poudres de lait, dont la poudre de lait écrémé, laquelle est très répandue. Celle-ci, en plus des poudres de caséines, permet d'augmenter et d'ajuster le niveau de protéines du produit afin de contrer les variations saisonnières des composantes lactières qui sont observées dans l'industrie, et du même coup d'augmenter la viscosité du produit (Tamime et Robinson, 1999 ; Wu et al., 2009).

Les industriels effectuent notamment l'ajustement des teneurs en matière grasse, puisqu'elle a un effet sur l'onctuosité et la sensation de douceur en bouche, et contribue également à masquer l'acidité du produit. Généralement, l'augmentation de l'extrait sec se fait jusqu'à 14-16%, pour un lait gras ou partiellement écrémé, et 10-12% pour un lait écrémé (Vignola, 2002).

II.3.2. Homogénéisation et traitement thermique

L'étape d'homogénéisation force le lait à passer dans une tubulure sous haute pression. Par ce mécanisme, il est possible de réduire la taille des globules de gras, qui si non pourraient avoir tendance à s'agglomérer entre eux et/ou à remonter en surface du produit. Alors que la taille d'un globule varie entre 1 et 10 μ m. l'homogénéisation exercée permet de la réduire à moins de 2 μ m (Tamime et Robinson, 1999).

Le lait destiné à la fabrication de yaourt a toujours subit un traitement thermique. Les traitements thermiques courants sont de l'ordre de 85°C durant 30 minutes, ou encore de 90-95°C avec retenue allant de 5 à 10 minutes. Il a pour but de (Trachoo, 2002 ; Paci Kora, 2004) :

- Détruire tous les germes pathogènes et indésirables (bactéries, levures, moisissures) ;
- D'inactiver les γ -globulines et de nombreuses enzymes (phosphatase, peroxydase) ;
- Favoriser le développement de la flore lactique spécifique (*Streptococcus thermophilus*) par la formation d'acide formique qui est un facteur de croissance ;
- Le traitement thermique, par dénaturation des protéines solubles (80%), permet également d'accroître la rétention d'eau et d'améliorer la texture du yaourt et sa stabilité.

II.3.3. Fermentation et inoculation

Suite au traitement thermique du lait, la température du mélange est abaissée entre 40-45°C en vue d'y ensemer les bactéries lactiques thermophiles. La préparation de lait est inoculée avec deux souches bactériennes, *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, celle dernière doit faire a un taux assez élevé pour assurer une acidification correct : il varie selon la vitalité des cultures entre 1 et 7% et selon le rapport *streptocoque* / *lactobacille* de 1,2 à 2/1 pour les yaourts naturels et pouvant atteindre 10/1 pour les yaourts aux fruits (Tamime et Robinson, 1999; Hui et al., 2004).

Pour les yaourts fermes, le mélange lait/ferments est soutiré et l'acidification se fait en pots. Pour les yaourts brassés, le lait est acidifié en cuve. Dans les deux cas l'incubation réalisée à des températures entre 42 et 45°C dure entre 2h 30 min et 3h 30 min. L'objectif de cette phase est d'atteindre une acidité de 70-80°D dans le cas des yaourts étuvés et de 100-120°D dans le cas des yaourts brassés (Mahaut et al., 2000).

L'inoculation directe avec des ferments purs ou encore indirecte, qui implique le repiquage de ferments une ou plusieurs fois dans une base de lait, se situe entre 1 et 5% de la préparation (Sodini et al., 2004).

II.3.4. Refroidissement

Au terme de l'incubation, un refroidissement à une ou deux phases est effectué. Dans le cas d'un refroidissement à une phase, il y a abaissement rapide de la température à moins de 10°C. Ce processus, généralement entrepris en fabrication de yaourts fermes, est réalisé en transférant les pots dans une chambre réfrigérée, ou peut être accéléré par le passage dans un tunnel de refroidissement. Un refroidissement à deux phases est quant à lui plutôt adapté pour la production de yaourts brassés. Il requiert une diminution de la température à environ 20°C pour effectuer les étapes de brassage, de lissage, d'addition des fruits (s'il y a lieu) et de conditionnement en pots. Or, des liens seront rapidement reformés de façon à former un gel faible qui reprendra de la consistance durant les premiers jours d'entreposage. Un second stade de refroidissement inférieur à 10°C est effectué sur le produit afin de ralentir l'activité bactérienne des souches thermophiles et de contrôler le plus possible l'acidité du produit (Tamime et Robinson, 1999; Zoon, 2003).

II.3.5. Conditionnement et stockage

L'étape de conditionnement et de mise en pots étant la dernière avant la réfrigération, elle n'est pas à négliger puisqu'elle doit assurer la salubrité du produit jusqu'au moment de la consommation. Une stérilisation des pots, au moyen de différents procédés, est donc souvent effectuée. Finalement, le produit sera transporté aux différents points de vente, et ce toujours dans le souci de maintenir la chaîne de froid pour éviter toute altération du produit (Tamime et Robinson, 1999).

Deux types d'emballages sont utilisés : les pots en verre et les pots en plastique (thermoformage). L'ajout du sucre et des arômes se fait suite à l'ensemencement pour les yaourts fermes alors que l'addition de fruits se fait juste après le refroidissement pour les yaourts brassés. Le yaourt est stocké dans des chambres froides entre 2 et 6°C jusqu'à sa consommation (Simon et al., 1999).

II.3.6. L'étiquetage

Les mentions suivantes doivent être portées de manière apparente et lisible sur l'étiquette (J.O.R.A, 1998 ; Simon et al., 1999 ; SENEGAL/ISN, 2002) :

- La dénomination de vente: exemple: « yaourt » ou « yoghourt »;
- La contenance en centilitres ou indication de la masse nette;
- La mention « tenir au frais » ;
- Mention « conservé à... » suivi de l'indication de la température à respecter;

- Le numéro d'identification ainsi que le numéro d'immatriculation d'atelier de fabrication ;
- Le marquage de la date limite de consommation (clair et précis) sur Les récipients contenant le yaourt. Elle est de 3 semaines environ Après la fabrication ;
- La matière aromatique utilisée exemple: « arôme citron» pour le yaourt aromatisé ;
- Les colorants utilisés;
- «Sucre» s'il y a addition de sucre ;
- La proportion moyenne de fruits contenus dans le produit;
- Le conservateur contenu dans les fruits.

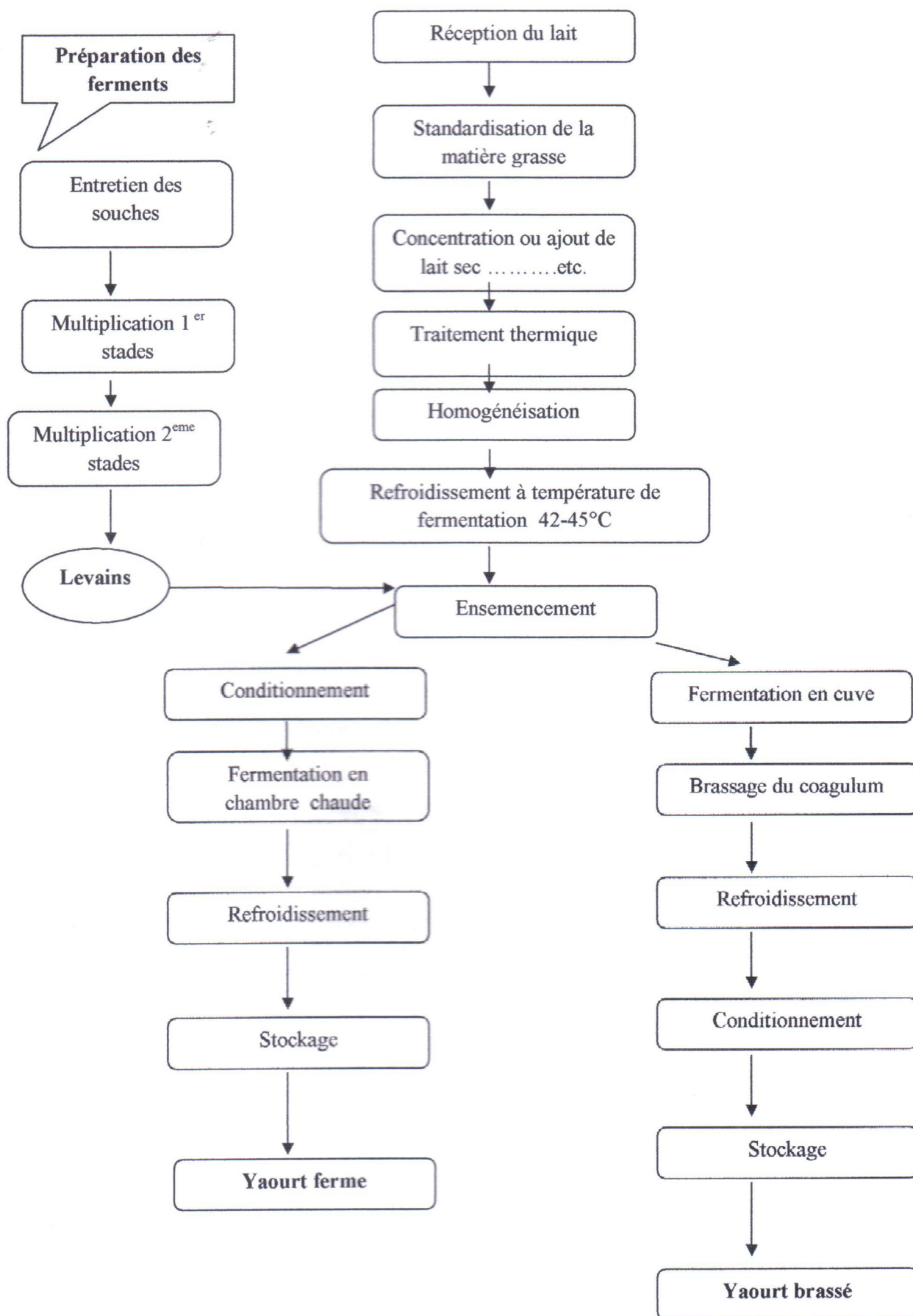


Figure 02: Diagramme de fabrication du yaourt brassé et ferme (Lee et Lucey, 2010).

II.4. Le métabolisme fermentaire du lactose

Dans le lait, l'énergie exigée pour la croissance de Streptocoques et pour celle de lactobailles est apportée par la fermentation du lactose en acide lactique : à la fin de la fermentation 20 à 30% du lactose ont été transformé en acide lactique, dans les conditions de la pratique industrielle de la fermentation, l'utilisation du lactose emprunte une seule voie métabolique ; il est hydrolysé par une β -D-galactosidase en D-glucose et β -D-galactose, le D-glucose est ensuite transformé suivant la voie glycolytique en acide pyruvique puis en acide lactique, alors que le galactose est excrété et s'accumule progressivement dans le lait, car il est rarement utilisé par les bactéries du yaourt. *Lb. bulgaricus* produit généralement l'acide lactique D(-) et *St. thermophilus* produit la forme L(+) (Hermier et Accolas, 1989 ; Ramesh et Chandan, 1989).

II.5. Les ferments thermophiles de yaourt

II.5.1. L'espèce *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*

Pendant plusieurs années, l'espèce *St. thermophilus* était classée comme une sous espèce de *St. salivarius* (*St. salivarius* ssp. *thermophilus*) est la seule espèce utilisée pour la préparation de produits alimentaires fermentés. La seule niche écologique de *St. thermophilus* connue est le lait, ou elle est isolée du lait pasteurisé, du matériel de laiterie et de levains artisanaux (Gagnon, 2006 ; Henry, 2011). C'est une bactérie homofermentaire, elle dégrade le lactose par une β -galactosidase, le galactose accumulé n'est pas utilisé. Certaines souches synthétisent des exopolysaccharides qui modifient la texture (Larpen, 1991 ; Harnett, 2011).

Le rôle principal de *St. thermophilus* est la fermentation du lactose du lait en acide lactique et en plus de son pouvoir acidifiant, elle est responsable de la texture dans les laits fermentés. Elle dégrade le lactose et le saccharose mais aussi le fructose et le glucose, donc elle augmente la viscosité du lait par production des polysaccharides (Bergamaier, 2002).



Photo 01: Aspect microscopique des cellules de *St. thermophilus* (Pilet et al., 2005)

II.5.2. L'espèce *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*

Lb. bulgaricus appartient au sous-genre *Thermobacterium* du genre *Lactobacillus*. *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* est d'une importance vitale pour l'industrie alimentaire, en particulier à l'industrie laitière. C'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 (Henry, 2011 ; Cui et al., 2012).



Photo 02 : Aspect microscopique des cellules de *Lb. bulgaricus* (pilet et al., 2005)

II.5.3. Relation entre les deux sous espèces

Les deux espèces microbiennes vivent en *symbiose*, et il existe une relation *synergie* entre les deux bactéries qui porte sur une stimulation mutuelle (selon la figure 03), Cette stimulation concerne principalement la croissance, l'acidification et la production de composé aromatique dont l'acétaldéhyde qui a un rôle prépondérant dans l'arome du yaourt et qui est principalement produit par *Lb. bulgaricus* (Mahaut et al., 2000).

St. thermophilus est stimulé par l'apport d'acides aminés et de petits peptides provenant de la protéolyse due à *Lb. bulgaricus*. La stimulation de *Lb. bulgaricus* est attribuée à l'acide formique, à l'acide pyruvique et au dioxyde de carbone produit par *St. thermophilus*. L'évolution des populations est généralement biphasique (Henry, 2011) :

- Croissance privilégiée de *St. thermophilus* qui sera stimulé par les lactobacilles ;
- Puis croissance de *Lb. bulgaricus* qui est beaucoup plus résistant au pH acide que *St. thermophilus*

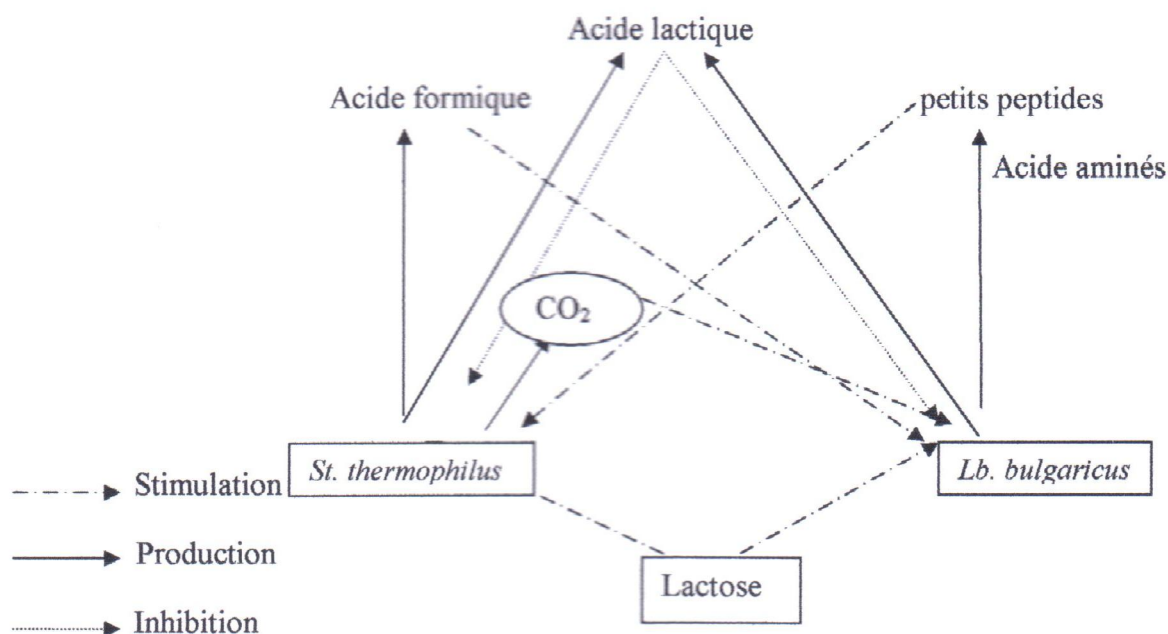


Figure 03: Schéma des interactions métaboliques de *St. thermophilus* et *Lb. bulgaricus* en culture mixte dans le lait (Mahaut et al., 2000).

Ces deux bactéries lactiques tolèrent des petites quantités d'oxygène. Ce ci peut être probablement relié au peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) qui est produit dans les cellules en présence d'air. Le système le plus efficace pour éliminer le peroxyde d'hydrogène est l'utilisation d'une enzyme, la catalase, dont les bactéries lactiques en sont déficientes, ces dernières possèdent plutôt une peroxydase (pseudo catalase) qui est moins efficace que la catalase. Comme les bactéries lactiques n'éliminent pas facilement le peroxyde, elles sont dites micro aérophile (Doleyres , 2003).

II.6. Accidents de fabrication

Ils sont regroupés en trois catégories : les défauts d'apparence, de texture et les défauts de goût. Ces défauts sont résumés dans les tableaux 01, 02, 03 (Luquet, 1985) :

Tableau 01 : Défauts de gout des yaourts

Nature	Causes
amertume	Trop longue conservation ; Activité protéolytique trop forte des ferments ; Contamination par des germes protéolytiques.
Goût levuré, fruité, alcool	Contamination par des moisissures ; Fruits de mauvaise qualité pour le yaourt au fruit.
Goût plat, absence d'arome	Mauvaise activité des levains (déséquilibre de la flore, incubation trop courte ou trop basse température), teneur en matière sèche trop faible.
Manque d'acidité	Mauvaise activité des levains (taux d'ensemencement trop faible, incubation trop courte ou à basse température, inhibiteur dans le lait, bactériophage).
Trop d'acidité	Mauvaise conduite de la fermentation (taux d'ensemencement trop forte, incubation trop longue ou à température trop élevé Refroidissement pas assez poussé, trop lent ; Conservation a trop haute température.
rancidité	Contamination par les germes lipolytiques et traitement thermique trop faible.
Goût farineux, de poudre	Poudrage trop poussé
Goût oxydé	Mauvaise protection contre la lumière (pots en verre surtout présence de métaux (fer, cuivre)
Goût de cuit	Traitement thermique trop sévère
Goût aigre	Mauvaise conduite des levains (contamination par une flore lactique sauvage, coliformes).
Goût gras	Teneur en matière grasse trop élevé.

Tableau 02 : Défauts de texture des yaourts

Nature	Causes
déculottage	Agitation ou vibration pendant le transport faisant suite à un refroidissement mal conduit en chambre froide (pour le yaourt ferme).
Manque de fermeté (pour yaourt étuvé)	Ensemencement trop faible ; mauvaise incubation (temps et /ou température trop faible) ; agitation avant complète coagulation ; matière sèche trop faible.
Trop liquide (pour yaourt brassé)	Brassage trop violent ; mauvaise incubation (temps trop faible) ; matière sèche trop faible ; mauvaise fermeté (pas assez épaississant) fruits ou arôme pas assez concentrés.
Trop filant	Mauvais ferments (trop filant) ; température d'incubation trop faible.
Texture sableuse	Chauffage du lait trop important ; à température trop élevée ; poudrage trop fort ; mauvais brassage ; acidification irrégulière et trop faible.
Texture granuleuse	Mauvais brassage ; teneur en matière grasse trop élevée ; mauvais choix des ferments.

Tableau 03 : Défauts d'apparence des yaourts

Nature	Causes
Décantation, synérèse	Suracidification ou post acidification (mauvaise conduite de la fermentation) ; Température trop élevée pendant le stockage ; Conservation trop longue ; Refroidissement trop faible ; Agitation trop poussée et admission exagérée d'air (pour le yaourt brassé) ; Mauvaise adjonction des fruits ou des pulpes des fruits ; Agitation des yaourts (yaourt ferme) ; Teneur en matière sèche trop faible.
Production des gaz	Contamination par des levures et des coliformes.
Colonies en surface	Contamination par des levures et des moisissures.
Couche de crème	Mauvaise ou absence d'homogénéisation
Produit sur le couvercle	Mauvaise manutention.
Produit non homogénéisé	Mauvaise agitation (dans le cas des yaourts aux

fruits).

II.7. Caractéristiques nutritionnelles et thérapeutiques du yaourt

Les yaourts au même titre que le lait, sont des aliments intéressants d'un point de vue nutritionnel (richesse en calcium et en vitamines, équilibre entre les fractions glucidiques, protéiques et lipidiques). En outre, ils présentent un certain nombre d'avantages par rapport au lait non transformé (Tamime et Robinson, 2001).

II.7.1. Amélioration de l'absorption de lactose

L'intolérance au lactose est due à l'absence de l'assimilation du lactose, le principal glucide du lait. Celle-ci est la conséquence d'un défaut de synthèse de la lactase, l'enzyme digestive de lactose. Cette anomalie provoque de nombreux troubles gastro-intestinaux chez les sujets sensibles. (Gobbetti *et al.*, 2004 ; Korhonen et Pihlanto, 2006).

De multiples travaux ont montré que la lactase véhiculée par certaines bactéries lactique participait dans l'intestin à la digestion du lactose. La lactase retrouvée dans les bactéries du yaourt a une membrane qui est très facilement attaquée par les acides biliaires (secrétés lors de la digestion). Ceci explique l'excellente digestion du lactose du yaourt (90%) (contenant les deux bactéries *Lb. bulgaricus* et *St. thermophilus*) chez les sujets pourtant déficients en lactose (Gobbetti *et al.*, 2004 ; Korhonen et Pihlanto, 2006).

II.7.2. Amélioration de la digestibilité des protéines

L'assimilation des protéines du lait est meilleure s'il est consommé sous forme de yaourt ou de lait fermenté. En effet, du fait de l'activité protéolytique des bactéries lactiques, les produits fermentés contiennent plus d'acides aminés libres que le lait avant la fermentation. De plus les protéines contenues dans ces produits sont plus digérées que celles du lait. Leur structure, plus ouverte après le traitement thermique et la coagulation, facilite l'action des enzymes protéolytiques pendant le transit intestinal (Singh *et al.*, 2006).

II.7.3. Activité antimicrobienne

L'inhibition des bactéries indésirables ou pathogènes par les probiotiques peut se faire de différentes façons. La production d'acides organiques (acides lactique ou acides acétique) à partir de glucides ingérés, en abaissant le pH, limite le développement des *Escherichia coli* et des salmonelles (Donkor *et al.*, 2007).

La baisse des coliformes dans le tube digestif serait due au pH très bas. Ce faible pH est obtenu grâce à l'apport de lait acidifié par de l'acide lactique. En milieu humide, les bactéries lactiques produisent ce peroxyde d'hydrogène, inhibiteurs de nombreuses souches bactériennes pathogènes, ce peroxyde d'hydrogène et l'acide lactique peuvent bloquer le développement de certaines espèces pathogènes tels que les virus (Vasiljevic et Shah, 2008).

II.7.4. Stimulation du système immunitaire

De nombreuses études réalisées chez l'animal ont montré que l'administration orale de divers probiotiques pouvait moduler certains composants de la barrière immunitaire au niveau muqueux et systémique. Quatre travaux ont montré que l'ingestion chez l'Homme de fortes quantités de

bactéries du yaourt augmentait la capacité des lymphocytes à sécréter diverses cytokines, notamment l'interféron gamma après stimulation (Trois et *al.*, 2008).

II.7.5. Action préventive contre les cancers de la sphère digestive

Les lactobacilles modifieraient les enzymes bactériennes à l'origine des carcinogènes (inducteur de cancers) dans le tube digestif, inhibant ainsi la formation de ces substances précancéreuses. Des brevets japonais protègent l'emploi d'extraits de bactéries lactique en thérapeutique anticancéreuse (Mahaut et *al.*, 2000).

II.7.6. Action anticholestéroliante

La consommation de yaourt permet de prévenir les maladies coronariennes et serait plus efficace que le lait pour maintenir une cholestérolémie basse. Ces différentes observations montrent que le yaourt possède des propriétés nutritionnelles et physiologiques particulièrement intéressantes (Mahaut et *al.*, 2000).

II. Matériel et Méthodes

L'intégralité de ce travail a été réalisée au niveau du Laboratoire de Microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, de l'Université de Jijel.

Les objectifs de cette étude s'articulent autour des points suivants :

- Etude des aptitudes technologiques des ferments thermophiles locaux et ceux d'un ferment thermophile industriel;
- Application de ces ferments dans la fabrication d'un yaourt au sein du laboratoire ;
- Evaluation de la qualité physicochimique, microbiologique et sensorielle du yaourt élaboré.

II.1. Matériel

Pour la réalisation des différentes parties expérimentales, on s'est servi du matériel suivant:

II.1.1. Le lait

Deux types de lait ont été utilisés lors de cette étude :

- Le lait écrémé en poudre (fourni par l'unité IGILAIT, Jijel) a été utilisé pour quelques tests biochimiques, pour l'étude du pouvoir acidifiant et protéolytique des ferments lactiques ainsi que pour la standardisation du lait destiné à la fabrication du yaourt.
- Le lait UHT partiellement écrémé (de marque CANDIA) pour la fabrication du yaourt au niveau du laboratoire.

II.1.2. Les ferments lactiques

Il s'agit de ferments lactiques thermophiles composés de souches lactiques locales. Ces souches ont été identifiées par les techniques de microbiologie classique couplées à un logiciel API LAB (Idoui, 2008) :

F1	<i>Streptococcus thermophilus</i> + <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>Bulgaricus</i>	Beurre traditionnel, beurre de brebis
I1	<i>Streptococcus salivarius</i> ssp. <i>thermophilus</i> + <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>Bulgaricus</i>	Beurre de brebis
I2	<i>Streptococcus thermophilus</i> + <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>Delbrueckii</i>	Beurre traditionnel, beurre de brebis

Le ferment industriel (codé S) a été isolé à partir d'un yaourt étuvé de marque SOUMMAM.

II.1.3. Les souches indicatrices

Nous nous sommes servi de sept souches indicatrices représentées par les espèces suivantes :

- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ;
- *Staphylococcus aureus* ATCC 29522 ;
- *Escherichia coli* ATCC 25922 ;

- *Klebsiella oxytoca* ;
- *Salmonella*. spp. ;
- *Bacillus subtilis* ;
- *Listeria monocytogenes*.

Ces souches nous ont été fournies par le laboratoire de recherche de l'université de Jijel.

II.1. 4. Les disques d'antibiotiques

Pour étudier le comportement des bactéries lactiques vis-à-vis des antibiotiques, quatre disques antibiotiques (Institut Pasteur d'Alger) ont été utilisés pour réaliser un antibiogramme sur milieu solide, il s'agit de l'Amoxicilline (A30 μ g), Colistine (C50 μ g), Acide Pipémidique (P50 μ g) et Céfotaxime (F30 μ g).

II.1.5. Milieux de culture

Plusieurs milieux de culture ont été utilisés au cours de cette étude expérimentale, il s'agit des milieux suivants :

- **Les géloses** : MRS (Man-Rogosa-Sharp), Mueller-Hinton, hypersaccharosé, gélose aux triglycérides, gélose Agar au lait, YMA, OGA, VRBL.
- **Les bouillons** : MRS, nutritif, hypersaccharosé, Giolitti Contoni.

II.1.6. Produits chimiques et réactifs

Les produits chimiques et réactifs utilisés au cours de cette étude sont les suivants :

- **Les acides et bases** : La soude dornic (N/9), la soude de NaOH à (1/N) et (3/N), acide borique (18M), acide sulfurique (0.1N) et (18.09M) ;
- **Les colorants** : Violet de Gentiane, fushine, phénolphtaléine à 1% ;
- **Les réactifs** : Réactifs de Tashiro, réactifs de Vogues Proskauer (VPI et VPII), réactif de Kovacks ;
- **Alcool et autres** : Ethanol, phénol, éthere, lugol, sulfate de cuivre, présure, trypsine, α amylase.

II.1.7. Appareillage

L'appareillage utilisé est le suivant :

- Agitateur électrique (Bunsen) et Vortex électrique (MS2 Minishaker).
- Autoclave (Shiavx Electronic) ;
- Bain marie (Memmert) ;
- Balance (Denver) et Balance analytique (Kernals 220.4N) ;
- Centrifugeuse électrique (Hettich) ;
- Compteur de colonies (Funk Gerber) ;
- Etuves (25°C, 37°C, 44°C) (Memmert) ;
- Four à moufle (Furnace) et Four Pasteur (Controls) ;
- Micropipettes (Microlit) ;
- Microscope optique (Motic) ;
- pH mètre (Hanna) ;
- Réfrigérateur (Condor) ;
- Spectrophotomètre (UV Shimadzu) ;

II.2.Méthodes

II.2.1.Préparation des ferments

II.2.1.1.Revivification et contrôle de la pureté des ferments

Les ferments ont été cultivés sur le bouillon MRS et incubés à 44°C pendant 24h à 48h. Le développement des bactéries se traduit par un trouble et une pastille blanche au fond de tube.

La pureté des souches a été vérifiée sur gélose MRS. Les boîtes de Pétri contenant la gélose MRS préalablement coulée et solidifiée ont étéensemencées par stries, l'incubation a été faite à 44°C pendant 24h, la souche est dite pure, si on obtient des colonies homogènes et blanche de même forme, même taille, et pour confirmer encore une fois la pureté des souches, on a réalisé une coloration de Gram .

II.2.1.2. Examen microscopique

Les techniques d'analyse microscopique ont un grand intérêt pour le contrôle des ferments. Plusieurs types d'examen directs peuvent être réalisés : soit une préparation entre lame et lamelle, observée en contraste de phase, soit une observation après coloration (coloration de Gram), (annexe 02).

Cette observation directe permet l'examen morphologique et structural des cellules afin de : distinguer les coques des bacilles, vérifier la pureté d'un ferment et détecter une contamination éventuelle par des micro-organismes morphologiquement différents et /ou par des bactéries Gram-négatif et le mode de regroupement, même réaliser des comptages (Béal et al., 2008).

II.2.1.3. Obtention d'un ferment industriel

L'isolement d'un ferment a été réalisé à partir d'un pot de yaourt étuvé de commerce. Des dilutions jusqu'à 10^{-4} ont été préparées dans de l'eau physiologique stérile. Ensuite, des stries à partir de la dilution 10^{-3} et 10^{-4} ont été réalisées sur gélose MRS préalablement coulée et solidifiée. L'incubation a été faite à 44°C pendant 48h. Les colonies obtenues ont été repiquées dans 10ml de lait écrémé stérile, et incubées à 44°C pendant 24h. Pour confirmer la pureté des souches, une coloration de Gram a été réalisée.

II.2.2. Courbe de croissance des ferments thermophiles locaux et industriels

Des tubes contenant le bouillon MRS ont étéensemencés par des cultures jeunes des ferments mixtes thermophiles. La densité optique (DO_{600}) de chaque culture et le nombre de cellules viables (Cellule de Malassez) ont été déterminés à Temps zéro heure (T_0). Les tubes ont été par la suite incubés pendant 2h, 4h, 6h et 24h à 44°C.

Le suivi de la croissance bactérienne a été réalisé en mesurant la densité optique (DO_{600}) et le nombre de cellules viables par la technique de micro-dilution et usage de la cellule de Malassez.

II.2.3. Etude des aptitudes technologiques des ferments thermophiles locaux et industriel

II.2.3.1. Aptitude acidifiante

Le processus d'acidification du yaourt dépend de l'activité symbiotique de *St. thermophilus* et *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* (Georgieva et al., 2009).

La mesure de l'activité acidifiante consiste à suivre d'une part l'évolution du pH des différentes cultures en fonction du temps et d'autre part à doser simultanément l'acidité totale par la soude. On commence par la préparation de lait écrémé à 10% dans des flacons de capacité 250ml. Après stérilisation (par tyndallisation) et refroidissement à la température d'ensemencement, chaque flacon a étéensemencé par une culture lactique (V/100V). Après incubation à 44°C, à un intervalle du temps 0h, 3h, 6h et 24h ; 10ml du lait a été prélevé puis titrer par la soude Dornic (N/9) en présence de 5 gouttes de phénolphthaléine, jusqu'au virage de la couleur au rose pâle persistant au moins 10 secondes. L'acidité est déterminée par la formule suivante (Hariri et al., 2009) :

$$\text{Acidité (°D)} = V_{\text{NaOH}} \times 10$$

Où :

V_{NaOH} : Volume de NaOH utilisé pour titrer l'acide lactique contenu dans les 10ml de lait.

La mesure de pH a été faite directement par le pH- mètre, en plongeant l'électrode dans un bécher contenant 20ml de l'échantillon. Le pH a été déterminé à chaque fois qu'on procède au dosage de l'acide lactique (Hariri et al., 2009).

II.2.3.2. Aptitude protéolytique

Les ferments lactiques possèdent un système protéolytique capable de dégrader les caséines en acides aminés pour assuré leur développement dans le lait (Grattepanche, 2005). Trois techniques ont été utilisées :

a. Sur milieu YMA : Pour mettre en évidence cette activité, la gélose YMA a été coulée dans des boites de Pétri, solidifiée et séchée, puis des disques de papier Wattman stérile ont été déposés en surface de la gélose, chaque disque reçoit 10 μ l d'une culture jeune d'un ferment lactique et incubé a 44°C pendant 24h, la protéolyse est révélée par des zones claire auteur des disques (Grattepanche, 2005).

b. Sur le bouillon nutritif : Trois tubes contenant le bouillon nutritif et 0.5 ml de lait écrémé stérile ont étéensemencés par un des ferments, puis incubé à 44°C pendant 24h. Le pouvoir protéolytique se manifeste par une précipitation.

c. Sur milieu Agar au lait : L'activité protéolytique des souches pures et des ferments mixtes a été testée par de la méthode décrite par Thivierge (1999), c'est la méthode des puits sur milieu Agar au lait :

Après avoir coulé et solidifié : le milieu agar-lait, des puits ont été confectionnés, le fond de chaque puits a été soudé par le même milieu. Après solidification complète, chaque puits reçoit 25 μ l de la culture mixte jeune. Le caractère protéolytique a été estimé par mesure des halos clairs autour de chaque puits après une incubation à 44°C pendant 48h. L'activité protéinasique est exprimée en unité trypsique/ml.

En parallèle, la trypsine a été utilisée comme témoin positif à des concentrations de 0.0002g/ml, 0.0005g/ml, 0.001g/ml, 0.003g/ml, 0.006g/ml, 0.012g/ml, 0.025g/ml, 0.05g/ml, 0.1g/ml, 0.2g/ml.

II.2.3.3. Aptitude lipolytique

Ce test consiste à étudier la capacité des bactéries à dégrader les lipides. Pour la réalisation de ce test, nous avons utilisé la gélose au triglycéride. Cette dernière a été coulée et solidifiée, des disques de papier wattman stérile ont été déposés à la surface de cette gélose, chaque disque reçoit 10µl d'une culture jeune de ferments. Après une incubation à 44°C pendant 2 jours, la lipolyse est révélée par une zone d'éclaircissement entouré d'un dépôt autour des disques (Guiraud, 2003).

Une deuxième technique consistait à faire un étalement en surface, de la gélose aux triglycérides, à partir de la dilution 10^{-6} de chaque culture jeune de ferment. Après une incubation de 48h à 44°C, le réactif de sulfate de cuivre a été ajouté et laissé agir pendant 15min suivi d'un lavage par l'eau distillée. La présence d'une coloration bleu-vert autour des colonies indique qu'il y a une activité de lipases.

II.2.3.4. Aptitude texturant

Les EPS sont connues pour leurs actions bénéfiques aux lactobacilles. Elles les protègent contre la phagocytose et les bactériophages, les toxines et les bactériocines (De Vuyst *et al.*, 1999). Les techniques utilisées sont les suivantes :

a. Détection des colonies larges et gluantes sur gélose hypersaccharosé : Les souches à tester ont été ensemencées en stries sur gélose hypersaccharosé déjà coulée et solidifiée. Après incubation à 44°C pendant 24h, la production des Exopolysaccharides se manifeste par l'apparition des colonies larges et gluantes (Leveau *et al.*, 1991).

b. Confirmation de production des EPS sur bouillon hypersaccharosé : Des tubes à essai contenant le bouillon hypersaccharosé ont été ensemencés par 0.5 ml de chaque ferment, puis incubés à 44°C pendant 24h. Les résultats sont positifs si le bouillon présente un aspect épais (visqueux) (Leveau *et al.*, 1991).

d. Quantification de la production des EPS : La quantification des EPS a été réalisée par la technique décrite par Mozzi *et al.* (2001) et Wu *et al.* (2010). Pour chaque souche, 10 ml de bouillon MRS a été inoculé par la culture à tester à raison de 1%. Après une incubation de 24h, la culture a été centrifugée à 6000 rpm pendant 20min. A un volume de surnageant, deux volumes de l'éthanol à 4°C ont été ajoutés, le tout a été incubé pendant une nuit à 4°C.

Les précipités ont été récupérés par centrifugation à 6000 rpm pendant 5min et resuspendus dans 2ml d'eau distillée. Le mélange précipité - eau a été filtré sur un millipore de 0.22 µm de porosité. Ensuite, 40µl du phénol à 80% et 2ml de l'acide sulfurique concentré ont été ajoutés à chaque 800µl du filtrat suivi d'une agitation au vortex. En parallèle un blanc a été préparé en remplaçant l'échantillon avec de l'eau distillée. La lecture de l'absorbance a été effectuée à une longueur d'onde de 490nm (DO_{490}), les résultats sont exprimés en grammes des EPS par litre (g/l). Le taux de sucre est déterminé en se référant à une courbe d'étalonnage tracé avec du glucose.

II.2.3.5. Aptitude aromatisant

La capacité des ferments mixtes à produire des composés aromatisants au cours de processus de fermentation peut être mise en évidence sur lait écrémé. Pour ce faire, chaque tube contenant du lait écrémé stérile à raison de 9% a été ensemencé par les ferments mixtes thermophiles.

Après une incubation pendant 24h à 44°C et coagulation du lait, 5 gouttes des réactifs de Vogues-Proskauer (VPI et VPII) ont été ajoutés, et laissés reposer pendant 10min. une coloration rose traduit la formation d'acétylméthylcarbinol. Cette substance se transforme en acétoïne sous l'action de la soude (VPII) et se combine avec l' α -naphthol (VPI) en donnant un complexe de couleur rouge indique la présence d'arôme (Guiraud, 2003).

II.2.3.6. Etude des aptitudes antagonistiques et effets de surnageant

Ce test consiste à étudier l'activité inhibitrice des ferments lactiques vis-à-vis des souches indicatrices. Il s'agit de sept souches : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 29522, *Klebsiella oxytoca*, *Listeria monocytogenes* et *Salmonella* spp.

La méthode des disques décrite par Tadesse et al. (2004) a été appliquée : elle consiste à inonder en surface le milieu Mueller-Hinton par la souche indicatrice (DO_{660} varie entre 0.08 et 0.1). Après incubation pendant 30 min à 37°C, des disques stériles (de 5 mm de diamètre) ont été déposés à la surface de la gélose. Chaque disque reçoit 10 μ l d'une culture lactique jeune. Une fois les boîtes sont séchées à température ambiante, elles sont incubées à 4°C pendant 4h, par la suite incubées à 37°C pendant 24h. L'inhibition de la souche indicatrice se traduit par la formation de zones claires autour des disques.

L'activité inhibitrice du surnageant natif et celui ajusté à pH 6.5 a été également évaluée par l'application de la technique de diffusion sur gélose décrite par (Allouch et al., 2010):

Des cultures bactériennes jeunes de 18h ont été soumises à une centrifugation à 9400 rpm/10min, ensuite, les surnageants ont été filtrés sur un millipore de 0.22 μ m. Les filtrats ainsi obtenus étaient divisés en deux volumes dont le premier est dit surnageant natif, et le deuxième était ajusté à pH 6.5 avec du NaOH (3N).

Les boîtes de Pétri contenant la gélose Muller Hinton, préalablement coulée et solidifiée, ont été inondées par la souche indicatrice (inoculum standardisé dont la DO_{660} varie entre 0.08 et 0.1), puis des puits de 5mm de diamètre ont été confectionnés, la base de chaque puits a été bouchée par la même gélose. Chaque puits a reçu 25 μ l de surnageant. Après incubation 24h à 37°C, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés.

II.2.3.7. Résistance aux antibiotiques

Pour réaliser ce test, la méthode de l'antibiogramme en milieu solide a été appliquée, chaque inoculum bactérien a été standardisé dont la DO_{600} varie entre 0.08 et 0.1 puis ensemencée par inondation (1ml) de la surface de la gélose MRS, déjà coulée et solidifiée, l'excès de l'inoculum a été récupéré par une micropipette. Les boîtes ont été laissées sécher à température de laboratoire. Chaque boîte reçoit quatre disques d'antibiotiques à savoir l'Amoxicilline (A30 μ g), Colistine (C50 μ g), Acide Pipémidique (P50 μ g) et Céfotaxime (F30 μ g). Après

incubation à 44°C pendant 24h, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés (Leroy et al., 2007).

II.2.4. Fabrication d'un yaourt étuvé nature et évaluation de sa qualité

II.2.4.1. Technologie de fabrication

La fabrication des yaourts a été réalisée au laboratoire en respectant le diagramme de fabrication d'un yaourt étuvé standard. Le processus suivi (figure 06) est celui décrit par Kadam et al. (2010). La recette adoptée est celle illustrée dans le tableau 05 :

Tableau 04 : La recette d'un yaourt étuvé nature sucré.

Recette	Lait UHT (ml)	Poudre de lait écrémé (g)	Sucre (g)	Ferment lactique (ml)
Yaourt à base de ferment locale	1000	60	100	5
Yaourt à base de ferment industriel	1000	60	100	5

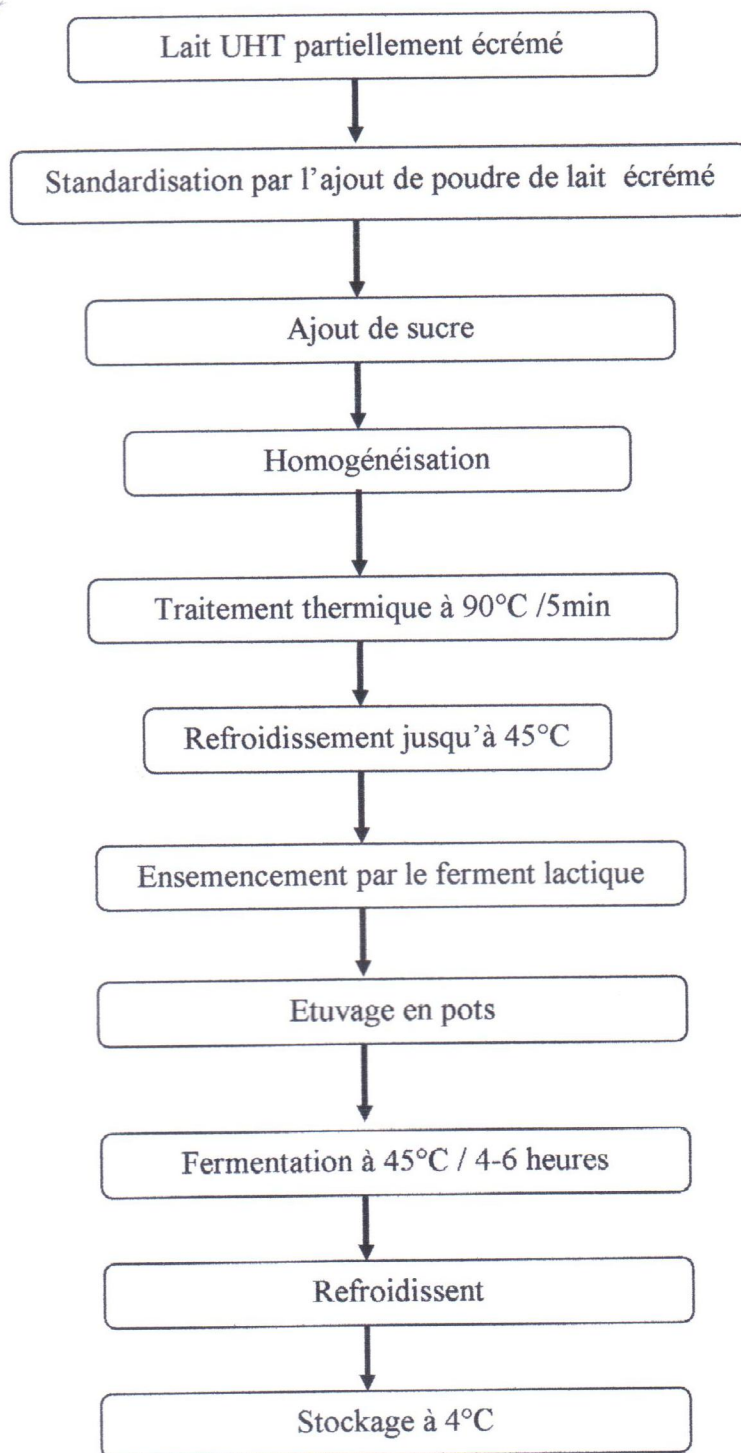


Figure 04 : Diagramme de fabrication du yaourt étuvé type nature sucré (Kadam et al., 2010).

- **Préparation du lait et des ferments :** Une quantité de 2 litres de lait UHT de marque CANDIA a été enrichie à raison de $d=1.035$ avec du lait écrémé en poudre (standardisation). Après un traitement thermique à 90°C pendant 5 minutes, le volume de lait a été réparti en deux récipients stériles chacun contenant 1 litre de lait. Les cultures d'amorçage ont été préparées par repiquage des cultures lactiques dans du lait écrémé stérile reconstitué à raison de 10%, puis incubés à 44°C pendant 16h. La population estimée est d'environ 10^8 UFC/ml.

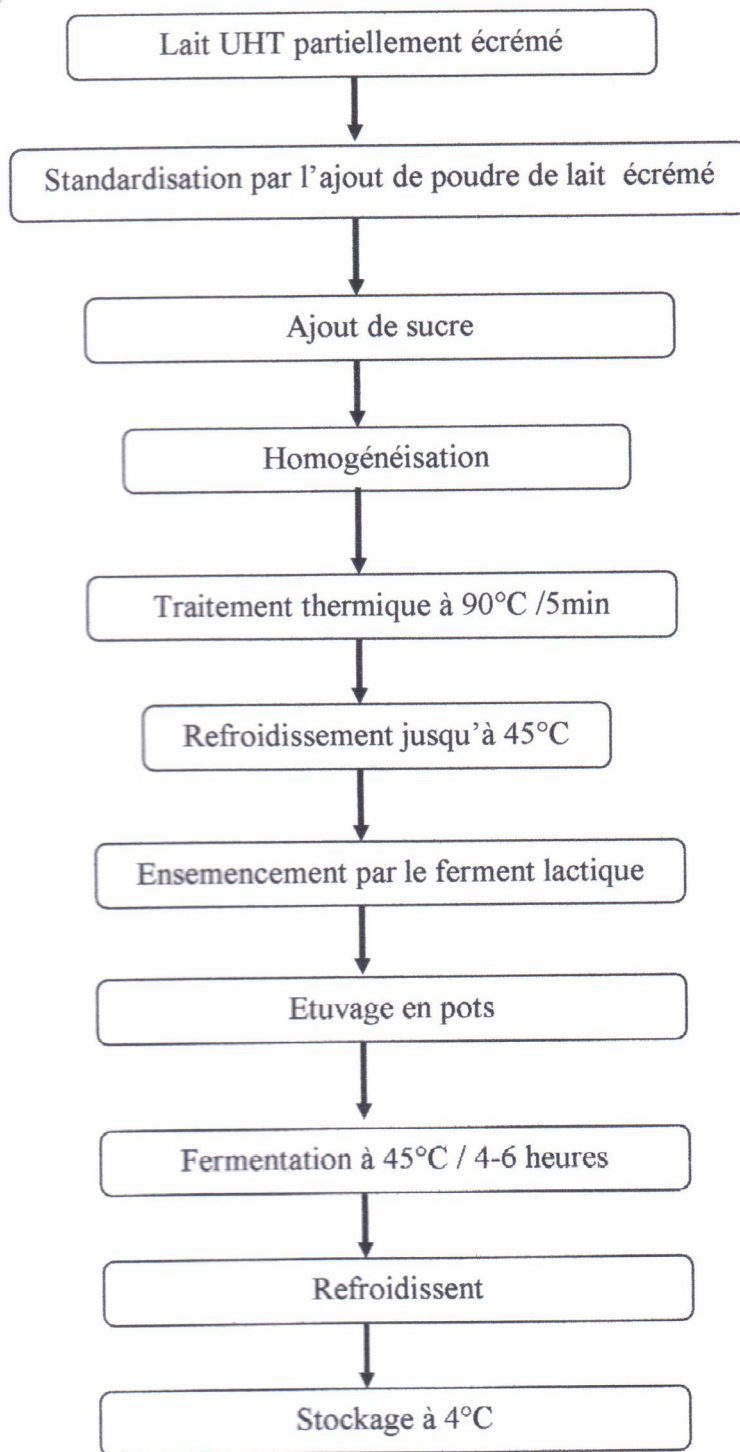


Figure 04 : Diagramme de fabrication du yaourt étuvé type nature sucré (Kadam et al., 2010).

- **Préparation du lait et des ferments :** Une quantité de 2 litres de lait UHT de marque CANDIA a été enrichie à raison de $d=1.035$ avec du lait écrémé en poudre (standardisation). Après un traitement thermique à 90°C pendant 5 minutes, le volume de lait a été réparti en deux récipients stériles chacun contenant 1 litre de lait. Les cultures d'amorçage ont été préparées par repiquage des cultures lactiques dans du lait écrémé stérile reconstitué à raison de 10%, puis incubés à 44°C pendant 16h. La population estimée est d'environ 10^8 UFC/ml.



Photo 03 : Préparation du lait.

- **L'ensemencement :** Après avoir ramené le lait pasteurisé à la température de 42°C, celui-ci a été ensemencé à raison de 0.5% par les ferments lactiques (locale et industriel) et incubé pendant 4h à 44°C.

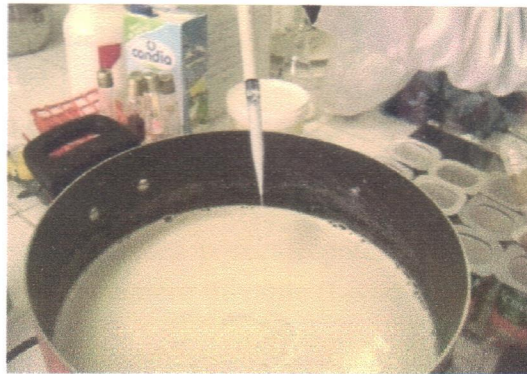


Photo 04 : Ensemencement du lai par les ferments lactiques.

- **Conditionnement et étuvage :** Le mélange bien homogénéisé est conditionné dans des pots de 100 g de capacité. Ces derniers ont été mis à l'étuve pendant 4h à 6h à 45°C.
- **Refroidissement et stockage :** Après l'étape de l'étuvage les pots de yaourt ont été conservés à 4°C jusqu'à moment d'usage.

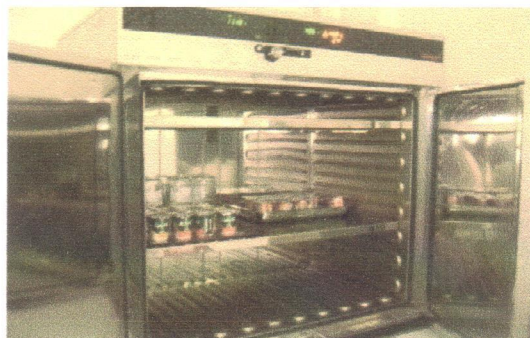


Photo 05 : Etuvage des pots de yaourt.

II.2.4.2. Contrôle de la qualité des yaourts fabriqués

a. Mesure de l'acidité titrable et le nombre de cellules viables au cours de la fermentation

- **L'acidité titrable** : pendant l'ensemencement du lait, l'acidité du lait a été déterminés selon la technique déjà décrite en II.2.2.1. **Pouvoir acidifiant**.
- **Dénombrement des cellules viables du ferment lactique** : Le nombre de cellules viable est déterminé selon la technique décrite par **John et Alicia, (2000)** en utilisant la cellule de Malassez (annexes 03).

b. Contrôle des paramètres physicochimiques

Ce contrôle a comporté la mesure du pH, de l'acidité titrable, la détermination de la composition chimique des échantillons du yaourt préparé à savoir l'extrait sec total, la matière organique, minérale, les protéines et la matière grasse. Ces analyses sont appliquées à T_{j0} et après 10 jours de conservation, (T_{j10}).

- **pH et acidité titrable** : Le pH et l'acidité du yaourt ont été déterminés selon la technique déjà décrite en II.2.2.1. **Pouvoir acidifiant**.
- **Détermination de la matière sèche** : Pour la réalisation de cette manipulation, 10g de chaque échantillon de yaourt a été placé dans des creusets déjà séchés et tarés. Cette préparation a été placée dans l'étuve réglée à $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 3 heures. La matière sèche a été déterminée par des pesées répétées jusqu'à avoir un poids constant. Le résultat est exprimé de la manière suivante (**Lecoq, 1965**) :

$$\text{MS (\%)} = \text{X/Y} \times 100$$

Avec :

- MS** : matière sèche ;
- X** : poids de l'échantillon en gramme après étuvage ;
- Y** : poids de l'échantillon en gramme avant étuvage.

- **Calcul du taux d'humidité** : Elle est déterminée en se basant sur les résultats de la matière sèche, et en appliquant la formule suivante (**Lecoq, 1965**) :

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

Avec :

- H** : Taux d'humidité.
- MS** : matière sèche.

- **Détermination de la teneur en matière minérale** : Une prise d'essai appropriée de 10g de yaourt a été mise dans un creuset, préalablement séché et étuvé, que l'on place dans un four à moufle où l'incinération se fait à une température de 525°C pendant 4 heures. L'incinération est poursuivie jusqu'à l'obtention de cendres blanchâtres. Le résultat a été calculé en appliquant la formule suivante (**Lecoq, 1965**) :

$$MM(\%) = X/Y \times 100$$

Avec :

- MM : matière minérale ;
- X : poids de l'échantillon en gramme après étuvage ;
- Y : poids de l'échantillon en gramme avant étuvage.

- **Détermination de la teneur en matière organique :** Elle a été déterminée en se basant sur les résultats de la matière sèche et minérale, et en appliquant la formule suivante (Lecoq, 1965) :

$$MO(\%) = MS(\%) - MM(\%)$$

Avec :

- MO : matière organique.
- MS : matière sèche.
- MM : matière minérale.

- **Détermination de la teneur en matière grasse :** La méthode de Soxhlet a été utilisée (AOAC, 2000). L'échantillon est d'abord extrait par l'éther de pétrole. Le mode opératoire a consisté à une prise d'essai de 1g de yaourt, introduit dans un ballon puis mélangé avec 20 ml d'eau distillée et 20 ml d'éther de pétrole. Le ballon est connecté à un réfrigérant et chauffé pendant 15 mn. Le contenu du ballon est ensuite filtré à l'aide d'un papier filtre disposé dans un entonnoir. Après plusieurs lavages à l'eau distillée chaude, le papier filtre a été séché puis introduit dans une cartouche soumise à l'extracteur.

L'échantillon a été extrait sur le bain d'eau à 70°C à 80°C. Le solvant contenant la matière grasse retourne dans le ballon par déversements successifs causés par effet de siphon dans le coude latéral. Comme seul le solvant peut s'évaporer de nouveau, la matière grasse s'accumule dans le ballon jusqu'à ce que l'extraction soit complète. Une fois l'extraction terminée, l'éther est évaporé, sur un évaporateur rotatif. Sécher à 100°C pendant 1 heure refroidir et peser la matière grasse. Le pourcentage de gras brut a ensuite été calculé comme suit :

$$\% \text{ Matières grasses brutes} = \frac{\text{Poids de la matière grasse}}{\text{Poids de l'échantillon}} \times 100$$

- **Dosage des matières azotées :** La méthode de Kjeldahl a été appliquée pour déterminer la quantité de protéine dans nos yaourts (AOAC, 2000). C'est la méthode de référence pour la détermination de l'azote contenu dans un produit. Elle s'effectue en trois étapes : la minéralisation (digestion), la distillation et le titrage (voir annexe10).

La minéralisation vise à convertir la totalité de l'azote organique en ions ammonium (NH_4^+). Les molécules organiques mises en présence d'un bon rapport acide sulfurique concentré (H_2SO_4) / sulfate de potassium (K_2SO_4) catalysé par du sulfate de cuivre, sont

décomposées par oxydation pour donner principalement du CO₂ et de l'eau. L'azote organique quant à lui est converti en sulfate d'ammonium (NH₄)₂SO₄.

Un excès d'hydroxyde de sodium (NaOH) a été ajouté au digestat refroidi pour permettre la transformation de l'azote, sous forme de sulfate d'ammonium, en ammoniac (NH₃). Ce dernier a été distillé dans un excédent d'acide borique et déterminé par titrage avec une solution d'acide chlorhydrique (HCl).

La teneur en azote total (ρ) du yaourt est calculée selon la formule suivante :

$$\rho = C_{H^+} \times 2 \times V \times 14 / 5 \text{ g d'azote par litre de yaourt}$$

Avec :

C_{H^+} : Titre molaire de la solution d'acide sulfurique titré (0,01M).

V : Chute de burette obtenue en ml.

La teneur en protéines (P') du yaourt est égale à :

$$P' = \rho \times 100 / 15,6 \text{ g par litre de lait}$$

- **Mesure de la synérèse :** La mesure de la synérèse provoquée par centrifugation a été réalisée en prélevant 25g de yaourt, puis en transférant l'échantillon recueilli dans un tube. Celui-ci a été centrifugé durant 20 minutes à 2000 rpm, puis le lactosérum recueilli par inversion du tube a été pesé à l'aide d'une balance. L'indice de synérèse, exprimé en pourcentage, a été déterminé en divisant le poids de lactosérum recueilli par le poids initial de l'échantillon de yaourt au départ.

$$\text{Indice de synérèse (\%)} = \text{poids de lactosérum} / \text{poids initial de l'échantillon}$$

c. **Contrôle microbiologique :** Le contrôle microbiologique a été réalisé selon les techniques décrites par Guiraud et Galzy (1980), Joffin et Joffin (1999) et Guiraud et Rosec (2004) :

- **Préparation des dilutions décimales :** 1ml de yaourt (solution mère) a été dilué dans 9ml de l'eau physiologique stérile (il s'agit de la dilution 10⁻¹). Après homogénéisation, 1ml de la dilution 10⁻¹ a été transféré dans un tube contenant 9ml d'eau physiologie stérile pour avoir la dilution 10⁻². L'opération a été répétée jusqu'à l'obtention d'une dilution 10⁻⁵.

- **Dénombrement des coliformes totaux et thermo-tolérants :** Le dénombrement a été réalisé sur gélose VRBL, par ensemencement en masse de 1ml de la dilution 10⁻³ pour les coliformes totaux suivi d'une incubation à 37°C pendant 24h et de la dilution 10⁻² pour les coliformes thermotolérants suivi d'une incubation à 44°C pendant 24h. Toute colonie rose- rouge qui apparait après le temps d'incubation a été comptée.

- **Recherche de *Staphylococcus aureus*** : Le milieu Giolitti Contonii (9ml) (additionné de tellurite de potassium) a été inoculé par 1ml de yaourt puis incubé à 37°C pendant 24h. Après incubation et s'il y a un noircissement du milieu, la présence de *Staphylococcus aureus* est suspectée, on procède alors à un isolement sur gélose Baird Parker.
- **Dénombrement des levures et moisissures** : le dénombrement a été effectué sur le milieu solide gélosé OGA préalablement coulé et solidifié. 0.1 ml de la dilution 10^{-4} a été étalé en surface du milieu et les boîtes ont été incubées pendant 3 à 5 jours à une température de 25°C. La lecture permet d'apprécier les levures d'aspect velouté, ayant des formes convexes ou plates et pigmenté, souvent opaques. Les moisissures sont sous formes de colonies filamenteuses.
- **Recherche de la flore indologène** : La recherche de cette flore a été réalisée par inoculation de 1ml de la dilution 10^{-3} dans le milieu eau peptonée exempte d'indole. Les tubesensemencés ont été incubés à 37°C pendant 24h. La production d'indole est révélée en ajoutant quelques gouttes du réactif de Kovacs.
- **Dénombrement de la flore lactique** : Les boîtes de Pétri contenant la gélose MRS, préalablement coulée et solidifiée, sontensemencées en surface par 0.1ml de la dilution 10^{-3} . Les cultures sont incubées à 44°C pendant 24 h.

d. Analyse sensorielle : Les séances de dégustation des deux types de yaourt préparés se sont déroulées dans des conditions non normalisées, par un panel de dix personnes non entraînés mais habitués à la dégustation de leurs yaourts. Ces analyses ont été effectuées à T_{J0} , après stockage au froid à 4°C.

Les fiches de dégustation sont reproduites en annexes12. La note globale intègre, l'aspect de la surface, la texture, la saveur et l'odeur. Les fiches de dégustation permettent de porter un jugement qualitatif sur les yaourts en notant différents descripteurs. Une note globale est finalement attribuée au yaourt. Les échantillons ont été présentés en même temps. Les dégustateurs doivent individuellement évaluer chaque yaourt selon les caractères prédéfinis. Lorsqu'ils passent d'un échantillon à un autre, ils doivent se rincer la bouche avec de l'eau afin d'effacer le goût de l'échantillon précédent (Edima, 2007).

II.2.5. Traitement statistique

Une analyse de variance (ANOVA: Analyse de Variance à un Facteur) a été réalisée pour déterminer la signification des évolutions des paramètres physicochimiques pendant le procédé de fabrication ainsi que les aptitudes technologique des ferments. Le logiciel Microcal Origin 6.0 a été utilisé et à $p \leq 0.05$, la différence est considérée comme significative.

III. Résultats et Discussion

III.1. Préparation des ferments

III.1.1. Revivification et confirmation de la pureté

Après incubation des ferments sur bouillon MRS, les tubes présentant un trouble avec une pastille blanche au fond, traduisent une fermentation de glucose par les ferments et production d'acide lactique (Photo 06). Après repiquage des ferments sur gélose MRS et incubation à 44°C pendant 24h, l'aspect macroscopique des colonies a témoigné l'absence de contaminants avec la présence de petites colonies de faibles tailles et d'une couleur uniforme (Photo 07).



Photo 06 : Revivification sur bouillon MRS.



Photo 07 : Purification sur gélose MRS

III.1.2. Examen microscopique

Les résultats de la coloration de Gram ont montré la présence de coques et de bâtonnets, de couleur violette, donc des Gram positif. Les bacilles se présentent en bacilles et en diplobacille, les cocci en chainettes et en diplocoques (photo 08).



Photo 08 : Examen microscopique des ferments.

III.1.3. Courbe de croissance des ferments

III.1.3.1. Mesure de la viabilité

L'évolution du nombre de cellules viables des ferments a été suivie au cours du temps. La figure 05 regroupe les courbes de croissance des ferments locaux (F1, I1, I2), ainsi que celle du ferment industriel (S).

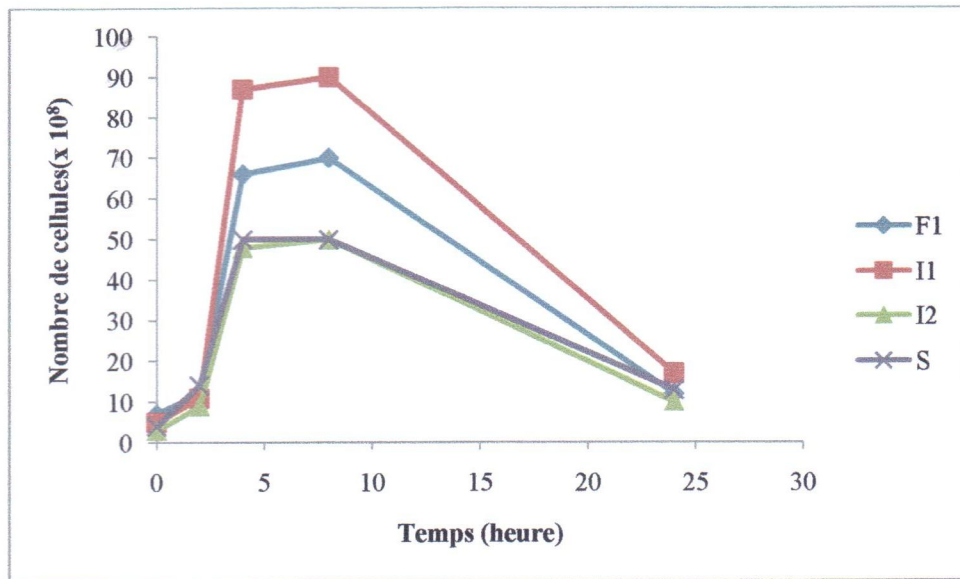


Figure 05 : Evolution du nombre des cellules viables des ferments **F1**, **I1**, **I2** et **S**.

La croissance bactérienne est l'accroissement ordonné de tous les composants de la bactérie. Elle aboutit à l'augmentation du nombre de bactéries. Au cours de la croissance, il se produit, d'une part, un appauvrissement du milieu de culture en nutriments et, d'autre part, un enrichissement en sous-produits du métabolisme, éventuellement toxiques (**Bourgeois et al., 1991**).

D'après la figure 05, on observe que la phase de latence est très courte, ce qui explique que le milieu répond aux exigences nutritionnelles de ces bactéries. La phase de croissance exponentielle est nettement claire, accompagnée d'une augmentation de nombre de cellules viables. Cependant et après les 5h d'incubation, on note l'entrée des ferments en phase stationnaire, suivie d'une phase de déclin (après 9h d'incubation).

Cependant, il apparaît clairement qu'il y a une différence entre les courbes de croissance des différents ferments, avec une meilleure croissance des souches qui composent le ferment codé I1. Reste à signaler un point très important, tous les ferments montrent une bonne viabilité et une bonne croissance durant les 4h d'incubation, c'est « *le temps économique exigé pour la technologie du yaourt* »

III.2. Aptitudes technologiques des ferments thermophiles locaux et du ferment industriel

III.2.1. Pouvoir acidifiant

Les résultats du pH et de la production d'acide lactique sont illustrés par les figures 06 et 07. Les résultats chiffrés sont résumés dans l'annexe 04.

Ces résultats montrent qu'il y a une augmentation progressive de la production de l'acide lactique par les ferments **F1**, **I1**, **I2** et **S**, cette dernière est accompagnée d'un abaissement du pH du milieu. Les valeurs du pH ont été significativement différentes ($P < 0.05$), bien que nous n'ayons pas enregistré une différence significative concernant l'évolution de l'acidité dornic ($P > 0.05$).

Dans un premier temps, trois heures après incubation, les valeurs de pH varient entre pH 6.35 et pH 6.37, en parallèle la quantité de l'acide lactique produite se situe entre 2.5 et 3 g d'acide lactique /L.

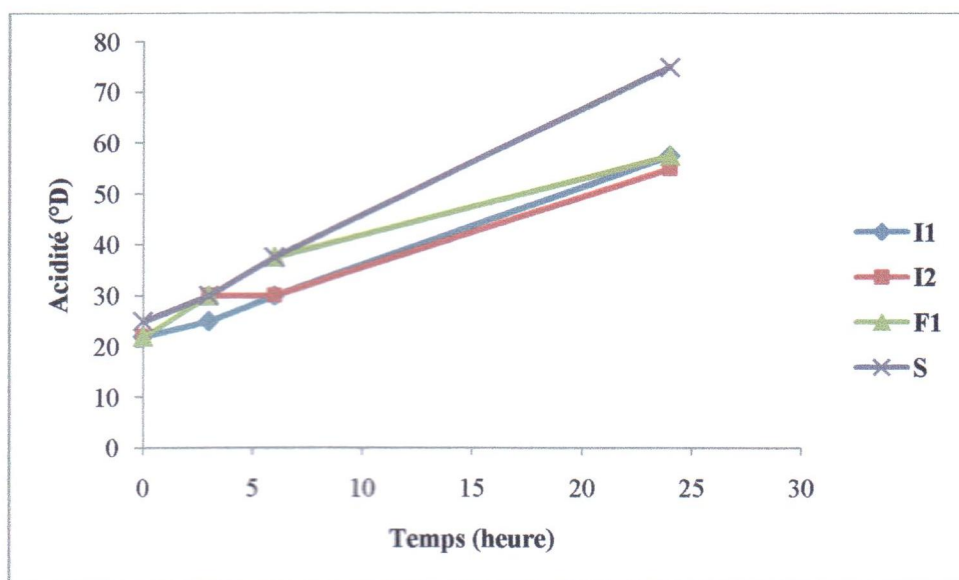


Figure 06 : Production d'acide lactique par les ferments F1, I1, I2 et S.

Dans un deuxième temps et au cours de la fermentation, le pH a connu une chute modérée et se trouve situé entre pH 4.91 et pH 4.95, de même la quantité de l'acide lactique produite se situe entre 5.5 et 5.75g/L.

Nous remarquons que le ferment **S** possède une forte activité acidifiante, dont la concentration d'acide lactique est de 7.5g/L, suivi par les ferments **F1** et **I1**, avec une concentration de 5.75g/l, alors que le ferment **I2** produit 5.5 g d'acide lactique /L.

Les résultats obtenus autorisent à dire qu'il existe une relation étroite entre le pH et l'acidité dornic, c'est à dire, une augmentation de la quantité d'acide lactique est accompagnée d'une diminution du pH. L'activité acidifiante est un important critère de sélection des bactéries lactiques utilisées dans les industries alimentaires (Martley, 1983).

L'abaissement du pH avec les cultures mixtes est généralement plus rapide et plus prononcé, ce qui s'explique par la stimulation d'au moins une des souches de mélange. Le processus étroitement associé à la croissance bactérienne se traduit par l'accumulation progressive d'acide lactique dans le milieu de culture, pour cela et pour des objectifs technologique notamment en laiterie et en fromagerie il est très intéressant de préciser le pouvoir acidifiant des souches lactiques (Corrieu et Luquet, 2008).

Il est remarquable qu'il ya différence entre le pouvoir acidifiant des ferments mis au test, dont le ferment **S** a donné les meilleurs résultats suivi par le ferment **F1**.

Ces résultats se concordent et ceux de (Luquet et Corrieu, 2005) qui ont rapporté que l'évolution de l'acidité et les variations du pH au cours de la croissance des souches qu'ils ont testé sur le lait écrémé ont montré une différence entre les genres, les espèces et même entre les souches de même espèces.

L'abaissement du pH est du à la production de l'acide lactique par l'hydrolyse de lactose de lait par β -galactosidase, le glucose et le galactose ainsi libéré seront fermentés pour produire des composé acides, cette production mène a un abaissement du pH et pouvant aller jusqu'à la coagulation (Prescott et al., 2007).

La vitesse d'acidification du lait dépend de la composition plus au moins adaptée à la croissance des bactéries lactiques, du taux d'ensemencement, de l'activité des ferments, de la présence éventuelle d'inhibiteurs ou de bactériophages et du conduit de la fermentation (Luquet et Corrieu, 2005).

La quantité d'acide lactique produite par les bactéries lactique est variable selon la tolérance des souches au pH bas et aussi selon leurs performances, cette production est très importante en transformation alimentaire car l'acide lactique permet la stabilisation microbienne de nombreux produits (Branger, 2007).

La photo 09 montre l'aspect des gels lactiques formés après ensemencement par nos ferments mixtes F1, I1, I2 et S et une incubation de 24h. Il apparaît clairement que les gels montrent une bonne consistance et fermeté avec le peu de lactosérum. Cette qualité de gel est très demandée dans la fabrication des yaourts.



Photo 09: Aspect du gel formé après 24h.

III.2.2. Pouvoir protéolytique

La protéolyse est l'un de processus biochimiques les plus importants impliqués dans la fabrication de beaucoup de produits laitiers fermentés. La capacité de produire des protéinases extracellulaires est une caractéristique très importante des bactéries lactiques. Ces enzymes hydrolysent les protéines du lait, en fournissant les acides aminés essentiels pour la croissance. Il est connu que le système protéolytique des bactéries lactiques dégrade les protéines et par conséquent, change la texture, le goût et les arômes des produits fermentés (El-Ghaish et al., 2011).

III.2.2.1. La protéolyse sur le milieu YMA

Les résultats obtenus sont reportés dans le tableau 05. D'après les résultats, nos ferments ont montré une croissance avec protéolyse. Les diamètres des zones de protéolyse étaient compris entre 07 et 12mm. Il apparaît que le ferment **F1** est fortement protéolytique comparativement aux autres dont le diamètre de la zone était de 12mm.

Tableau 05 : Activité protéolytique des ferments **F1**, **I1**, **I2** et **S** sur le milieu YMA.

Ferments	F1	I1	I2	S
Diamètres (mm)	12	10	10	07

Selon **Vuillemerd (1986)**, la souche est dite protéolytique si elle présente une zone de protéolyse de diamètre, compris entre 5 et 15 mm, par comparaison à cette donnée, nos ferments sont protéolytiques.

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par **Idoui et Karam (2008)**, qui ont trouvé que les bactéries lactiques, isolées à partir du beurre de vache traditionnel de la région de Jijel, présentaient un caractère protéolytique.

III.2.2.2. La protéolyse sur le bouillon nutritif

Après incubation, nous avons noté la présence d'un précipité au fond de chaque tube avec une bonne clarification des cultures qui traduit la dégradation de la caséine du lait, cette précipitation diffère d'un ferment à un autre (photo 10).

Selon **Vuillemerd (1986)**, l'observation d'un culot blanchâtre au fond de tube et la clarification des milieux témoignent de la présence d'une bonne activité protéolytique.

D'après **Leveau et al. (1991)**, l'aptitude protéolytique est liée à la présence de gène codant pour cette activité car les propriétés technologiques des bactéries lactiques sont portées par les plasmides. Elle est recherchée pour l'amélioration de la qualité organoleptique de l'aliment surtout le yaourt et le fromage.

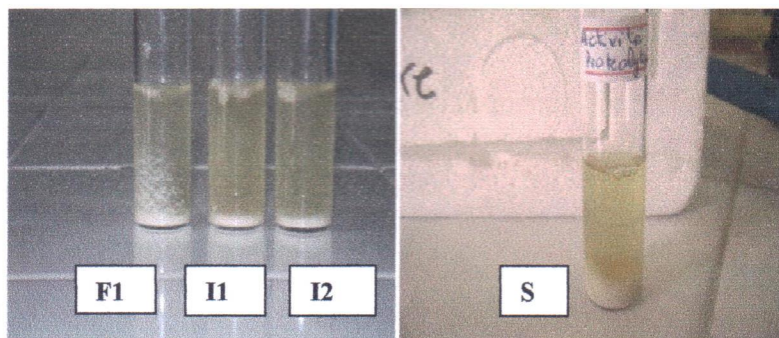


Photo 10 : Activité protéolytique des ferments **F1**, **I1**, **I2** et **S** Sur le bouillon nutritif.

III.2.2.3. La protéolyse sur le milieu Agar au lait

L'activité protéolytique des ferments sur le milieu Agar au lait a montré qu'il y a des zones de protéolyse autour des puits (l'apparition d'un halo clair autour des puits), dont la photo 11 le montre.

Tableau 06 : Activité protéolytique des ferments **F1**, **I1**, **I2** et **S** sur milieu Agar au lait.

Ferments	F1	I1	I2	S
U trypsique (g/ml)	0.012	0.0002	0.0005	0.006

Ces résultats montrent que nos ferments locaux sont dotés d'une des propriétés technologique, qui est l'un des critères de sélection de culture destinées à la production de yaourt et de fromage. D'après les résultats du tableau, le ferment mixte **F1** a montré une activité protéolytique de 0.1 U trypsique. Cependant les ferments **I1** et **I2** ont présenté des activités protéolytiques moins importantes (0.0002 et 0.0005 U trypsique respectivement). Une valeur de 0.006 U trypsique a été enregistrée pour le ferment industriel **S**.

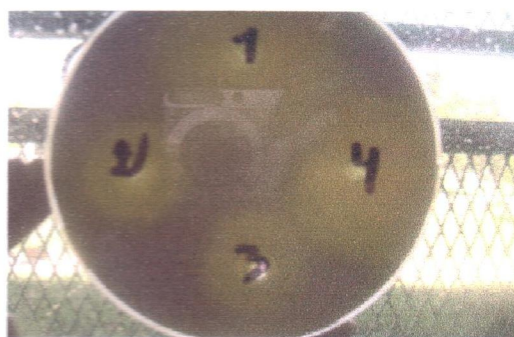


Photo 11: Zones de protéolyse sur milieu Agar au lait
(1) : ferment **F1** ; (2) : ferment **I1** ; (3) : ferment **I2** ; (4) : ferment **S**

Une étude conduite par **Thivierge (1999)** sur *Lc. lactis* ssp. *cremoris* en utilisant la même technique, a montré l'existence d'une activité de 0 à 0.0013 U trypsique. De ce fait, nos ferments ont pu dépassés ces valeurs pour atteindre une activité de 0.012 U trypsique.

III.2.3. Pouvoir lipolytique

Le tableau 07 ci-dessous montre que 50% des ferments, ne présentent pas une activité lipolytique. Le ferment locale codé **F1** et celui industriel codé **S**, se sont révélés positives en formant des dépôts autour des disques de croissance.

Tableau 07: Evaluation de l'activité lipolytique sur la gélose au triglycéride.

Ferments	Observation	Evaluation du test
F1	Croissance avec dépôt	++
I1	Croissance sans dépôt	-
I2	Croissance sans dépôt	-
S	Croissance avec dépôt	+++

Selon **Béal et al. (2008)**, l'activité lipolytique est généralement faible chez les bactéries lactiques, les lactocoques sont considérés plus lipolytiques que *St. thermophilus* et les lactobacilles.

Les résultats de la deuxième technique ont été apparus négatifs, où tous les ferments lactiques n'ont présenté aucune activité lipolytique. L'absence de la production de lipase est révélée par l'absence de colonies bleu-vertes.



Photo 12 : Résultat de l'activité lipolytique sur gélose au triglycéride
Après révélation au sulfate de cuivre.

Les travaux de **Fernandez et al. (2000)**, ont montré que l'activité estérasique n'était pas nécessaire à la croissance des bactéries lactiques ni dans un milieu synthétique, ni dans du lait écrémé ou entier.

III.2.4. Pouvoir texturant

III.2.4.1. Détection des colonies larges et gluantes sur gélose hypersaccharosé

Ce test a été désigné comme positif pour tous les ferments (photo 08). Cette activité s'est traduite par l'apparition de colonies larges et gluantes avec aspect brillant sur la gélose hypersaccharosée.

L'apparition de ce type de colonies est liée à la production d'un exopolysaccharide dans le milieu.

Tableau 08 : Production d'exo polysaccharides par les ferments F1, I1, I2 et S.

Ferment	Observation	Signification	Evaluation du test
F1	Colonie large, gluantes avec aspect brillant	Croissance avec production des polysaccharides	++
I1	Colonie large, gluantes avec aspect brillant	Croissance avec production des polysaccharides	++
I2	Colonie large, gluantes avec aspect brillant	Croissance avec production des polysaccharides	++
S	Colonies large, gluantes avec aspect brillant	Croissance avec production des polysaccharides	++

Selon Sodini (2004), les propriétés texturantes des bactéries lactiques sont principalement utilisées pour améliorer les qualités organoleptiques des produits laitiers frais fermentés. Ainsi, la production d'exopolysaccharides par les bactéries lors de leur développement dans le lait, évite d'augmenter le taux protéique du produit ou d'avoir recours à l'ajout d'additifs, tels que les texturants et les épaississants, lors de la production de yaourt (Palomares, 2007).

En générale, la composition, la structure et la taille d'EPS est relativement fixe pour une souche donnée ainsi, seule la quantité produite est réellement variable selon les conditions de culture des ferments (Luquet et Corrieu, 2005).

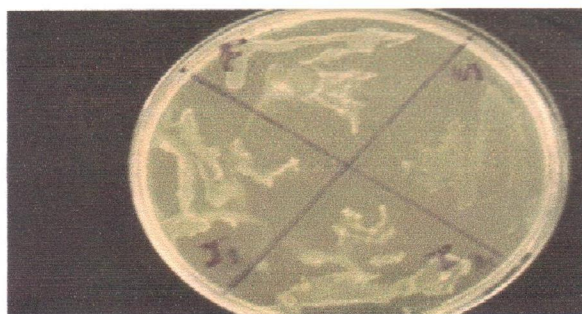


Photo 13: Aspect des colonies des ferments F1, I1, I2 et S sur milieu hypersaccharosé.

III.2.4.2. Confirmation de production des EPS sur milieu hypersaccharose

Le milieu est devenu visqueux (épaississant). Le pouvoir filant ou épaississant dépend d'un nombre de facteurs, notamment de la nature des souches et des conditions de culture, ainsi il a été montré que la production des polysaccharides est un caractère plus au moins instable chez certain souches de bactéries lactiques mésophile ou il est porté sur un plasmide (Luquet et corrieu, 2005).

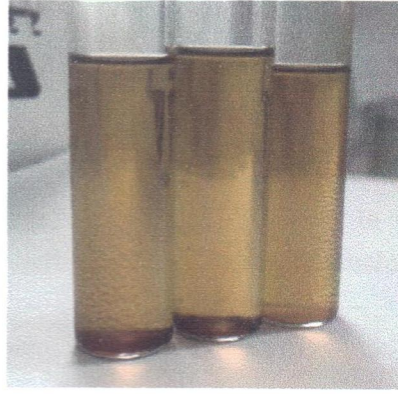


Photo 14 : Production des EPS par les ferments F1, I1, I2.

III.2.4.3. Quantification des EPS

La courbe d'étalonnage du glucose a été utilisée afin de déterminer la quantité du glucose libérée par les ferments. Les résultats de ce test sont groupés dans le tableau 09.

L'analyse de ces derniers montre que tous les ferments locaux possèdent un pouvoir texturant avec une production d'une quantité variable d'EPS.

Le ferment le plus performant est celui codé S (ferment industriel), qui arrive à produire 3.16 g/l unité de glucose. D'après les résultats du même tableau, il apparaît que l'activité texturante varie entre les ferments F1, I2 et I1 qui produisent respectivement 1.36, 1.16 et 0.70 g /l de glucose. De ce fait, nous avons enregistré des différences significatives ($P < 0.05$).

Tableau 09: Quantité de glucose libérée par les ferments F1, I1, I2 et S.

Ferments	F1	I1	I2	S
Quantité des EPS (g/l)	1.36±0.09	0.70±0.04	1.16±0.02	3.16±0.70

Nos résultats se concordent et ceux de Mende *et al.* (2011), qui ont rapporté que certains *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus* sont capables de synthétiser des EPS et sont donc très important pour l'industrie laitière comme des cultures starter. Mais, ils ont mentionné également que les EPS peuvent altérer les propriétés technofonctionnelles (la viscosité ou de liaison d'eau) des aliments fermentés comme le yaourt.

La production des EPS par les bactéries lactiques est un phénomène favorable à de nombreux processus industriels alimentaires. Le principal intérêt de l'utilisation de bactéries lactiques productrices d'EPS dans les ferments lactiques lors de la production de laits fermentés est l'amélioration de la texture et la diminution de la synérèse. Il a été montré que les EPS produits par *St. salivarius* et *St. mutans* sont impliqués dans la colonisation bactérienne et la formation de plaque dentaire (Cerning, 1990 ; Walling *et al.*, 2001).

III.2.5. Pouvoir aromatisant

La production des composés d'arômes est une fonctionnalité technologique importante des produits laitiers fermentés, donc les souches productrices sont importantes pour contribuer aux caractéristiques organoleptiques du produit fini.

Les résultats obtenus sont illustrés par la photo 15, le test négatif se traduit par l'absence d'anneau rouge dans tous les tubes, cela permet de conclure que nos ferments n'arrivent pas à produire des arômes.

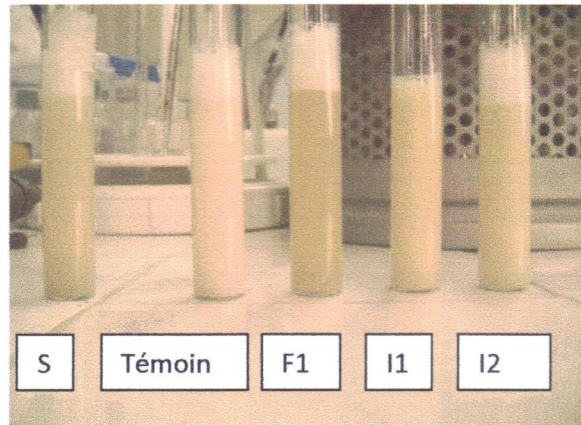


Photo 15 : Résultat de l'activité aromatique des ferments **F1**, **I1**, **I2** et **S**.

Divers composés aromatiques interviennent dans la saveur et l'appétence du yaourt, c'est principalement le lactose qui intervient dans la formation de ces composés. Parmi ceux-ci, l'acide lactique qui donne au yaourt le goût acidulé (Hansen, 2011).

Certaines espèces de bactéries lactiques utilisées dans l'industrie laitière, *Lc. lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis* et *Ln. mesenteroides* ssp. *cremoris*, sont dites aromatiques puisqu'elles sont capables, à partir du pyruvate, de synthétiser divers composés responsables des arômes des produits laitiers: diacétyl, acétoïne, 2,3 -butanediol et α -acétolactate (Raynaud et al., 2003; Leroy et De Vuyst, 2004).

De nombreux auteurs ont montré que l' α - acétolactate est un composé instable, il peut se transformer spontanément en diacétyl et/ou en acétoïne (Monnet et al., 2008). D'après Phalip et al. (1994), l'acétoïne est l'une des molécules aromatiques du catabolisme des acides aminés (acide aspartique), comme il peut avoir comme origine la dégradation totale ou partielle de l'acide citrique pendant la fermentation lactique.

Les bactéries lactiques qui métabolisent le citrate jouent un rôle important dans de nombreux procédés laitiers car, chez ces bactéries, le métabolisme du citrate et du lactose entraîne la production de diacétyl, d'acétoïne et de CO₂, participant aux qualités aromatiques et texturales des produits (Raynaud et al., 2003).

Les bactéries qui n'arrivent pas à produire des arômes sont destinées beaucoup plus à la production d'un yaourt étuvé, alors un yaourt brassé exige des ferments qui produisent des

aromes. Alors d'après ces résultats, nous pouvons destiner nos ferments locaux à la fabrication d'un yaourt étuvé.

III.2.6. Pouvoir antibactérien

L'activité antibactérienne des ferments contre sept souches indicatrice a été évaluée afin de mettre en évidence un éventuel pouvoir antagonisme. Les résultats de ce test sont illustrés dans le tableau 10.

Tableau 10 : Résultats de l'activité antagonisme des ferments **F1, I1, I2** et **S** sur les souches indicatrices (diamètres des zones d'inhibition mm).

	<i>P. aeruginosa</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>K. oxytoca</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Salmonella</i>	<i>E. coli</i>
F1	10	06	07	07	15	10	00
I1	08	06	10	09	08	12	00
I2	10	06	09	08	12	07	00
S	08	04	06	06	10	09	00

Les résultats montrent qu'il y a une nette inhibition des souches à tester par les ferments thermophiles, l'activité inhibitrice vis-à-vis d'*E. coli* était totalement absente. Le diamètre des zones d'inhibition étaient compris entre 5 et 15 mm. Le ferment **F1** présente une activité inhibitrice plus au moins prononcée, sur toutes les bactéries pathogènes avec des diamètres des zones d'inhibition allant de 7 à 15 mm.

Les autres ferments présentent une nette inhibition des six souches tests dont le diamètre des zones d'inhibition est compris entre 4 et 12 mm. La photo 16, ci-dessous, illustre l'activité inhibitrice des ferments vis-à-vis *Listeria monocytogenes* et *B. subtilis*.

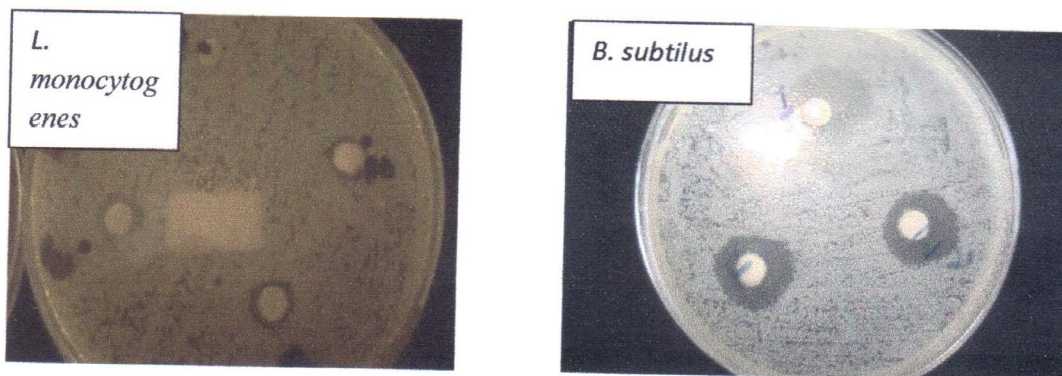


Photo 16 : Activité inhibitrice des ferments **F1, I1, I2** et **S**.

Ces résultats indiquent que nos ferments lactiques sont capables de synthétiser des substances inhibitrices ayant une activité antibactérienne. L'ensemble des ferments ne présentent pas le même spectre d'action vis-à-vis des bactéries pathogènes. La majorité des ferments sont actives

sur les bactéries à Gram positif mais pas tous sur les bactéries à Gram négatif. **Onda et al. (2003)** suggèrent que les bactéries Gram positif sont généralement plus sensibles à l'effet bactéricide des bactéries lactiques.

D'après **Allouche et al. (2010)**, l'activité inhibitrice augmente progressivement au début de la phase exponentielle et se stabilise au cours de la phase stationnaire, qui correspond à la phase de synthèse des substances inhibitrices par les cellules productrices dans le milieu extracellulaire. Cette stabilité d'activité est attribuée d'une part au fait que la lyse cellulaire est incomplète au début de la fermentation.

Par ailleurs, les bactéries lactiques sont connues par la production d'une multitude de composés antimicrobiens: les acides organiques, les bactériocines, le diacétyle et le peroxyde d'hydrogène (**Titiek et al., 1996 ; Aslam et Qazi, 2010**).

La capacité inhibitrice *in vitro* des bactéries lactiques vis-à-vis des germes pathogènes semble être une bonne propriété probiotique, comme elle peut jouer un rôle dans la préservation de la qualité hygiénique des denrées alimentaires (**Ammor et al., 2006**).

Charlier et al. (2009) ont montré que *Lactococcus* sp. et *Leuconostoc* sp. présentent une inhibition à spectre élargi vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* qui est induite par l'effet de l'acide lactique et des bactériocines.

• Effets des surnageants natifs

Les surnageants natifs des différents ferments sélectionnés, présentent un spectre d'activité très proche vis-à-vis des germes cibles testés. Les résultats de l'interaction obtenue révèlent la présence de zones d'inhibition claires avec des bordures bien distinctes.

Les résultats du tableau 11, illustrent la sensibilité des souches testées aux composants des surnageants natifs des ferments.

Tableau 11 : Activité inhibitrice des surnageants natifs (diamètres des zones d'inhibition mm).

	<i>P. aeruginosa</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>K. oxytoca</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Salmonella</i>	<i>E. coli</i>
F1	06	06	07	35	07	09	11
I1	09	06	08	34	06	05	10
I2	13	06	05	30	10	06	10
S	07	06	06	30	06	10	14

D'après les résultats obtenus, nous constatons que l'activité antibactérienne des surnageants natifs des ferments n'était pas semblable envers la collection des souches cibles. En effet, les diamètres des zones d'inhibitions étaient compris entre 5 et 35 mm.

Alors, nous remarquons que la plus large zone d'inhibition est obtenue avec le surnageant du ferment F1 à l'encontre de *B. subtilis* dont la zone d'inhibition était de 3.5cm.

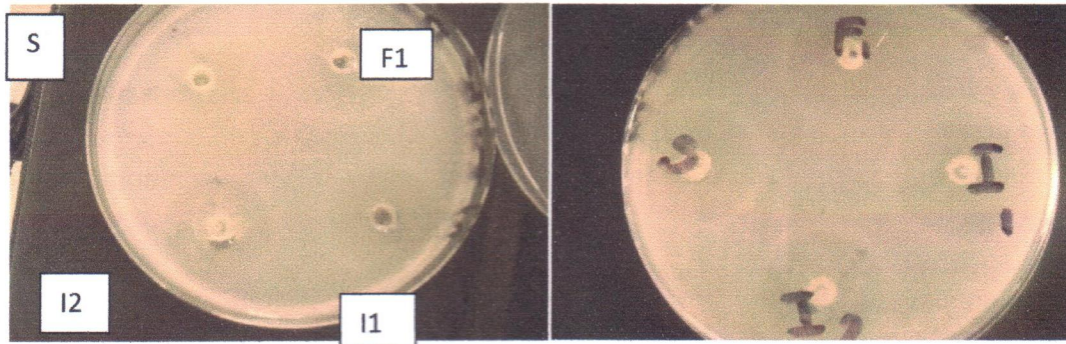


Photo 17 : Activité inhibitrice de surnageant natif sur *S.aureus* et *B. subtilis*.

La fraction extracellulaire correspondant au surnageant présente un fort pouvoir antibactérien, ce qui confirme la production d'agents antimicrobiens par les ferments lactiques dans le milieu. Plusieurs études ont montré que la fraction extracellulaire contient des substances responsables de cette interaction (Metlef et Bouras, 2009).

Les lactocoques sont capables de produire deux substances majeures (acide lactique et bactériocines) responsables de l'effet antagoniste. Les bactéries lactiques hétérofermentaires peuvent produire des quantités notables d'acides organiques autres que l'acide lactique et c'est le cas des *Leuconostocs* qui produisent autant d'acétate que de lactate. L'acide acétique exerce une forte action inhibitrice à l'encontre de nombreux microorganismes (Bourgeois et Larpent, 1996).

Il a été démontré que les acides organiques peuvent exercer une action inhibitrice spécifique, et d'autre part, l'activité inhibitrice de nombreux autres agents à savoir le peroxyde d'hydrogène, l'éthanol, le CO₂, les antibiotiques et les bactériocines a été également mise en évidence (Kos et al., 2003).

• Effets des surnageants neutralisés

Après élimination de l'effet des acides organiques, les surnageants neutres ont été testés pour leur activité inhibitrice contre les germes tests. Les résultats sont résumés dans le tableau 12.

Tableau 12 : Activité inhibitrice des surnageant neutralisés (diamètres des zones d'inhibition mm).

	<i>P. aeruginosa</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>K. oxytoca</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Salmonella</i>	<i>E. coli</i>
F1	06	08	06	32	09	09	12
I1	07	06	06	30	10	06	12
I2	10	06	06	30	07	07	13
S	07	04	06	26	07	07	11

Le surnageant neutralisé des ferments présentent une activité antimicrobienne contre les autres souches mises au test, d'où l'apparition des zones d'inhibition d'un diamètre compris entre 4 et 32 mm. La photo montre l'activité inhibitrice des surnageants neutralisés des souches.

Après la neutralisation des acides organiques et particulièrement l'acide lactique il y a eu lieu de constater une présence de l'activité inhibitrice des surnageant et cela nous laisse supposer que le facteur d'inhibition n'est pas les acides organiques produits par nos ferments lactiques.

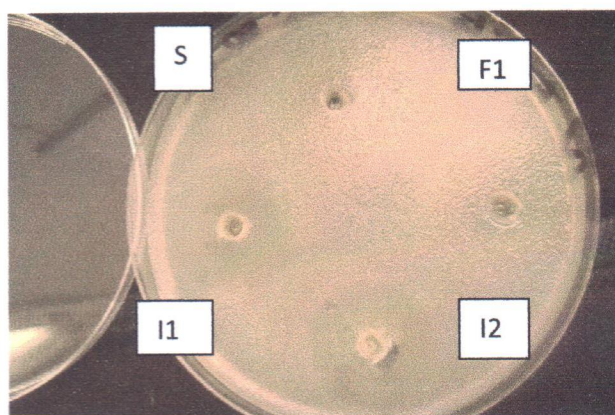


Photo 18 : Activité inhibitrice du surnageant neutralisé sur *B. subtilis*.

L'utilisation de ferments lactiques capables de produire des substances antimicrobiennes comme les bactériocines, pourrait permettre d'améliorer la qualité et la sécurité des aliments fermentés (Baliarda, 2003).

- **Effet de surnageant traité par les enzymes**

Après utilisation de surnageant neutralisé et l'apparition des zones d'inhibition, nous constatons que l'effet inhibiteur de surnageant est due soit au peroxyde d'hydrogène ou bien a l'effet des bactériocines produites par nos ferments lactiques.

Pour cela nous avons essayé de traité les surnageants avec une gamme d'enzymes, les résultats de ce test sont groupés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 13 : Activité des surnageants traités par les enzymes (diamètres des zones d'inhibition cm).

	α -Amylase		Présure (chymosine)		Trypsine	
	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>
I1	2.5	3.5	2.5	3.5	2.5	3.5
I2	2.5	3.5	2.5	3.5	2.5	3.5
F1	2.5	3.5	2.5	3.5	2.5	3.5
S	02	3.5	02	3.5	02	3.5

D'après les résultats du tableau, le test montre une activité inhibitrice des surnageants traités par les protéases. Les diamètres des zones varient entre 2 et 3,5 cm avec les deux souches *S. aureus*, et *B. subtilis*. Cela nous laisse écarter l'hypothèse de la présence de bactériocine, alors l'activité inhibitrice de surnageant peut être due au peroxyde d'hydrogène.

A cause de la non disponibilité de l'enzyme catalase au sein de nos laboratoires, nous ne pouvons plus essayer de répondre à cette question, est ce vraiment, l'activité inhibitrice de nos ferments est liée à la production de peroxyde d'hydrogène?



Photo 19 : Activité inhibitrice de surnageant traité par les protéases avec *B. subtilis* et *S. aureus*.

III.2.7. Résistance aux antibiotiques

Les résultats de la résistance et la sensibilité des ferments aux antibiotiques sont groupés dans le tableau 14. Les souches présentant un diamètre de zone d'inhibition supérieur à 15mm sont considérées comme sensibles.

Tableau 14 : Résultats de la résistance et la sensibilité aux antibiotiques.

Amoxycilline (A30), Colistine (C50), Acide Pipémidique (P50) et Céfotaxime (F30)
S : sensible ; R : résistant

Ferments	P10	A10	C5	F30
F1	(R)	(S)	(R)	(S)
I1	(R)	(R)	(R)	(R)
I2	(R)	(S)	(R)	(S)
S	(R)	(R)	(R)	(R)

Les résultats obtenus montrent que les ferments F1 et I2 ont une sensibilité à deux antibiotiques testés (Amoxycilline et Céfotaxime), mais présentent une résistance aux autres antibiotiques (acide Pipémidique et Colistine). Alors les deux autres ferments I1 et S, présentent une résistance vis -à- vis de tous les antibiotiques.

Plusieurs études ont montré la résistance naturelle d'une gamme importante de bactéries lactiques aux antibiotiques (Botes et al., 2008). La résistance de souches de *Leuconostoc* sp. à la Vancomycine, Gentamicine et la Chloramphénicol a été bien élucidée (Ogier et al., 2008). De

même que pour des espèces de *Lactococcus lactis* qui ont présentées une résistance à l'Ampicilline et la Vancomycine (Donohue, 2004).

Il est nécessaire avant de lancer une culture d'amorçage ou un produit probiotique de vérifier que les souches bactériennes impliquées ne contiennent pas des gènes de résistance aux antibiotiques (Ammor et Mayo, 2007). Mais, selon Donohue (2004), le criblage de telles souches pour la reconstitution de ferments lactiques n'est pas encore entrepris actuellement, à cause de la difficulté de l'évaluation *in vivo* du potentiel de transfert de gènes de résistance.

D'après ces résultats, nous pouvons dire que les ferments mixtes sélectionnés présentent des bonnes aptitudes technologiques similaires à celles du ferment industriel.

III.3. Fabrication du yaourt

La mise en œuvre et la commercialisation d'un nouveau produit nécessite, de nombreux essais à l'échelle industrielle. La performance d'un ferment est estimée par la réalisation de fabrications, tout d'abord en laboratoire ou micro fabrications, sur de faibles quantités de matières premières. Lorsque le ferment semble satisfaisant, il est ensuite testé à l'échelle pilote, avec des quantités plus importantes de matières premières et un procédé plus proche d'une production industrielle. Les caractéristiques des produits finis ainsi fabriqués sont alors évaluées et comparées avec celles d'un même produit témoin, préparé avec un ferment de référence (Luquet et Corrieu, 2005).

III.3.1. Le produit fini

Dans cette partie deux échantillons de yaourt ont été fabriqués, l'un à base du ferment locale F1, et l'autre à base du ferment industriel S.

Le yaourt fabriqué a été emballé dans des boîtes, d'un poids net de 90±5g, nous lui avons attribué également un label « IMALAIT ». Nous signalons que nous avons pris en considération les points suivants : Confection et choix d'un emballage adéquat à notre produit, renseignements sur les composants du produit y compris un code à barre (photo 20).



Photo 20 : Aspect des boites de yaourt fabriqué.

III.3.1.1. Acidité titrable et nombre de cellules viables au cours de la fabrication

- **L'acidité au cours de la fermentation**

Les résultats de la production d'acide lactique par le ferment dans les deux yaourts sont présentés dans La figure 08 qui illustre l'évolution de l'acidité en degré dornic des deux yaourts.

D'après le Figure, Les souches des ferments utilisés produisent des quantités variables en acide lactique, de l'ordre de 12.16 g/l pour le cas de yaourt à base du ferment locale **YFL**, de 12.43 g/l pour le yaourt à base du ferment industriel **YFI** durant les quatre heures de fermentation.

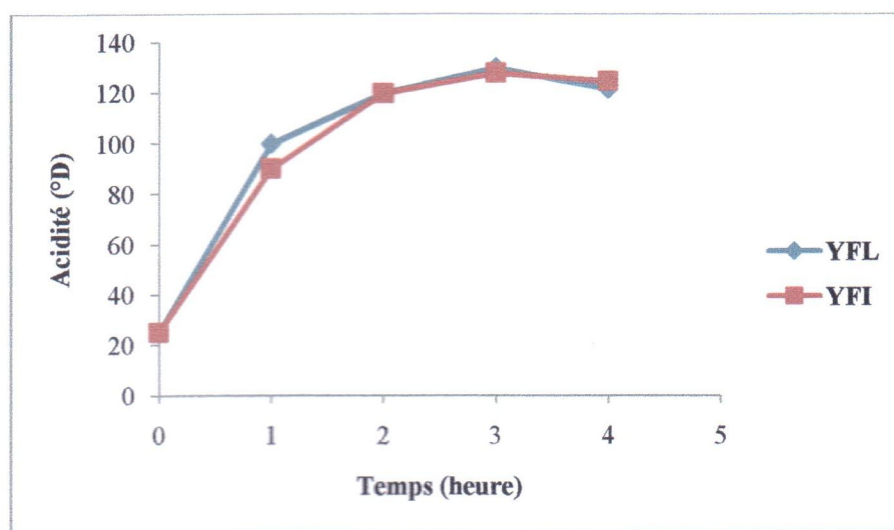


Figure 07 : Evolution de l'acidité des deux yaourts au cours de la fermentation.
YFL : Yaourt à base du ferment local ; YFI : Yaourt à base du ferment industriel.

D'après la figure, le yaourt **YFL** produit des quantités proche en acide lactique comparativement au yaourt **YFI**. Pour les deux yaourts, nous avons noté une baisse de l'acidité à partir de la troisième heure de fermentation. Ceci peut s'expliquer par un ralentissement de l'activité du ferment sous l'action des conditions de fermentation.

- **Comptage des cellules viables du ferment au cours de la fermentation**

Le tableau 15 montre l'évolution du nombre des cellules viables au cours de la fermentation du yaourt (étuvage).

Tableau 15 : Evolution du nombre de cellules viables au cours de la fabrication du yaourt
YFL : Yaourt à base du ferment local ; YFI : Yaourt à base du ferment industriel.

Temps	YFL (cellules/ ml)	YFI (cellules/ ml)
T0h	15×10^{12}	18×10^{12}
T1h	45×10^{12}	47×10^{12}
T2h	48×10^{12}	58×10^{12}
T3h	40×10^{12}	45×10^{12}
T4h	36×10^{12}	40×10^{12}

YFL : Yaourt à base du ferment local ; YFI : Yaourt à base du ferment industriel.

A partir de la figure 08, nous remarquons que le nombre de cellules viables des ferments a enregistré une augmentation remarquable au cours des premières heures d'étuvage pour les deux yaourts, cette augmentation se poursuit jusqu'à la troisième heure où elle commence à diminuer.

Cette évolution des courbes est due certainement à la multiplication des bactéries composant les ferments. Ces courbes correspondent effectivement à une courbe de croissance d'une cellule bactérienne. Cependant, une fois les produits du métabolisme sont accumulés dans le milieu, il y aura une auto inhibition qui se répercute sur le nombre de cellule comptabilisé, d'où ce déclin de nos courbes.

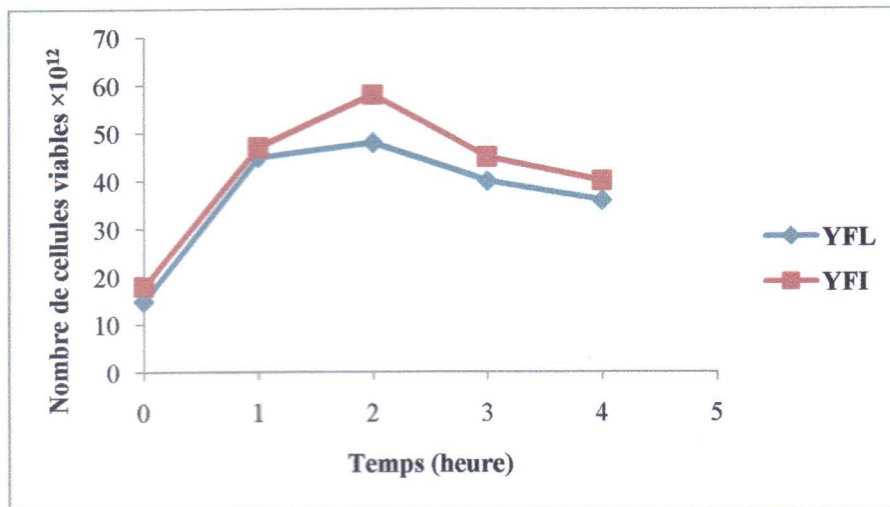


Figure 08 : Evolution du nombre de cellules viables des ferments au cours de la fermentation
YFL : Yaourt à base du ferment local ; YFI : Yaourt à base du ferment industriel.

III.3.2. Qualité physico-chimique du yaourt élaboré

III.3.2.1. pH et acidité

Le pH traduit la concentration en ions H^+ ou l'acidité actuelle (Sina, 1965). Il est l'un des paramètres physico-chimiques pour prédire l'aptitude des produits laitiers à la conservation (Kodior, 2005).

D'après les résultats du tableau 16, il ressort que les pH des deux types de yaourt sont acides, une diminution de pH pendant la période de conservation est notée pour les deux yaourts YFL et YFI. A T_{j0} les deux yaourts ont pris les valeurs de 4.58 et 4.40 pour le yaourt YFL et YFI respectivement. Après 10 jours (T_{j10}), le pH atteint les valeurs de 4.25 et 4.19 pour les deux yaourts. La diminution la plus marquée est celle du yaourt YFL. Cette acidité est due à la fermentation du lactose en acide lactique par les ferments (Sina, 1965). Les différences entre les valeurs de pH et de l'acidité dornic des yaourts étaient non significatives ($P > 0.05$).

Tableau 16 : Résultat de pH et d'acidité dornic des yaourts.

Yaourt	pH T_{j0}	A°D T_{j0}	pH T_{j10}	A°D T_{j10}
YFL	4.58±0.07	121.66±2.88	4.25±0.19	61.66±7.63
YFI	4.40±0.10	124.33±9.29	4.19±0.02	73.33±2.88

Les résultats des travaux de **Bonfoh et al. (2002)** sur les produits laitiers en saison chaude à Bamako, ont montré un pH de $4,3 \pm 0,5$ pour le yaourt.

Par comparaison, nos échantillons de yaourts fabriqués ont un pH supérieur à ceux obtenus par **Vanassche (1989)** qui sont d'environ 4.2. **Luquet et Corrieu (2005)**, notent un pH de 3.9 à 4.6 pour le yaourt.

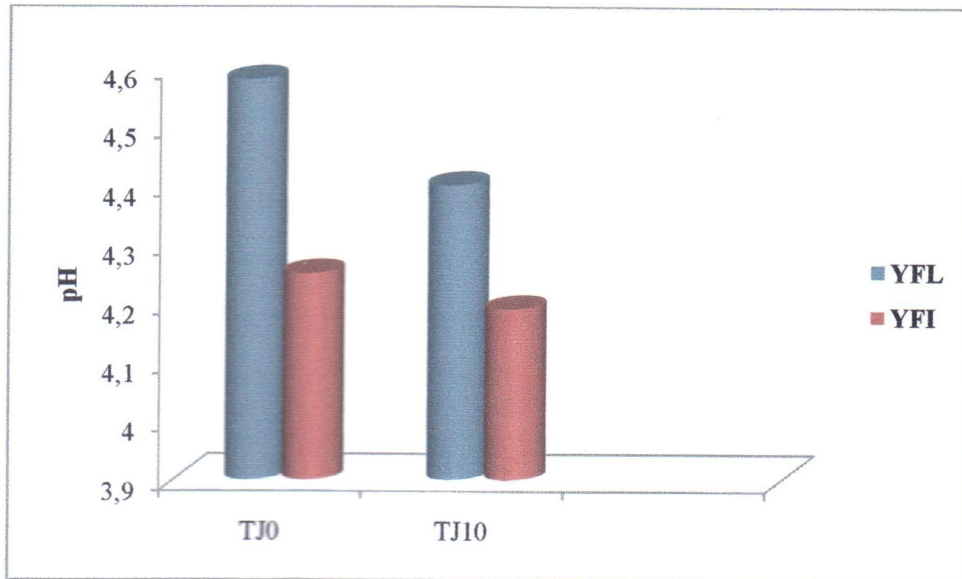


Figure 10 : Evolution du pH des yaourts

YFL : Yaourt à base du ferment local ; YFI : Yaourt à base du ferment industriel.

D'après la figure 10, nous avons remarqué une diminution progressive pendant la période de conservation. A T_{j0} , les valeurs atteignent les valeurs de 121.66°D et 124.33°D pour le yaourt YFL et YFI respectivement, ces deux valeurs diminuent après les 10 jours (T_{j10}) pour atteindre les valeurs de 61.66°D et 73.33°D pour les deux yaourts. Cet abaissement du degré dornic est le résultat du froid qui stoppe l'activité acidifiante des streptocoques.

Le produit que nous avons obtenu est assez riche en acide lactique, ce qui peut présenter plusieurs intérêts nutritionnels et thérapeutiques, comme il a été rapporté par **Aubert (1985)**. L'acide lactique exerce un effet bactériostatique vis à vis des germes pathogènes au niveau de l'intestin. L'acide lactique est également un désinfectant naturel.

Cependant, **Béal et Sodini (2003)** ont rapporté que la teneur minimale d'un yaourt en acide lactique est de 0.7%, alors que **Favier (1991)** montre une valeur de 1% d'acide lactique pour le yaourt aromatisé. **Gramech et Chandan (1989)**, ont rapporté que lors de la vente au consommateur la quantité d'acide lactique ne doit pas être inférieure à 0.8%. Tandis que la norme élaborée par le *codex alimentarius* (2011) était précise, un minimum de 0.6%. La comparaison de nos résultats avec les travaux de ces auteurs, indique que notre produit est conforme et répond également à la norme de codex.

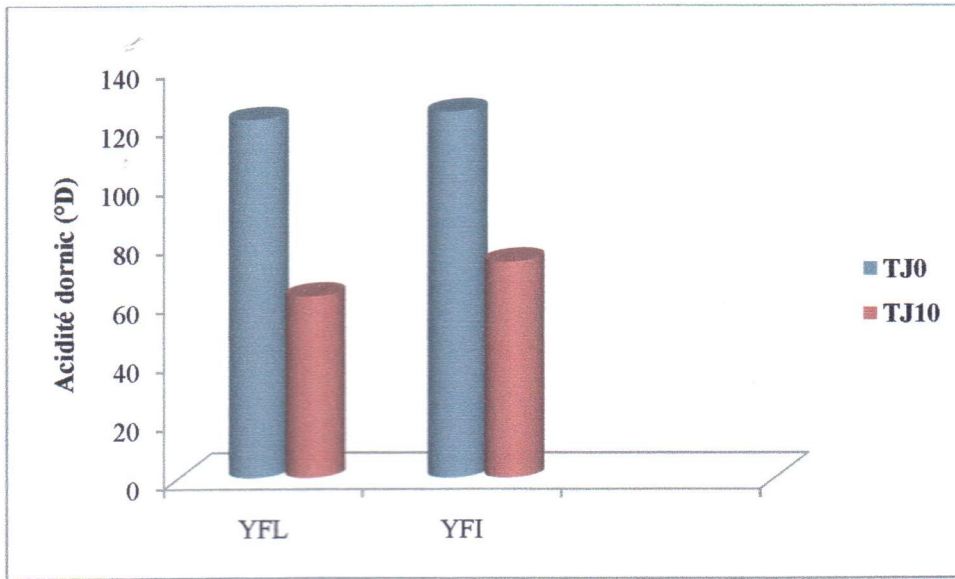


Figure 10 : Acidité dornic (°D) des yaourts

YFL : Yaourt à base du ferment local ; YFI : Yaourt à base du ferment industriel.

III.3.2.2. Indice de synérèse des yaourts

L'un des défauts le plus apparent et le plus fréquemment retrouvé dans le yaourt est la synérèse. Phénomène indésirable, la synérèse se traduit par une expulsion du lactosérum de la matrice protéique, qui tend alors à remonter en surface du gel. Ce défaut est directement remarqué par le consommateur lors de l'ouverture d'un pot de yaourt (Lucey, 2004 ; Amatayakul et al., 2006).

Les résultats d'évaluation de la synérèse provoquée par centrifugation sont présentés dans le tableau 17. En effet, l'indice de synérèse mesuré pour les yaourts était de 11.6% dans le cas du témoin YFI, alors qu'il s'élevait jusqu'à 17.8% pour le yaourt YFL.

Tableau 17 : Indice de synérèse des yaourts

YFL : Yaourt à base du ferment local ; YFI : Yaourt à base du ferment industriel.

Yaourt	YFL	YFI
Indice de synérèse (%)	17.8	11.6

Divers changements dans les procédés de fabrication peuvent être responsables des défauts de synérèse. Ils peuvent survenir par exemple lorsque la fermentation est trop rapide ou que la température d'incubation est trop élevée. Une standardisation du mélange laitier inadéquate, reflétée par une teneur faible en solides totaux, peut aussi induire la séparation du sérum à la structure solide. L'homogénéisation du mélange, de par son effet stabilisant sur les protéines, permet de prévenir ce type de défauts (Green, 1989; Lagoueyte et al., 1994).

III.3.2.3. Humidité et Matière sèche

Les résultats obtenus sont illustrés par les figures 12 et 13. Selon Dehov, (1974), l'extrait sec ou matière sèche d'un yaourt désigne tous ses constituants outre que l'eau. Il doit être au moins égale à l'extrait sec d'un lait normale. (les résultats chiffrés sont rapportés dans l'annexes 07.

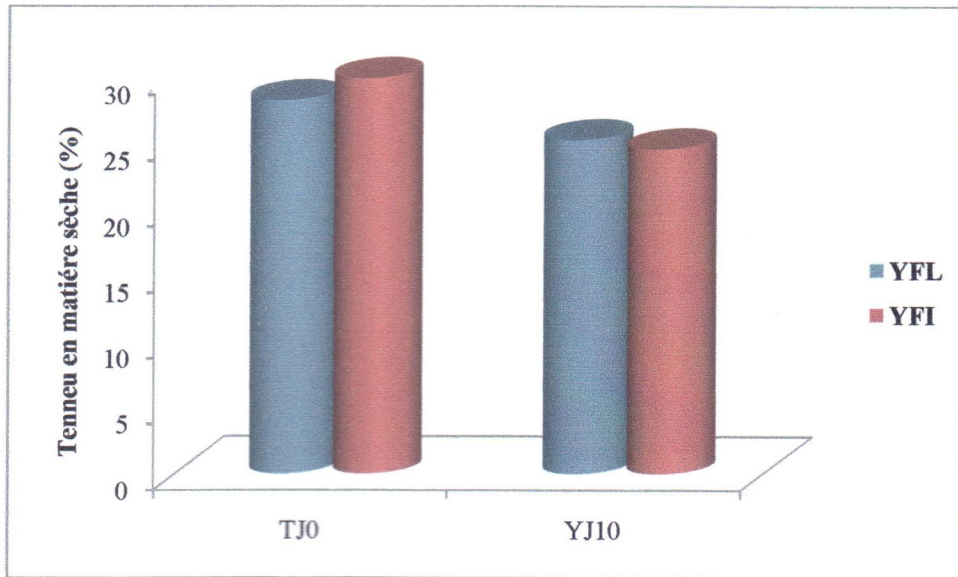


Figure 11 : Teneur en matière sèche des yaourts

YFL : Yaourt à base du ferment local ; YFI : Yaourt à base du ferment industriel.

A T_{j0} , nous marquons une teneur de 28.33 et 30% pour le yaourt YFL et YFI respectivement. La teneur en matière sèche, qui est plus de 24%, est jugée comme élevée pour les deux échantillons de yaourt. Ceci s'explique par l'ajout de sucre (le saccharose) et du lait écrémé en poudre.

Après les dix jours de stockage (T_{j10}), nous avons noté une perte en teneur de l'extrait sec pour les deux yaourts YFL et YFI, qui atteint 25.33 et 24.66% respectivement. Cette perte peut être d'origine biochimique : la libération des sucres simples et leurs oxydation conduit à l'apparition des produits de la réaction (CO_2 et H_2O) ; le premier (le CO_2) à un rôle bactériostatique vis-à-vis des souches aérobies et le deuxième (H_2O) favorise le développement des microorganismes ce qui peut influencer défavorablement les souches de ferment et conduire à l'altération du produit durant la période de stockage.

Il est à signaler que la teneur en matière sèche d'un yaourt est augmentée par les opérations de poudrage, de sucrage ou de concentration du lait par évaporation.

Khan *et al.* (2008) ont obtenu des teneurs en solides totaux du yaourt dans différentes marques qui sont incluses dans l'intervalle de 13.00 à 17.00%

D'après ces résultats, il apparaît d'une part que le taux de matière sèche de nos échantillons est comparativement plus élevé à celui obtenue par Khan *et al.* (2008) et celui obtenue par Nongonierma *et al.* (2006) dans un yaourt à 0% de matière grasse (14.4%) et un yaourt à 5% de matière grasse (19.4%)

Pour les yaourts à 0% et à 5% de matière grasse additionné de sirops de sucre les teneurs en extrait sec total sont respectivement de 20.8 et 25.1% (Nongonierma *et al.*, 2006).

Selon le code et les principes FAO/OMS, la teneur minimale en matière sèche est de 8.2% et l'augmentation de cette teneur donnera lieu à un coagulum du yaourt plus ferme (Bylund, 1995).

A partir de la teneur recommandée par FAO/OMS, nos échantillons de yaourt sont riches en matière sèche. La différence entre les deux yaourts est non significative ($P > 0.05$).

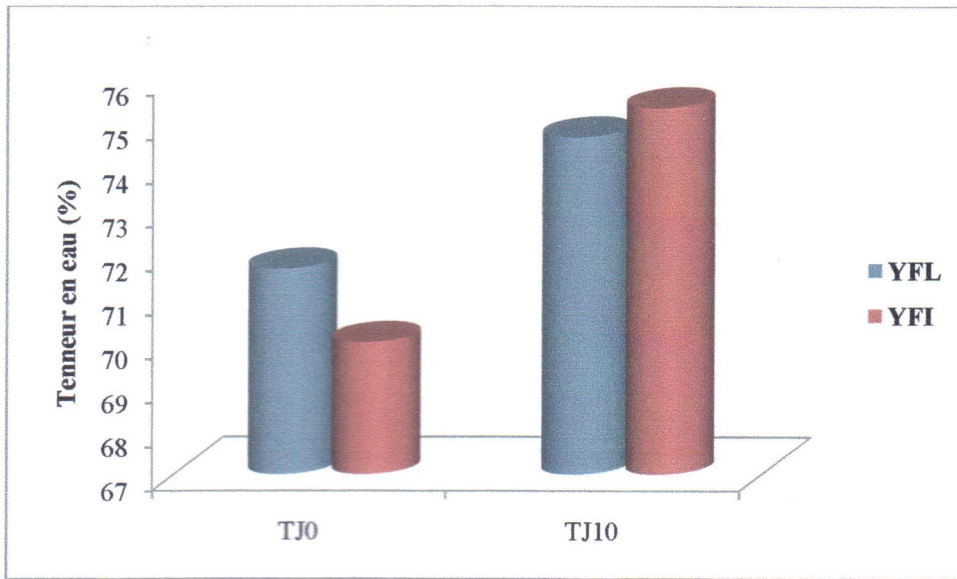


Figure 12 : Teneur en eau des yaourts

YFL : Yaourt à base du ferment local ; YFI : Yaourt à base du ferment industriel.

Concernant la teneur en eau, la figure 12 a montré que le taux d'humidité des deux échantillons est de 71.67 et 70% à (T_{j0}), mais au bout de 10 jours de conservation (T_{j10}), elle atteint 74.67% et 75.34% pour les deux yaourts. Nous remarquons que la teneur en eau des yaourts fabriqués varie d'une façon croissante pendant l'entreposage, cette augmentation est en relation avec la diminution de la teneur en matière sèche et du cendres du yaourt, elle peut être due aussi aux conditions du stockage (humidité relative de réfrigération) et à l'activité du ferment lactique.

Selon Tome (2002), le taux de l'humidité est le principal composant du yaourt et représente 80% jusqu'à 90% du poids net du yaourt.

En comparant nos résultats avec ceux du Tome (2002), nous constatons que la teneur en eau de notre échantillon est hors l'intervalle.

III.3.2.4. Matière minérale et organique

Les résultats obtenus sont illustrés par les figures 13 et 14. Les teneurs en cendres et en matière organique pour les deux yaourts ne présentent aucune différence significative ($P > 0.05$).

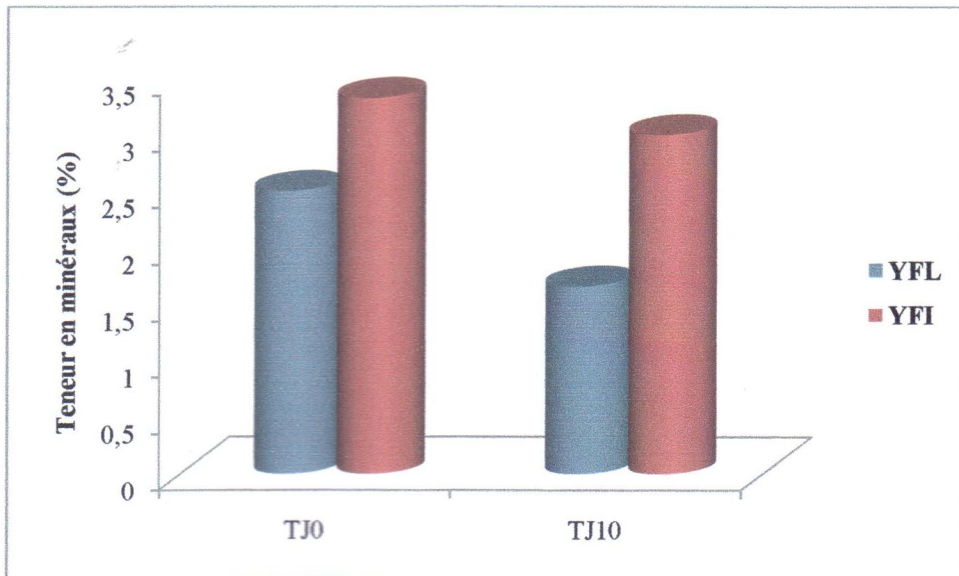


Figure 13 : Teneur en matière minérale des yaourts

YFL : Yaourt à base du ferment local ; YFI : Yaourt à base du ferment industriel.

Le taux de cendre représente la quantité totale en sels minéraux présents dans le yaourt. Nous constatons que le yaourt **YFI** est le plus riche en élément minéraux (3.33%) comparativement au yaourt **YFL** (2.5%). Cette teneur est diminuée durant la période de stockage.

Nos résultats sont supérieurs à ceux trouvés par **Ozer et al. (1998)** qui ont trouvé des valeurs comprises entre 0.98 et 1.30% pour des yaourts fabriqués à base d'un lait concentré par ultrafiltration.

Les travaux de **Barrantes et al. (1996)** sur quelque types de yaourts ont conduit à une teneur en cendres allant de 1.11 à 1.16%. Cependant **Isanga et Zhang (2009)** ont enregistré un taux de 0.61% pour le yaourt au lait d'arachide et 1.1 pour le yaourt au lait de vache. Alors **Chibane (2007)** a trouvé des teneurs en cendres de 0.71% pour le yaourt nature.

Cestaro (2000) a obtenue une teneur de 0.7% en matière minérale pour un yaourt préparé à partir de lait de vache entier, et de 0.72% dans le cas d'un yaourt issu d'un lait partiellement écrémé et aussi de 0.75% pour le yaourt fabriqué avec un lait écrémé.

D'après ces travaux, nos échantillons ont des pourcentages en matière minérale plus élevés à ceux obtenus par ces auteurs. Mais ils sont inclus dans l'intervalle des cendres des produits laitiers (0.5-5.1%) (**Ibrahim et Atef, 2002**).

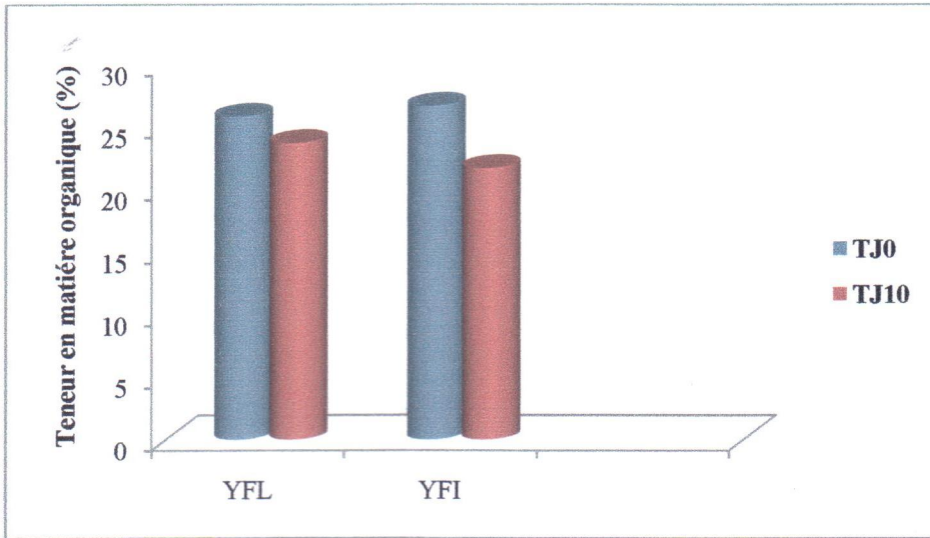


Figure 14 : Teneur en matière organique des yaourts

YFL : Yaourt à base du ferment local ; YFI : Yaourt à base du ferment industriel.

Du fait que la matière organique est l'une des composants de la matière sèche, donc sa variation est relative à celle de cette dernière, elle est étroitement liée à la matière sèche et minérale, les résultats obtenus ont montré la similarité des produits concernant la teneur en matière organique.

III.3.2.5. Matière grasse

Les résultats concernant la matière grasse illustrés par la figure 15, montrent des valeurs de 1.81 et 1.22 % pour les deux yaourts, où le yaourt YFL présente un pourcentage légèrement supérieur à 1.8%. Les teneurs en matière grasse sont en désaccord avec ceux enregistrés par Kumar et Mishra, (2004) qui ont noté une teneur de 3%.

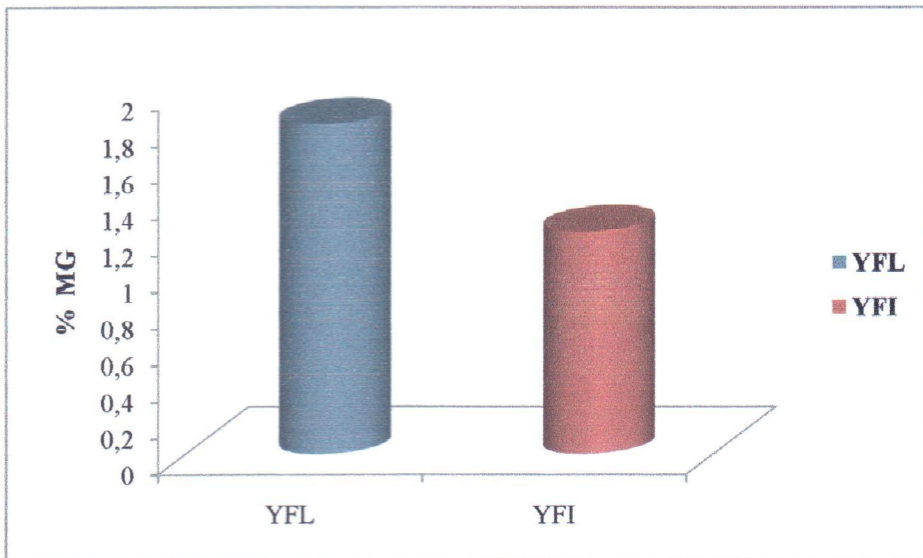


Figure 15 : Teneur en matière grasse des yaourts

YFL : Yaourt à base du ferment local ; YFI : Yaourt à base du ferment industriel.

Selon le *Codex Alimentarius* (2011) et J.O.R.A (1998), la matière grasse doit être comprise entre 3 et 6% dans le cas de yaourt entier (nature, édulcoré, aromatisés ou avec des fruits), elle est aussi entre 0.15% et 3% dans le cas de yaourt partiellement écrémés (naturel, édulcoré, aromatisés ou

avec des fruits), et varis aussi entre 0.05 et 0.15% pour le yaourt écrémé. Par comparaison, nous pouvons dire que nos résultats sont conformes avec la norme du *Codex Alimentarius*.

III.3.2.6. Matière protéique

Les résultats du tableau 18 montrent que les deux yaourts ont une teneur égale en protéine (10.76%).

Tableau 18 : La fraction azotée des yaourts.

	Teneur en azote (%)	Teneur en protéines (%)
YFL	1.67	10.76
YFI	1.67	10.76

Cela peut être dû au type de lait utilisé (lait UHT) qui est le plus riche en protéines, voir aussi la standardisation par la poudre de lait écrémé.

D'après les résultats, la teneur en protéine de nos échantillons sont nettement supérieures à celles notées par *Barrantes et al. (1996)* (5.3-5.4%). Alors les résultats des études menées par *Katsiari et al. (2002)* élucident une teneur en protéines de 5.85%.

Selon le *Codex Alimentarius (2011)*, le yaourt doit contenir au minimum 2.7% de protéines, par comparaison, nos résultats sont conformes à la norme en vigueur.

Le développement microbien intensif succède généralement une phase pendant laquelle les bactéries lactiques sont lysées et libèrent dans le milieu leurs enzymes intracellulaires dans des conditions favorables de pH et de température, celles - ci sont alors susceptibles d'intervenir dans le processus de dégradation des constituants du caillé, notamment de la caséine (*Tourneur, 1972 ; Donkor et al., 2007*).

III.3.3. Qualité microbiologique

Le tableau 19 résume l'ensemble des résultats de l'analyse microbiologique effectuée sur les deux yaourts YFL et YFI.

Tableau 19: Les résultats de l'analyse microbiologique des yaourts durant la conservation.

Les germes recherchés	YFL (UFC/ml)		YFI (UFC/ml)		Norme Algérienne (UFC/ml)
	(T _{j0})	(T _{j10})	(T _{j0})	(T _{j10})	
CT	00	00	00	00	10
CTT	00	00	00	00	01
Levures et moisissures	00	00	00	00	≤10 ²
<i>S. aureus</i> (UFC/ml)	00	00	00	00	10
Bactéries lactiques	13×10 ⁷	3×10 ⁷	17×10 ⁷	9×10 ⁷	>10 ⁷

Les résultats des analyse microbiologiques des deux yaourts montrent clairement leur parfaite conformité aux normes, cette conformité est probablement liée:

- A la bonne pratique d'hygiène et la propreté de l'ambiance environnante lors de la production ;
- Au respect du processus technologique notamment la pasteurisation et la stérilisation de la matière première ;
- Au rôle inhibiteur exerçant par les bactéries lactiques envers les différentes flores par le biais de leurs produits métaboliques comme :
 - L'acide lactique;
 - Bactériocines;
 - L'eau oxygénée produite par *Lactobacillus bulgaricus*

Cependant, il se peut que la durée de conservation du yaourt fût insuffisante pour qu'il y soit apparition des germes d'altération. Les résultats concernant la flore lactique sont aussi conformes aux normes.

Les résultats obtenue sont justifiés par Bourgeois et Larpent (1996) qui rapportent que : Le traitement thermique du lait avant la fabrication était suffisant pour réduire le nombre des microorganismes pathogène sporulés ou non, alors la présence de ces germes ne peut être qu'accidentellement, mais il est à noter qu'un yaourt à un pH inférieur ou égal à 4.5, contenant 1% d'acide lactique ce qui le rend un milieu hostile pour les germes pathogènes. En ce qui concerne les microorganismes non pathogènes, les levures et les moisissures sont capables de se développer dans le yaourt.

D'autre part et partant du principe que le yaourt est un produit vivant, il ressort qu'au sein de notre produit, règne une flore abondante, la flore lactique est la plus dominante.

Concernant les germes recherchés, on conclut que notre échantillon sont conformes aux normes en vigueur. Enfin, il ressort que nos produits sont d'une excellente qualité microbiologique. Donc nous pouvons dire alors que les deux yaourts fabriqués sont de bonne qualité.

III.3.4. Analyse organoleptique

Un produit alimentaire d'apparence laide n'a aucune chance d'être commercialisé, même si ses qualités gustatives sont exceptionnelles. Les épreuves hédonique doivent tenir compte de ce fait ; elles concernent l'étude des préférences et des aversions des consommateurs (Delvaux, 1992).

Le panel est constitué de 10 sujets, quatre femmes et six hommes, âgés de 22 à 26 ans. Les résultats des tests de dégustation des deux yaourts sont résumés dans le tableau 20. La photo 21 et 22 montre l'aspect visuel des yaourts élaborés.



Photo 21 : Yaourt YFL.



Photo 22 : Yaourt YFI.

Tableau 20 : Résultats du test de dégustation.

Yaourt		YFL	YFI	
Caractère				
Aspect De la surface	couleur	Belle	10	10
		mauvaise		
		acceptable		
	sérum	absent	9	8
		présent	1	2
	La texture	Consistance	Mou	
Ferme			10	10
Onctuosité		Oui	10	10
		Non		
légèreté		Léger	10	10
		Très léger		
La saveur	gout	Sucré	10	10
		Trop sucré		
		Pas du tous sucré		
	acidité	Moyenne	1	4
		Faible	4	
		Très faible	5	6
Autre saveur	Doux			
	Fruit			
L'odeur	L'odeur du yaourt	Nulle		
		Faible		
		Franche		
	Parfum identifié	Petit suisse 6 Nature 4	Petit suisse 10	

- **Aspect de la surface et la texture**

D'après les jurys de dégustation, les deux yaourts présentent une belle couleur. La couleur des yaourts est en relation avec le type de lait utilisé (écrémé ou non), concernant le lactosérum la majorité des dégustateurs ont caractérisé l'absence de lactosérum dans les pots des deux yaourts. Toutefois, ils se sont mis d'accord sur leurs texture: consistance ferme, onctueux et léger pour les deux types de yaourts.



Photo 23 : Aspect de la surface du yaourt YFL.



Photo 24 : Aspect de la surface du yaourt YFL.

- **L'odeur**

L'odeur des deux yaourts est une odeur typique et franche du yaourt à parfum de petit suisse (pour la majorité des dégustateurs).

- **La saveur**

A la bouche, les dégustateurs se sont mis d'accord sur le goût des yaourts décrits comme suit : Les deux yaourts ont un goût sucré, de saveur douce et une acidité qui varie entre faible et très faible.

Selon Demnati (2008), les propriétés organoleptiques du yaourt dépendent de divers facteurs tels que l'état sanitaire des ingrédients additionnées ; ainsi les phases successives de fabrication, de conditionnement et de conservation affectent la fraîcheur et la qualité du produit fini. Enfin l'opération de stockage du yaourt avant sa distribution au stade de la consommation favorise l'apparition de défauts éventuels.

D'après Fédéli (1997), la qualité finale d'un yaourt ne dépend pas uniquement des facteurs de production. En effet, pour un certains nombre de raisons (agronomiques, climatiques... etc.), le produit présente, outre une base de constituants aromatiques communs, des différences notoires, en matière de goût, si l'on ne considère que les aspects positifs et non les altérations éventuelles.

Naturellement, le caractère typique d'une production, de point de vue organoleptique, peut être une qualité et être accepté comme telle par un groupe de consommateurs. Par rapports à certains consommateurs, il arrive que la demande soit en contradiction avec le concept de typicité. En effet, certains groupes de consommateurs sont prêts à accepter des saveurs caractéristiques du produit, qui ne correspond peut être pas à certaines diversifications qui le rendent typique (Fédéli, 1997).

Les bactéries lactiques sont largement utilisées dans les procédés de fermentation agro-industrielles et présentent une parfaite innocuité. La découverte de leur action sur le lait fut probablement accidentelle mais leur utilisation fut perpétuée sous forme de ferments et elle est en développement continu.

Ce travail que nous avons entrepris avait pour objectif de mettre en place un groupe de ferments thermophiles locaux ayant des applications alimentaires. L'étude des aptitudes technologiques, et l'utilisation de l'un de ces ferments dans la fabrication d'un yaourt étuvé a été réalisée et en comparant avec celles d'un ferment industriel.

La confirmation de la pureté des ferments locaux et celui industriel a été réalisée, après une revivification, par une coloration de Gram. L'examen microscopique a montré que la totalité était des coques et des bacilles.

D'après les résultats des aptitudes technologiques, nous avons pu déduire qu'il existe des variations entre les ferments autant au niveau de l'activité acidifiante, protéolytique ainsi que texturante. Cela nous a permis de conclure que le ferment local codé F1 a présenté les meilleures fonctionnalités technologiques comparativement avec le ferment industriel.

Les résultats fournis par l'étude des activités antibactériennes des ferments locaux F1, I1, I2 ainsi du ferment industriel S, sont particulièrement intéressants. Les résultats ont montré une nette inhibition des souches indicatrices par nos ferments thermophiles, ainsi nous avons obtenu les mêmes résultats avec le surnageant : natif, neutralisé ou traité par les protéases. Cependant une résistance modérée aux antibiotiques a été enregistrée.

Enfin, l'utilisation d'un ferment locale (F1) dans la fabrication d'un yaourt étuvé, nature, sucré a permis l'obtention de meilleurs résultats avec des qualités physicochimique, microbiologique et sensorielle du produit fini acceptables comparativement au yaourt à base du ferment industriel où aucune différence significative ($P > 0.05$) n'a été marquée. Il faut noter :

- Une bonne acidification du produit fini (pour les deux yaourts) ;
- Une teneur en matière sèche plus élevée pour le yaourt à base du ferment industriel (30%) qu'à celle du yaourt à base du ferment locale (28.33%) ;
- Une parfaite conformité aux normes concernant la qualité microbiologique des deux yaourts ;
- La qualité organoleptique de deux yaourt, testée par le jury de dégustation sur un ensemble de caractères, est cotée bonne où ils ont lui attribué une couleur belle, une consistance ferme avec un parfum petit suisse.

Donc il reste à dire que nos ferments thermophiles locaux sont aptes à servir comme starter en yaourterie.

A-B

- **Allouch F.N., Hellal A. et Laraba A. (2010).** Etude de l'activité antimicrobienne des souches de lactobacilles thermophiles utilisées dans l'industrie laitière. *Revue Nature et Technologie*.7 : 13-20.
- **Amatayakul, T., Sherkat F., Shah, N.P. (2006a).** Syneresis in set yogurt as affected by EPS starter cultures and levels of solids. *International Journal of Dairy Technology* **59**:216 - 221.
- **Amiot J., Fournier S., Leboeuf Y., Paquin P. et Simpson R. (2002).** Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait. In : Science et technologie du lait (Vignola C.L.). Ed : *Presses Internationales Polytechniques*. Québec. 1-73.
- **Ammor M.S. et Mayo B. (2007).** Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production. *Meat Science*. **76** : 138- 146.
- **Ammor S., Tauveron G., Dufor E. et Chevalier I. (2006).** Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility 1-Screening and characterization of antibacterial compound. *Food Control*. **17**: 454- 461.
- **AOAC. (2000).** Association of official analytical chemists official methods of analysis. Ed: . Washington.
- **Aslam S. et Qazi J.I. (2010).** Isolation of acidophilic lactic acid bacteria antagonistic to microbial contaminants. *Pakistan Journal of Zoology*. **42**(5) : 567-573.
- **Baliarda A. (2003).** Evaluation la réponse au stress chez les bactéries lactiques appartenant aux genres *Pediococcus* et *Tetragenococcus*. Thèse de Doctorat. Université de Poitiers.
- **Barrantes E., Tamime A.Y., Sword A.M., Muir D.D. et Kalkb M. (1996).** The manufacture of set-type natural yoghurt containing different oils: Compositional quality, microbiological evaluation and sensory properties. *Dairy Journal*. **6** : 811-826.
- **Béal C. et Sodini I. (2003).** Fabrication des yaourts et des laits fermentés. In : Technique d'ingénieur, traité agro-alimentaire. *Tec et Doc, Lavoisier*. Paris. 63-15.
- **Béal C., Marin M., Fontaine E., Fonseca F. et Obert. (2008).** Production et conservation des ferments lactiques et probiotiques. In : Bactéries lactique, de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). *Tec et Doc, Lavoisier*. Paris. 661-765.

Références Bibliographiques

- **Bergamaier D. (2002).** Production d'exopolysaccharides par fermentation avec des cellules immobilisé de *Lactobacillus rhamnosus* RW-959M dans un milieu à base de permeat de lactosérum. Thèse de doctorat, université de Laval, Canada.
- **Bonfoh B., Fanté A., Traoré N.A., Coulibaly Z., Simbé C.F., Alfaroukh O. I., Nicolet J., Farah Z et Zinsstag J. (2002).** Qualité microbiologique de lait et des produits laitiers vendus en saison chaude dans district de Bamako au Mali. *Ed. Universitaires de Cote d'Ivoire-Mali.* 242-250.
- **Botes M., Van Reenen C.A. et Dicks L.M.T. (2008).** Evaluation of *Enterococcus mundtii* ST4SA and *Lactobacillus plantarum* 423 as probiotics by using a gastro- intestinal model with infant milk formulations as substrate. *International Journal of Food Microbiology.* 128 : 362- 370.
- **Boubchir L.K. (2011).** Effet de l'enrichissement (avec des concentrés de protéines laitières) et des paramètres technologique sur la qualité du yaourt fabriqué à la laitières SOMMAM D'AKBOU. Mémoire de magister. Université de Tizi Ouzou. 20.
- **Bourgeois C. M., Mescle J.F. et Zucca J. (1996).** Microbiologie alimentaire. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Tome1. *Tec et Doc, Lavoisier.* Paris. 62-248.
- **Bourgeois C.M. et Larpent J.P., 1996.** Microbiologie alimentaire : Aliments fermentés et fermentation alimentaire 2^{em} édition.
- **Branger A.(2007) . Richer M.M. et Roustel S., 2007.** Microbiochimie et alimentation. Educagri Edition. 166-168.
- **Bylund G. (1995).** Manuel de transformation du lait publié par tétra pak processing systems AB, Sweden. 122-300.

C-D

- **Carminati D., Giraffa G., Quiberoni A., Binetti A., Suárez V. et Reinheime J.(2010).** Advances and trends in starter cultures for dairy fermentations. *In: Biotechnology of lactic acid bacteria : Novel Applications* (Mozzi F., Raya R.R. et Vignolo G.M.). 177-192.
- **Cerning J. (1990).** Exocellula polysaccharide produced by lactic acide bacteria. *Microbioloy Revue.* 87:113-130.
- **Cestaro F. (2000).** Yoghurt forever: The Yogurt Encyclopaedia. *Ed. Roberto Flora.* 8-24.

Références Bibliographiques

- **Chamba F.J. (2008)**. Application des bactéries lactiques lors des fabrications fromagères. In: Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). *Tec et Doc, Lavoisier*. Paris. 787-813.
- **Charlier C., Cretenet M., Even S. et Le Loir Y. (2009)**. Interactions between *Staphylococcus aureus* and lactic acid bacteria: An old story with new perspectives. *International Journal of Food Microbiology*. **131**: 30-39.
- **Chibane H. (2007)**. Aptitudes technologiques de quelques variétés communes de dattes : - formulation d'un yaourt naturellement sucré et aromatisé. Thèse de doctorat, Université de Boumerdès.
- **Codex Alimentarius (2011)**. Lait et produits laitiers. OMS et ONUAA. 2^e Ed. 15.
- **Corrieu G. et Luquet F.M. (2008)**. Production et conservation des ferments lactiques et probiotiques. In : Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). *Tec et Doc, Lavoisier*. Paris. 661-766.
- **Cui R., Liu W., Qu X., Chen Z., Zhang X., Liu T. et Zhang L. (2012)**. A two component system is involved in acid adaptation of *Lactobacillus delbrueckii* subsp . *Bulgarius*. *Research Issue Intest Microbiogyl*. **167**: 253-261.
- **Dehove R.A. (1974)**. La réglementation des produits alimentaires : qualité et répression des fraudes .8^e Ed. Paris. Commerce Edition.
- **Delvaux A. (1992)**. Les épreuves sensorielles. *Ann. Gembloux*. **98**: 105-115.
- **Denohue D.C. (2004)**. Safety of novel probiotic bacteria. In: Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects (Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A.). 3^e Ed., *Marcel Dekker, Inc*. New York. 531- 546.
- **De Vuyst, L. et B. Degeest. (1999)**. Heteropolysaccharide from Lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*. **23**: 153-177.
- **Dieng M.(2001)**. Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits caillés industriels commercialisés sur le marché Dakarois. Thèse de doctorat. Université de Dakar. 14.
- **Doleyres Y.(2003)**. Production en conteneur du ferment lactique probiotique par la technologie des cellules immobilisé. Thèse de doctorat. Université de Laval. Quebec. 167.
- **Domenico C., Giorgio G., Andrea Q., Ana B., Viviana S., et Jorge R. (2010)**. Advances and trends in starter cultures for dairy fermentations. In: Biotechnology of lactic acid bacteria novel applications (Mozzi F., Raúl R.R. et Vignolo G.M.). *Wiley-Blackwell*. USA. 177-192.

Références Bibliographiques

- **Donkor O.N., Henriksson A., Vasiljevic T. et Shaha N.P. (2007).** Proteolytic activity of dairy lactic acid bacteria and probiotics as determinant of growth and in vitro angiotensin converting enzyme inhibitory activity in fermented milk. *INRA, EDP Sciences*. **86** : 21-38.

E-F

- **Edima H.C. (2007).** *Carnobacterium Maltaromaticum*: caractéristiques physiologiques et potentialités en technologie fromagère. Thèse de Doctorat. Institut National Polytechnique de Lorraine. 57-66.
- **El-Ghaish S., Ahmadova A., Hadji-Sfaxi I., El Mecherfi K.E., Bazukyane I., Choiset Y., Rabesona H., Sitohy M., Popov Y.G., A. Kuliev A., Mozzi F., Chobert J.M. et Haertlé T. (2011).** Potential use of lactic acid bacteria for reduction of allergenicity and for longer conservation of fermented foods. *Trends of Food Science Technology*. 1-8.
- **Favier J.C. (1991).** Composition du yaourt. *Orstom Fonds Documentaire*. 372-379.
- **Fernandez L., Beerthuyzen M.M., Brovvn J., Coolbear T., Holland R. et Kuipers O.P. (2000).** Clonig, caracterisazion, controlled over expression and inactivation of major tributyrin esterase gene of *Lactobacillus lactis*. *Applied and Envirenement Microbiology*. **66** :1360-1368.

G-H

- **Gagnon S. (2006).** Formulation et propagation de ferments lactique mesophiles à haut caractère aromatique. Thèse de doctorat. Université laval. 263.
- **Georges B. et Vincent M. (2009).** Laits et produits laitiers. Spécification technique de l'achat public : 27.
- **Gerrit S., Bart A.S. et Wim J.M.E. (2005).** Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. *FEMS. Microbiology Revue*. **29**: 591-610.
- **Gobbetti M., Minervini F. et Grizzello C.G. (2004).** Angiotensin-I-converting- enzyme-inhibitory and antimicrobial bioactiv peptides. *International Journal. of Dairy Technology*. **57**:173-188.
- **Gramech C. et Chandan P.D. (1989).** Yaourt: nutritionnel and health propertiers C.I.R. *CARASSO. Doc*. 108.
- **Grattepanche A. (2005).** Etude d'un système de perfermentation en continu du lait par une culture mixte immobilisée fonctionnelle. Thèse de doctorat. Université Laval. 260.

Références Bibliographiques

- **Guirad J.P. (2003).** Microbiologie alimentaire. *Tec & Doc, Dunod*. Paris. **50**: 90-292.
- **Guiraud J. et Gadzy P. (1980).** Analyse microbiologique dans les industries agroalimentaires. *Ed Usine Nouvelle*. 43.
- **Guiraud J.P. et Rosec J.P. (2004).** Pratique des normes en microbiologie alimentaire. *AFNOR*. 28-207.
- **Hansen E. (2011).** Approche microbiologique des yogourts et probiotiques. *Revue National Technologie*. **40** : 1-48.
- **Hariri A., Ouis N., Ahnoun F. et Djila B. (2009).** Mise en œuvre de la fermentation de certaines ferments lactique dans les milieux a base des extraits de caroube. *Revue Microbiologie. Ind. San et Environ*. **50** : 37-55.
- **Harnett G., Davey A., Patrick C. et Caddick L. (2011).** Lactic acid bacteria *Streptococcus thermophilus*: *Encyclopedia of Dairy Sciences*. 2^e Ed. 143-148.
- **Henry R. (2011).** Caractérisation des régulateurs transcriptionnels Rgg et étude du rôle de la protéine Rgg 0182 de *Streptococcus thermophilus*. Thèse de doctorat. Université Henri Poincaré.
- **Hermier et Accolas (1989).** Les yaourts et les laits fermentés dans microbiologie alimentaire. Les fermentations alimentaires. 2^e Ed. *Tec & Doc, Lavoisier*. Paris. 191-204.
- **Ho T.N.T., N. Tuan N., Deschamps A. et Caubet R. (2007).** Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) of the Nem Chua fermented meat product of Vietnam. *International Workshop on Food Safety and Processing Technology*. 134-142.
- **Hui Y.H., Meunier-Goddick L., Hansen A. S., Josephsen J., Nip., W. K., Stanfield P.S. et Toldrà F. (2004).** Yogourt and sour cream: operational procedures and processing equipments. Handbook of food and beverage fermentation technology. *Ed. Marcel Dekker Inc.* USA, 873: 159-182.

I-J

- **Idoui T. et Karam N.E. (2008).** Lactic acid bacteria from Jijel butter : isolation, identification and majour technological traits. *Grasas Y Aceites*. **59**(4): 361-367.
- **Idoui T., Boudjerda J., Leghouchi E. et Karam N.E. (2009).** Lactic acid bacteria from “Sheep’s Dhan”, a traditional butter from sheep’s milk: Isolation, identification and major technological traits. *Grasas Y Aceites*. **60**(2) : 177-183.
- **Isanga J. et Zhang G. (2009).** Production and evaluation of some physicochemical parametres of peanut milk yoghurt. *LWT- Food Science Technology*. **42**:1132-1138.

- **J.O.R.A. (1998).** Arrêté interministériel du 7 octobre 1998 relatif aux spécifications technique des yaourts et aux modalités de leur mise à la consommation.
- **Joffin C. et Joffin J.N. (1999).** Microbiologie alimentaire. *Ed. Centre Régional de Documentation Pédagogique d'Aquitaine.* 70-73.

K-L

- **Kadam P.S., Kale R.V. et Syed- Imran H. (2010).** Effect of different varieties of date palm past incorporation an quality characteristics of yogurt. *Journal of Dairy Science.* **4** (2): 12-17.
- **Katsiari M.C., Voutsinas L.P. et Kondyli E. (2002).** Manufacture of yoghurt from stored frozen sheep's milk. *Food Chemistry.* **77**: 413-420.
- **Khan K., Ur R., Khan A. et Fsher B. (2008).** Physical and chemical quality appraisal of commercial yoghurt brands sold at Lahor. *ARNP j. Agricultural and Biology Science.* 14-22.
- **Kodior A. (2005).** Qualité de produit laitiers de production industrielle et artisanale. Thèse de doctorat Université de Dakar. 25.
- **Korhonen H. et Pihlanto A. (2006).** Bioactive peptides :Production and functionality. *International of Dairy Journal.* **16**: 945-960.
- **Kos B., Suskovic J., Vukovic S., Simpraga M., Frece J. et Matosic S.(2003).** Adhesion and aggregation ability of probiotic strain. *Science Journal.* **94**: 981-987.
- **Kumar P. et Mishra H.N. (2004).** Yoghurt powder-a review of process technologigy, storage and utilization. *Trans Chemistry. E.* 133:142.
- **Lamprell H. (2003).** Production des entérotoxines dans les fromages en fonction de la diversité phénotypique et génétique des souches de *Staphylococcus aureus*. Thèse doctorat, Université de Bourgogne. 163.
- **Larpent J.P. ,(1991).** les ferments microbiens dans les I.A.A : produits laitiers et carnés. C.D.J.U.P.A. 185-194.
- **Lecoq R. (1965).** Manuel d'analyse alimentaire et d'expertise usuelles . 1^e Ed. *Doin Deren et Cie.* 241-251.
- **Lee W.J. et Lucey J.A. (2010).** Formation and Physical Properties of Yogurt. *Asian-Australian Journal of Animal Science.* **23**(9): 1127-1136.

Références Bibliographiques

- **Leroy F. et De Vuyst L. (2004).** Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science and Technology* . **15** : 67-78.
- **Leroy S., Lebert I., Chacornac J.P., Chevalier I. et Talon R. (2007).** Identification et caractérisation de la flore d'intérêt technologique : bactéries lactiques et staphylocoques à coagulase négative. *Science et Technologie des Produits Carnés*. **25** (5): 172.
- **Leveau J.Y., Boiux M. et De Roissart H.B. (1991).** La flore lactique: technique d'analyse et de contrôle dans les industries agro alimentaires. *2^e Ed., Tec & Doc, Lavoisier*. Paris. **3**: 2- 40.
- **Leveau J.Y. et Bouix M . (1993).** Microbiologie industrielle : les micro-organismes d'intérêt industriel coordonnateurs Technique documentation.
- **Lucey, J.A. (2004).** Cultured dairy products: an overview of their gelation and texture properties. *International Journal of Dairy Technology* . **57**:77-84.
- **Luquet F.M. et Corrieu G. (2005).** Bactéries lactiques et probiotiques. *Tec & Doc, Lavoisier*. Paris. 3-37.

M-N

- **Mahaut M., Jeant R., Schuck P. et Brulé G. (2000).** Les produits industriels laitiers. *Technology & Doc, Lavoisier*. Paris .
- **Makhloufi K, M. (2011)** .thèse de doctorat de l'université Pierre et Marie Curie.
- **Martley F.G. (1983).** Temperature sensitivities of thermophilic starter strains. *New Zeal Journal of Dairy Science Technology* **18**: 191- 196.
- **Mäyrä-Mäkinen A. et Bigret M. (2004).** Industrial use and production of lactic acid bacteria. In : Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects (Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A.) . *3^e Ed., Marcel Dekker, Inc* . New York. 73- 102.
- **Mende S., Krzyzanowski L ., Weber J., Jaros D. et Rohm H.(2011).** Growth and exopolysaccharide yield of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* DSM 20081 in batch and continuous bioreactor experiments at constant pH . *International Journal Biotechnology*. **92**: 141-151.
- **Metlef S. et Dilmi-Bouras A. (2009).** Effet antagoniste de *Lactococcus lactis* , souches extrêmophiles locales, sur une espèce de la flore intestinale résidente. *Revue National Technologie*. **1**: 33 - 44.

Références Bibliographiques

- **Monnet V., Latrille E., Béal C. et Corrieu G.(2008).** Croissance et propriétés fonctionnelles des bactéries lactiques. *In* : Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). *Tec & Doc, Lavoisier*. Paris. 512- 592.
- **Mozzi F., Torino M.I. et Valdez G.F. (2001).** Identification of exopolysaccharide-producing lactic Acid bacteria. *Methods in biotechnology, Vol.14 : Food of Microbiology Protocols. Humana Press.* Totowa. 183- 190.
- **Nongonierma A. B., Springett M., le Quéré J. I., Cayot P.et Voilley A.(2006).** Flavour release at gas/matrix interfaces of stirred yoghurt models. *Internatinal Dairy Journal. 16:* 102-110.

O-P

- **Ogier J.C., Casalta E., Farrokh C. et Saïhi A. (2008).** Safety assessment of dairy microorganisms: The *Leuconostoc* genus. *International Journal of Food Microbiology. 126* : 286- 290.
- **Onda T., Yanagida F., Tsuji M., Shinohara T., Yokotsuka K.(2003).** Production and purification of a bacteriocin peptide produced by *Lactococcus* sp.strain GM005, isolated from Miso- paste.*International Journal of Food Microbiology. 87(1-2)* : 153-159.
- **Ouadghiri F. (2009).** Biodiversité des bactéries lactique dans le lait cru et ses dérivés Lben et Jben thèse de doctorat. Université Vagdal. 33.
- **Ozer B.H., Robinson R.K., Grandison A. S. et Bell A.E. (1998).** Gelation properties of milk concentrated by different techniques. *International Dairy Journal. 8* : 793-799.
- **Paci Kora E., Souchon I., Latrille E., Martin N . et Marin M.(2004).** Composition rather than viscosity modifies the aroma compound retention of flavored stirred yogurt. *Journal of Agricultural and Food Chemistry. 52:* 3048-3056.
- **Palomares I., Morales P. et Félix A. (2007).** Evaluation of probiotic properties in *Lactobacillus* isolated from small intestine of piglets. *Rev. Lantinoam Microbiology. 49(3-4):* 46-54.
- **Phalip V., Monneta C., Schmitt P., Renault P., Godonb J.J. et Divib C. (1994).** Purification and properties of the α -acetolactate decarboxylase from *Lactococcus lactis* subsp. *lact* NCDO 2118. *FEBS Letters. 351:* 95-99.
- **Pilet M.F., Magras C. et Federigh M. (2005).** Bactéries lactiques. *In* : bactériologie alimentaire (Federighi M.). 2^eEd., *Economica*. Paris. 219-240.

Références Bibliographiques

- **Pilet M.F., Magras C. et Federighi M. (1998).** Bactéries lactiques. *In* : Manuel de bactériologie alimentaire (Sutra L., Feederighi M., Jouve J.L.). *Polytechnica*. Paris. 235-260.
- **Pot B. (2008).** The taxonomy of lactic acid bacteria. *In* : Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). *Tec & Doc, Lavoisier*. Paris.1-106.
- **Prescott L.M., Harley J.P. et Klein D.A., 2007.** La microbiologie alimentaire *in* <<Microbiologie>>. 2^e édition française. : Paris : 963-990.

O-R

- **Quiberoni M.(2001).** Distinctive fractures of homologous recombination in an old microorganism *Lactobacillus Lactic Research microbiology*. **152**: 131-139.
- **Rajagopal S.N. et sandine W.E. (2010).** Associative Growth and Proteolysis of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* in Skim Milk. *Journal of Microbiology*. 70-73.
- **Ramesh C., Chandan P.H.D. (1989).** Yoghourt: nutritional and health properties. *C.I.R DANIEL CARASSO, Doc*. 95-115.
- **Raynaud S., Perrin R., Coccagn- Bousquet M. et Loubière P. (2003).** Metabolic and transcriptomic adaptation of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* in response to autoacidification and temperature downshift in skim milk. *Applied and Environemt Microbiology*. **71** (12): 8016 -8023.
- **Righi K. (2006).** Microorganisme en action : le yaourt , pistes, FSE. Thèse de doctorat. Université Laval. 221.
- **Rodriguez J.M., Martínez M.I., Horn N. et Dodd H.M. (2003).** Heterologous production of bacteriocins by lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*. **80**: 101-116.
- **Rousseau M.(2005).** La fabrication du yaourt, les connaissances. *INRA*. 9.

S-T

- **Schleifer K.H. (1987).** Gram positives cocci. *In*: Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol. 2, *Williams Wilkins Baltimore*. 999-1002
- **SENEGAL/ISN (Institut Sénégalais de Normalisation) Avant projet de Norme Sénégalaise 03-025 : le yaourt. 7.**

Références Bibliographiques

- **Serhan M., Cailliez - Grimal C., Borges F., Revol- Junelles A.M., Hosri C. et Fanni J. (2009).** Bacterial diversity of Darfiyeh, a Lebanese artisanal raw goat's milk cheese. *Food Microbiology*. **26** : 645- 652.
- **Sina L. (1965).** Contrôle de qualité du lait et produits laitiers fabriqués par la SOCA. Thèse de doctorat, Université de Dakar.
- **Singh Sudheer K., Ahmed Syed U. et Ashor P. (2006).** Yogurt science and technology. 2^e Ed. *Cambriadge: woodhead Publishing*.
- **Sodini I., Remenf F., Haddad S. et Corrieu. (2004).** The relative effect of milk base, starter and process on yogurt texture: A review. *Critical Reviews in food science and nutrition*. **44**: 113-137.
- **Streit F. (2008).** Influence des conditions de récolte et de concentration sur l'état physiologique et la cryotolérance de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. 16-17.
- **Tadesse G., Ephraim E. et Ashenafi M. (2004).** Assessment of the antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from Borde and Shamita, traditional Ethiopian fermented beverages, on some foodborne pathogens and effect of growth medium on the inhibitory activity. *International Journal of Food Safety*. **5** : 13-20.
- **Tamime A.Y. (2002).** Microbiology of starter cultures. In: Dairy microbiology handbook (Robinson R.K.). 3^e Ed. *John Wiley and Sons, Inc.*, New York. 261-366.
- **Tamime A.Y et Robinson R.K. (2001).** Yoghurt: Science and Technology. 2^e Ed. *CRC Press, Boca Raton*.
- **Tamime A.Y. et Robinson R.K. (1999).** Yoghurt Science and Technology. 2^e Ed. *CRC Press LLC, Woodhead publishing limited*. England. 619.
- **Thivierge N. (1999).** Caractérisation de souches de *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* pour le développement des ferments mésophiles à aptitudes fromagère élevées (Cheddar). *Mémoire M. Sc. National Library of Canada*.
- **Titiek F.D., Endang S.R., Djoko W. et Slamet S. (1996).** Antimicrobial substance produced by *Lactobacillus* sp. TGR-2 isolated from Growol. *Indonesian Food Nutrition Prog*. **3(2)** : 29-34.
- **Tome D. (2002).** Lait fermentés : des antiques vertus aux nouvelles propriétés. Le quotidien du médecin in : *Agronomie et nutrition*. Institut national agronomique paris-Grignon (INA P-G).
- **Tourneur C. (1972).** Aptitude à la protéolyse des *Lactobacillus* présents dans les fromages et les lactosérums de fromagerie. *Le lait*. 513- 514.

- **Trachoo N. (2002).** Yogurt : the fermented milk. *Songklanakarin Journal of Science and technology*. **24**: 727-737.
- **Trois L., Cardoso E.M., Miura E. (2008).** Use of probiotics in HIV-infected children : a randomized double-blind controlled study. *Journal Trop Pediatr*. **54**:19-24.

V-W-Z

- **Vanassche P. (1989).** Le lait. Revue N°4. 20.
- **Vasiljevic T. et Shah N.P. (2008).** Probiotics from Metchnikoff to bioactives . *International Dairy Journal* **18**:714-728.
- **Vignola C.I. (2002).** Science et technologie du lait : transformation du lait. *Ed. Tec & Doc, Lavoisier*. Paris. 600.
- **Vuillemard J.C. (1986).** Microbiologie des aliments. Evolution de l'activité protéolytique des Bactéries lactiques. *Tec & Doc, Lavoisier* . Paris. **3**: 1- 65.
- **Walling E.G., Indreau E. et Lonvaud- Funel A. (2001).** La biosynthèse d'exopolysaccharide par des souches de *Pediococcus damnosus* isolées du vin : mise au point de d'outils moléculaires de détection. *INRA*. 289-300.
- **Wouters J.T.M., Ayad E.H.E., Hugenholtz J. et Smit G.(2002).** Microbes from raw milk for Fermented dairy products. *International Dairy of Journal*. **12**: 91-109.
- **Wu M.H., Pan T.M., Wu Y.J., Chang S.J., Chang M.S., et Hu C.Y.(2010).** Exopolysaccharide activities from probiotic bifidobacterium: Immunomodulatory effects (on J774A. macrophages) and antimicrobial properties. *International Journal of Food Microbiology*. 1-7.
- **Wu S. Li D., Li S j., Bhandari B., Yang D., Chen X D. et Yao Z. (2009).** Effects of incubation temperature, starter culture level and total solids content on the rheological properties of yogurt . *International Journal of Food Eng* .**5(2)**: 1-17.
- **Zoon P. (2003).** Viscosity, smoothness and stability of yogurt as affected by structure and EPS functionality. Fermented Milk Special Issue. *International Dairy Federation. Brussels*. 0301: 280-289.

Annexes 01 : Composition des milieux de culture

• Bouillon MRS (PH=6.5)

Peptone	10g
Extrait de viande	10g
Extrait de levure	5g
Glucose	20g
Tween 80	1ml
Phosphate bi potassique	2g
Acétate de sodium	5g
Citrate d'ammonium	2g
Sulfate de magnésium, 7 H ₂ O	0.2g
Sulfate de manganèse, 4 H ₂ O	0.5g
Eau distillée qsp	1000ml

Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 15 min.

• Gélose YAM (yeast milk agar)

Extrait de levure.....	3g
Peptone.....	5g
Lait en poudre.....	1g
Agar.....	15g
Eau distillée.....	1000ml

PH7.5, Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 15 min.

• Gélose hypersaccharosée (pH 6.8)

Extrait de viande	10g
Extrait de levure	3g
Peptone	2.5g
Saccharose	150g
K ₂ HPO ₄	2g
Na Cl.....	1g
MgSO ₄ , 7H ₂ O.....	0.2g
Agar.....	15g
Eau distillée qsp	1000ml

Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min.

• Bouillon MRS déglucosé (pour l'activité antimicrobienne) (PH=6.5)

Peptone	10g
Extrait de viande	10g
Extrait de levure	5g
Glucose	10g
Tween 80	1ml
Phosphate bi potassique	2g
Acétate de sodium	5g
Citrate d'ammonium	2g
Sulfate de magnésium, 7 H ₂ O	0.2g
Sulfate de manganèse, 4 H ₂ O.....	0.5g
Lait écrémé.....	1g
KH ₂ PO ₄	1ml

Eau distillée qsp 1000ml
 Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 15 min.

Gélose Agar au lait : Il se compose d'un mélange de deux milieux

Milieu A : pour un litre

Agar 3%

Extrait de levure 1%

Autoclaver à 121°C pendant 15min.

Milieu B : pour un litre

Lait écrémé 6%

Pourpre de Bromocrésol 0.006%

Stérilisation par tyndallisation 3 fois à 100°C

Mélange A/B : Agar 1.5%, extrait de levure 0.5%, lait écrémé 3.0%, pourpre de Bromocrésol 0.003%.

Annexe 02 : Coloration de Gram

La coloration de Gram a été réalisée selon la technique suivante :

- Sur une lame, fixé a la chaleur une culture bactérienne ;
- Recouvrir la lame avec la solution de violet de gentiane pendant une minute ;
- Ajouté du lugol pendant 30 secondes ;
- Décoloré avec de l'alcool 95°C, puis rincer à l'eau ;
- Faire une contre coloration en utilisant la fuschine et laisser agir 20 à 30 secondes ;
- Laver à l'eau ;
- Après séchage, soumettre la lame à une observation microscopique à immersion (×100)

Les bactéries à Gram positif apparaissent en violet et les bactéries à Gram négatif en rose.

Annexe 03 : dénombrement de nombre de cellule viable par la technique de la cellule

Malassez (selon la technique décrit par John et Alicia, 2000)

Sur une microplaque, nous avons préparé des micro-dilutions jusqu'à l'obtention de la micro dilution 10^{-8} .

Une goutte de la fuschine a été placée dans le puits de la micro dilution 10^{-8} . Pour la préparation de la cellule Malassez : humecter les berges de la cellule avec un peu d'eau, puis glisser la lamelle rodée sur ces berges en assurant son adhérence par pression des deux pouces. Enfin, l'extrémité de la pipette inclinée et placée au niveau de l'espace situé entre la plate-forme et la lamelle planée, ainsi l'hématimètre se remplit immédiatement par capillarité. Avant de passé à l'observation microscopique et au comptage des cellules, l'inoculum est laissé décanter.

Comptage : la cellule est portée au microscope optique à objectif ×40. Les cellules vivantes sont décomptées. Le nombre de cellules a été calculé selon la formule suivant :

$$Nc = Ng.100.1/Z$$

Ou :

- Nc : nombre de cellule.
- Ng : nombre de germe compté sous microscope optique.
- Z : la dilution utilisée.

Annexes 04: Pouvoir acidifiant

1. Evolution du PH

Tableau 01: Evolution du pH au cours du temps.

temps ferments	T 0	T 1 (3h)	T 2 (6h)	T 3 (24h)
I 1	6.63±0	6.375±0.007	5.82±0.028	4.925±0.035
I2	6.63±0	6.35±0.07	6.065±0.12	4.91±0.014
F 1	6.63±0	6.35±0.02	5.87±0.140	4.95±0.077
S	6.53±0.04	6.20±0.13	5.91±0.03	3.88±0.21

2. Evolution de l'acidité Dornic

Tableau02 : Evolution de l'acidité dornic au cours du temps.

Temps ferment	T 0			T 1 (3h)			T 2 (6h)			T 3 (24h)		
	V NaOH (ml)	D°	E-typ	V NaOH (ml)	D°	E-typ	V NaOH (ml)	D°	E-typ	V NaOH (ml)	D°	E-typ
I 1	2.2	22	0	2.5	25	0	3	30	0	5.75	57.5	3.53
I 2	2.2	22	0	3	30	0	3	30	0	5.5	55	7.07
F1	2.2	22	0	3	30	0	3.75	37.5		5.75	57.5	3.53
S	2.5	25	0	3	30	0	3.75	37.5	3.53	7.5	75	7.07

Annexes 05 : Courbe de croissance du ferment

- La Densité optique (DO)

Tableau03 : Résultats de la turbidité

Temps ferments	0h	2h	4h	6h	24h
F1	0.0375±0.003	0.085±0.015	0.54±0.029	0.866±0.07	1.079±0.02
I1	0.0485±0.013	0.122±0.002	0.601±0.015	0.853±0.05	0.765±0.49
I2	0.0485±0.004	0.1115±0.002	0.663±0.043	0.959±0.04	1.028±0.02
S	0.0595±0.03	0.136±0.03	0.68±0.113	0.97±0.48	1.085±0.094

Annexes 06 : Acidité dornic au cours de la fermentation

- Mesure de l'Acidité Dornic au cours de fermentation

Tableau04 : Evolution de l'acidité des yaourts au cours de la fermentation.

temps yaourts	Le yaourt a base du ferment locale (°D)	Le yaourt a base du ferment industriel (°D)
0h	25	25
1h	100	90
2h	120	120
3h	130	128
4h	121.66	124.33

Annexe 07

Tableau05 : Résultats des analyses physicochimiques des deux types de yaourt.

	Yaourt a base du ferment locale		Yaourt a base du ferment Industriel	
	TJ0	TJ10	Tj0	TJ10
PH	4.58±0.07	4.25±0.190	4.4±0.105	4.19±0.020
Acidité Dornic	121.66±2.886	61.66±7.63	124.33±9.291	73.33±2.88
Matière sèche	28.33±4.72	25.33±0.577	30±1.75	24.66±2.516
Matière minirale	2.5±0.2	1.66±0.577	3.33±4.04	3±1
Matière organique	25.83±4.68	23.67±0.57	26.67±4.40	21.66±2.30
Humidité	71.67±4.72	74.67±0.57	70±1.75	75.34±2.51

Annexe 08: Courbe d'étalonnage

Figure01 : courbe d'étalonnage du glucose.

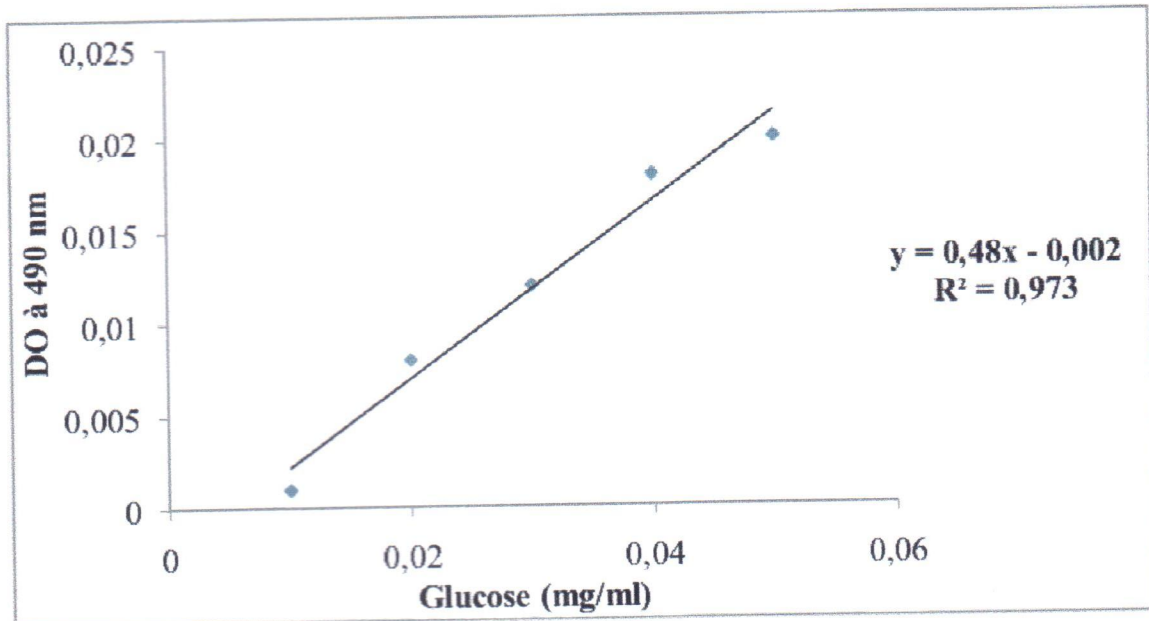


Figure 01: Courbe d'étalonnage du glucose

Annexe 09 : Quantification des exo polysaccharides

Tableau06 : Quantification des exo polysaccharides.

Ferments	F1 (r1)	F1 (r2)	I1 (r1)	I1 (r2)	I2 (r1)	I2 (r2)	S (r1)	S (r2)
DO ₄₉₀	0.687	0.620	0.320	0.348	0.567	0.551	1.282	1.755
Concentration du glucose (mg/ml)	1.43	1.29	0.670	0.729	1.185	1.152	2.67	3.66
E-type	0.098		0.041		0.023		0.700	
moyenne	1.36		0.699		1.168		3.165	

Annexe 10 : Méthode de KJALDAHL

- Dosage de l'azote total

- Principes

L'azote de yaourt dosé par titrimétrique après minéralisation selon la méthode de KJALDAHL, déplacement en milieu alcaline et distillation de l'azote formé par alcalimétrie (LECOQ, 1965).

- Mode opératoire

1. Minéralisation

Dans un matras de 100 ml, introduire:

- 5 ml de yaourt ;
- 4 g de sulfate de potassium ;
- Une pointe de spatule de catalyseur de minéralisation Prolabo ;
- Une bille de verre ;
- 15 ml d'acide sulfurique concentré (versé à l'aide d'une éprouvette).

Agiter et placer le matras sur la rampe de minéralisation, le col placé dans le dispositif d'aspiration des vapeurs ;

- Chouffer d'abord doucement, puis augmenter le chauffage jusqu'à douce ébullition du mélange. Veiller à ce que le contenu du matras ne s'élève pas dans le col en moussant ;
- Agiter périodiquement de manière à ramener dans le fond du matras les parcelles qui adhèrent aux parois ;
- Lorsque le liquide est devenu limpide, poursuivre le chauffage pendant 15 à 20 minutes, en diminuant l'allure de chauffe. Laisser refroidir avant toute autre manipulation.

2. Distillation et dosage de l'ammoniaque

- Diluer le contenu du matras de minéralisation par addition de 30 à 50 ml d'eau distillée ; le traverser dans le ballon de l'appareil à distiller. Joindre les eaux de rinçage (400 ml environ) ;
- Ajuster l'allonge à la réfrigération de façon à ce qu'elle prolonge au fond d'une capsule de porcelaine contenant 20 ml de solution d'acide borique à 40 g/L et 3 à 4 gouttes d'indicateur de Tashiro ;

- Mettre en place la burette contenant une solution d'acide sulfurique titré (titre connu C_{H^+} voisin de 0,05 mol/L) ;
- Alcaliniser le contenu du ballon à distiller en ajoutant 65 ml de lessive de soude (solution hydroxyde de sodium). Adapter aussitôt le ballon à l'appareil à distiller de manière à éviter toute perte d'ammoniac ;
- Distiller en chauffant modérément et régulièrement. L'entraînement de l'ammoniac se produit très rapidement, l'indicateur vire à sa teinte alcaline (verte) ;
- Rétablir et maintenir tout au long de la distillation la teinte de virage (gris sale), par addition d'acide sulfurique titré ;
- Le dosage est considéré comme terminé lorsque la teinte de virage se maintient stable pendant 5 minutes de distillation.

➤ **Expression des résultats**

La teneur en azote total (ρ) du yaourt est calculée selon la formule suivante :

$$\rho = C_{H^+} \times 2 \times V \times 14 / 5 \text{ g d'azote par litre de yaourt}$$

Où :

C_{H^+} : Titre molaire de la solution d'acide sulfurique titré (0,01M).

V : Chute de burette obtenue en ml

La teneur en protéines (P') du yaourt est égale à :

$$P' = \rho \times 100 / 15,6 \text{ g par litre de lait (Vignola, 2002)}$$

Annexe 11 : Illustration des différentes étapes de fabrication de yaourt



Photo01: homogénéisation et standardisation

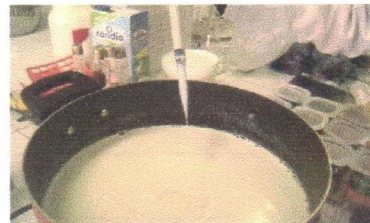


photo02 : ensemencement



Photo03 : fermeture

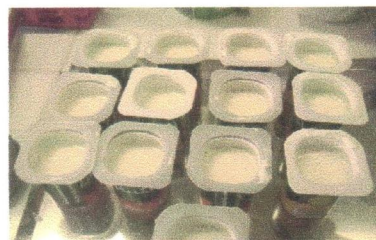


Photo04 : conditionnement

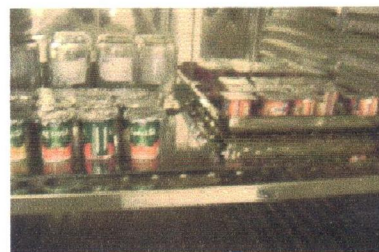


Photo05 : etuvage

Annexe 12 : fabrication de yaourt

Fiche d'analyse sensorielle comparative du yaourt

Date :/...../.....

Nom :

Prénom :

L'âge :

Sexe : féminin masculin

Type d'échantillon : yaourt étuvé nature sucré.

Les pots du yaourt vous sont présentés, alors il vous est demandé d'évaluer les caractéristiques indiquées dans le tableau suivant :

Yaourt		YFL	YFI
Caractère			
Aspect De la surface	couleur	Belle	
		mauvaise	
		acceptable	
	sérum	absent	
		présent	
	La texture	Consistance	Mou
Ferme			
Onctuosité		Oui	
		Non	
légèreté		Léger	
		Très léger	
La saveur	gout	Sucré	
		Trop sucré	
		Pas du tous sucré	
	acidité	Moyenne	
		Faible	
		Très faible	
Autre saveur	Doux		
	Fruit		
L'odeur	L'odeur du yaourt	Nulle	
		Faible	
		Franche	
	Parfum identifié		

Présenté par : BELAOURA Imen
BENAYACHE Kenza

Encadreurs : M^r Idoui T.

Nature du diplôme : Ingénieur d'Etat en Biologie : Option Contrôle de Qualité et Analyse

Thèmes :

Les ferments thermophiles locaux : contrôle des aptitudes technologiques et application en industrie laitière.

Résumé

Notre étude avait comme objectif d'étudier les aptitudes technologiques des ferments thermophiles locaux et de les comparer avec celles d'un ferment industriel. Les résultats acquis après l'évaluation d'un ensemble de fonctionnalités technologiques ont montré que nos ferments ont présenté : un bon pouvoir acidifiant, protéolytique et texturant, mais un faible pouvoir lipolytique. De plus, ils sont démunis du pouvoir aromatisant, bien qu'ils soient capables de synthétiser des substances inhibitrices ayant une activité antibactérienne. Une résistance modérée aux antibiotiques a été enregistrée. Ces ferments locaux ont été appliqués dans la fabrication d'un yaourt étuvé au sein du laboratoire. Le contrôle physicochimique, microbiologique et organoleptique a révélé que le yaourt à base du ferment local a présenté des qualités quasi-similaires à celles du yaourt à base du ferment industriel.

Mots clés : Ferments thermophiles locaux, aptitudes technologiques, qualité, yaourt.

Abstract

The objective of this work was to study the technological traits of local thermophilic starters and to compare them with industrial starters.

The results obtained after evaluation of a set of technological functionalities have shown that our starters presented: a good acidifying, proteolytic and texturing activity, but a low lipolytic power. In addition, they are deprived of flavoring activity, although they are able to synthesize inhibitory substances with antibacterial activity. Moderate resistance to antibiotics was recorded.

These local starters were applied in the production of steamed yogurt in the laboratory. The physicochemical, microbiological and organoleptic controls revealed that yogurt based on local starter presented qualities almost similar to those of yogurt based on industrial starter.

Key words: Local thermophilic starters, technological traits, quality, yogurt.

ملخص

يهدف هذا العمل إلى دراسة الكفاءات التكنولوجية للخمائر اللبنية المحبة للحرارة المحلية و مقارنتها مع الخمائر الصناعية.

النتائج المحصل عليها بعد تقييم مجموعة من الوظائف التكنولوجية ، أكدت أن للخمائر اللبنية المحلية : قدرة تحمضية ، قدرة تركيبية و قدرة على الهدم البروتيني لكن قدرتها على تحليل الليبيدات ضعيفة. بالإضافة لعدم امتلاكها خاصية عطرية، و الجيد أنها قادرة على تشكيل مركبات مثبطة ذات نشاط مضاد للبكتريا. كما انها سجلت مقاومة معتدلة للمضادات الحيوية.

هذه الخمائر اللبنية المحلية استعملت في صناعة الزبادي المحضون على مستوى المخبر. المراقبة الفيز و كيميائية، الميكروبيولوجية و الحسية كشفت أن ياورت الخمائر المستخلصة محليا ذو نوعية متشابهة مع نظيره المصنوع من الخمائر الصناعية.

الكلمات المفتاحية : الخمائر اللبنية المحلية، القدرات التكنولوجية، النوعية، الياورت.

