

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

CENTRE UNIVERSITAIRE  
ABDELHAK BEN HAMOUDA - JIJEL

INSTITUT DES SCIENCES DE LA NATURE

069

MB.13.2003

# MÉMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme d'études  
supérieures en biologie

OPTION : MICROBIOLOGIE



01/02

ÉTUDE DE L'EFFET DE TROIS QUALITÉ DE POUDRE DE  
LAIT SUR LES PARAMÈTRES PHYSICO-CHIMIQUES ET  
MICROBIOLOGIQUES DU YAOURT ÉTUVÉ.

Les membres de jury:

- ◇ Encadreur : IDOUI
- ◇ Examineur : ADOUI
- ◇ Président : BOUDJEDRI

Réaliser par:

LOUATI Hayet  
BOUSSEBSI Noura



PROMOTION 2003

# REMERCIEMENT

Nous remercions dieux qui nous a donné du courage et de la volonté d'avoir réussit dans notre vie éducationnelle et privée.

Nous remercions Mr IDOUI Tayeb notre encadreur pour son assistance et son enseignement durant notre travail.

Comme nous remercions tous ceux qui nous aidées et donner la main d'assistance en particulier : Mr Madani, Mme Hamama et tous les techniciens du laboratoire de l'institut de biologie.

En fin, nos remercions tous ceux qui ont contribué de prés ou de loin pour accomplir notre travail.

HAYET

NOURA

## **Résumé:**

L'objectif de notre étude est d'évaluer deux aptitudes technologiques du ferment de yaourt (Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus et Streptococcus salivarius Subsp thermophilus), et déterminer la meilleure qualité de la poudre de lait permettant d'aboutir à un yaourt étuvé de bonne qualité physico-chimique et microbiologique.

Les résultats de l'étude portant les deux aptitudes technologiques ont montré que le ferment à une bonne activité protéolytique et ne possèdent pas le pouvoir texturant.

Les résultats ont montré également le yaourt au lait à 28% de matière grasse a présenté une bonne qualité physico-chimique et microbiologique au cours de la conservation.

**Mots clés:** Ferment thermophile, Poudre de lait, Yaourt étuvé.

## **Summary:**

The objective of our study is to evaluate two technological aptitudes of the yoghurt leaven (Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus and Streptococcus salivarius Subsp thermophilus), and to determine the best quality of the dried milk making it possible to lead to a étuvé yoghurt of good physicochemical and microbiological quality.

The results of the study carrying the two technological aptitudes showed that the leaven with a good proteolytic activity and do not have the texturing capacity.

The results also showed yoghurt with milk with 28% of matiere fatty had a good physicochemical and microbiological quality during the conservation.

**Key words:** Thermophilous leaven, Dried milk, etuve Yoghourt.

## **الملخص:**

إن الغرض من دراستنا هو تحديد خاصيتين تكنولوجيتين لخميرة الياوورت (Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus, Streptococcus salivarius subsp thermophilus) وتحديد أحسن نوعية لبودرة الحليب التي تسمح بالحصول على نوعية جيدة من الناحية الفيزيوكيميائية و الميكروبيولوجية للياوورت étuvé .  
نتائج الدراسة المتعلقة بالخاصيتين التكنولوجيتين بينت أن الخميرة ذات فعالية جيدة لتحليل البروتينات وليس لها قدرة خاصة النسيج.  
النتائج بينت أن الياوورت الناتج عن حليب 28% من المادة الدسمة أعطى أفضل الخصائص الفيزيوكيميائية و الميكروبيولوجية خلال مدة الحفظ.

**كلمات المفتاح:** خميرة مقاومة, بودرة الحليب, ياوورت étuvé.

## SOMMAIRE

<b>Introduction</b> .....	01
<b>I- Analyse bibliographique</b>	
<b>Chapitre I : Les ferments thermophiles</b> .....	02
I-1- Définition et rôle des ferments lactiques .....	02
I-2- Principaux ferments et leurs compositions .....	02
I-2-1- Les ferments de culture pure .....	02
I-2-2- Les ferments mixtes .....	02
I-2-3- Les ferments naturels .....	02
I-3- Différentes formes de ferments .....	02
I-3-1- Les ferments liquides .....	02
I-3-2- Les ferments secs .....	02
I-3-3- Les ferments lyophilisés .....	03
I-4- Les ferments du yaourt .....	03
I-4-1- <i>Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus</i> .....	03
I-4-2- <i>Streptococcus salivarius subsp thermophilus</i> .....	03
I-5- Rôle en industries laitiers .....	04
I-5-1- Production de l'acide lactique .....	04
I-5-2- Production des composées carbonylés à partir de citrate .....	05
I-5-3- Production d'acétaldéhyde .....	05
I-5-4- Le rôle de la protéolyse .....	05
I-5-5- Production de polysaccharides .....	05
I-5-6- Rôle dans la production de facteurs antimicrobiens .....	06
I-5-6-1- Rôle de l'acide lactique et du pH .....	06
I-5-6-2- Composés divers .....	06
I-5-6-3- Les bactériocines .....	06
<b>Chapitre II : Le yaourt</b>	
II-1- Introduction .....	07
II-2- Définition du yaourt .....	07
II-3- Différentes types de yaourt.....	07
II-4- Technologie de fabrication du yaourt.....	07
II-4-1- Préparation et traitement du lait .....	07
II-4-2- L'ensemencement .....	08
II-4-3- Incubation .....	08
II-4-4- Refroidissement .....	08
II-4-5- Conditionnement .....	08
II-4-6- Conservation .....	08
II-5- La microbiologies du yaourt .....	10
<b>Chapitre III : Les poudres de lait</b>	
III-1- Introduction .....	11
III-2- Les poudres de lait et leur classification .....	11
III-2-1- Classification selon la composition en matière grasse .....	11
III-2-2- Classification selon l'index thermique .....	11
III-2-3- Classification selon leurs utilisations .....	12
III-3- Composition et propriétés physico-chimiques du lait en poudre .....	12

III-3-1- Composition chimique.....	12
III-3-2- Propriétés physico-chimiques .....	12
III-4- Le traitements du lait pour la fabrication de yaourt .....	13
<b>II - Matériel et Méthodes</b>	
II-1- Matériel .....	14
II-1-1- Levain .....	14
II-1-2- Le laits en poudre .....	14
II-1-3- L'emballage .....	14
II-1-4- Milieux de cultures .....	14
II-1-5- Autres produits .....	15
II-2- Méthodes .....	15
II-2-1- Examen microscopique et aptitudes technologiques du ferment .....	15
II-2-1-1- Examen microscopique .....	15
II-2-1-2- Aptitudes technologiques .....	15
a- Production de polysaccharides .....	15
b- Recherche de l'activité protéolytique .....	16
II-2-2- La fabrication des yaourts étuvés .....	16
a- Préparation du levain .....	16
b- Préparation du lait .....	16
c- Pasteurisation .....	16
d- Ensemencement .....	16
e- Etuvage .....	17
f- Conditionnement .....	17
g- Refroidissement .....	17
II-2-3- Analyses physico-chimiques .....	19
a- Détermination de l'acidité dornic .....	19
b- Mesure du pH .....	19
c- Détermination de la matière sèche .....	19
d- Détermination de la matière minérale .....	19
e- Détermination de la matière organique .....	20
II-2-4- Analyses microbiologiques des yaourts .....	20
II-2-4-1- Echantillonnage, prélèvements et dilutions .....	20
II-2-4-2- Recherches et dénombrements des flores .....	20
- Recherche et dénombrement des Coliformes totaux .....	20
- Recherche et dénombrement des Coliformes thermotolerants .....	20
- Recherche et dénombrement des Staphilococcus aureus .....	20
- Dénombrement des Streptococcus lactiques .....	21
- Dénombrements des Lactobacilles lactiques .....	21
- Recherche des levures et moisissures .....	21
II-2-5- Traitement statistiques .....	21
<b>III - Résultats</b> .....	23
<b>IV - Discussion</b> .....	23
<b>Conclusion générale</b> .....	37
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Annexe</b>	

## LISTE DES TABLEAUX :

**Tableau I :** Caractères généraux des ferments du yaourt.

**Tableau II :** Composition chimique moyenne des laits en poudre.

**Tableau III :** Pouvoir épaississant des bactéries du yaourt et activité protéolytique sur le milieu Y.M.A.

**Tableau IV :** Evolution de l'acidité et du PH au cours de la fabrication des yaourts étuvés.

**Tableau V :** évolution de l'acidité et du PH au cours de la conservation des yaourts étuvés.

**Tableau VI :** Evolution de la matière sèche, matière minérale et de la matière organique au cours de la conservation des yaourts étuvés.

**Tableau VII :** Résultats de l'analyse microbiologique des yaourts étuvés au cours de la conservation.

## LISTE DES FIGURES :

**Figure 1 :** Diagramme de la fabrication des yaourts.

**Figure 2 :** Les étapes de traitement du lait pour la fabrication de yaourt.

**Figure 3 :** Schéma du processus de fabrication des yaourts étuvés avec les différentes poudres des laits au niveau du laboratoire.

**Figure 4 :** Technique de dilution et différentes flores recherchées.

**Figure 5 :** Activité protéolytique du ferment thermophile.

**Figure 6 :** Evolution de l'acidité au cours de la fabrication des yaourts étuvés.

**Figure 7 :** Evolution du PH au cours de la fabrication des yaourts étuvés.

**Figure 8 :** Evolution de l'acidité au cours de la conservation des yaourts étuvés.

**Figure 9:** Evolution du PH au cours de la conservation des yaourts étuvés.

**Figure 10:** Evolution de la matière sèche au cours de la conservation des yaourts étuvés.

**Figure 11 :** Evolution de la matière minérale au cours de la conservation des yaourts étuvés.

**Figure 12 :** Evolution de la matière organique au cours de la conservation des yaourts étuvés.

## LISTE DES ABREVIATIONS

°C :	degré Celsuce
°D :	degré Dornic
DVS:	freeze- dried lactic culture for Direct Vat set
g :	gramme
H :	Heure
J:	Jour
LB :	Lactobacillus
MG :	Matière Grasse
mg:	miligram
ml :	millilitre
min :	minute
mm :	millimètre
MM :	Matière Minérale
MO :	Matière Organique
MS :	Matière Sèche
NS :	Effet Non Significatif
PH :	Potentiel Hydrogène
PHi :	PH isoélectrique
ppm :	partie par million
Sc:	Streptococcus
Y1 :	yaourt écrémé
Y2:	yaourt au lait à 26% MG
Y3 :	yaourt au lait à 28% MG
%:	pour cent
(*) :	effet significatif
(**):	Effet hautement significatif.

# INTRODUCTION

## INTRODUCTION

Les produits fermentés, notamment les laits fermentés sont depuis longtemps reconnus pour leurs effets bénéfiques sur la santé, ces propriétés ont fait l'objet de plusieurs études récentes.

Dans les laits fermentés, l'acidification provoque la formation d'un caillé plus ou moins ferme selon les bactéries lactiques présentes, selon les produits, la texture recherchée est ferme (yaourt ferme), ou onctueuse (yaourt brassés).

Pour obtenir une consistance déterminée, l'utilisation de souches plus ou moins acidifiantes peut être combinée à celle de souches productrices de polysaccharides, ce caractère métabolique répondu chez les bactéries lactiques, a été un critère de sélection de certaines souches Streptococcus thermophilus, épaississantes du yaourt, les poudres de lait sont éventuellement destinées aux industries laitières pour être utilisées directement dans la reconstitution du lait et la fabrication des yaourts.

Notre présent travail est composé de deux parties:

Dans la première partie, bibliographique, on va faire le point de connaissance sur les ferments thermophiles, la technologie de fabrication du yaourt, et les poudres de lait.

Dans la deuxième partie, expérimentale, on va étudier deux aptitudes technologiques du ferment, par la suite on va étudier l'effet de trois poudres de lait à 0%, 26% et 28% de matière grasse sur la qualité physico-chimique et microbiologique au cours de la fabrication et de la conservation du yaourt étuvé.

**PREMIERE PARTIE**

**ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE**

**I-1- Définition et rôle des ferments lactiques:**

Selon Lavoisier (1987), les ferments lactiques sont des cultures pures, en proportions 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 la coagulation du lait et de la synérèse des caillés.
- Contribuer aux caractères organoleptiques du produit.

**I-2- Principaux ferments et leurs compositions:**

D'après Lavoisier (1987), trois types de ferments sont utilisés commercialement:

**I-2-1- Les ferments de culture pure:** Constitués d'une souche de bactéries lactiques (**Streptocoques** mésophiles ou thermophiles, **Leuconostoc**, **Lactobacilles** thermophiles). Ces ferments, sensibles aux phages doivent être utilisés en alternance avec des souches non apparentées sur le plan phagique.

**I-2-2- Les ferments mixtes:** Constitués de mélange de souches sélectionnées. Les ferments mixtes mésophiles, par exemple, sont généralement composés de souches acidifiantes et des souches aromatisantes. L'utilisation de ces ferments Pose le problème de la compatibilité des souches.

**I-2-3- Les ferments naturels :** Communément utilisés en Europe constituée par des mélanges dont la composition exacte est indéterminée.

**I-3- Différentes formes de ferments:**

Les souches sont livrées sous trois formes résumées par Lavoisier (1987):

**I-3-1- Les ferments liquides:** Conditionnés en flacons, leur conservation est assez limitée en raison de l'augmentation constante de l'acidité du milieu à 2 - 5°C, elle peut être de plusieurs jours.

**I-3-2- Les ferments secs:** Ils sont obtenus par séchage des ferments liquides, leur fabrication est délicate, ils sont de moins en moins utilisés.

**I-3-3- Les ferments lyophilisés:** Ils sont obtenus à partir de cultures liquides séchées après congélation, par sublimation sous vide, ils peuvent être conservés plusieurs mois à 4°C.

**I-4- Les ferments du yaourt :**

D'après Sutra et Al., (1998), le yaourt est obtenu par fermentation du lait réalisée par deux espèces de bactéries lactiques thermophiles, Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus et Streptococcus salivarius subsp thermophilus.

**I-4-1- Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus:** C'est une bactérie lactique homofermentaire se développant bien à 45 - 50°C en acidifiant fortement le milieu. Elle peut former dans le lait jusqu'à 2,7 % d'acide lactique (Veisseyre, 1979). La classification rapportée par Kandler et Weiss (1992) inclut Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus dans le groupe I dans la subdivision du genre Lactobacillus (Sutra et Al., 1998).

Leur morphologie plus variée, les cellules sont des bâtonnets plus ou moins allongés, groupés en paires, ou en chaînettes, elles sont incapables de fermenter les pentoses et le gluconate (Hermier et Al., 1992).

**I-4-2- Streptococcus salivarius subsp thermophilus:** Cette espèce se multiplie bien à 37 à 40 °C mais se développe encore à 50 °C, c'est une espèce homofermentaire qui survit à un chauffage à 65°C. Elle est nettement moins acidifiante que l'espèce précédente, un phage thermorésistant peut la détruire (Veisseyre, 1979). L'espèce Streptococcus thermophilus se différencie des autres par son habitat lait et produits laitiers, et son caractère non pathogène, ne possède pas l'antigène de LANCEFIELD (Leveau et Al., 1993).

Leur morphologie plus variée, les cellules sont des cocci plus ou moins allongés, groupés en paires, ou en chaînettes (Hermier et Al., 1992).

Les principales caractéristiques des deux espèces sont illustrées dans le tableau I.

Tableau I: Les caractères généraux des ferments du yaourt

(Hermier et al. , 1992) :

Les caractères	Lactobacillus bulgaricus	St thermophilus
Morphologie (formes)	Bacille	Coque
Arrangement	Chaîne	Chaîne
Mode de fermentation	Homofermentaire	Homofermentaire
Croissance à :		
10 °C	-	-
15°C	-	-
40°C	+	+
45°C	+	+
Température optimale (°C):		
Thermorésistance 60°C/30min	-	+
Croissance en présence de NaCl:		
02%	+	-
04%	-	-
06,5%	-	-
Sucre fermentée		
Glucose	+	+
Galactose	-	-
Lactose	+	+
Saccharose	-	+
Fructose	+	+
Maltose	-	-
Mannitol	-	±
Groupe sérologique	E	N
Isomère de l'acide lactique	D(-)	L(+)
C G %	49 - 51	37 - 40

+ : Résultat positif

- : Résultat négatif

C : cytosine

G : Guanine

D (-) : Dextrogyre

L (+) : Lévoogyre

(b) : (E, N) : Spécificité antigène en présence de sérums de lancefiéld.

**I-5- Rôle en industries laitières:**

**I-5-1- Production de l'acide lactique:** La production d'acide lactique et l'abaissement du pH est nécessaire pour établir des conditions physico-chimiques indispensables ou favorables à la fabrication de nombreux produits (Hermier et Al., 1992). Lactobacillus bulgaricus produit généralement l'acide lactique D(-) et Streptococcus thermophilus produit la forme L(+).

La quantité de l'acide lactique L(+) disponible dans le yaourt varie entre 50 à 70 % et elle dépende du rapport *Streptococcus/Lactobacillus* (Ramesh et Chandan, 1989).

**I-5-2- Production des composés carbonylés à partir de citrate:** Le citrate joue un rôle essentiel, à partir de ce composé les bactéries lactiques produisent le diacétyle, l'acétaldéhyde et l'acétate qui sont responsables de l'arôme des produits laitiers fermentés et responsables de la saveur des produits laitiers fermentés. (Hermier et Al., 1992).

**I-5-3- Production d'acétaldéhyde:** Les principaux composants responsables de la saveur du yaourt sont : diacétyle, acétoïne, acétone, acétaldéhyde ce dernier est considéré comme l'arôme majeur du yaourt (Ramesh et Chandan, 1989). La production de l'acétaldéhyde par les germes thermophiles du yaourt passe par la dégradation de la thréonine par une thréonine aldolase, les produits de la réaction étant l'acétaldéhyde et la glycine, en culture pure, *LB. bulgaricus* produit plus d'acétaldéhyde que *SC. thermophilus*, mais en culture mixte le *Streptocoque* produit de plus grandes quantités de ce composé (Hermier et Al., 1992).

**I-5-4- Le rôle de la protéolyse:** L'activité des enzymes protéolytiques de bactéries thermophiles est fondamentale, car elle complète l'action de la présure, restant dans le caillé et celle de la plasmine (enzyme naturelle du lait), la protéolyse due aux bactéries lactiques thermophiles sera surtout conduite à des peptides courts et à des acides aminés libres ces derniers sont des précurseurs pour de nombreux produits d'arôme (Hermier et al., 1992). La protéolyse continue pendant le stockage du yaourt à 7 °C (Ramesh et Chandan, 1989).

**I-5-5- Production de polysaccharides:** (D'après Lenoir et Al., 1992) : Pour la fabrication des yaourts, on constate que l'onctuosité du produit peut être améliorée en utilisant les souches produisant un épaissement du lait, ces souches augmentent donc la viscosité des produits en améliorant sa texture. Selon les souches, les concentrations des produits, varient de 500 à 400 mg/litre du lait.

Le galactose est le monomère majeur, alors que le glucose et le Rhamnose sont présent en plus petites quantités chez **LB. bulgaricus**, ou le glucose, xylose, arabinose, Rhamnose et mannose chez **SC. thermophilus**.

#### **I-5-6- Rôle dans la production de facteur antimicrobiennes:**

**I-5-6-1- Rôle de l'acide lactique et du pH:** Les bactéries lactiques ont un rôle fondamentale dans l'inhibition des flores non lactiques des produits laitiers, le métabolisme principale des bactéries lactique a pour effet une production importante d'acide lactique conduisant a une acidification rapide et durable, le pH final atteint dépend de la matière première fermentée et des souches utilisées (plus ou moins acidifiantes). Il est le plus souvent entre 4 et 4,5 dans les yaourts. L'effet du pH est renforcé par la forme sous laquelle se trouvent l'acide lactique et les autres acides organiques produits lors des fermentations, en effet, la forme non dissociée de l'acide lactique qui est prédominante à pH acide est généralement plus toxique pour les cellules microbiennes, l'effet d'inhibition peut donc s'exercer à un pH permettant normalement la croissance d'une flore contaminant (Sutra et Al., 1998).

**I-5-6-2- Composés divers:** Les concentrations d'acétaldéhyde atteignant 25 ppm dans les yaourts peuvent avoir un effet inhibiteur sur **Staphylococcus aureus**, **Salmonella typhimurium** ou **E.coli**, car ces germes indésirables voient leur croissance ralentie à partir de 10 ppm. Par contre, les quantités de diacétyl produit par les bactéries lactiques sont généralement trop faibles pour être inhibitrices (Hermier et Al., 1992).

**I-5-6-3- Les bactériocines:** Ces peptides antimicrobiennes sont synthétisés par un grand nombre de souches de bactéries lactiques, ils sont généralement thermorésistants, actifs uniquement sur les bactéries à Gram positif. Le rôle de nisine dans la protection des produits laitiers est renforcé, par le fait qu'elle possède une solubilité maximale aux pH acides rencontrés dans ces produits, elle est commercialisée comme additif alimentaire utilisable dans les fromages fondus. Les ferments du yaourt (**LB.bulgaricus**) produit une acidophiline (Sutra et Al., 1998).

**II-1- Introduction :**

Le yaourt est une préparation à base de lait qui a subi des transformations grâce à l'emploi des micro-organismes particulières ayant la propriété de faire coaguler les protéines obtenus par la fermentation lactique acide due à Lactobacillus bulgaricus et Streptococcus thermophilus du lait pasteurisé (ou concentré, partiellement écrémé, enrichi en extrait sec) avec ou sans addition de lait en poudre, poudre de lait écrémé ....etc.):

Ces micro-organismes métabolisent le sucre contenu dans le lait (le lactose) et le produit résultant de cette fermentation lactique : l'acide lactique, favorise à une température voisine de 40°C la coagulation des protéines (Anonyme, 2003).

**II-2- définition du yaourt :**

Selon Luquet (1990), le yaourt est un lait fermenté obtenu par la multiplication dans le lait de deux bactéries lactiques spécifiques associées : Streptococcus thermophilus et Lactobacillus bulgaricus, ces bactéries lactiques sont cultivées sur du lait préalablement pasteurisé, dans le but d'éliminer la plus grande partie en la totalité de la flore microbienne pré existant.

**II-3- Différents types de yaourt :**

Il existe plusieurs types des yaourts : (Luquet, 1990).

- Les yaourts dits traditionnels ou fermes ou étuvés, dont la fermentation a lieu en potes, ce sont généralement des yaourts naturels et aromatisés.
- Les yaourts à caillé brassé ou yaourts brassés plus liquides dont la fermentation a lieu en cuve avant le conditionnement, ce sont généralement des yaourts veloutés nature ou à la pulpe de fruits ou yaourts avec morceaux de fruits.
- Yaourt à boire, boisson ou yaourt dilué, yaourts congelés.

**II-4- Technologie de fabrication du yaourt :**

La fabrication du yaourt comporte plusieurs étapes :

**II-4-1- Préparation et traitement du lait :** Le lait est de par sa composition un aliment de choix, il contient des graisses, du lactose, des

protéines, des sels minéraux, des vitamines et 87% d'eau (Guiraud, 1998). La technique généralement utilisée consiste à ajouter du lait sec, mais on a par fois recours à une concentration directe par évaporation, le lait est ensuite homogénéisé pour éviter la remontée de la matière grasse pendant la fermentation (bourgeois et Larpent, 1998).

Le lait enrichi va subir ensuite un traitement thermique à 90-95°C (Luquet, 1990).

**II-4-2- L'ensemencement :** Pour le yaourt étuvé, le mélange lait / ferments est soutiré et conditionné en pots (c'est au moment du sorti rage que l'on ajoute des extraits de fruits et le sucre dans le cas de yaourt aromatisés) qui sont mis à l'étuve (à air chaud ou se développera l'acidité (Luquet, 1990).

**II-4-3- Incubation :** Le lait, ensemencé avec les levains et conditionné dans des emballages prêts à la vente, est incubé dans des chambres d'incubation à 43°C-44°C pendant environ trois heures, après incubation, les récipients sont refroidis à environ 15°C-20°C avant son transport en chambre froide (Luquet, 1990).

**II-4-4- Refroidissement :** D'après Luquet (1990), lorsque l'acidité atteint un certain seuil (70 à 80° D) dans le cas des yaourts étuvés, il est nécessaire de bloquer l'acidification en inhibant le développement des bactéries lactiques, pour cela il faut refroidir à 2-4°C

**II-4-5- Conditionnement :** C'est la phase ultime de la fabrication, les yaourts sont généralement conditionnés dans deux types d'emballage. Les pots en plastique, ces pots peuvent être soit fabriqués dans des usines spécialisées, soit formés directement sur la machine de conditionnement (Luquet, 1990).

**II-4-6- Conservation :** Le yaourt ordinaire se conserve environ dix jours, le yaourt fabriqué dans des conditions aseptiques peut se conserver pendant 4 semaines au-dessous de 10°C (Bourgeois et Larpent., 1998).



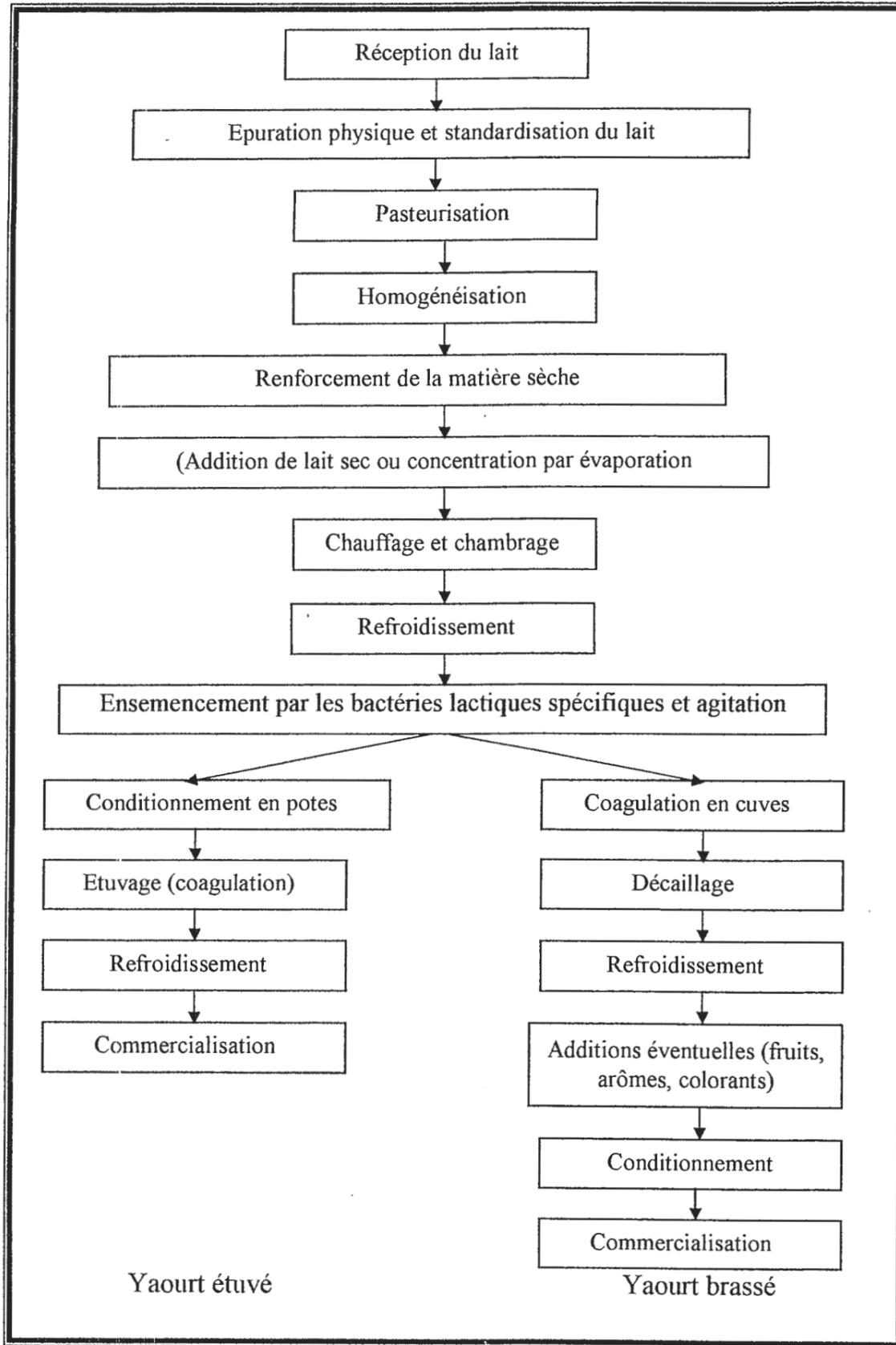


Figure N° 01: Diagramme de la fabrication du yaourt (Veisseyre, 1979).

**II-5- La microbiologie du yaourt :**

Le traitement thermique du lait avant la fabrication étant suffisant pour détruire les micro-organismes non sporulés pathogènes ou non, la présence de ces germes dans le yaourt ne peut être qu'accidentelle, mais il est à noter qu'un yaourt à un pH inférieur ou égale à 4,0 est un milieu hostile pour les bactéries pathogènes. Comme pour la plupart des autres bactéries indésirables (Bourgeois et Larpent, 1998).

Une bonne acidification lactique entraîne une inhibition de la croissance de Echerichia-coli, des Pseudomonas, des Salmonella et des Clostridium, les concentrations d'acétaldéhyde dans les yaourts peuvent avoir un effet inhibiteur sur Staphylococcus aureus, E.coli (Hermier et Al., 1992), la production de gaz dans le yaourt est due à une contamination par des levures ou coliformes, la présence des germes lipolytiques va conduire une rancidité dans le yaourt, l'amertume du yaourt est due à l'activité protéolytiques trop forte des ferments et contamination par des germes protéolytiques (Luquet, 1990). Les levures et les moisissures sont capables de se développer dans le yaourt, de nombreuses moisissures ne sont pas gênées par l'acidité et disposent, avec le saccharose et le lactose résiduels, d'une source abondante d'énergie, ces moisissures peuvent former une couche de mycélium à la surface du yaourt quand l'emballage reste immobile pendant un certain temps, alors que les levures peuvent se développer à la surface ou dans la masse (Bourgeois et Larpent, 1998), la présence des levures et des moisissures dans le yaourt résulte des défaut de goûts levuré, fruité, alcool, goût de moisi (Luquet, 1990).

**III-1- Introduction :**

Les laits fermentés ont une caractéristique commune : ils sont tous obtenus par la multiplication de bactéries lactiques dans une préparation de lait. L'acide lactique coagule ou épaissit le lait et lui confère une saveur acide plus ou moins prononcée. Les caractéristiques propres des différents laits fermentés sont dues à la variation particulière de certains facteurs comme la composition du lait, la température d'incubation, la flore lactique ou la flore microbienne autre que lactique (Luquet, 1990).

**III-2- Les poudres de lait et leur classification :**

Il existe plusieurs classifications des poudres de lait, certains sont classés selon leur composition en matière grasse, d'autres poudres sont classées selon l'index thermique, appelé aussi index de dénaturation des protéines, il existe aussi une autre classification basée sur leur utilisation.

**III-2-1- Classification selon la composition en matière grasse :** On distingue trois types principaux des poudres de lait (Veisseyre, 1979) :

- 1- Poudres de lait écrémé 0 % de matière grasse.
- 2- Poudres de lait à 28 % de matière grasse.
- 3- Poudres de lait à 26 % de matière grasse.

**III-2-2- Classification selon l'index thermique : (AFRI, 2001),** Elle prend en considération l'intensité des traitements thermiques subit par le lait au cours du séchage ainsi on distingue :

- Poudre "basse température" : moins de 6 mg de protéines solubles/g "Low heat".
- Poudre "haute température" : 1,5 mg de protéines solubles/g " High Heat".
- Poudre "moyenne température" : entre 1.5 - 5.99 mg de protéines solubles par gramme "Medium heat".

**III-2-3- Classification selon leurs utilisations: (AFRI, 2001).**

**III-2-3-1- Poudres de lait destinées aux industries alimentaires :** Les poudres de lait sont éventuellement destinées aux industries laitières pour être utilisées directement dans la reconstitution du lait et la production de ses dérivées (yaourt, fromage, ..).

**III-2-3-2- Poudres de lait destiné à la consommation humaine:** La poudre de lait écrémé est employée comme additif alimentaire par les fabricants de crème glacée, des pâtes alimentaires, les biscuiteries, les chocolateries.

**III-2-3-3- Poudres de lait destiné à l'alimentation animale:** La poudre est employée essentiellement dans le ré engraissement et dans l'alimentation du bétail notamment les veaux à partir de la poudre de lait écrémé additionnée de matière grasse non laitière.

**III-3- Composition et propriétés physico-chimiques du lait en poudre:****III--3-1- Compositions chimiques:**

Le tableau II résume la composition chimique moyenne de 100 g de poudre de lait sec 28%MG, écrémé et 26%MG fabriqué selon le procédé SPRAY:

**Tableau II: Composition chimique moyenne des laits en poudre  
(Veisseyre, 1979):**

Constituant	Lait28%MG	Lait écrémé	Lait 26%MG
	g/100g	g/100g	g/100g
- Eau	02 - 04	3,5 - 04	02 - 04
- Glucides	35 - 37	50 - 52	35 - 37
- Matières grasses	26 - 28	01 - 1,5	26
- Matières azotées	27 - 29	34 - 37	27 - 29
- Matières sèches non grasses	70 - 72	94,5 - 95,5	70 - 72
Matières salines	7,5 - 08	9,5 - 10	7,5 - 08

**III-3-2- Propriétés physico-chimiques:**

Selon Veisseyre (1979), le lait est caractérisé par des constantes physico-chimiques spécifiques:

- L'acidité : 0,11 - 0,15 % pour le lait 28% MG.

Maximum 0,11 % pour le lait écrémé.

Maximum 0,116 pour le lait 26% MG.

- Humidité :

Maximum 03 % pour le lait 28% MG.

Maximum 04 % pour le lait écrémé.

Maximum 02,78 % pour le lait 26% MG.

- pH : 06,6.

#### III-4- Le traitement du lait pour la fabrication de yaourt:

Au cours de la fabrication du yaourt, le lait passe par plusieurs étapes:

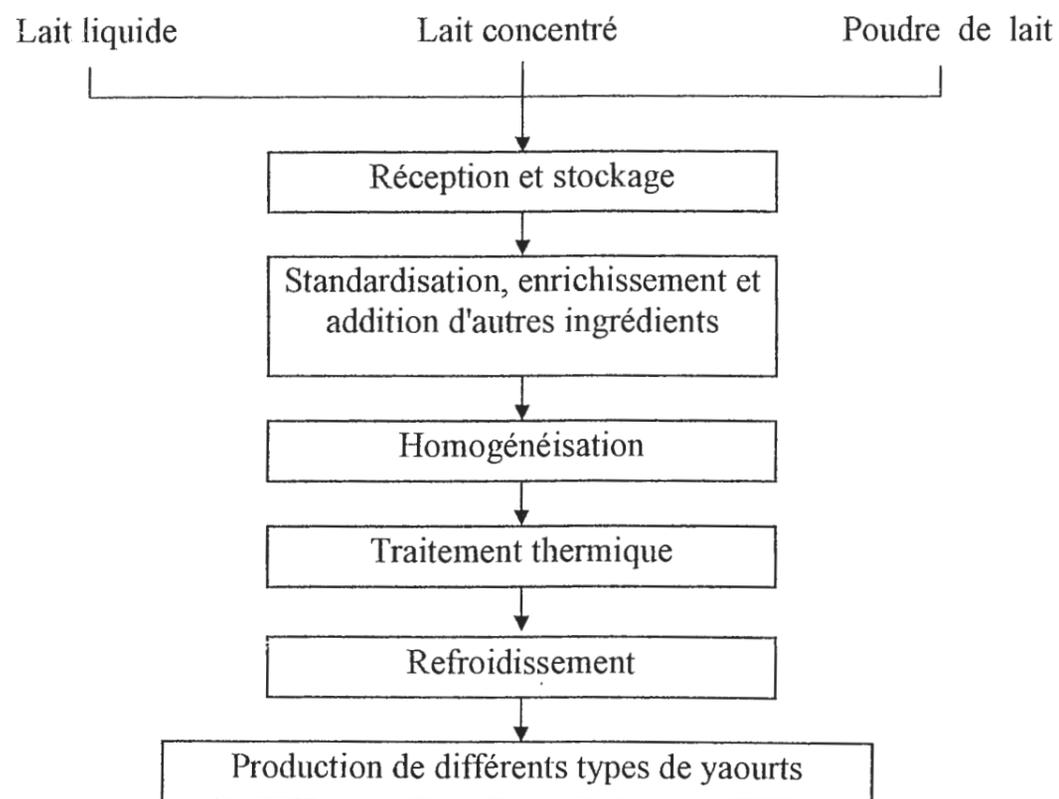


Figure 02 : Les étapes de traitement du lait pour la fabrication de yaourts.

(Anonyme, 1999)

DEUXIEME PARTIE

ETUDE EXPERIMENTALE

## **II- MATERIEL ET METHODES :**

Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie de l'institut des sciences de la nature de l'université de Jijel.

### **II-1- MATERIELS**

#### **II-1-1- Levain :**

On a utilisé un levain lyophilisé DVS 647 importé de France composée de : Streptococcus salivarius subsp thermophilus et Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus, Ce ferment est utilisé par l'unité de production de yaourt de tassoust

#### **II-1-2- Le lait en poudre :**

Trois types de lait en poudre ont été utilisés au cours de notre expérimentation à savoir le lait écrémé 0% de matières grasse, le lait à 26% de matière grasse et le lait à 28% de matière grasse.

#### **II-1-3- L'emballage :**

Au cours de notre étude on à utilisé trois récipients en plastique stérile d'un volume d'un litre et des pots en plastique de volume de 100ml.

#### **II-1-4- Milieux de cultures :**

Pour accomplir notre analyse microbiologique on à utilise :

- Gélose MRS (Man, Rogosa et Sharpe) : pour le dénombrement des Lactobacilles lactiques.
- Gélose M<sub>17</sub> (gélose de TERZA Gui et SANDINE) : pour le dénombrement des Streptocoques lactiques.
- Gélose Chapman pour la recherche de Staphylococcus aureus (test présumé).
- Gélose VRBL pour le dénombrement des Coliformes totaux et Coliformes thermotolerants.
- Gélose O.G.A (Gélose a l'Oxytetracycline) : pour rechercher les levures et moisissures.

- Gélose Y.M.A : (Yeast Milk Agart) : utilisée pour la recherche de l'activité protéolytique des bactéries lactiques.

**II-1-5- Autres produits : on a utilisé :**

- Le Phénol phtaléine et la soude dornic (N/9) pour le dosage de l'acide lactique.
- Les colorants (Violet de Gentiane, Fuschine, Lugol, Bleu de Méthylène pour la coloration simple et coloration de GRAM.).
- Les sucres (Saccharose, Glucose).

**II-2- METHODES :**

**II-2-1- Examen microscopique et aptitudes technologiques du ferment :**

**II-2-1-1- Examen microscopique :**

L'examen de préparation microscopique révélée par la coloration de GRAM permet de faire la distinction entre les Gram+ et les Gram- (leveau et al. , 1991), après préparation du frottis bactérien sur lame et sa fixation à la chaleur, on a coloré par la méthode de GRAM en respectant les temps de coloration suivants :

- Violet de Gentiane : 50 secondes
- Lugol : 1 à 2 minutes
- Rinçage à l'alcool
- Fuschine : recoloration légère : 50secondes

Par la suite, on passe à l'observation microscopique à l'immersion

**II-2-1-2- Aptitudes technologiques :** (DEROISSART ET LUQUET, 1993).

**a- Production de polysaccharides :** Pour ce test on a utilisé trois milieux de cultures : Gélose Nutritive, MRS et M<sub>17</sub> chacun est additionné de quatre doses de saccharose à savoir 5%, 10%,15 %, et 20%, après ensemencement en stries on a incubé à 42°C/24-48H.

Les souches déxtranigènes sont caractérisées par la formation sur le milieu de colonies larges et gluantes.

**b- Recherche de l'activité protéolytique :** (DE ROISSART et LUQUET, 1993) Ce test va mettre en évidence l'hydrolyse des protéines par les bactéries lactiques, le test est réalisé sur le milieu Y.M.A (Yeast Milk, Agar) qu'on a préparé au préalable.

Les souches sont ensemencées en touche à la surface du milieu Y.M.A on laisse les touches séchées puis on incube à 42°C/24-48H, la lecture des résultats est effectuée par mesure de la dimension des anneaux autour des touches.

**II-2-2- La fabrication des yaourts étuvés :** La fabrication du yaourt étuvé au niveau de laboratoire passe par les étapes suivantes : (LUQUET, 1990) :

**a- Préparation du levain :** Pour préparer le levain, on utilise 150g de lait 28%MG déshydraté et 120g de sucre, dilués dans 1000 ml d'eau, le tout est pasteurisé à 90°C pendant 15min, il est ensuite refroidi à 42°C, puis on y verse quelques pincées (0,2g/100ml) du ferment lyophilisé, l'homogénéisation se fait grâce à une agitation automatique, l'incubation se fait à 42°C jusqu'à l'obtention d'un coagulant bien ferme.

**b- Préparation de lait :** Six litres des laits sucrés (deux litres pour chaque poudre de lait ont été utilisés pour la fabrication des yaourts étuvés, on reconstitue les laits à raison de 150g/l, on ajoute 120g de sucre puis on homogénéise pendant quelques minutes jusqu'à la dissolution complète du mélange.

**c- Pasteurisation :** Nos laits vont subir un traitement thermique à 90°C pendant 15min ensuite, on le fait refroidir à 42°C

**d- Ensemencement :** L'ensemencement est une dissémination des ferments dans le lait pour développer certaines fermentations spécifiques (LUQUET, 1990). Nos matières premières ont été ensemencées par la même

dose du levain (4%) on pratique une agitation pour assurer une répartition régulière du levain dans les laits.

**e- Etuvage :** Après l'ensemencement on incube les produits à 42°C, chacune deux heures de l'incubation, l'acidité et le PH sont contrôlés, quand les yaourts atteint d'acidité de 80-95°C les récipients sont retirés.

**f- Conditionnement :** Les laitsensemencés sont conditionnés dans des pots stériles, chaque pot contient 100ml de laitensemencé avec une fermeture hermétique.

**g- Refroidissement :** Après le conditionnement et étuvage, les pots sont immédiatement transférés dans le réfrigérateur, c'est à ce niveau que nous avons effectué notre prélèvement pour faire nos premières analyses physico-chimiques et microbiologiques.

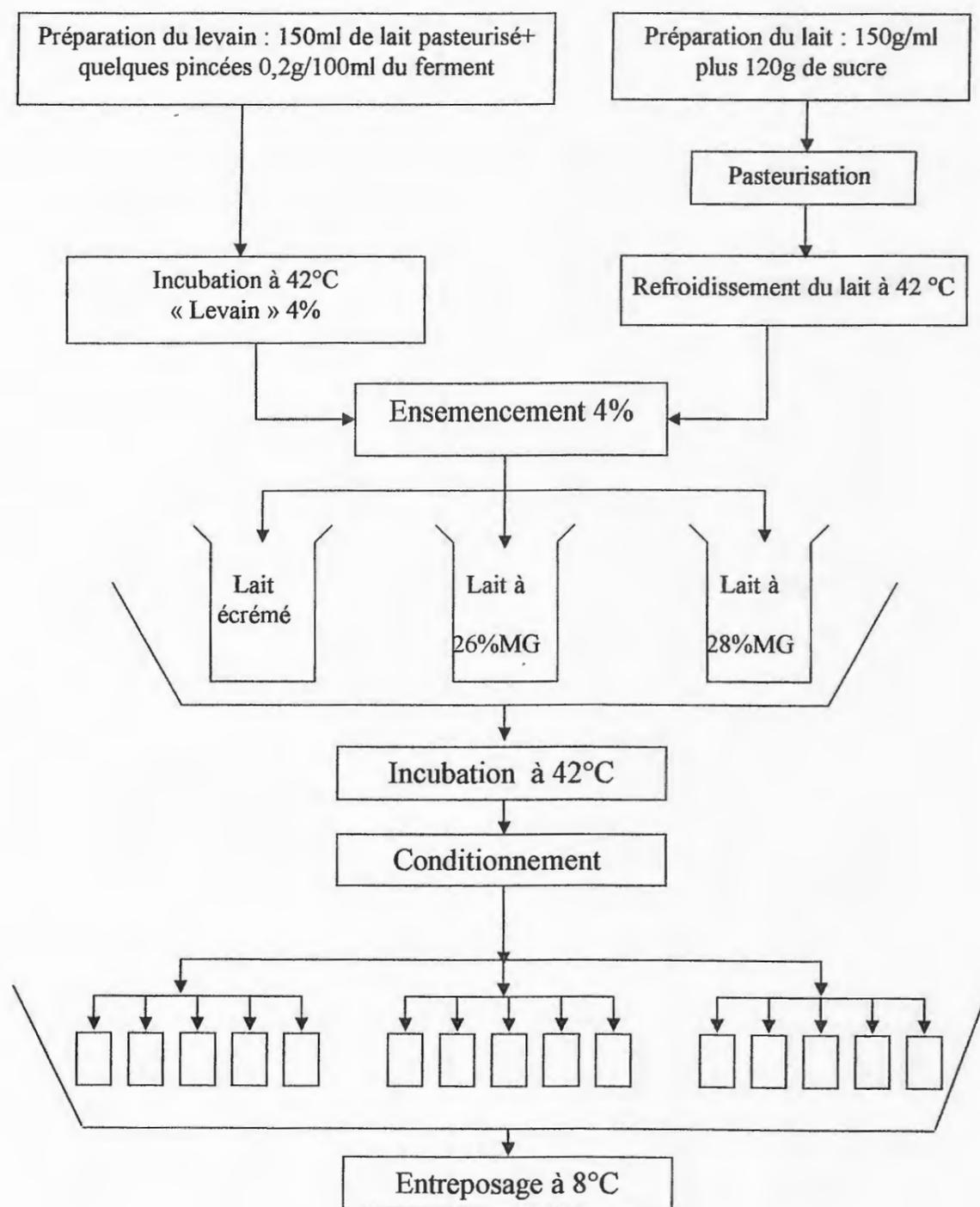


Figure N°3 : Schéma du processus de fabrication des yaourts étuvés avec les différentes poudres de lait au niveau du laboratoire.

**II-2-3- Analyses physico-chimiques :** Les analyses réalisées lors de notre étude ont été effectuées selon les méthodes normalisées (AFNOR).

**a- Détermination de l'acidité dornic :** (VOU-206, janvier, 1969)

◊ **Mode opératoire :** L'acidité est déterminée par titration d'un échantillon de 10ml de yaourt plus 5 gouttes de Phénol Phtaléine à l'aide de la soude dornic (N/9) jusqu'au virage au rose pâle.

◊ **Interprétation des résultats :** L'acidité en degré dornic est déterminée par la formule suivante :

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

V = volume de NaOH (N/9) utilisé pour titrer les 10 ml du yaourt

**b- Mesure du PH :** Pour la mesure du PH, on plonge l'électrode de PH mètre dans le produit et on note la valeur du PH enregistré sur l'écran.

**c- Détermination de la matière sèche :** (vou-208, janvier, 1969).

◊ **Mode opératoire :** La matière sèche est déterminée par pesées avant et après évaporation de 10 ml de yaourt à 120°C pendant 2 à 4 heures jusqu'à ce que la différence entre les deux pesées soit négligeables.

◊ **Interprétation des résultats :** Le pourcentage de la matière sèche de l'échantillon est donné par la formule suivante :

$$MS\% = \frac{X}{Y} \cdot 100$$

X : poids de l'échantillon (g) après étuvage.

Y : poids de l'échantillon (g) avant étuvage



**d- Détermination de la matière minérale :**

◊ **Mode opératoire :** La matière minérale est déterminée par pesées avant et après évaporation de 10ml de yaourt à 500°C pendant 4-5 heures.

◊ **Interprétation des résultats :** Le pourcentage de la matière minérale est donné par la formule suivante :

$$MM\% = \frac{X}{Y} \cdot 100$$

X : poids de l'échantillon (g) après évaporation

Y : poids de l'échantillon (g) avant évaporation

**e- Détermination de la matière organique :** On obtient le pourcentage de la matière organique à partir de la matière sèche et la matière minérale, elle est donnée par la relation suivante :

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

#### **II-2-4- Analyses microbiologiques des yaourts :**

**II-2-4-1- Echantillonnage, prélèvement et dilutions :** Notre échantillon est composé d'un pot de yaourt, le contenu de ce dernier est rendu fluide par agitation manuelle.

Les dilutions sont directement réalisées à partir du produit fluidisé ou de la solution mère dans de l'eau physiologique stérile jusqu'à  $10^{-4}$  la figure N°4 résumer l'ensemble des opérations de dilution ensemencement et incubation.

**II-2-4-2- Recherches et dénombrement des flores :** (JOFFIN et JOFFIN, 1992).

◇ **Recherche et dénombrement des Coliformes totaux :** On introduit au fond de chaque boîte de pétri 1 ml de la dilution  $10^{-4}$  et on fait couler le milieu VRBG en surfusion, après solidification les boîtes sont incubées pendant 24 heures à 37°C.

Toutes les colonies rouges (lactose<sup>+</sup>) d'un diamètre minimum de 0,5mm sont considérées comme étant des Coliformes.

◇ **Recherche et dénombrement des Coliformes thermotolérants :** On a utilisé la même technique et le même milieu que ceux du dénombrement des Coliformes totaux, sauf que l'incubation se fait à 44°C pendant 24 heures.

◇ **Recherche et dénombrement des *Staphylococcus aureus* :** La recherche de *Staphylococcus aureus* est effectuée par ensemencement à partir de la solution mère, on dépose et on étale un volume de 0,1 ml à la surface du milieu Chapman, les boîtes du dénombrement sont ensuite incubées à 37°C pendant 24 heures.

Les colonies blanches ou jaunes mannitol (+) sont soumises au test de la coagulase et éventuellement de la phosphatase.

◊ **Dénombrement des Streptocoques lactiques :** Le dénombrement de **Streptocoques** lactiques se fait par étalement d'un ml de la dilution  $10^{-1}$  sur le milieu de  $M_{17}$ , l'incubation se fait à  $42^{\circ}\text{C}$  pendant 24 heures, Les colonies sont rondes lenticulaires, à contours réguliers laiteux de coloration au blanc crème et petite de taille.

◊ **Dénombrement des Lactobacilles lactiques :** Ils sont dénombrés par ensemencement de 1 ml de la dilution  $10^{-2}$  à la surface de milieu MRS en boîte de pétri l'incubation se fait à  $42^{\circ}\text{C}$  pendant 24-48 heures. Les colonies lenticulaires souvent en forme d'étoile de 1 à 3mm de diamètre.

◊ **-Recherche des Levures et Moisissures :** Elle est effectuée par ensemencement de 1ml de la dilution  $10^{-3}$  à la surface du milieu glosé oxytétracycline (O.G.A) et l'incubation se fait à  $25^{\circ}\text{C}$ /3 à 7 jours.

◊ **Les Levures :** Aspect souvent identique, aux colonies bactériennes, elle peut avoir des bords réguliers ou irréguliers, des formes convexes ou plates, elles sont pigmentées et souvent opaques.

◊ **Les Moisissures :** Les colonies sont toujours pigmentées, avec un aspect velouté plus ou moins proéminents.

**II-2-5- Traitement statistique :** Le dispositif mono factoriel en bloc va être utilisé pour l'analyse de variance des différents résultats.

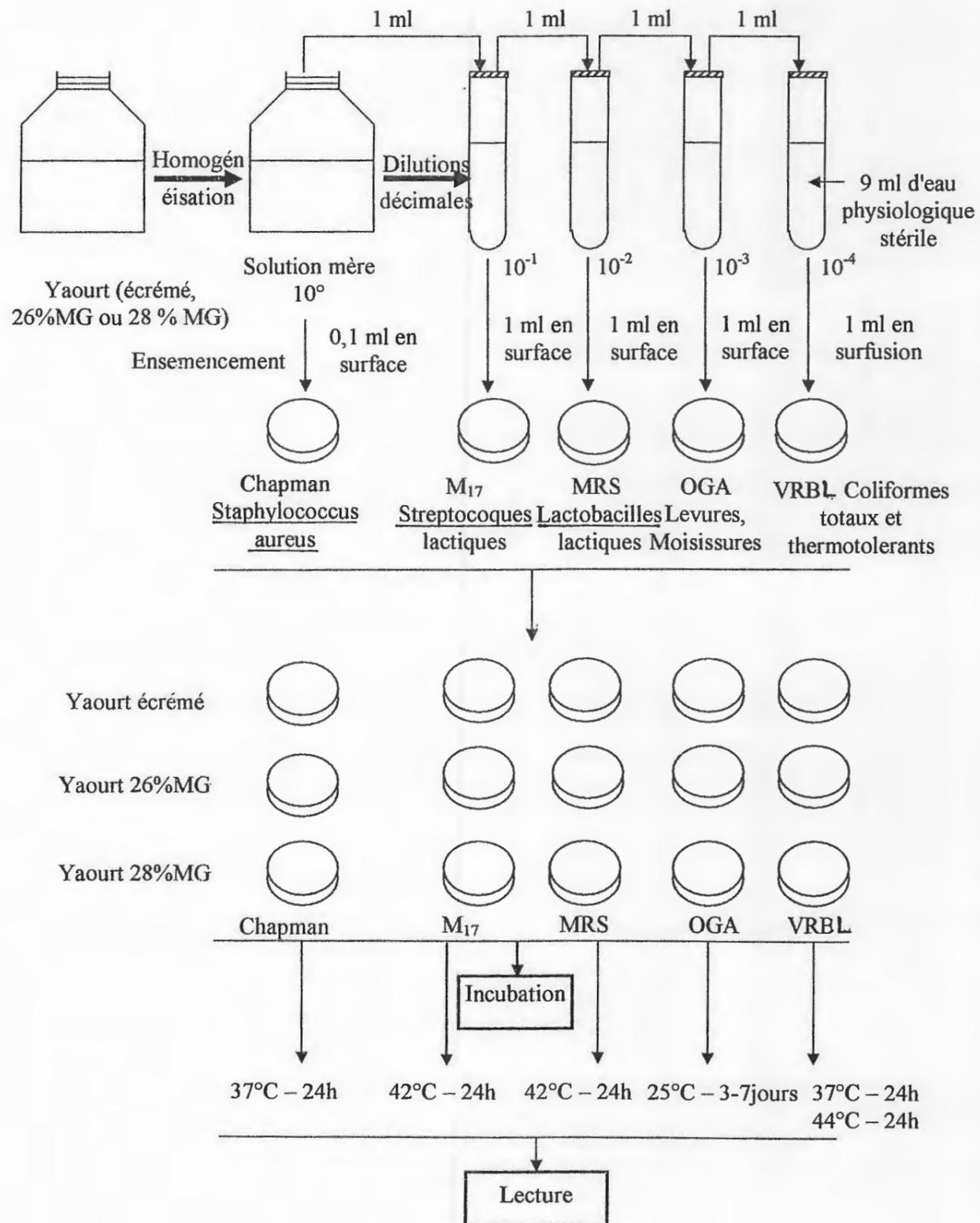


Figure N°4 : Technique de dilution et différentes flores recherchées.

Les colonies blanches ou jaunes mannitol (+) sont soumis au test de la coagulase et éventuellement de phosphatase.

◊ **Dénombrement des Streptocoques lactiques :** Le dénombrement de streptocoques lactiques se fait par étalement d'un ml de la dilution  $10^{-1}$  sur le milieu de M<sub>17</sub>, l'incubation se fait à 42°C pendant 24 heures, Les colonies sont rondes lenticulaires, à contours réguliers laiteux de coloration blanc crème et petite de taille.

◊ **Dénombrement des Lactobacilles lactiques :** Ils sont dénombrés par ensemencement de 1 ml de la dilution  $10^{-2}$  à la surface de milieu MRS en boîte de pétri l'incubation se fait à 42°C pendant 24-48 heures. Les colonies lenticulaires souvent en forme d'étoile de 1 à 3 mm de diamètre.

◊ **Recherche des levures et moisissures :** Elle est effectuée par ensemencement de 1 ml de la dilution  $10^{-3}$  à la surface du milieu glosé oxytétracycline (O.G.A) et l'incubation se fait à 25°C/3 à 7 jours.

◊ **Les levures :** Aspect souvent identique, aux colonies bactériennes, elle peut avoir des bords réguliers ou irréguliers, des formes convexes ou plates, elles sont pigmentées et souvent opaques.

◊ **Les moisissures :** Les colonies sont toujours pigmentées, avec un aspect velouté plus ou moins proéminents.

**II-2-5- Traitement statistique :** Le dispositif mono factoriel en bloc va être utilisé pour l'analyse de variance des différents résultats.

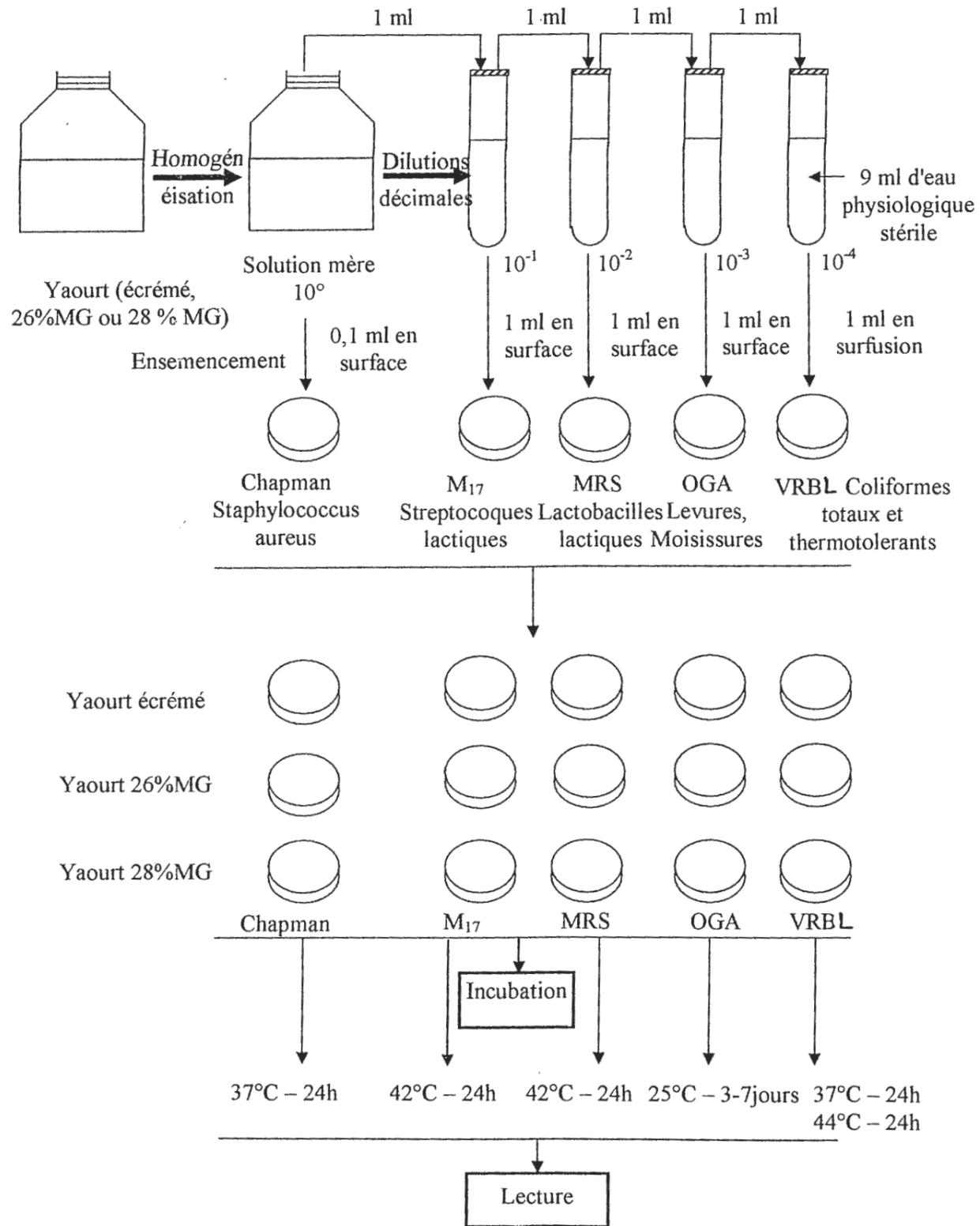


Figure N°4 : Technique de dilution et différentes flores recherchées.

TROISIEME PARTIE

RESULTATS ET DISCUSSION

### III- RESULTATS ET DISCUSSION:

#### III-1- Examen microscopique et aptitudes technologiques :

III-1-1- Examen microscopique: Après la préparation du frottis du yaourt et coloration, on a noté le suivant:

- Présence de coques Gram+ en cocci, isolés, en diplocoques et en chaînettes plus ou moins longue, (Streptococcus thermophiles), se sont la flore normale du yaourt.
- Absence de bacilles Gram + (Lactobacillus bulgaricus) et absence de Gram-.

Ces observations nous laissent pensé que le ferment est composé d'une souche pure qui est Streptococcus salivarius subsp thermophilus.

III-1-2- Aptitude texturant (production de polysaccharides): Les résultats du test de la production de polysaccharides sont représentés dans le tableau III.

Les colonies bactériennes sur les différents milieux de culture étaient de forme régulière aucune colonies n'était large ou gluante.

D'après les résultats obtenus, l'absence de l'aptitude texturant est probablement due à l'absence du plasmide. Car d'après (Hermier et al. ,1992) : La formation de polysaccharides épaississants à été rapportée à la présence de plasmides.

III-1-3- Activité protéolytique: Les résultats de l'hydrolyse des protéines par les souches du yaourt sur les milieux Y. M.A sont représentés dans le tableau III.

Au cours de ce test, nous avons observé qu'il y a une croissance des souches ensemencées en touche, avec présence de zone de protéolyse. Donc les bactéries du yaourt sont capables d'hydrolyser les protéines présentes dans le milieu, cette aptitude à l'hydrolyse des protéines chez le ferment est probablement liée à la présence des plasmides car d'après Leveau et al. (1991),

les propriétés technologiques des bactéries du yaourt sont portées par les plasmides même auteurs ont rapporte que la flore du yaourt est protéolytique.

**Tableau III : Pouvoir épaississant des bactéries du yaourt et activité protéolytique sur le milieu Y. M. A :**

Milieux		Evaluation du test	Observation
Gélose nutritive	05% sac	-	Colonies de forme régulière.
	10% sac	-	
	15% sac	-	
	20% sac	-	
MRS	05% sac	-	Colonies de forme régulière.
	10% sac	-	
	15% sac	-	
	20% sac	-	
M <sub>17</sub>	05% sac	-	Colonies de forme régulière.
	10% sac	-	
	15% sac	-	
	20% sac	-	
Y.M.A	Diamètre en (mm) 12 mm	+	Croissance avec présence de zone de protéolyse.

- : test négatif.

+ : test positif

Sac : saccharose.



Figure N° 5 : Activité protéolytique du ferment thermophile.

### III-2- Evolution de l'acidité lactique et du pH au cours de la fabrication:

Nos résultats représentés dans le tableau IV et illustrés par la figure 5 et 6 montrent que l'acidité du yaourt fabriqué avec le lait écrémé augmente considérablement au cours de l'incubation suivie par celle du yaourt de lait à 28% de matière grasse.

L'évolution de l'acidité apparaît dès la 4<sup>ème</sup> heure pour atteindre l'acidité demandée 90° D au bout de 5 heures témoignant la présence des conditions favorable au bon déroulement de la fermentation lactique.

Cette différence de vitesse de coagulation sur le lait écrémé (0% MG) et les laits à différentes (26% et 28% MG) en matière grasse peut être liée à cette dernière, car d'après Eck et Lavoisier (1987), la matière grasse a un effet inhibiteur vis à vis des ferments du yaourt.

Il apparaît que notre yaourt est conforme aux normes en matière d'acidité lactique (80-90°D), d'après Kumathand Kandler, (1998 in Ramech et Chandan, 1989), l'acidité lactique du yaourt étuvé doit être de 80°D à 90°D.

D'après la figure de l'évolution du pH, il apparaît que la vitesse d'abaissement du pH est en corrélation avec la production de l'acide lactique et est probablement liée à la composition du lait par exemple à la 4<sup>ème</sup> heures, le pH du yaourt (0% MG) est de 4.48, celui du yaourt (26% MG) est de 4.5 et pour le yaourt (28% MG) 4.35, par ailleurs et d'après RAJPUT et AL., (1983 in

Rameche et Chandan, 1989) le pH du yaourt étuvé (produit fini) est d'environ 4.6. Donc le pH de notre produit est inférieur au pHi de la caséine.

L'analyse de la variance a montré que la qualité de la poudre a un effet allant de signification à hautement significatif sur le paramètre acidité en revanche aucun effet n'est obtenu à l'égard du pH, par ailleurs, les mêmes observations ont été notées avec l'effet durée d'incubation.

Enfin, il apparaît, que la meilleure vitesse d'acidification est obtenue avec la poudre de lait écrémé.

**Tableau IV: Evolution de l'acidité et de pH au cours de la fabrication des yaourts étuvés**

Heurs	yaourts	Yaourt au lait	Yaourt au lait à 26% MG	Yaourt au lait à 28% MG	Signification statistique	
					pH	°D
0 H lait frais	pH	6,51	6,56	6,50	N S	* à **
	°D	21,0	15,0	20,0		
2 H	pH	4,62	4,66	4,54		
	°D	66,5	48,5	68,0		
4 H	pH	4,48	4,50	4,35		
	°D	86,0	63,5	81,0		
5 H	pH	4,38	4,40	4,30		
	°D	94,5	84,5	89,0		
Signification statistique	pH	N S				
	°D	* à **				

°D : Acidité en degrés Dornic

NS : non significatif

pH : potentiel hydrogène

\* : significatif

\*\* : hautement significatif.

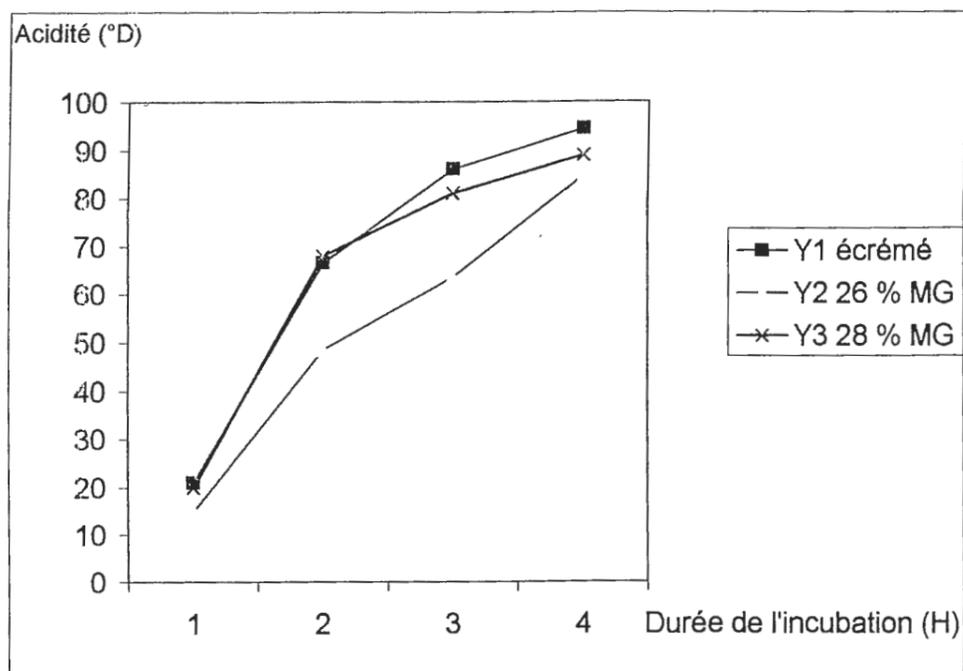


Figure N° 6 : Evolution de l'acidité au cours de la fabrication des yaourts étuvés.

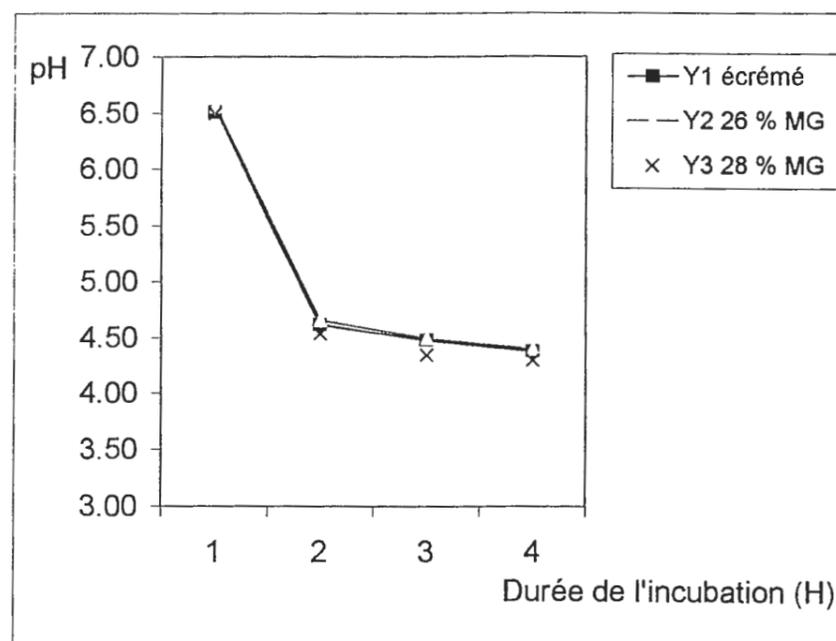


Figure N° 7 : Evolution du pH au cours de la fabrication des yaourts étuvés.

### III-3- Evolution de l'acidité et de pH au cours de la conservation:

Les résultats de l'acidité et du pH obtenu au cours de la conservation des yaourts étuvés sont représentés dans le tableau V et illustrés par les figures 7 et 8.

Au cours de la conservation, le yaourt est conservé au froid à une température ne devant pas dépasser 8°C pendant 24 jours au plus, dans ces conditions, les bactéries du yaourt ne se multiplient pas mais conservent néanmoins une activité métabolique (bourgeois et Larpent, 1998).

D'après les résultats obtenus, on remarque qu'il y'a une très faible augmentation de l'acidité lactique des yaourts. Enfin de conservation l'acidité était de 97°D pour le yaourt écrémé, 99°D pour le yaourt au lait à 26% MG et 91°D pour le yaourt au lait à 28% MG. Ce faible augmentation est relatif au faible l'acidité métabolique homofermentaire du ferment c'est-à-dire à la conversion du lactose en acide lactique et à l'effet du froid. Toute fois, pour le yaourt (26% MG), la différence était de 14,5°D entre le 1<sup>er</sup> jour et le dernier jour. Par ailleurs, et après 14 jours de conservation, on observe une diminution des valeurs de pH dont on a enregistré un pH 3,66 pour le yaourt écrémé 3,78 pour le yaourt (26% MG) et pH 3,90 pour le yaourt (28% MG).

Ces pH sont similaires à celui du yaourt brasse, donc le froid n'a pas joué son rôle.

L'analyse de variance a montré que seul la durée de conservation a un effet significatif sur les deux facteurs physico-chimique (pH et acidité).

Enfin, le yaourt au lait à 28 % MG reste le meilleur après 14 jours de conservation.

**Tableau V : Evolution de l'acidité et du pH au cours de la conservation des yaourts étuvés.**

Jours	yaourts	Yaourt au lait écrémé	Yaourt au lait à 26% MG	Yaourt au lait à 28% MG	Signification statistique	
					pH	°D
J 1	pH	4,38	4,40	4,30	* à **	* à **
	°D	94,5	84,5	89,0		
J 7	pH	3,99	4,06	3,92		
	°D	95,0	89,0	90,0		
J 14	pH	3,66	3,78	3,90		
	°D	97,0	99,0	91,0		
Signification statistique	pH	NS				
	Acidité	N S				

°D : Acidité en degrés Dornic

NS: non significatif

\*\* : Hautement significatif

pH : potentiel hydrogène

\* : significatif

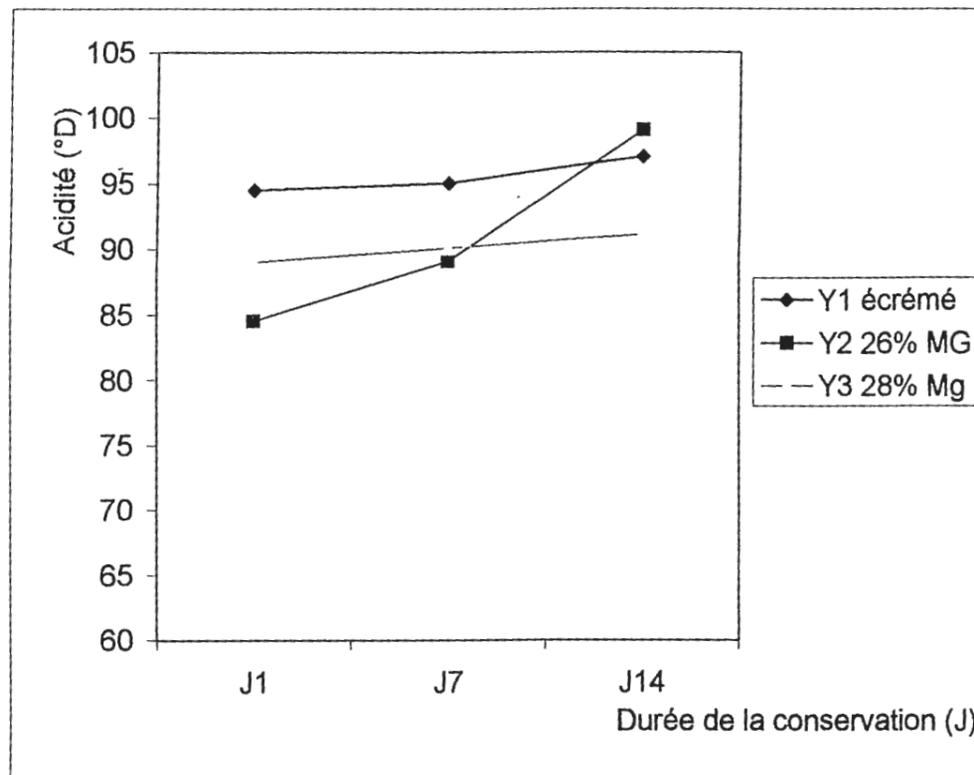


Figure N° 8 : Evolution de l'acidité au cours de la conservation des yaourts étuvés.

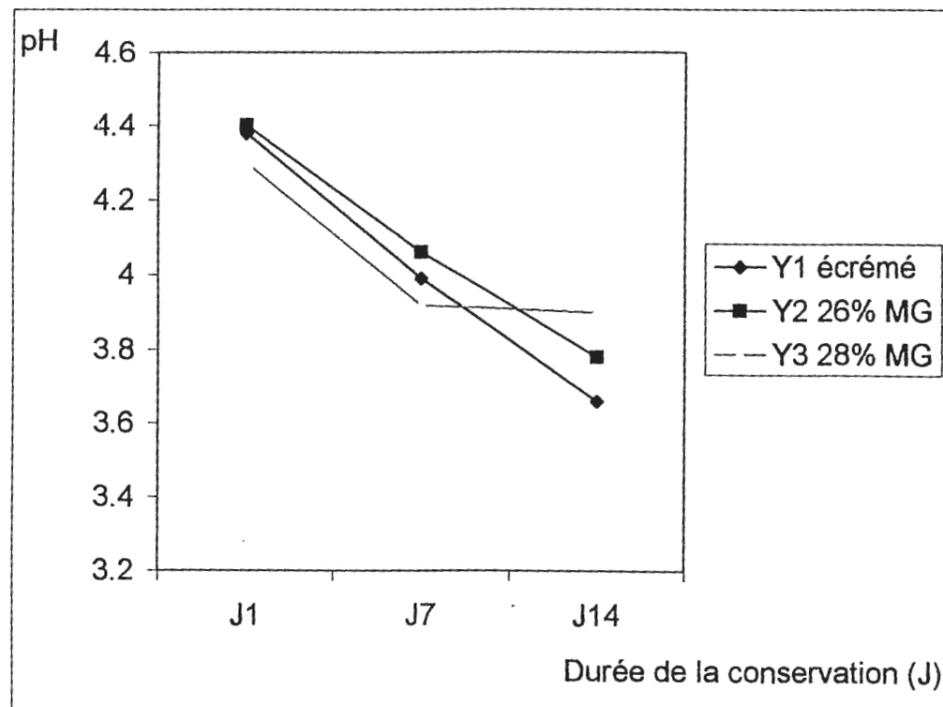


Figure N° 9 : Evolution du pH au cours de la conservation des yaourts étuvés.

### **III-4- Evolution de la matière sèche, matière minérale et de la matière organique au cours de la conservation:**

Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau VI est illustrés par les figures 9,10 et 11.

Au cours de notre travail, nous avons remarqué que la matière sèche est en décroissance à partir du 7<sup>ème</sup> jour, d'autre part les matières premières utilisées pour la production des yaourts étuvés sont riches en matière sèche avec un minimum de 32,32% pour le lait écrémé et un maximum de 36,19% pour le lait à 28% MG. La matière sèche au 1<sup>ier</sup> jour est élevée par rapport à la matière sèche des yaourts, cette augmentation est relative à l'addition du levain qui a influencé ce paramètre chimique, par ailleurs TAHOMAS et PRITCHARD (1987 Leveau et Al., 1993) rapportent que dans le yaourt on estime que les bactéries lactiques doivent en quelques heures se multiplier jusqu'à  $10^9$  cellules/ml (soit environ 0,5 mg de poids sec/ml).

Au cours des deux dernières semaines, on a noté une diminution de la matière sèche des yaourts, cette diminution est probablement liée à l'hétérogénéité de notre prélèvement, de ce fait, il apparaît que la durée de conservation a un effet sur la matière sèche du produit fini.

Pour la matière minérale et d'après les résultats illustrés par la figure 10. Il y a des fluctuations témoignant, l'hétérogénéité observée au niveau des différents lots des yaourts étuvés avec une richesse de yaourt écrémé, au cours de la dernière semaine, on a noté une diminution de la matière minérale, cette diminution est probablement liée à l'hétérogénéité de notre prélèvement, à l'utilisation de ce substrat par la flore du yaourt pour satisfaire leurs besoins nutritionnels, mais notre produit fini reste riche en matière minérale.

Enfin, et conservant la matière organique, nous avons remarqué que cette dernière a connue des fluctuations à partir du 1<sup>ier</sup> jour de fabrication, une nette diminution est notée au 14<sup>ème</sup> jours, cette diminution est liée à l'existence des bactéries vivantes entraînent des modifications à savoir la production d'acide

lactique, protéolyse et production d'acétaldéhyde, d'autre part lié à l'utilisation des différents substrats par les bactéries lactiques pour leurs besoin nutritionnels (glucides, protéines, lipides, vitamines, acide organique,...).

L'analyse des variances a montré le suivant :

- Aucune signification n'a été notée avec la matière sèche.
- La qualité de la poudre et la durée de conservation ont des effets allant de significatifs à hautement significatif sur la teneur des yaourts en matière minérale.
- La qualité de la poudre affecte nettement la teneur en matière organique des yaourts (effet significatif).

Enfin, le yaourt au lait écrémé est nettement meilleur sur le plan qualité chimique relative aux matières : Sèche, minérale et organique.

**Tableau VI : Evolution de la matière sèche, matière minérale et de la matière organique au cours de la conservation des yaourts étuvés :**

yaourts		Yaourt au lait écrémé	Yaourt au lait à 26% MG	Yaourt au lait à 28% MG	Signification Statistique
MS (%)	Matières premières	32,32	33,00	36,19	N S
	J1	22,07	20,93	24,44	
	J7	29,65	30,75	31,80	
	J14	28,57	28,35	25,47	
S. S		N S			S. S
M. M (%)	Matières premières	01,86	02,85	03,70	* à **
	J1	02,59	03,48	04,44	
	J7	05,55	04,02	04,11	
	J14	04,70	3,61	02,76	
S. S		* à **			S. S
M. O (%)	Matières premières	30,46	30,15	32,49	N. S
	J1	19,48	17,45	20,00	
	J7	24,10	26,73	27,69	
	J14	23,87	24,74	22,71	
S. S		*			

M. S: Matière Sèche

M. M: Matière Minérale

M. O: Matière Organique

\* : significatif

\*\* : hautement significatif

NS: Non Significatif

S. S: Signification Statistique.

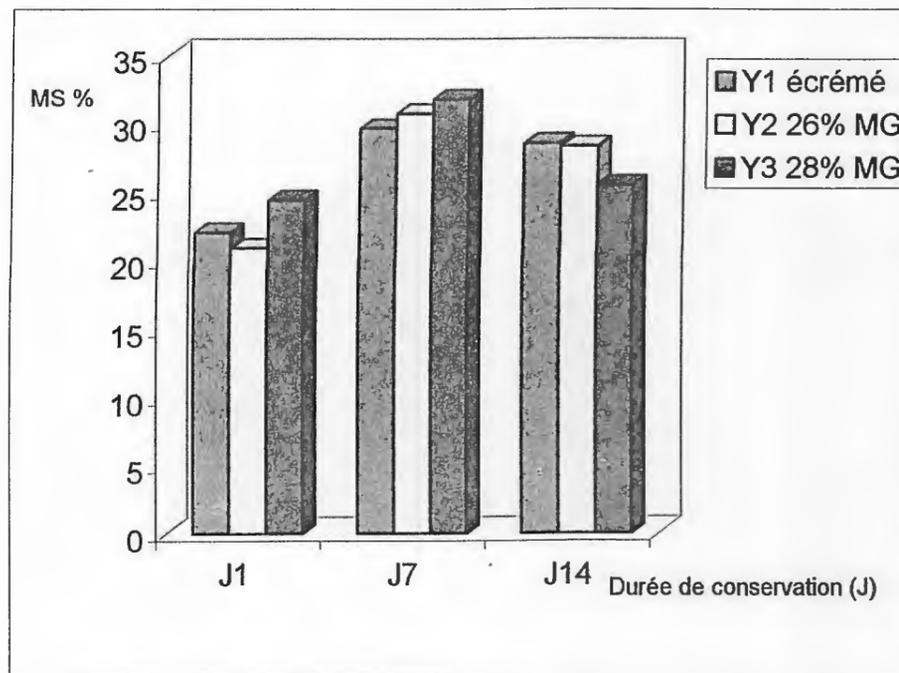


Figure N° 10 : Evolution de la matière sèche au cours de la conservation des yaourts étuvés.

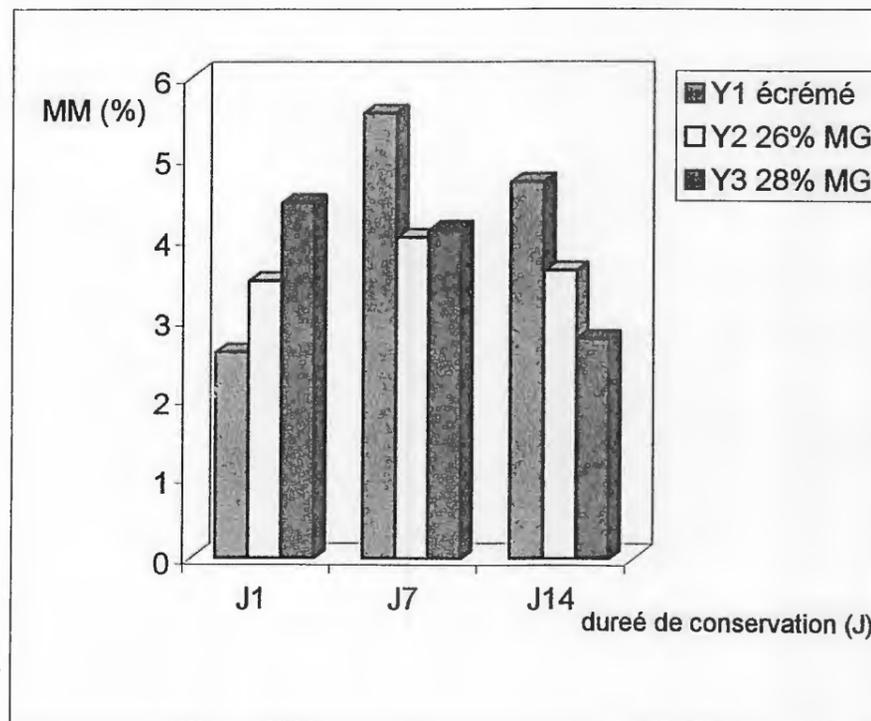


Figure N° 11 : Evolution de la matière minérale au cours de la conservation des yaourts étuvés.

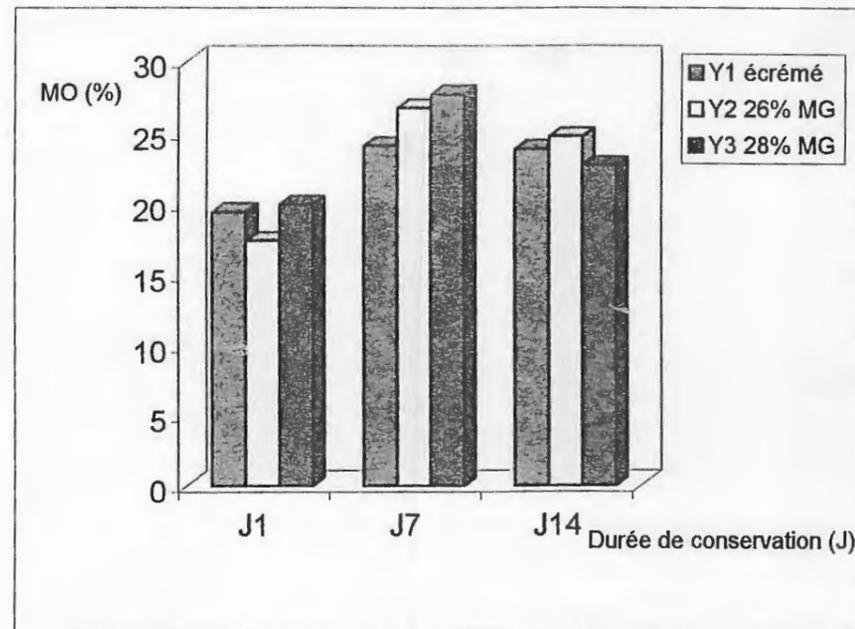


Figure N° 12 : Evolution de la matière organique au cours de la conservation des yaourts étuvés.

### III-5- Analyse microbiologiques :

Nos résultats représentés dans le tableau VII montrent :

- La présence des Streptocoques lactique à partir du 1<sup>ère</sup> jour dans le yaourt dont le nombre était de 860 germes/ml dans le yaourt écrémé, 1030 germes/ml dans le yaourt au lait à 26% MG et 600 germes/ml dans le yaourt au lait à 28% MG.
- L'absence des Coliformes totaux et Coliformes thermotolérant (fécaux) dans les yaourts est liée à la bonne pratique au cours de la fabrication et de la conservation.
- L'absence de Staphylococcus aureus peut être liée à l'efficacité du traitement thermique appliqué à ces matières premières (la pasteurisation et la stérilisation) et le rôle fondamental des bactéries lactiques dans l'inhibition des flores non lactiques par leur produit métabolique à savoir l'aide lactique et l'acétaldéhyde.

- La présence de levures à partir de 7<sup>ème</sup> jours, cette flore peut être soit associée au ferment pour des fins technologiques notamment l'apport d'arôme soit lié à une contamination, elle était de l'ordre de 54000 germes/ml dans le yaourt écrémé, 71000 germes/ml dans le yaourt au lait à 26% MG et dans le yaourt au lait à 28% MG 70 000 germes/ml.

Notre produit, n'est pas conforme aux normes à cause à la présence de levures dépassant de  $10^2$  cellules/ml

**Tableau VII : les résultats de l'analyse microbiologique des yaourts étuvés**

Yaourt		Yaourt au lait écrémé	Yaourt au lait à 26% MG	Yaourt au lait à 28% MG	Normes AFNOR
Jours					
J1	Levures, moisissures	00	00	00	$<10^2$
	Lactobacilles lactiques	00	00	00	$>10^6$
	Staphylocoques aureus	00	00	00	$<10$
	Streptocoques lactiques	86.10	103.10	60.10	$<30$
	Coliformes totaux	00	00	00	$<10$
	Coliformes fécaux	00	00	00	$<1$
J7	Levures, moisissures	$54.10^3$	$71.10^3$	$70.10^3$	
	Lactobacilles lactiques	00	00	00	
	Staphylocoques aureus	00	00	00	
	Streptocoques lactiques	79.10	90.10	55.10	
	Coliformes totaux	00	00	00	
	Coliformes fécaux	00	00	00	
J14	Levures, moisissures	$47.10^3$	$53.10^3$	$63.10^3$	
	Lactobacilles lactiques	00	00	00	
	Staphylocoques aureus	00	00	00	
	Streptocoques lactiques	54.10	43.10	44.10	
	Coliformes totaux	00	00	00	
	Coliformes fécaux	00	00	00	

CONCLUSION

## CONCLUSION GENERALE

Notre travail a vit pour but d'étudier deux aptitudes technologiques d'un ferment thermophile et de déterminer la meilleure qualité de la poudre de lait pour aboutir à un bon yaourt étuvé.

Nos résultats relatifs à l'activité protéolytique ont montré que la flore du yaourt testée possède cette aptitude technologique, par ailleurs on révèle l'absence de l'aptitude texturant.

Les résultats obtenus avec l'utilisation de trois qualités de lait pour la fabrication des yaourts étuvés ont montré que le ferment est plus performant sur le lait à 28 % de matière grasse avec une acidité de 89°D et un PH final de 4.30, par ailleurs la qualité de lait persiste au cours de conservation.

La qualité physico-chimique et après 14 jours de conservation était satisfaisante pour l'ensemble des lots avec la dominance de yaourt écrémé (0%MG), d'autre part la qualité bactériologique des yaourts fabriqués est satisfaisante suite à l'absence de germes de contamination fécale et ceux pathogènes.

La date de limite de fabrication et de conservation de notre produit pourra aller au-delà de 14 jours.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1- **AFRI. S, 2001. Mémoire de fin d'étude. (D.E.U.A)**  
27/06/2001, Centre Universitaire de Jijel  
Contrôle de la qualité physico-chimique du lait en poudre
- 2- **Anonyme, 1999. Le traitement du lait pour la fabrication de yaourts**
- 3- **Anonym, 2003. Yaourts et laits fermentés**
- 4- **Bourgeois, C.M et Larpent. J. P, 1998. Microbiologie Alimentaire**  
TECH et DOC. Lavoisier, p : 305-307.
- 5- **De Roissart et Luquet, 1993. Bactéries lactiques**  
TECH et DOC. Lavoisier, p : 1-20.
- 6- **Eck.A, 1987. Le fromage**  
TECH et DOC, Lavoisier, p : 23-29.
- 7- **Guiraud. J, Joseph, P, 1998. Microbiologie alimentaire**  
Collection science et techniques Agro-alimentaire, paris, P: 136-498.
- 8- **Hermier. J, Lenoire. J, Weber. F, 1992. Les groupes microbiens d'intérêt laitier**  
C.E.P.I.L, p : 12 - 51.
- 9- **Joffin. Ch, Joffin. JN, 1992. Microbiologie Alimentaire**  
C.R de DOC.PED.d'AQU, P : 124-166.
- 10- **Leveau.J.Y, Bouix. M, 1993. Microbiologie Industrielle**  
TECH et DOC, Lavoisier, P : 172-194.
- 11- **Leveau.J.Y, Bouix. M, Roissart. H, 1991. Technique d'analyse et de contrôle dans les industries Agro-alimentaire**  
2<sup>ème</sup> édition, volume III  
TECH et DOC, Lavoisier, P : 157-163.
- 12- **Luquet.F.M, 1990. Laits et produits laitiers**  
TECH et DOC.Lavoisier, P : 42-56

**13- Ramech. C. CHandan. Ph. D, 1989.Yaourt: Nutritionnel and health proprieters**

C.I.R Daniel.CARASSO.DOC, P: 98-108.

**14- Sutra. L. Federighi. M, Jouve. JL, 1998. Manuelle de la bactériologie alimentaire**

Polytechnica, P: 148-241.

**15- Veisseyre. R, 1979. Technologie du lait**

La maison rustique, Librairie de l'Académie d'agriculture, P: 295-332

## ANNEXE

### Milieux de culture :

#### 1- Gélose O.G.A : (Gélose à l'Oxytetracycline) :

▪ Extrait de levure	05g
▪ Glucose	20g
▪ Agar	20g
▪ Eau distillée	01

#### 3- Gélose VRBL : (Lactosée Biliée au Cristal Violet) :

▪ Peptone	10g
▪ Lactose	10g
▪ Désoxycholate de sodium	0,5-1g
▪ Chlorure de sodium	05g
▪ Rouge neutre	30mg
▪ Gélose	12g
▪ pH	7,1

#### 4- Gélose de Chapman :

▪ Extrait de viande	01g
▪ Peptone	10g
▪ Chlorure de sodium	75g
▪ D(-) Mannitol	10g
▪ Rouge de phénol	25mg
▪ Gélose	15g
▪ pH	7.4

#### 5-Gélose M<sub>17</sub> :

▪ Peptone tryptique de caséine	2.5g
▪ Peptone pepsique de viande	2.5g
▪ Peptone papainique de soja	05g
▪ Extrait de levure déshydratée	2.5g

▪ Extrait de viande	05g
▪ Glycéro phosphate de sodium	19g
▪ Sulfate de magnésium, 7H <sub>2</sub> O	0.25g
▪ Acide ascorbique	0.5g
▪ Agar	9-18g
▪ Eau	950ml

Stériliser 20min à 120 °c

**6-Gélose M.R.S (Man, Rogaza, Sharpe):**

▪ Peptone	10g
▪ Extrait de viande	04g
▪ Acétate de sodium	05g
▪ Phosphate bipotassique	02g
▪ Citrate d'ammonium	02g
▪ Sulfate de magnésium, 7H <sub>2</sub> O	0,2g
▪ Sulfate de manganèse, 4H <sub>2</sub> O	0,05g
▪ Glucose	20g
▪ Tween 80	01ml
▪ Agar	15g
▪ Eau distillée qsp	1000 ml
▪ pH	6.2

Stérilisation 15min à 120 c°

**7-Gélosé Y.M.A (Yeast Milk Agar) :**

▪ Peptone	05g
▪ Extrait de levure	03g
▪ Lait écrémé	01g
▪ Agar	15g
▪ H <sub>2</sub> O qsp	1000 ml
▪ pH	7.1
▪ Sterilisation	120 °c/20min



### Résumé:

L'objectif de notre étude est d'évaluer deux aptitudes technologiques du ferment de yaourt (*Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* et *Streptococcus salivarius* Subsp *thermophilus*), et déterminer la meilleure qualité de la poudre de lait permettant d'aboutir à un yaourt étuvé, de bonne qualité physico-chimique et microbiologique.

Les résultats de l'étude portant les deux aptitudes technologiques ont montré que le ferment à une bonne activité protéolytique et ne possèdent pas le pouvoir texturant.

Les résultats ont montré également le yaourt au lait à 28% de matière grasse a présenté une bonne qualité physico-chimique et microbiologique au cours de la conservation.

**Mots clés:** Ferment thermophile, Poudre de lait, Yaourt étuvé.

### Summary:

The objective of our study is to evaluate two technological aptitudes of the yoghurt leaven (*Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* and *Streptococcus salivarius* Subsp *thermophilus*), and to determine the best quality of the dried milk making it possible to lead to a *étuvé* yoghurt of good physicochemical and microbiological quality.

The results of the study carrying the two technological aptitudes showed that the leaven with a good proteolytic activity and do not have the texturing capacity.

The results also showed yoghurt with milk with 28% of matiere fatty had a good physicochemical and microbiological quality during the conservation.

**Key words :** Thermophilous leaven, Dried milk, *étuvé* Yoghurt.

### الملخص:

إن الغرض من دراستنا هو تحديد خاصيتين تكنولوجيتين لخميرة الياوورت (*Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus*, *Streptococcus salivarius* subsp *thermophilus*) وتحديد أحسن نوعية لبودرة الحليب التي تسمح بالحصول على نوعية جيدة من الناحية الفيزيوكيميائية و الميكروبيولوجية للياوورت *étuvé*.

نتائج الدراسة المتعلقة بالخاصيتين التكنولوجيتين بينت أن الخميرة ذات فعالية جيدة لتحليل البروتينات وليس لها قدرة خاصة النسيج. النتائج بينت أن الياوورت الناتج عن حليب 28% من المادة الدسمة أعطى أفضل الخصائص الفيزيوكيميائية و الميكروبيولوجية خلال مدة الحفظ.

كلمات المفتاح: خميرة مقاومة، بودرة الحليب، ياوورت *étuvé*.