

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche  
Scientifique

055

Centre Universitaire de Jijel  
Abdelhak Benhamouda

Institut de science de la Nature

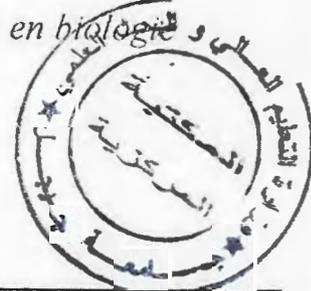
MB.09.2003

02  
/  
02

## Mémoire

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

Option : MICROBIOLOGIE



## Thème

**ETUDE DE QUELQUES APTITUDES  
TECHNOLOGIQUES D'UN FERMENT  
THERMOPHILE ET EVALUATION DE LA QUALITE  
PHYSICO-CHIMIQUE, MICROBIOLOGIQUE ET  
ORGANOLEPTIQUE DU YAOURT ETUVE  
( IGILAIT )**

Les membres de jury :

Président : ROULA Sadjia

Examineur : ADOUI Mounira

Encadreur : IDOUI TAYEB

Réalisé par :

TOUATI Assia

KHEN Karima

BOUBELLOUTA Nadjet



Promotion 2003

## *Remerciements*

*La louange à Dieu seul qui nous accordé cette compréhension et  
c'est grâce à Dieu que nous avons pu réaliser ce mémoire.*

*Nous tenons à exprimer nos plus sincères remerciements à notre  
promoteur Monsieur IDOUI TAYEB d'avoir proposé et dirigé ce  
travail, nous tenons également à lui exprimé notre profonde  
gratitude pour les précieux conseils qu'il n'a cesse de nous  
prodiguer pour la réalisation de ce mémoire.*

*Nous tenons à remercier tous ceux qui nous aidés et donnés la  
main d'assistance en particulier : M<sup>me</sup> HAMAMA, M. CHIHEB  
pour les échantillons qu'il nous avait fournis et pour nous avoir  
fait visiter son unité.*

*Toute l'équipe du laboratoire de microbiologie de Jijel pour  
l'accueil et le soutien moral.*

# Sommaire

<b>Introduction</b>	1
<b>I. Synthèse bibliographique.</b>	
<b>Chapitre I les ferments lactiques</b>	
<b>I.1 Définition</b>	2
<b>I.2 Classification</b>	2
* Les ferments thermophile	2
* Les ferments mésophile	2
<b>I.3 Les ferments du yaourt</b>	3
I.3.1 <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	3
a- Classification	3
b- Ecologie	3
I.3.2 <i>Streptococcus salivarius</i> Subsp <i>thermophilus</i>	5
a- Classification	5
b- Ecologie	5
<b>I.4 Les différentes formes de ferments</b>	6
I.4.1 Cultures liquides	6
I.4.2 Cultures lyophilisés	6
I.4.3 Cultures concentrées	6
I.4.4 Cultures concentrées congelées	6
I.4.5 Cultures concentrées lyophilisées	7
<b>I.5 Les propriétés technologiques d'un ferment du yaourt</b>	7
I.5.1 Aptitude acidifiante	7
I.5.2 Aptitude aromatisante	7
I.5.3 Aptitude texturante	8
I.5.4 Aptitude protéolytique	8
I.5.5 Aptitude antagoniste	8
<b>I.6. Problèmes physiologiques et nutritionnels des ferments du yaourt</b>	9
<b>Chapitre II Le yaourt</b>	
<b>II.1 Définition</b>	10
<b>II.2 Classification</b>	10
<b>II.3 Technologie de la fabrication du yaourt</b>	10
II.3.1 Préparation du lait	10
II.3.2 Développement de la fermentation	11
II.3.3 Conditionnement	11
II.3.4 Conservation du yaourt	11
<b>II.4. La proto-coopération entre <i>Streptococcus thermophilus</i> et <i>Lactobacillus bulgaricus</i>.</b>	13
<b>Chapitre III La microbiologie du yaourt</b>	
<b>III.1 Introduction</b>	14
<b>III.2 Contamination du yaourt</b>	14
<b>III.3. Altération du yaourt</b>	15

III.3.1 Défaut de goût	15
III.3.2 Défaut d'apparence	15
III.3.3 Défaut de texture	16
<b>II. Matériel et méthodes</b>	
<b>II.1 Matériel</b>	17
<b>II.1.1 Matériel biologique</b>	17
* Le ferment	17
* Les antibiotiques	17
* Le lait	17
* Le yaourt étuve	17
* L'eau	17
<b>II.1.2 Matériel humain</b>	17
<b>II.1.3. Les milieux de culture</b>	17
<b>II.1.4. Les réactifs</b>	18
<b>II.1.5 Autres matériel</b>	19
<b>II. 2.Méthodes</b>	19 <del>X</del>
<b>II.2.1 Etude de quelques aptitude technologique du ferment</b>	19
II.2.1.1 Préparation du levain et de sa culture sur bouillon	19
II.2.1.2 Préparation des échantillons.	21
a. pouvoir acidifiant	21
- Détermination de l'acidité lactique.	21
- Mesure du pH	21
b. Pouvoir texturant	23
c. Pouvoir protéolytique	23
d. L'antibiorésistance	23
e. Pouvoir antagoniste	24
<b>II.2.2. Analyse physico-chimique</b>	24
II.2.2.1 Dosage de l'acidité et mesure du pH	24
II.2.2.2 Détermination de la matière grasse du lait	24
II.2.2.3 Détermination de la densité du lait	25
II.2.2.4 Détermination de la matière sèche du yaourt	25
II.2.2.5 Détermination de la matière minérale du yaourt	25
II.2.2.6 Détermination de la matière organique du yaourt	25
II.2.2.7 Test de résistance de l'emballage	25
<b>II.2.3 Rendement du produit</b>	26
<b>II.2.4 Analyse microbiologique</b>	26
II.2.4.1 Echantillonnage et prélèvement	26
II.2.4.2 Examen microscopique	26
II.2.4.3 Choix de la méthode	26
II.2.4.4 Préparation des dilutions	27
II.2.4.5 Les flores recherchées et dénombrées	27
<b>II.2.5 Test de dégustation</b>	30
<b>II.2.6 Traitement statistique</b>	30
<b>III. Résultats et discussion</b>	
<b>III.1. Propriétés technologiques du ferment :</b>	31

a. Détermination de la composition du ferment et examen microscopique.	31
b. Pouvoir acidifiant.	31
c. Pouvoir texturant.	33
d. Pouvoir protéolytique.	34
e. L'antibiorésistance.	36
f. Pouvoir antagoniste.	37
<b>III.2. Les paramètres physico-chimiques et microbiologiques du lait.</b>	<b>39</b>
<b>III.2.1. Paramètres physico-chimiques.</b>	<b>39</b>
a. Matière grasse.	39
b. Densité	39
c. pH et acidité du lait.	40
<b>III.2.2. Paramètres microbiologiques</b>	<b>41</b>
<b>III.3. Paramètres microbiologiques de l'eau.</b>	<b>41</b>
<b>III.4. Les paramètres physico-chimiques, microbiologiques et sensoriels du produit fini.</b>	<b>43</b>
<b>III.4.1. Paramètres physico-chimiques.</b>	<b>43</b>
a. Acidité Dornic et pH du yaourt.	43
b. Matière sèche.	44
c. Matière minérale.	45
d. Matière organique.	45
<b>III.4.2. Paramètres microbiologiques du yaourt.</b>	<b>46</b>
<b>III.4.3. Examen microscopique.</b>	<b>47</b>
<b>III.4.4. Contrôle des pots et de leur contenu.</b>	<b>48</b>
<b>III.4.5. Contrôle de la résistance de l'emballage.</b>	<b>49</b>
<b>III.4.6. Analyse sensorielle.</b>	<b>50 X</b>
<b>Conclusion générale.</b>	<b>53</b>
<b>Annexes</b>	
<b>Références Bibliographiques.</b>	

## Liste des abréviations :

°C	Degré Celsius
°D <sup>w</sup>	Degré Dornic
g	Gramme
ger	Germes
h	Heure
J	Jour
ml	Millilitre
pH	Potentiel hydrogène
UI	Unité Internationale
%	Pour cent
D	Dose du ferment
NS	Effet non significatif
(*)	Effet significatif
(**)	Effet hautement significatif
cm	Centimètre
mm	Millimètre
μ	Micron
MS	Matière sèche
MM	Matière minérale
MO	Matière organique

## Liste des tableaux

<b>Tableau I</b> : Les principaux ferments thermophiles .....	2
<b>Tableau II</b> : Principaux caractères de <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> .....	4
<b>Tableau III</b> : Les principaux caractères de <i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>Thermophilus</i> .....	5
<b>Tableau IV</b> : Evolution de l'acidité et du pH du laitensemencé avec trois doses de levain	32
<b>Tableau V</b> : Production d'exopolysaccharides par le ferment YC-X16 .....	34
<b>Tableau VI</b> : Résultats de la protéolyse du ferment YC-X16 .....	35
<b>Tableau VII</b> : Résultats de l'antibiorésistance .....	36
<b>Tableau VIII</b> : Résultats du pouvoir antagoniste .....	37
<b>Tableau IX</b> : Evolution de la matière grasse et de la densité du lait pasteurisé, destiné à la production du yaourt.....	39
<b>Tableau X</b> : Evolution du pH et de l'acidité du lait Pasteurisé destiné à la production du yaourt.....	40
<b>Tableau XI</b> : Résultats de l'analyse microbiologique du lait pasteurisé .....	41
<b>Tableau XII</b> : Résultat de l'analyse microbiologique de l'eau	42
<b>Tableau XIII</b> : Evolution de l'acidité et du pH du produit fini.	43
<b>Tableau XIV</b> : Evolution de la matière sèche, minérale et organique du produit fini (yaourt étuvé).	45
<b>Tableau XV</b> : Résultats de l'analyse microbiologique du yaourt ferme.	47
<b>Tableau XVI</b> : Résultats de l'examen microscopique de la flore du yaourt	48
<b>Tableau XVII</b> : Résultats des pesées : Pot entier, emballage et produit sans lactosérum	48
<b>Tableau XVIII</b> : Résultat de la résistance de l'emballage	49
<b>Tableau XIX</b> : Résultat de l'analyse sensorielle du yaourt ferme.	51

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Diagramme de fabrication des yaourts .....	12
<b>Figure 2</b> : Plan préparation de levain et détermination du pouvoir acidifiant .....	20
<b>Figure 3</b> : Plan de purification des souches et étude de quelques aptitudes technologiques .....	22
<b>Figure 4</b> : Evolution de l'Acidité du lait avec trois doses de .....	33
levain	
<b>Figure 5</b> : Evolution du pH du lait avec trois doses de levain .....	33
<b>Figure 6</b> : Pouvoir épaississant.....	34
<b>Figure 7</b> : Pouvoir Protéolytique sur milieu solide .....	35
<b>Figure 8</b> : Pouvoir Protéolytique sur milieu liquide .....	35
<b>Figure 9</b> : Résultats de l'antibiorésistance .....	36
<b>Figure 10</b> : <i>Salmonella</i> en puits + ferment en masse (MRS) .....	38
<b>Figure 11</b> : <i>Salmonella</i> en touche + ferment en masse (M17) .....	38
<b>Figure 12</b> : Ferment en puits (M17) + <i>Salmonella</i> en masse.....	38
<b>Figure 13</b> : <i>Salmonella</i> en puits + ferment en masse (M17) .....	38
<b>Figure 14</b> : Evolution de la matière grasse du lait.....	39
<b>Figure 15</b> : Evolution de la densité du lait.....	39
<b>Figure 16</b> : Evolution du pH du lait.....	40
<b>Figure 17</b> : Evolution de l'acidité du lait.....	40
<b>Figure18</b> : Evolution de l'acidité du produit fini .....	44
<b>Figure19</b> : Evolution du pH du produit fini .....	44
<b>Figure 20</b> : Evolution de la matière sèche, minérale et organique du yaourt étuvé.....	46
<b>Figure 21</b> : Résultats du rendement de produit .....	49
<b>Figure22</b> : Evolution de l'aspect et de la texture .....	52
<b>Figure23</b> : Evolution de l'odeur et de la saveur .....	52

# Introduction

La fabrication des laits fermentés remonte à la haute antiquité, surtout celle de yaourt. Ce produit a connu un grand essor dans le monde au cours de ces dernières décennies et sa consommation ne cesse de s'accroître en raison de son coût, de ses variétés (nature, parfumé, au fruit..., etc.), de son goût et de son degré de digestibilité (20 à 50% supérieur à celui du lait).

Les industries laitières veillent à l'amélioration de la qualité sanitaire et organoleptique de ses produits pour satisfaire sa clientèle, en donnant une grande importance au :

Lait en tant que matière première à sa composition et sa teneur en facteurs de croissance exigés par les ferments et les éléments nutritifs nécessaires pour le consommateur.

Le ferment, doit être composé de souches sélectionnées et obéir aux propriétés technologiques désirées, c'est pourquoi, il est indispensable de connaître leurs aptitudes à utiliser les composants du lait.

C'est dans cette optique que nous nous sommes proposées d'investir nos connaissances. Notre travail se compose de deux parts :

La première bibliographique, va faire le point de connaissance sur les ferments thermophiles, le yaourt, sa technologie de fabrication et sa microbiologie.

La seconde, expérimentale dont l'objectif est l'étude de quelques propriétés technologiques du ferment thermophile à savoir l'aptitude acidifiante, protéolytique, texturante, l'aptitude de résister à quelques antibiotiques et également la mise en évidence d'un pouvoir antagoniste vis-à-vis de deux entérobactéries (*Salmonella* et *E. coli*).

D'autre part notre étude a été effectuée sur le contrôle de la qualité physico-chimique du lait et du yaourt et la qualité microbiologique des deux matières premières (lait et l'eau) et le yaourt comme produit fini.

Nous avons également procédé à un contrôle de la qualité organoleptique du yaourt étuvé par un test de dégustation.

**SYNTHESE  
BIBLIOGRAPHIQUE**

**Tableau I**: Principaux caractères de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*  
**DE ROISSART, (1986 in LEVEAU, 1993).**

<i>Caractères genotypiques</i>	
Contenu de l'ADN en C+G	50%
<i>Caractères phénotypiques</i>	
Isomère de l'acide lactique	D (-)
Groupe sérologique	E
<b>Exigences nutritives :</b>	
Riboflavine	+
Vitamine B12	-
Pyridoxal	-
<b>Température de croissance :</b>	
15°C	-
45°C	+
Hydrolyse de l' arginine	-
Production d'acide lactique dans le lait	1.5 – 1.8 %
<b>Sucres fermentés :</b>	
Glucose, galactose, lactose	+
Saccharose, maltose, pentose et mannitol	-

+ : Résultat positif

- : Résultat négatif

D : Dextrogyre

C : Cytosine

G : Guanine

### I.3.2. *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* :

C'est une coque, Gram +, homofermentaire, elle se développe parfaitement à 40 - 50°C, thermorésistante, elle résiste à 65°C pendant 30 minutes. Cette bactérie est moins acidifiante, très sensible aux antibiotiques **BADECHE**, (1986).

Elle possède une activité fermentaire le plus souvent réduite à quelques sucres. ( Lactose, glucose et saccharose ), et une forte sensibilité au NaCl **HARDIE**, (1986 *in* **LEVEAU et al.**,1993).

Elles apparaissent comme des cellules sphériques ou ovoïdes (0.7 – 0.9 µm de diamètre), en paire ou en longue chaîne, la longueur est typique durant la phase de croissance. Un polymorphisme peut être observé quand les cultures âgées tendent à se détruire avec une très large fusiforme **Anonyme**, (1982). (voir tableau III) .

#### a. Classification :

*Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* appartient au genre *Streptococcus* homofermentaires (utilisent la glycolyse comme voie fermentaire). **Anonyme**, (1982)

#### b. Ecologie

C'est une bactérie streptocoque typique du lait et produits laitiers, et elle est accidentellement isolée d'autres foyers ; on peut l'isoler également du lait chauffé à 45 - 50°C ou du lait pasteurisé **LEVEAU**, (1993).

**Tableau III**: Les principaux caractères de *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* **GUIRAUD**, (1998) et **DE ROISSART**, (1986 *in* **HERMIER et al.**, 1992)

Caractères génotypiques	
Contenu de l'ADN en C+G	40%
Caractères phénotypiques	
- Isomère de l'acide lactique	L(+)
- Groupe sérologique	Ab.ence d'antigène de groupe
- Croissance à :	
10°C	-
40°C	+
45°C	+
- Résistance à 60°C /30min	+

- Croissance en présence de 3% de NaCl	Rarement en 2%
- Lait avec 0.1% de bleu de méthylène	-
- Hydrolyse de l'arginine	-
- <b>Les sucres fermentés :</b>	
- Fructose, Glucose, Lactose et Saccharose (avec une préférence remarquable des deux disaccharides)	+
- Maltose, pentoses (xylose et arabinose) et raffinose	±
- Tréhalose, glycérol, mannitol et sorbitol	-

+ : Résultat positif

C : Cytosine

- : Résultat négatif

G : Guanine

± : réaction variable

#### I.4. Les différentes formes de ferments :

Les souches sont livrées sous différentes formes résumées par JERMIJA *et al.*, (1989)

##### I.4.1. Cultures liquides :

Contenant des micro-organismes actifs, capables de croître et se développer rapidement après ensemencement si les conditions de fabrication et de stockage sont respectées.

Leur concentration est de l'ordre de  $10^9$  germes/ml. L'inconvénient c'est qu'elles se conservent mal.

##### I.4.2. Cultures lyophilisées :

Elles sont préparées à base de cultures liquides additionnées d'un substrat protecteur pour congélation suivie d'une sublimation.

L'avantage de cette culture, c'est qu'elle se conserve bien en particulier sans réfrigération.

La concentration est de  $10^9$  à  $10^{10}$  bactéries /ml

##### I.4.3. Cultures concentrées :

Elles sont des cultures liquides concentrées avec centrifugation. En général, elles sont très actives avec une concentration de  $10^9$  à  $10^{10}$  bactéries /ml

##### I.4.4. Cultures concentrées congelées :

Leur préparation se fait en trois phases :

- Culture avec neutralisation dans l'acide lactique en continu. On obtient une concentration bactérienne de  $10^9$  à  $10^{10}$  bactéries /ml

- Centrifugation en continu pour augmenter la densité bactérienne à  $10^{11}$  bactéries /ml
- Congélation et conservation à l'état congelé.

#### **I.4.5. Cultures concentrées lyophilisées :**

La culture liquide est concentrée par centrifugation, suivit d'une lyophilisation. Leur bonne activité n'exige pas de culture intermédiaire et permet de les inoculer directement dans la cuve du levain.

### **I.5. Les propriétés technologiques des ferments thermophiles du yaourt :**

#### **I.5.1. Aptitude acidifiante :**

LAVOISIER, (1991), rapporte que trois critères sont à prendre en compte : la quantité, le type et la vitesse de production de l'acide lactique.

La quantité de l'acide lactique produite avec une coopération entre deux souches du yaourt est plus élevée que celle produite en culture pure des deux ferments. *Lactobacillus bulgaricus* produit généralement l'acide D(-) et *Streptococcus thermophilus* produit la forme L(+). Ainsi, la quantité du L(+) disponible dans le yaourt varie entre 50 et 70%. KUMATH et KANDLER, (1980 in RAMESH et CHANDON, 1989).

*Lactobacillus delbrueckii* subsp.*bulgaricus* est fortement acidifiante, elle produit 1.5 à 1.8% d'acide lactique dans le lait SALMINEN et WRIGHT, (1993). Par contre *Streptococcus salivarius* subsp.*thermophilus* ne tolère pas une forte acidification, ainsi une production importante d'acide lactique inhibe la croissance de cette espèce. BADECHE, (1986)

#### **I.5.2. Aptitude aromatisante :**

D'après LEVEAU, (1993), l'acétaldéhyde est considérée comme l'arôme majeur du yaourt. Il est produit lors de la croissance de *Streptococcus thermophilus* et de *Lactobacillus delbrueckii* subsp.*bulgaricus*.

La production de l'acétaldéhyde est de 24 µg en culture mixte contre 4 à 10 en culture pure des deux souches.

Chez *Streptococcus thermophilus*, une partie de ce composé pourrait provenir du pyruvate non transformé en lactate par le lactate déshydrogénase.

Chez *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* subsp.*bulgaricus*, une quantité importante de l'acétaldéhyde dérivée de la thréonine qui peut être directement clivée en glycine et acétaldéhyde par une thréonine aldolase.

Le diacetyl et l'acétoïne résultent du métabolisme du *Streptococcus thermophilus* RAMESH et CHANDON,(1989).

### I.5.3. Aptitude texturante :

Selon LEVEAU,(1993), des souches de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* subsp.*bulgaricus*, après croissance sur le lait sont considérées comme responsables de la viscosité du yaourt obtenu. Cette viscosité est attribuée à la production d'exopolysaccharides par les souches utilisées.

GIRAFFA et BERGERE, (1987, *in* LEVEAU 1993), décèlent la production d'une faible quantité d'exopolysaccharides par *Streptococcus thermophilus* sans influence sur la viscosité du produit et que cette production a lieu en phase stationnaire de croissance.

*Lactobacillus delbrueckii* subsp.*bulgaricus* produit un exopolysaccharide soluble en phase exponentielle précoce. Il serait formé de fructose et de glucose (Rapport 2:1). Celui de *Streptococcus thermophilus* diffère de celui de *Lactobacillus*, il est formé de galactose et de glucose.

La production comparée d'exopolysaccharides par *Lactobacillus* serait importante et plus stable.

### I.5.4. Aptitude protéolytique :

D'après LAVOISIER, (1991) et LEVEAU, (1993), la protéolyse est le fait des enzymes de paroi, mais aussi des protéases et des peptidases intracellulaires libérées par la lyse bactérienne.

Chez *Streptococcus thermophilus*, DESMAZAUD et JUGE, (1986 *in* LEVEAU 1993) ; ont montré l'existence de deux activités aminopeptidasiques et de trois activités dipeptidasiques dans le cytoplasme.

Les mêmes auteurs rapportent que chez les *Lactobacillus*, les peptidases montrent un spectre d'activité plus large que les lactocoques. Récemment une amino-peptidase à spectre d'activité très large a été isolée chez *Lactobacillus delbrueckii* subsp.*bulgaricus*.

### I.5.5. Aptitude antagoniste :

Selon LAVOISIER, (1991), les bactéries lactiques ont des influences antagonistes par l'excrétion d'acide lactique, d'autres acides organiques, des antibiotiques et bactériocines.

La nisine polypeptide (PM 3500 Da) produit par *Lactococcus lactis* et la diplococcine considérés comme bactériocines et sont des substances inhibitrices.

De nombreux autres composés de ce type ont été mis en évidence dans les cultures de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* produit une acidophiline. **JUILLARD et al.**, (1987 in **BOURGEOIS et LEVEAU**, 1991).

### **I.6. Problèmes physiologiques et nutritionnels des ferments du yaourt**

Les ferments thermophiles présentent des exigences nutritionnelles variables.

**LEVEAU**, (1993), rapporte que *Streptococcus thermophilus* a une exigence en acides aminés : glutamine, histidine, cystéine, méthionine, et valine.

**DESMAZEAUD**, (1983), rapporte que les Streptocoques thermophiles ont une exigence absolue en vitamines : acide pantothénique, et en riboflavine, leur croissance est stimulée par la thiamine, la niacine, la biotine et la pyrodoxine. Le même auteur rapporte que les Streptocoques thermophiles présentent une exigence pour les bases : Adénine, uracile. Dans les milieux synthétiques, les lactobacilles exigent la présence d'Adénine, cytosine, désoxyguanosine, Guanine, thymine et uracile.

## II. Le yaourt

## II.1. Définition :

D'après LUQUET, (1990), le yaourt est un produit laitier coagulé obtenu par fermentation lactique grâce à l'action de *Lactobacillus bulgaricus* et de *Streptococcus thermophilus* du lait pasteurisé ou concentré avec ou sans addition ( de lait en poudre, ...etc.). Les micro-organismes du produit final doivent être viables et abondants.

## II.2. Classification :

D'après LUQUET, (1990) et Guyot, (1992), les yaourts sont classés en :

- **Les yaourts dits traditionnels ou fermes ou étuvés** : la fermentation a lieu en pots dans le cas des yaourts sucrés, aromatisés, aux fruits, à la confiture etc., l'apport des additifs se fait avant ou après remplissage.
- **Les yaourts à caillé brassé ou yaourts brassés** : plus liquides, la fermentation a lieu en cuve avant le conditionnement, ce sont généralement des yaourts veloutés naturels ou à la pulpe de fruits ou avec morceaux de fruits. Ces derniers sont additionnés au moment du remplissage des pots.
- **Yaourt à boire** : Il s'agit d'un yaourt qui se différencie du brassé à son état liquide qui l'assimile à une boisson, sa fluidité est obtenue par une diminution de la teneur en matière sèche. Le brassage à l'homogénéisateur sous pression inférieure à 50 atmosphères donne une viscosité inférieure d'environ 50 pour cent à celle obtenue par brassage mécanique. Il peut être nature ou aromatisé.

## II.3. Technologie de fabrication du yaourt :

Selon LUQUET, (1990), BOURGEOIS et LARPENT, (1996), la fabrication du yaourt comprend plusieurs étapes :

### II.3.1 Préparation du lait :

La matière première peut être soit du lait frais, soit du lait reconstitué, soit du lait recombinaison ou encore un mélange.

Le lait est tout d'abord enrichi en matière sèche de façon à atteindre une valeur finale de 14 à 16 pour cent et en sucre, colorants et arômes naturels. Ce dernier est ensuite homogénéisé pour éviter la remontée de la matière grasse pendant la fermentation.

Le lait enrichi va subir ensuite un traitement thermique à 90- 95°C pendant 3 à 5 minutes, ce traitement va dénaturer une partie importante des protéines solubles, ce qui a pour conséquence d'augmenter la capacité de rétention d'eau du yaourt et de permettre à ces protéines de se fixer sur la caséine.

### II.3.2 Développement de la fermentation :

- **Ensemencement** : C'est l'inoculation des deux germes spécifiques du yaourt *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* dont le rapport *Streptococcus/Lactobacillus* 1,2 à 2/1 pour le yaourt nature jusqu'à 10/1 pour le yaourt aux fruits, l'ensemencement doit se faire à un taux suffisamment élevé.
- **Fermentation** : La fermentation se fait à une température de 42°C à 45°C pour les deux types du yaourt et lorsque l'acidité atteint un certain seuil (70-100°D) pour le yaourt ferme et de 100 à 120°D dans le cas du yaourt brasse, il est nécessaire de bloquer l'acidification en inhibant le développement des bactéries par un refroidissement à 2-4°C.

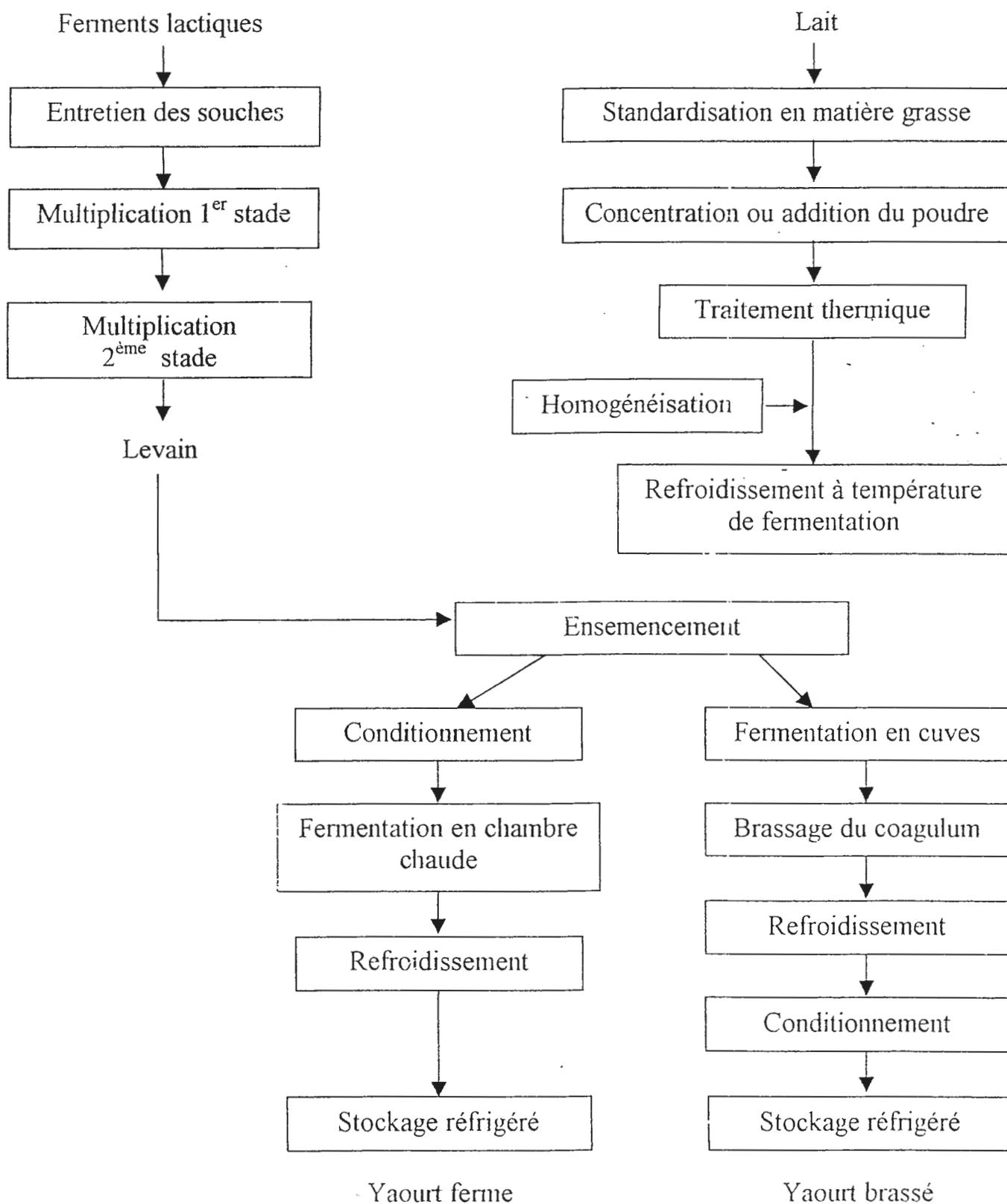
### II.3.3 Conditionnement :

C'est la phase ultime de la fabrication, les yaourts sont généralement conditionnés dans deux types d'emballage : les pots en verre et les pots en plastique, en effet les pots en carton paraffiné ont pratiquement disparus au profit des pots en plastique. Ce conditionnement doit se faire sous protection bactériologique avec air filtré et fermeture hermétique des pots par thermoxellage.

### II.3.4 Conservation du yaourt

Le yaourt doit être conservé au froid à une température ne devant pas dépasser 8°C pendant 24 jours au plus.

**Préparation des levains :**



**Figure 1 :** Diagramme de fabrication des yaourts. LUQUET,( 1990 )

#### **I.4. La proto-coopération entre *Streptococcus salivarius* subsp.*thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* subsp.*bulgaricus* :**

D'après LEVEAU, (1993), l'association de souches de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* subsp.*bulgaricus* pour la fabrication du yaourt est l'exemple le plus connu et probablement l'association la plus stable.

Ces deux espèces vivent en symbiose étroite et ont pour rôle principale d'abaisser le pH du lait au point isoélectrique de la caséine (pH = 4,6) de façon à former un gel (ou coagulum).

En effet, en culture associée, les deux bactéries produisent d'avantage l'acide lactique que lorsqu'elles sont cultivées seules. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* plus protéolytique que *Streptococcus thermophilus* fournirait les acides aminés et/ ou les peptides qu'elle est détachée de la caséine qui interviennent comme activateurs de *Streptococcus thermophilus*. En retour la croissance de *Streptococcus thermophilus* en absence ou à faible concentration d'oxygène produirait l'acide formique stimulant le développement de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*.

L'action stimulante des acides aminés et peptides, conduit, lors de la première phase d'incubation, à un nombre plus élevé de *Streptococcus thermophilus*, le rapport est souvent de 3 à 4 pour 1, ensuite l'effet inhibiteur de l'acide lactique sur *Streptococcus thermophilus* conduit à un rééquilibrage entre les deux espèces.

La production de l'acide lactique en début d'incubation est le fait de *Streptococcus thermophilus*, elle est ensuite le fait de *Lactobacillus bulgaricus*.

III

# La microbiologie du yaourt

### III.1. Introduction :

Au cours du stockage et conservation du yaourt, les bactéries lactiques survivent et ne se multiplient pas, dont la proportion après 13 jours à 6°C reste au moins  $10^7$  germes/mL et le rapport entre les deux espèces *Streptococcus* / *Lactobacillus* est très variable en général il est de 60/40 RAMESH et CHODAN, (1989). *Lactobacillus bulgaricus* survie 42 jours après la première inoculation BIANCHI – SALVADORI et al. , (1984 in FULLER, 1989).

La conséquence pratique pour le produit alimentaire siège d'une fermentation est que les bactéries lactiques jouent un rôle fondamental dans l'inhibition des flores nuisibles à la technologie ou dans celle des flores pathogènes. Deux principaux facteurs difficilement dissociables, le pH et les acides : lactique (>90%) et l'acide acétique qui fournissent une bonne acidification entraîne une inhibition de la croissance d'*Escherichia coli*, des *Pseudomonas*, des *Salmonella*, de *Clostridia* et de *Listeria monocytogènes*. DESMAZEAUD, (1996).

### III.2. Contamination du yaourt :

D'après BOURGEOIS, (1996), le traitement thermique du lait avant 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.

Ce traitement est relativement important, est suffisant pour détruire les levures et les moisissures. Les préparations de fruits, ajoutées après acidification, ont été pendant longtemps des sources importantes de moisissures, mais elles sont maintenant traitées thermiquement avant leur utilisation.

Les levures et moisissures contaminants proviennent donc avant tout de l'air ambiant.

D'après le même auteur, la prévention de ces contaminants se situe principalement au stade du conditionnement. Toute une gamme de machines de conditionnement a été développée, offrant différents niveaux de protection vis-à-vis de l'air ambiant. Des solutions intermédiaires consistent à isoler la zone de conditionnement sans imposer sa stérilisation préalable. Le fabricant de yaourt a donc la possibilité d'ajuster au mieux le coût du conditionnement en fonction des risques potentiels de retours de ses produits consécutifs à des contaminations.

### III.3. Altération du yaourt :

Selon LAVOISIER et LUQUET, (1990), les défauts rencontrés dans le yaourt sont groupés dans trois catégories : défaut de goût, défaut d'apparence et défaut de texture.

#### III.3.1 Défaut de goût :

Le défaut de goût peut être :

**Une amertume :** Qui est dû à une trop longue conservation, activité protéolytique trop fortes des ferments ou à une contamination par des germes protéolytiques.

**Goût plat, absence d'arôme :** Est dû au déséquilibre de la flore : trop de Streptocoques, incubation trop courte ou à trop basse température.

**Manque d'acidité :** Dû à un taux d'ensemencement trop faible, incubation trop courte, inhibiteurs dans le lait (ex : antibiotiques,...), bactériophages.

**Trop d'acidité :** Dû à un taux d'ensemencement trop fort, incubation trop longue ou à une température très élevée.

**Rancidité :** Est dû à une contamination par des germes lipolytiques.

**Goût du cuit :** Dû à un traitement trop sévère.

**Goût grassex :** Teneur en matière grasse trop élevé.

#### III.3.2. Défaut d'apparence :

**Décantation, synérèse :** Est dû à une sur-acidification ou post-acidification, température trop élevée pendant le stockage, refroidissement trop faible, mauvaise adjonction des fruits ou pulpes de fruits, agitation du yaourt (yaourt ferme).

**Production du gaz :** Contamination par des levures ou coliformes.

**Des colonies en surface :** Contamination par des levures ou des moisissures.

**Produit non homogénéisé et présence de couche de crème :** Mauvaise agitation (dans le cas des yaourts aux fruits).



**III.3.3. défaut de texture :**

**Décalottage :** Agitation ou vibration pendant le transport faisant suite à un refroidissement mal conduit en chambre froide (pour le yaourt ferme).

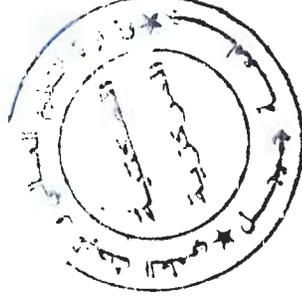
**Trop liquide (pour le yaourt brassé) :** Brassage trop violent, mauvais incubation, matière sèche trop faible mauvais ferment (pas filant ou épaississants). Fruits ou arômes pas assez concentrés.

**Trop filant :** Mauvais ferments (trop filant). Température d'incubation trop faible.

**Texture sableuse :** Chauffage du lait trop important, poudrage trop fort, homogénéisation à température trop élevée.

**Texture granuleuse :** mauvais brassage. Teneur en matière grasse trop élevée. Mauvais choix des ferments.

MATERIEL  
ET METHODES



## II. Matériel et Méthodes :

Notre travail a été réalisé dans le laboratoire de microbiologie de l'institut de biologie de l'université de Jijel.

Une partie de ce travail a été réalisée dans le laboratoire de la yaourterie « **IGILAIT** » de TASSOUST Jijel.

### II.1 Matériel :

Pour réaliser ce travail nous avons utilisé :

#### II.1.1. Matériel biologique :

- **Le ferment** : Nous avons utilisé le ferment lyophilisé **YC-X16**, utilisé par la yaourterie « **IGILAIT** » importé de France (Maison CHR- HANSEN); composé de *Lactobacillus bulgaricus* et de *Streptococcus thermophilus*.
- **Les entérobactéries** : Nous avons utilisé deux souches d'entérobactéries à savoir *Escherichia coli* et *Salmonella* pour l'étude du pouvoir antagoniste avec notre ferment.
- **Les antibiotiques** : Nous avons utilisé des disques d'antibiotique pour la recherche de l'antibiorésistance de notre ferment ( la liste des antibiotiques est en annexe ).
- **Le lait** : Nous avons utilisé du lait pasteurisé destiné à la production du yaourt.
- **Le yaourt étuvé** : Au cours de notre étude, nous avons utilisé le produit fini dont le prélèvement a été réalisé après étuvage (6 pots par semaine) .
- **L'eau** : Nous avons utilisé l'eau destinée à la reconstitution de lait au niveau de la yaourterie.

#### II.1.2. matériel humain :

Pour réaliser le test de dégustation, nous avons fait appel à quatre dégustateurs.

#### II.1.3. les milieux de culture :

Nous avons utilisé les milieux de culture (la composition est décrite en annexe) suivants :

- La gélose MRS (**MAN - ROGOZA et SHARPE**) : Pour le dénombrement des lactobacilles lactiques.
- La gélose M17 ( **TERZAGUI et SANDINE** ) : Pour le dénombrement des streptocoques lactiques.
- La gélose OGA (gélose oxytetracycline – glucose) : Pour la recherche des levures et moisissures.

- La gélose au desoxycholate 0,1% : Pour le dénombrement des coliformes totaux et thermotolerants.
- La gélose **Baird Parcker** : Pour la recherche et le dénombrement de *Staphylococcus aureus*.
- La gélose PCA et TGEA : Pour le dénombrement de la flore aérobie mésophile totale (FTAM).
- La gélose YMA (Yearst – Milk – Agar), préparée au laboratoire pour la recherche de l'activité protéolytique.
- Le bouillon nutritif pour la préparation de la culture (inoculum) du ferment.
- Bouillon MRS préparé au laboratoire : pour la culture des lactobacilles lactiques.
- Gélose hypersaccharosées : MRS, M17 et GN à trois doses de saccharose (10g/L, 20g/L et 30g/L de chaque milieu de culture).
- Bouillons hypersaccharosés : C'est le bouillon nutritif à trois doses de saccharose (10g/L, 20g/L, 30g/L de bouillon).
- Gélose MRS, M17 et GN additionnées chacune de deux doses de lait écrémé (200m de lait écrémé/ 800mL de gélose et 300mL/ 700mL de gélose).
- Bouillon nutritif additionné de deux doses de lait écrémé ( 200mL de lait écrémé/ 800 ml de bouillon et 300ml/ 700ml de bouillon).

#### **II.1.4. Les réactifs :**

Nous avons utilisé les réactifs suivants :

- |                        |   |  |
|------------------------|---|--|
| - Phénol phtaléine     | } | Pour le dosage de l'acidité lactique       |
| - Soude Dornic (N/9)   |   |  |
| - Acide Sulfurique     | } | Pour la détermination de la matière grasse |
| - Alcool iso- amylique |   |  |
| - Fushine              |   |  |
| - Violet de gentiane   | } | Pour réaliser la coloration de Gram        |
| - Lugol                |   |  |
| - Huile de cèdre       |   |  |
| - Bleu de méthylène :  |   |  |

### **II.1.5. Autre matériel :**

Parmi le matériel utilisé on cite :

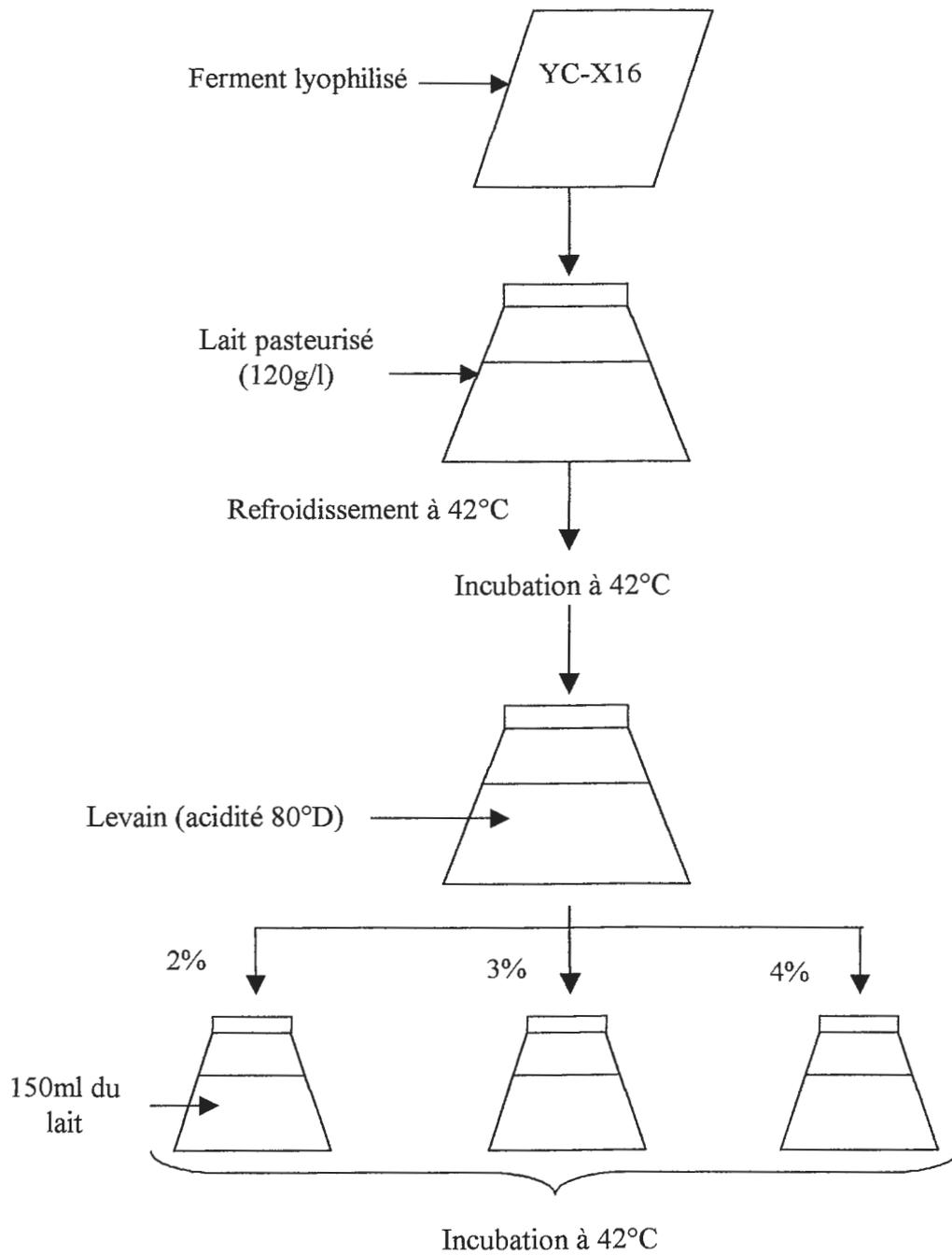
- Un microscope optique de marque « Olympus » pour réaliser l'examen microscopique.
- Un pH mètre de marque « Bioblock 93517 » pour la mesure de pH.
- Un thermolactodensitomètre : pour la détermination de la densité du lait.
- Un dessiccateur de marque « Rin Novus »
- Un four pasteur de marque « Controls » pour la stérilisation du matériel et l'évaporation des échantillons du yaourt lors de la détermination de la matière sèche et minérale.
- Compteur des colonies de marque « Bioblock » pour le comptage des colonies.

### **II.2. Méthodes :**

#### **II.2.1. Etude de quelques aptitudes technologiques du ferment**

##### **II.2.1.1. Préparation du levain et sa culture sur bouillon :**

Pour préparer le levain nous avons reconstitué le lait à raison de 120g/L d'eau, le tout, a été porté à la pasteurisation à 80°C pendant 10 à 15 minutes, après refroidissement à 42°C, nous avonsensemencé avec une pincé (0.2 g) du ferment lyophilisé 50mL du lait, nous avons homogénéisé et incubé à 42°C jusqu'à l'obtention d'un coagulum dont l'acidité atteint 80°D. en parallèle, nous avonsensemencé à partir du ferment lyophilisé deux tubes de bouillon nutritif qui constituent l'inoculum destiné à l'étude des propriétés technologiques. Après incubation des tubes à 42°C, nous avons procédé à un examen microscopique.



Chaque 2 heures : Il faut :

- Déterminer le pH
- Dosage de l'acidité Dornic

**Figure 2 : Plan préparation de levain et détermination du pouvoir acidifiant**

### **II.2.1.2. Préparation des échantillons :**

A partir du levain préparé, nous avonsensemencé trois flacons chacun à 150 ml du lait pasteurisé, avec trois doses 2‰, 3‰, 4‰ et nous avons procédé à la détermination de l'acidité et du pH après 2 heures, 4 heures et 15 heures d'incubation.

#### **a. Pouvoir acidifiant : (GUIRAUD, 1998)**

Pour l'étude de l'aptitude acidifiante de notre ferment nous avons procédé à la détermination du pH et au dosage de l'acide lactique.

#### **Détermination de l'acidité lactique :**

L'acidité est déterminée par titration d'un échantillon de 10mL par la soude Dornic (N/9), en présence de 2 à 3 gouttes d'indicateur coloré (phénol phtaléine), jusqu'au virage à la couleur rose pâle qui doit persister au moins 10 secondes.

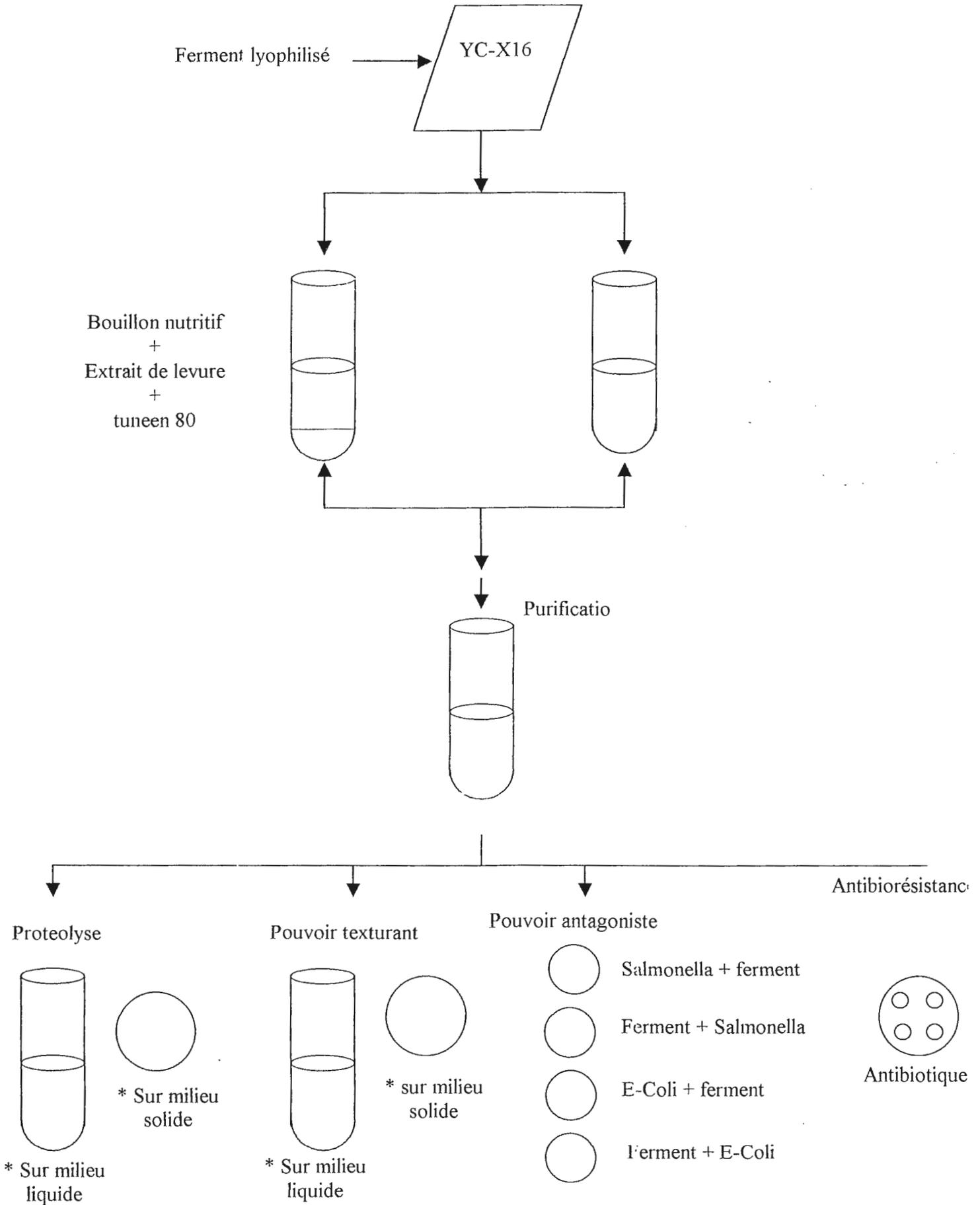
Interprétation des résultats :

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

$V_{\text{NaOH}}$  : Volume de NaOH (N/9) utilisé pour titrer les 10 ml de l'échantillon.

#### **Mesure du pH :**

Pour mesurer le pH des échantillons, nous avons utilisé le pH mètre, en plongeant l'électrode dans la prise d'essai, le résultat est enregistré directement sur l'écran.



**Figure 3** : Plan de purification des souches et étude de quelques aptitude technologiques

**b. Pouvoir texturant :** (LEVEAU et *al.*, 1991)

Ce test consiste à ensemencer en stries les géloses : MRS, M17 et GN hypersaccharosées (10, 20 et 30g de saccharose /L de milieu de culture) avec l'inoculum du bouillon nutritif. L'incubation est réalisée à 42°C pendant 24 à 48 heures.

Les souches productrices d'exopolysaccharides se présentent sous forme de colonies larges et gluantes.

Pour tester l'aptitude texturante en milieu liquide, on a ensemencé trois tubes de bouillon nutritif saccharosés (10, 20 et 30g de saccharose par litre de bouillon).

La présence de la production d'exopolysaccharides se traduit par un trouble ou l'apparition d'une viscosité du milieu.

**c. Pouvoir protéolytique :** (VUILLEMARD, 1986)

Pour la recherche de l'activité protéolytique sur géloses : MRS, M17 et GN additionnées avec deux doses de lait écrémé (200ml/800ml et 300ml/700ml de gélose) et le milieu YMA, nous avons prélevé une « ose » de culture jeune (culture en bouillon nutritif) à l'aide de la base d'un clou, et on a ensemencé en touche à la surface des différentes géloses (5 à 6 touches sur chaque boîte).

Les boîtes sont incubées à 42°C / 24 – 48h.

La présence d'une telle activité se traduit par la présence des zones claires, autour des touches.

Pour la recherche de cette activité sur bouillon nutritif additionné avec 2% et 3% de lait écrémé, nous avons ajouté 1ml de culture jeune au milieu sus-cités, après homogénéisation, nous avons incubé à 42°C/48h.

L'activité protéolytique est déterminée par la présence ou non d'un culot blanchâtre avec une clarification du bouillon.

**d. L'antibiorésistance :** (MOUILLET et LUQUET, 1981)

Pour tester la résistance et la sensibilité de notre ferment vis-à-vis de 8 antibiotiques, on a utilisé la méthode de l'antibiogramme en milieu solide. 0.2ml de culture fraîche est étalée à la surface de la gélose MRS (M17), on a laissé sécher, puis avec une pincée stérile, on a déposé les disques d'antibiotique à la surface du milieu (4 disques par boîte).

Après incubation à 42°C/24h, on a déterminé le diamètre des zones d'inhibition.

Par convention, pour un diamètre inférieur à 15 mm, la souche est résistante.

e. **Pouvoir antagoniste** : (PIARD et DESMAZEAUD, 1991)

Il s'agit de tester les interactions entre le ferment et deux entérobactéries *Salmonella* et *E. coli* par la méthode de puits et celle des touches.

Pour l'étude des interactions entre le ferment et *Salmonella*, la gélose Hecktoen est coulée et solidifiée, puis la culture de *Salmonella* est ensemencée en touches, on laisse sécher à l'étuve, ensuite, on coule 7mL de la gélose MRS (M17) homogénéisée avec 1mL du ferment. On laisse solidifier et incubé à 42°C /24h. la même méthode consiste à creuser des puits le long de la boîte gélosée, puis, on dépose la culture de *Salmonella*, enfin on coule le mélange gélose MRS – bouillon de culture de ferment (7ml – 1ml), on laisse solidifier et on incube à 42°C/24 – 48h.

On a également procédé à l'opération inverse c'est à dire, après avoir couler la gélose MRS (M17) et laisser solidifier, on a ensemencé en touches et en puits le ferment, ensuite, nous avons ajouté 7 ml de gélose Hecktoen homogénéisée avec 1ml de la culture de *Salmonella*. Après solidification, l'incubation est faite à 42°C /24h.

Pour tester l'interaction du ferment avec *E. coli*, nous avons utilisé le même principe que celui utilisé avec *Salmonella* avec l'utilisation de gélose E MB.

L'antagonisme se traduit par l'apparition de zones de lyse, la symbiose au contraire est relevée par une croissance et absence de zones de lyse.

## **II.2.2. Analyse physicochimique**

### **II.2.2.1. Dosage de l'acidité et mesure du pH (V04 – 206 – 1969)**

L'acidité et le pH du lait et du yaourt ont été déterminés par la même méthode décrite en (II.1.1.2.a)

### **II.2.2.2. Détermination de la matière grasse du lait**

Elle est mesurée par la méthode de la butyrométrie acide **GERBER**. Introduire dans un butyromètre, 10 ml d'acide sulfurique (d= 1.825), 1ml du lait, ajouter 1ml d'alcool isoamylique sans mélanger les liquides. Et sans mouiller le col, boucher et agiter jusqu'à ce que le mélange soit homogène. Placer le butyromètre dans un bain-marie à 60 –70°C pendant 5 à 10 min, puis le transférer à la centrifugeuse à 1100 tours/min pendant 5 à 6min. après centrifugation, à l'aide d'un poussoir faire pousser le mélange jusqu'à la remonte de la matière grasse dans la colonne graduée.

### **Interprétation des résultats :**

Il suffit de lire le niveau de la remonte qui correspond à la valeur de la matière grasse.

### **II.2.2.3. Détermination de la densité du lait :**

Il s'agit de remplir une colonne par du lait, plonger le thermolactodensitomètre, laisser flotter puis stabiliser, ensuite lire également la température de la mesure de la densité.

### **II.2.2.4. Détermination de la matière sèche du yaourt (AFNOR :V04 – 208 – 1969)**

La matière sèche est déterminée par pesée avant et après étuvage d'un échantillon de 10 ml à 102°C pendant 4 heures jusqu'à ce que la différence entre les deux pesées soit négligeable.

#### **Interprétation des résultats :**

Le pourcentage de la matière sèche de l'échantillon, est donnée par la formule suivante :

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

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

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

### **II.2.2.5. Détermination de la matière minérale du yaourt :**

La matière minérale est déterminée par pesée avant et après évaporation de 10 ml du produit à 500°C pendant 2 heures.

#### **Interprétation des résultats :**

Le pourcentage de la matière minérale, est donnée par la formule suivante :

$$MM(\%) = \frac{X}{Y} \times 100$$

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

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

### **II.2.2.6. Détermination de la matière organique :**

On peut déduire le pourcentage de la matière organique à partir de la matière sèche et minérale. Il est donné par la relation suivante :

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

### **II.2.2.7. Test de résistance de l'emballage : (CHEFTEL, 1979)**

Il s'agit de tester la résistance d'un pot entier du yaourt par l'utilisation de différents poids (0.5kg jusqu'à 4.5kg).

On a déposé sur le pot les différents poids, avec addition à chaque fois de 0.5kg et on a contrôlé les modifications qui apparaissent sur le pot (résistance ou éclatement).

### **II.2.3. Rendement du produit :**

Il s'agit de peser un pot du yaourt entier, emballage vide, et le produit sans lactosérum.

### **II.2.4. Analyse microbiologique :**

L'analyse a touché les deux matières premières (lait et l'eau), et le produit fini : yaourt.

#### **II.2.4.1. Echantillonnage et prélèvement :**

Il doit être effectué dans des conditions d'asepsie rigoureuses.

##### **a. Le lait : (GUIRAUD, 1998)**

Notre prélèvement a été réalisé à partir d'une citerne munie d'une agitation mécanique. L'agitation est réalisée pendant 15 à 30 min. la fiole est immergée dans la masse du liquide puis récupérée et rebouchée.

Le prélèvement a été conservé à 4 – 6°C, on a entamé l'analyse dès notre arrivée au laboratoire.

##### **b. L'eau : (GUIRAUD, 1998)**

Il s'agit d'une eau connue, donc un échantillon de 300 à 500ml est suffisant, avec l'utilisation de préférence des flacons de 250ml en verre à pyrex, munis d'un large col et d'un bouchon à vis en métal.

Notre technique de prélèvement est la suivante :

- Flamber énergiquement la portion du tuyau et purger la fraction stagnante.
- Déboucher le flacon et flamber le col.
- Remplir au 2/3 de la capacité du flacon, flamber à nouveau le col et reboucher, puis identifier l'échantillon.
- L'échantillon est conservé à 4 – 6°C et le délai séparant l'analyse du prélèvement ne doit pas dépasser 24 heures.

##### **c. Le yaourt :**

Chaque semaine un échantillon composé de six unités (pot de yaourt étuvé) est prélevé en fin d'étuvage. Ce dernier est transporté au laboratoire pour subir les tests prévus.

#### **II.2.4.2. Examen microscopique :**

Cet examen apporte de précieuses indications sur les formes des flores des aliments. on a utilisé la méthode de coloration de Gram (la méthode est décrite en annexe).

#### **II.2.4.3. Choix des méthodes : (GUIRAUD, 1998)**

**Le lait :** Il s'agit d'une numération sur milieu solide en boîtes de **Petri**.

**L'eau** : Il s'agit d'une numération sur milieu solide en boîtes de **Petri** et une numération sur milieu liquide (Colimétrie).

**Le yaourt** : C'est une numération sur milieu solide.

**II.2.4.4. Préparation des dilutions décimales** : (PETRANSXIENE et LAPID, 1981).

Les étapes de la préparation des dilutions décimales sont résumées comme suit :

- Homogénéiser convenablement l'échantillon à examiner, puis à l'aide d'une pipette stérile :
  - Homogénéiser convenablement l'échantillon à examiner, puis à l'aide d'une pipette stérile prélever 1ml de produit.
  - Introduire aseptiquement le volume à prélever dans un tube contenant 9ml du diluant, ainsi s'obtient une dilution au 1/10 ou -1, le tube est bien agité,
  - A l'aide d'une nouvelle pipette stérile, prélever 1ml de la dilution 1/10, l'introduire dans un deuxième tube contenant 9ml de diluant ; Ainsi s'obtient une dilution au 1/100 ou -2. Continuer de la même façon pour obtenir la dilution 1/1000 ou -3.
- a. **Le lait** : Pour la préparation des dilutions du lait, on a utilisé l'eau distillée stérile et trois dilutions ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  et  $10^{-3}$ ).
- b. **L'eau** : Le diluant utilisé est l'eau distillée stérile et trois dilutions ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  et  $10^{-3}$ ).
- c. **Le yaourt** : Le diluant utilisé est l'eau physiologique stérile avec les dilutions  $10^{-1}$  et  $10^{-2}$ .

**II.2.4.5 les flores recherchées et dénombrées** :

a. **Dénombrement de la flore aérobique mésophile totale** : (FTAM) (LECLERC et MOSSEL, 1990).

**Le lait** : le dénombrement des germes se fait par étalement de 1mL de la dilution  $10^{-3}$  sur gélose PCA au lait écrémé.

L'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures.

**L'eau** : il s'agit d'un dénombrement en surface sur milieu TGEA.

Deux séries de boîtes de Pétri sontensemencées avec 1mL de chaque dilution ( $10^0$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ), une série est incubée à 37°C pendant 24heures et l'autre série à 22°C pendant 24 à 72 heures.

**Résultats** : compter toutes les colonies en exprimant les résultats en gramme ou en ml du produit.

b. **Dénombrement des coliformes totaux** : (CT) : (JOFFIN et JOFFIN, 1999).

**Le lait** : il s'agit d'ensemencer en profondeur 1mL de la dilution  $10^{-2}$ , puis couler la gélose au desoxycholate 0,1% et incuber à 37°C pendant 24 – 48 heures.

**Le yaourt** : Pour le yaourt le dénombrement se fait de la même façon que le lait avec également la dilution  $10^{-2}$ .

**Résultats** : Toutes les colonies rouge lactose +, d'un diamètre d'environ 0.5 mm sont considérées comme étant des coliformes.

**L'eau** : un dénombrement présomptif des coliformes totaux est réalisé sur bouillon lactosé au BCP (Pourpre de Bromocrésol ) avec cloche. On ensemence 3 tubes de BCPL à double concentration par 10ml d'eau par tube, trois tubes de bouillon simple concentration par 1ml d'eau par tube et 3 tubes de bouillon simple concentration par 0.1ml d'eau par tube.

**Résultats** : après 48 heures d'incubation à 37°C , les tubes où il y a fermentation du lactose (virage de couleur + production de gaz dans la cloche) sont considérés comme positifs. On dénombre les coliformes par la méthode du nombre la plus probable NPP (en se rapportant à la table de **Mac GRADY**).

c. **Dénombrement des coliformes thermotolérants** : (JOFFIN et JOFFIN, 1999)

**Lait et yaourt** : Nous avons utilisé la même technique et le même milieu de culture que ceux du dénombrement des coliformes totaux, mais l'incubation est faite à 44°C/24h.

**L'eau** : On a utilisé le milieu **Shubert** avec une cloche par subculture à partir des tubes BCPL positifs on a ensemencé avec quelques gouttes (3 à 5 gouttes) le milieu **Shubert**. L'incubation est faite à 44°C pendant 24 heures.

**Résultats** : La présence de CTT se traduit par la production de gaz et l'apparition d'anneau rouge avec le réactif de **Kovacs**.

d. **Dénombrement des Streptocoques fécaux** : (LECLERC et MOSSEL, 1990)

**Test Présomptif** : Le dénombrement est réalisé sur milieu de **Rothe** (milieu à l'azide) : 3 tubes de milieu de **Rothe** double concentration sont ensemencés par 10 ml d'eau (10ml/tube), trois autres tubes de milieu simple concentration par 1ml (1ml/tube), et une dernière série par 0.1ml/tube.

L'incubation est faite à 37°C pendant 24 heures.

**Résultats** : Les tubes positifs où il y a un trouble, sont présumés contenir un entérocoque et sont donc soumis au test confirmatif sur milieu de **LITSKY**.

Le dénombrement se fait à l'aide de la méthode du nombre le plus probable (NPP).

**e. Recherche des Clostridium Sulfitoréducteurs et les anaérobies Sulfitoréducteurs 46°C . (JOFFIN et JOFFIN, 1999)**

**L'eau :** Nous avons procédé à un traitement thermique au bain-marie à 80°C pendant 10 à 15 minutes de trois tubes chacun contenant 5ml d'eau, puis on a refroidit avec l'eau du robinet, ensuite, chacun des trois tubes reçoit 10ml de la gélose VF en surfusion, homogénéisée avec 2 gouttes d'alun de fer et 2 gouttes de sulfite de sodium, enfin l'incubation est faite à 37°C/24h après une homogénéisation sans faire des bulles d'air.

La recherche des Anaérobies sulfitoréducteurs 46°C se fait par la même méthode que les CLSR 37°C , mais sans procéder au traitement thermique, avec une incubation à 46°C/24h à 72h.

**Résultats :** La présence de ces germes ( Spores, formes végétatives) se traduit par un noircissement des tubes.

**f. Recherche et dénombrement des *Staphylococcus aureus* (BOURGEOIS et LEVEAU,1980)**

**Le lait :** La recherche est effectuée par étalement de 0.1ml de la dilution 10<sup>0</sup> (SM) sur milieu de **Baird Parker**, l'incubation est faite à 37°C pendant 24 heures.

**Le yaourt :** La même démarche que pour le lait.

**Résultats :** Les colonies sont lenticulaires de couleur, jaune doré.

**g. Recherche et dénombrement des levures et moisissures : (GUIRAUD, 1998)**

**Le yaourt :** Pour la recherche des levures et moisissures, on a utilisé la gélose à l'Oxytétracycline (OGA). L'ensemencement est réalisé en surface par étalement de 1ml de la dilution 10<sup>-2</sup>. l'incubation se fait à 25°C pendant 3 à 5 jours.

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

**Les moisissures :** Colonies toujours pigmentées à aspect velouté plus ou moins proéminentes.

**h. Recherche de *Salmonella* : (LECLERC et MOSSEL, 1990)**

Les *Salmonella* sont des bactéries pathogènes, provoquant des gastro-entérites, leur recherche et leur identification permettent donc de montrer le danger possible d'un produit. Le nombre de *Salmonella* étant en général faible dans le produit, il est nécessaire de procéder à un pré enrichissement et à un enrichissement sélectif.

**Pré enrichissement :** La prise d'essai du yaourt 5ml est placée dans 45ml d'eau peptonée tamponnée (non sélectif), l'incubation est faite à 37°C.

### **II.2.5. Test de dégustation : (CHEFTEL, 1979)**

Ce test permet de juger et d'apprécier les qualités du yaourt par plusieurs dégustateurs, en évaluant les caractéristiques suivantes : Odeurs, Aspect, Texture et Saveur.

#### **a. Conditions d'exécution du test :**

La salle de dégustation doit avoir un accès facile, éloigné du bruit.

Un éclairage suffisant et une température convenable.

Il faut veiller à l'homogénéité de la température des pots du yaourt avant de les mettre à la disposition des sujets.

#### **b. Principe du test :**

Le test qu'on a fait, suit les épreuves des notations. Il s'agit de présenter aux dégustateurs les différents pots du yaourt.

- Les sujets ne sont pas informés sur l'état du yaourt
- Les sujets sont informés du but et de la manière dont on manipule et il leur est demandé de donner leurs appréciations.

### **II.2.6. Traitements Statistiques :**

Les résultats obtenus vont faire l'objet d'une analyse statistique, en utilisant :

- La comparaison des moyennes par le test de **DUNCAN** au seuil de 5% et 1% (ce test a été appliqué sur les résultats relatifs aux paramètres physico-chimiques).
- L'analyse de variance par le test de **FISHER – SNEDECOR** (dispositif monofactoriel) aux seuils de 5% et 1%
- L'analyse de variance par le test de **FREIDMAN**, ce test a été appliqué pour l'évaluation de la qualité organoleptique du yaourt étuvé.

**RESULTATS  
ET DISCUSSION**

### III.1. Propriétés technologiques du ferment :

#### a. Détermination de la composition du ferment et examen microscopique :

Après incubation des tubes de bouillon nutritif ensemencés à partir du ferment lyophilisé, nous avons constaté un trouble au niveau de deux tubes qui s'explique par le développement des souches du ferment.

L'examen microscopique d'une « ose » du bouillon nutritif montre que la flore qui règne est représentée par des coques.

La purification sur géloses MRS, M17 et GN montre le développement des souches pures et après examen microscopique de ces souches, on a constaté qu'il s'agit des coques à Gram positif.

D'après ces observations on déduit qu'il s'agit :

- Soit d'un ferment formé de souches pures : des Streptocoques à savoir *Streptococcus thermophilus*.
- Soit que le milieu de culture MRS *ne répond pas aux exigences de* développement de *Lactobacillus bulgaricus* et que ce milieu est exempt de quelques facteurs de croissance.

#### b. Pouvoir acidifiant :

Le lait pasteurisé destiné à la production du yaourt est ensemencé avec trois doses du levain : 2%, 3% et 4%.

Nos résultats représentés dans le tableau IV et illustrés par la figure 4, montre ce qui suit :

- Il y a une légère variation d'acidité au cours des deux premières heures d'incubation, cela est dû au commencement de l'adaptation avec le milieu et l'assimilation du lactose par les souches du ferment.
- Durant la 4<sup>ème</sup> heure, on a observé une augmentation considérable de l'acidité d'une façon remarquable dans le lait ensemencé avec 4% du levain où elle atteint 38.5°D.
- L'acidité Dornic atteint la valeur demandée 80°D au bout de 5 heures dans le lait ensemencé avec la dose 4%, par contre elle est de 21.5°D, 23.5°D pour les laits ensemencés par les doses 2% et 3% respectivement. Donc l'activité d'acidification est proportionnelle à la dose de levain.

Nos observations ont porté également sur la vitesse d'abaissement du pH, c'est ainsi qu'on a constaté que la vitesse d'abaissement du pH est en corrélation avec l'effet dose du levain, par

exemple à la 4<sup>ème</sup> heure le pH du laitensemencé avec 2% est de 6.32, celui du lait à 3% est de 6.24 et celui du lait à 4% est de 5.22.

Durant la 5<sup>ème</sup> heure et d'après la figure 5, le pH atteint la valeur demandée 4.57 dans le lait à 4% du levain .

RAIJPUR et al., (1983), rapportent que le plus souvent le pH du yaourt est de 4.6 qui correspond au point isoélectrique de la caséine. On se référant à cette donnée bibliographique, notre produit est conforme aux normes, donc notre ferment est qualifié acidifiant.

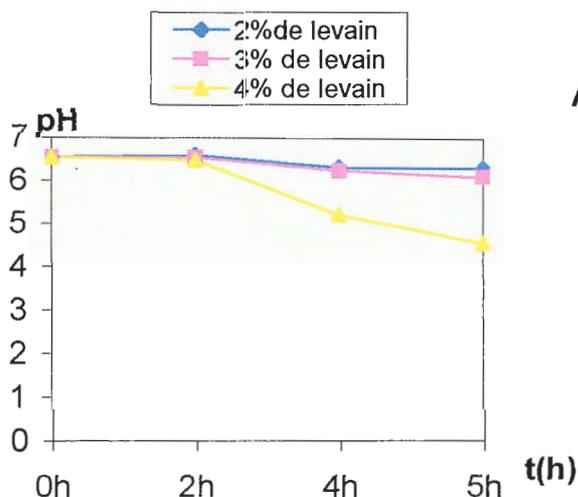
L'analyse de variance montre qu'il y a une différence hautement significative entre l'acidité( °D ) du lait à 4% du levain par rapport à ceux des laits à 2% et 3% de levain (P < 0.01) , par ailleurs, la durée d'incubation a un effet hautement significatif sur l'évolution du pH et de l'acidité (P < 0.01) avec une différence hautement significative entre le lait à 4% de levain et les laits à 2% et 3% de levain ( toujours P<0.01).

**Tableau IV :** Evolution de l'acidité et du pH du laitensemencé avec trois doses de levain.

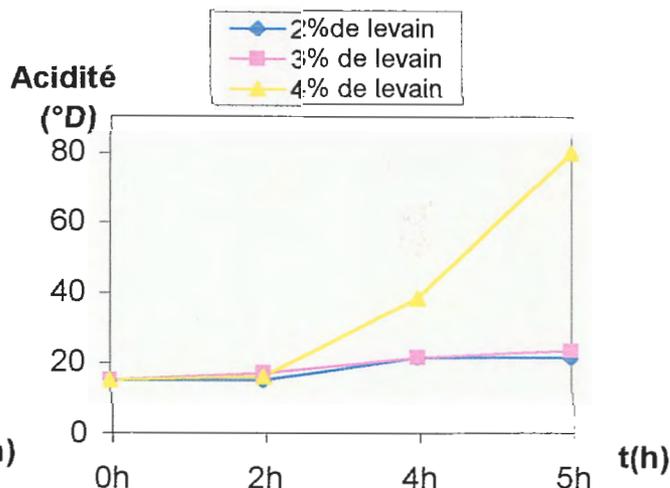
<i>Lait</i>		<i>Lait à 2%</i>	<i>Lait à 3%</i>	<i>Lait à 4%</i>	<i>S.S.</i>
<i>Heures</i>					
0 heure (lait frais)	pH	6.54	6.54	6.54	* à **
	°D	15	15	15	
2 heures	pH	6.59	6.54	6.48	
	°D	15	17	16	
4 heures	pH	6.32	6.24	5.22	
	°D	21.5	21.5	38.5	
5 heures	pH	6.31	6.10	4.57	
	°D	21.5	23.5	80	
S.S.	pH	* à **			
	°D	* à **			

°D: Acidité en degré Domic  
pH : Potentiel Hydrogène  
S.S. : Signification Statistique.

\* : Significatif  
\*\* : Hautement significatif



**Figure 5** : Evolution du pH du lait avec trois doses de levain



**Figure 4** : Evolution de l'Acidité du lait avec trois doses de levain

### ☛ .Pouvoir texturant :

Le pouvoir texturant d'un ferment se traduit par la production d'exopolysaccharides par les souches du ferment.

Au vu des résultats représentés dans le tableau V, notre ferment présente un pouvoir texturant sur milieu M17 avec des colonies larges et gluantes, mais on a observé une absence de ces colonies sur milieu MRS (1%, 2% et 3% de saccharose), donc les souches de notre ferment sont qualifiées productrices d'exopolysaccharides seulement sur le milieu M17.

Sur les milieux liquides, on a observé un trouble ( faible augmentation de la viscosité), cela est lié à la production d'exopolysaccharides (figure 6), donc le ferment est qualifié producteur d'exopolysaccharides (faible production).

LEVEAU *et al.*, (1991), rapportent que ces macromolécules contribuent à modifier la texture du produit dans lequel se développent les souches compétentes.

Selon DESMAZEAUD, (1992), l'aptitude texturante des bactéries lactiques est l'un des facteurs les plus importants dans l'industrie laitière, pour l'apport des propriétés technologiques recherchées. Dans le cas d'une addition de fruits, elles empêchent ceux-ci de se déposer au fond des pots, ce qui augmente l'homogénéité du produit final et rend plus agréable sa présentation.

De ce fait et d'après nos résultats, notre ferment est qualifié producteur d'exopolysaccharides sur milieu solide et à faible activité sur milieu liquide.

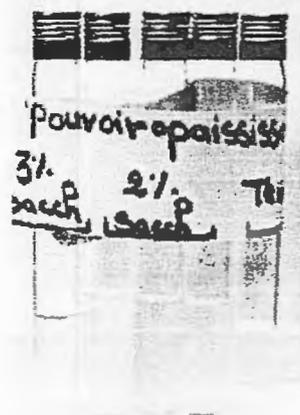
**Tableau V : Production d'exopolysaccharides par le ferment YC-X16**

Milieux ferment	Milieux solides									Milieux liquides		
	MRS 1%	MRS 2%	MRS 3%	M17 1%	M17 2%	M17 3%	GN 1%	GN 2%	GN 3%	BN 1%	BN 2%	BN 3%
YC-X16	-	-	-	+	+	++	+	+	+	+	+	++

+ : Présence du pouvoir texturant (colonies gluantes mais pas très larges sur milieu solide, et d'une faible viscosité sur milieu liquide)

- : Absence du pouvoir texturant.

% : Dose du Saccharose (pour cent).



**Figure 6 : Pouvoir épaississant**

**b. Pouvoir protéolytique :**

Le tableau VI illustre les résultats de l'hydrolyse des protéines par les souches du ferment. En se basant sur la méthode de VUILLEMARD, (1986), la souche est dite protéolytique si elle présente une zone de lyse de diamètre compris entre 5 et 15 mm.

Les résultats obtenus sur le milieu YMA montrent que notre ferment présente des zones d'hydrolyse (figure 7), donc il est qualifié protéolytique.

Sur les autres milieux gélosés, notre ferment présente une croissance sans protéolyse, donc il est qualifié non protéolytique sur ces milieux de culture.

Sur les milieux liquides, nous avons observé un culot blanchâtre, dans le tube additionné de 3% de lait écrémé, le culot est moins épais (figure 8), cela signifie que la protéolyse est proportionnelle à la dose d'enrichissement en lait écrémé. De même la clarification des milieux témoigne la présence d'une bonne activité protéolytique.

**Tableau VI:** Résultats de la protéolyse du ferment YC-X16

Ferment	Milieux solides															
	YMA		MRS 2%		MRS 3%		M17 2%		M17 3%		GN 2%		GN 3%			
YC-X16	DH	EP	DH	EP	DH	EP	DH	EP	DH	EP	DH	EP	DH	EP		
	13	+	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
	12	+	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0.1	-
	11	+	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
Ferment	Milieux liquides															
	BN 2%							BN 3%								
YC-X16	Précipitation + clarification							Précipitation + clarification								

DH: Diamètre de Halo (mm)

BN : Bouillon nutritif

EP : Evaluation de la protéolyse

GN : Gélose nutritif

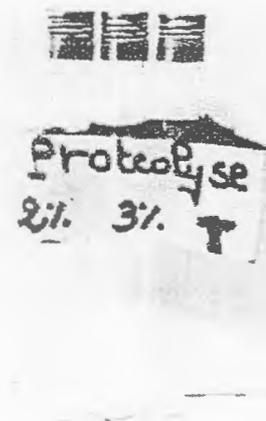
(-) :  $\emptyset < 5\text{mm}$  : Absence de l'activité protéolytique.

(+) :  $5\text{mm} \leq \emptyset \leq 15\text{mm}$  : Présence de la protéolyse.

% : Dose de lait écrémé (pourcent).



**Figure 7 :** Pouvoir Protéolytique sur milieu solide



**Figure 8 :** Pouvoir Protéolytique sur milieu liquide

**c. L'antibiorésistance :**

D'après les résultats représentés dans le tableau VII et illustrés par la figure 9, nous avons observé l'apparition de grandes zones d'inhibition autour des disques des antibiotiques IPM et PI avec un diamètre égale à 3 cm sur milieu M17, donc les souches du ferment sont qualifiées sensibles vis-à-vis de ces antibiotiques et par la résistance vis-à-vis des autres.

Nous avons constaté ainsi que l'inhibition sur milieu M17 est plus claire que sur celui de MRS, cela s'explique par le développement massif sur ce milieu.

**Tableau VII:** Résultats de l'antibiorésistance.

Milieux	MRS				MRS				M17				M17			
	CF	TE	S	FOX	PI	CZ	FOX	IPM	S	CF	TE	FOX	IPM	CZ	FOX	PI
Diamètre de zone d'inhibition DI(cm)	0	0	0	0	0.5	0	0	0.7	0	0	0	0	3	0	0	3
Antibiotique sensible ou résistant	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S

S : Sensible

R : Résistant.

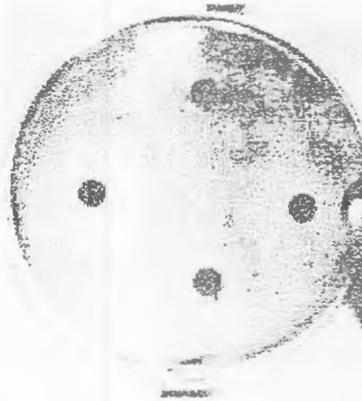


Figure 9 : Résultats de l'antibiorésistance

**f. Pouvoir antagoniste :**

Les bactéries lactiques sont connues par la production, lors de leur croissance des substances inhibant la croissance d'autres micro-organismes. Cette caractéristique est utilisée pour la destruction des bactéries indésirables ou pathogènes dans la fabrication des aliments.

Nos résultats représentés dans le tableau VIII et illustrés par les figures (10,11,12 et 13) montrent qu'il y a une inhibition réciproque ou inter inhibition entre le ferment et les autres souches des entérobactéries où le ferment présente un effet antagoniste plus puissant que celui de *Salmonella*, cela est bien illustré par la comparaison entre les résultats obtenus sur la 1<sup>ère</sup> boîte et la 13<sup>ème</sup> boîte.

D'autre part nous avons noté que la souche d'*Escherichia coli* présente un antagonisme puissant vis-à-vis de notre ferment, cela est confirmé par une comparaison entre les résultats obtenus sur la 6<sup>ème</sup> et la 11<sup>ème</sup> boîte.

Nos résultats montrent également que l'action d'inhibition du ferment est en corrélation avec la technique d'ensemencement (en puits ou en touches). Celle ci est plus efficace lorsqu'on a ensemencé en puits cela est donc lié à la quantité d'inoculum utilisé.

Donc les souches du ferment sont qualifiées productrice de substances inhibitrices vis-à-vis des deux souches d'entérobactéries.

**Tableau VIII Résultats du pouvoir antagoniste**

Techniques d'ensemencement	N° de la boîte	Résultats obtenus
<i>Salmonella</i> en puits + ferment en masse (MRS)	1	+
<i>Salmonella</i> en touche + ferment en masse (MRS)	2	Impossible de lire
<i>Salmonella</i> en puits + ferment en masse (M17)	3	+
<i>Salmonella</i> en touche + ferment en masse (M17)	4	+
<i>E-coli</i> en puits + ferment en masse (MRS)	5	+
<i>E-coli</i> en touches + ferment en masse (MRS)	6	+
<i>E-coli</i> en puits + ferment en masse (M17)	7	+
<i>E-coli</i> en touches + ferment en masse (M17)	8	+
Ferment en puits (MRS) + <i>Salmonella</i> en masse	9	+
Ferment en touches (MRS) + <i>Salmonella</i> en masse	10	±

Ferment en puits (MRS) + <i>E-coli</i> en masse	11	±
Ferment en touches (MRS) + <i>E-coli</i> en masse	12	+
Ferment en puits (M17) + <i>Salmonella</i> en masse	13	++++
Ferment en touches (M17) + <i>Salmonella</i> en masse	14	---
Ferment en puits (M17) + <i>E-coli</i> en masse	15	-
Ferment en touches (M17) + <i>E-coli</i> en masse	16	-

+ : Présence de zones de lyse

- : Absence des zones de lyse

± : Interaction indéterminée

++++ : Pouvoir antagoniste puissant

*E-coli* : *Escherichia coli*



Figure 10 : *Salmonella* en puits + ferment en masse (MRS)



Figure 11 : *Salmonella* en touche + ferment en masse (M17)



Figure 12 : Ferment en puits (M17) + *Salmonella* en masse



Figure 13 : *Salmonella* en puits + ferment en masse (M17)

### III.2. Les paramètres physico-chimiques et microbiologiques du lait :

#### III.2.1. Paramètres physico-chimiques :

##### a. Matière grasse :

Les résultats représentés dans le tableau IX et illustrés par la figure 14, montrent que durant la période de notre étude, la matière grasse était stable et égale à 24 g/L. cela est dû à l'usage du même type du lait (26%).

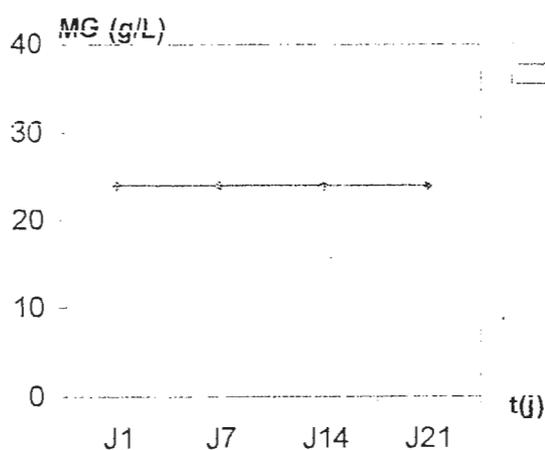
##### b. Densité :

Nos résultats représentés dans le tableau IX et illustrés par la figure 15, montrent que la densité est étroitement liée à l'enrichissement en extrait sec (poudre), et à la température de mesure. Il apparaît qu'à la température de mesure de 18°C la densité est à son optimum et est de 1035, par ailleurs et à 6°C comme à 14.5°C, la densité était 1033.

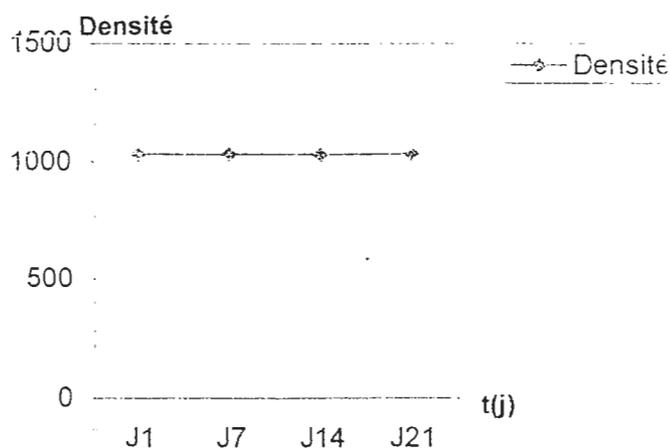
Donc les résultats obtenus sont dans les normes [1031 – 1035]

**Tableau IX** : Evolution de la matière grasse et de la densité du lait pasteurisé, destiné à la production du yaourt.

Matière Grasse et densité	Jours				Normes algériennes
	J <sub>1</sub>	J <sub>7</sub>	J <sub>14</sub>	J <sub>21</sub>	
Matière grasse en g/L	24	24	24	24	12 – 30 g/L
Densité et température de mesure	1033 à 6°C	1035 à 18°C	1033 à 14.5°C	1035 à 18°C	1031 - 1035



**Figure 14** : Evolution de la matière grasse du lait



**Figure 15** : Evolution de la densité du lait

**c. pH et acidité du lait :**

**Le pH :** Les résultats représentés dans le tableau X et illustrés par la figure 16, montrent que le pH est proche du pH neutre puisqu'il s'agit du lait pasteurisé (absence de la flore acidifiante et qu'il n'est pas encoreensemencé).

**L'acidité :** L'acidité du lait est due à la présence de l'acide lactique et d'autres acides organiques, ainsi que des acides aminés résultants de la dégradation des protéines par la pasteurisation.

Nos résultats représentés dans le tableau X et illustrés par la figure 17, montrent que l'acidité est presque stable, elle varie entre 16 et 16.5°D, mais elle est dans les normes.

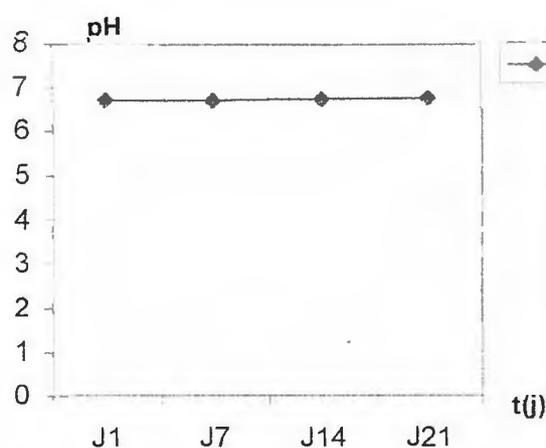
**Tableau X :** Evolution du pH et de l'acidité du lait

Pasteurisé destiné à la production du yaourt.

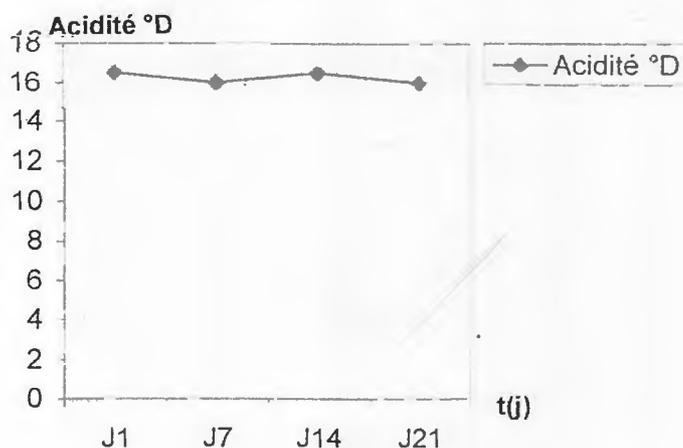
Jours pH et °D	J <sub>1</sub>	J <sub>7</sub>	J <sub>14</sub>	J <sub>21</sub>	Normes algériennes
pH	6.74	6.73	6.77	6.78	6.6 – 7
Acidité en °D	16.5	16	16.5	16	14 – 18

°D : Acidité en degré Dornic

pH : Potentiel Hydrogène



**Figure 16 :** Evolution du pH du lait



**Figure 17 :** Evolution de l'acidité du lait

### III.2.2. Paramètres microbiologiques :

Le lait destiné à la fabrication du yaourt doit subir préalablement une pasteurisation qui permet alors la destruction des microorganismes pathogènes, <sup>non</sup> sporulés ou non.

Nos résultats représentés dans le tableau XI, montrent l'absence des germes recherchés sauf, la présence de la flore Aérobie mésophile totale représentée toujours par des levures. L'absence des signes de contamination fécale témoigne l'efficacité du traitement de pasteurisation et la bonne pratique de l'hygiène au niveau de l'atelier de production.

La présence de levures est probablement liée à la contamination au niveau du laboratoire ou bien la contamination des milieux de culture lors de l'incubation.

Enfin, la qualité du lait sur le plan microbiologique est dans les normes.

**Tableau XI** : Résultats de l'analyse microbiologique du lait pasteurisé.

Flores à contrôler (germes/mL)	Jours				Normes algériennes
	J <sub>1</sub>	J <sub>7</sub>	J <sub>14</sub>	J <sub>21</sub>	
Flore Aérobie mésophile totale	3500	38500	7000	7500	< 10 <sup>4</sup>
Coliformes totaux (10 <sup>+2</sup> )	0	0	0	0	Abs/mL
Coliformes thermotolérants (10 <sup>+1</sup> )	0	0	0	0	Abs/mL
Staphylococcus Aureus (10 <sup>0</sup> )	0	0	0	0	Abs/mL

Abs : Absence.

### III.3. Paramètres microbiologique de l'eau :

- L'eau destinée à la fabrication du yaourt doit être potable, il peut cependant arriver que des contaminations par des germes pathogènes (d'origine fécale puissent survenir en raison de la dégradation des installations couplée à une mauvaise conception des circuits, ou par défaut d'hygiène chez les manipulateurs), ou des germes non pathogènes (levures et moisissures) peuvent entrainer des problèmes au niveau des réseaux (GOURAUD, 1998), mais, ces problèmes sont résolus au cours de la pasteurisation.

Au vu de nos résultats, il en ressort le suivant :

- Présence d'une FTAM, dont le nombre marque un extrême au premier jour de l'analyse (99 germes/mL) et à la température d'incubation 22°C, cette dernière est représentée par des levures, la même constatation a été notée à l'égard des autres résultats.
- Absence des signes de contamination fécale à savoir les C.T.T, *Clostridium* S.R. 37°C, des Streptocoques fécaux, de même nos résultats ont montré l'absence des Anaérobies Sulfite-réducteurs (A.S.R. 46°C).
- Présence des coliformes totaux au cours du 1<sup>er</sup> et 7<sup>ème</sup> jours à raison de 9 germes/mL et 4 germes/mL respectivement. Mais ces valeurs ne dépassent pas les normes (10 germes/mL)

Ces résultats sont liés à l'efficacité du traitement par une série de filtration et l'utilisation d'une chaudière 90°C.

En revanche, la présence des levures est probablement liée à une contamination au niveau du laboratoire ou lors du prélèvement.

Enfin, la qualité microbiologique de l'eau est conforme aux normes.

**Tableau XII** : Résultat de l'analyse microbiologique de l'eau.

Flores à contrôler (germes/mL)		Jours				Normes algériennes
		J <sub>1</sub>	J <sub>7</sub>	J <sub>14</sub>	J <sub>21</sub>	
Flores Aérobie mésophile totale (FTAM)	22°C	99	12	23	42	3 × 10 <sup>4</sup>
	37°C	30	10	20	20	3 × 10 <sup>4</sup>
Coliformes totaux (C.T) (10 <sup>+2</sup> )		9	4	0	0	10/ml
Coliformes thermotolérants (C.T.T) (10 <sup>+1</sup> )		0	0	0	0	Abs
Streptocoques fécaux (10 <sup>0</sup> )		0	0	0	0	Abs
Cl	Cl S.R. 37°C	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
	A.S.R. 46°C	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs

Cl. S.R. 37°C : *Clostridium* Sulfite-réducteurs

Abs : Absence.

A.S.R. 46°C : Anaérobies Sulfite-réducteurs

### III.4. Les paramètres physico-chimiques, microbiologiques et sensoriels du produit fini :

#### III.4.1. Paramètre physico-chimiques :

##### a. Acidité Dornic et pH du yaourt :

Nos résultats représentés dans le tableau XIII et illustrés par la figure 18, montrent que l'acidité est presque constante au cours de la période d'analyse sauf une légère diminution estimée à 1% au cours du 7<sup>ème</sup> jour. Elle oscille entre 84°D et 85°D, donc notre produit est soumis à des bonnes conditions de fabrication.

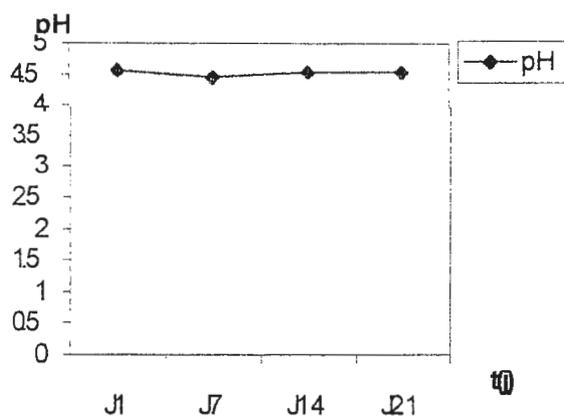
L'énergie exigée pour la croissance des streptocoques et pour celles des lactobacilles est apportée par la fermentation du lactose du lait en acide lactique ; à la fin de la fermentation 20 à 30% du lactose seront transformés en acide lactique (BOURGEOIS et LARPENT, 1996). Donc, il apparaît que le ferment a converti une grande partie du lactose en acide lactique.

Le pH est en corrélation avec la quantité d'acide lactique produite par les ferments.

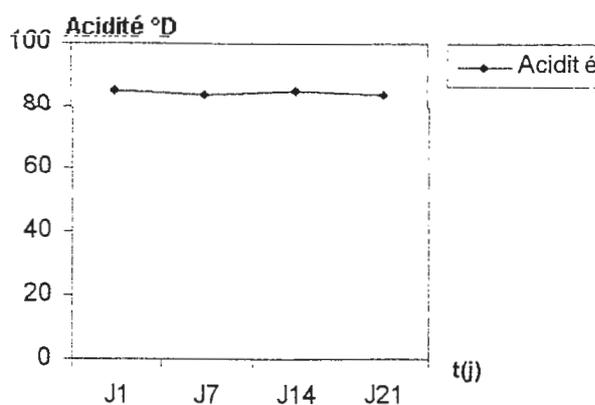
Les résultats illustrés par la figure 19 ont montré que la valeur du pH du yaourt étuvé varie entre 4.44 et 4.54, donc, le pH demandé est obtenu en fin de la fermentation grâce à l'activité métabolique du ferment.

**Tableau XIII** : Evolution de l'acidité et du pH du produit fini.

pH et °D \ Jours	J <sub>1</sub>	J <sub>7</sub>	J <sub>14</sub>	J <sub>21</sub>	Normes algériennes
pH	4.55	4.44	4.54	4.54	4,6 – 4,8
Acidité en °D	85	84	85	84	70 -100



**Figure 19** : Evolution du pH du produit fini



**Figure 18** : Evolution de l'acidité du produit fini

### b. La matière sèche :

D'après les résultats représentés dans le tableau XIV et illustrés par figure 20, on a noté que la matière sèche marque son maximum le premier jour de l'analyse 20.05%, puis elle a diminué progressivement jusqu'à atteindre sa valeur minimale 15.4% au bout du 14<sup>ème</sup> jour, mais cette valeur reste dans les normes (lait frais 14 – 16% : **TAMIME** et **ROBINSON** (1995, in **BOURGEOIS** et **LARPENT**, 1996). Cette diminution est probablement la conséquence de :

- L'enrichissement de la matière première est relativement faible (défaut d'ajustement de la matière sèche).
- Effet de la chaîne de production où il y a une perte relative aux réactions biochimiques à savoir la réaction de Maillard.
- L'hétérogénéité du prélèvement qui est dû à une mauvaise homogénéisation des pots du yaourt avant le prélèvement.
- On est tombé sur un lot dont l'échantillon prélevé est formé d'unité avec un faible teneur, en matière sèche mais cette dernière est dans les normes.

La comparaison des moyennes a montré une différence hautement significative entre la matière sèche des produits finis [ $P < 0.01$ ], dont on a trois groupes de produit homogène.

**c. La matière minérale :**

Les résultats représentés dans le tableau XIV et illustrés par la figure 20, montrent une variation de la matière minérale relative à celle de la matière sèche où elle atteint son maximum au cours du 1<sup>er</sup> jour de l'analyse 3% et minimum au cours du 21<sup>ème</sup> jour 1%, ces valeurs montrent la richesse du yaourt en sels minéraux.

L'analyse statistique (comparaison des moyennes) a montré une différence hautement significative entre la richesse en matière minérale des produits finis.

**d. La matière organique :**

Du fait que la matière organique est l'un des composants de la matière sèche donc sa variation est relative à celle de cette dernière. La matière organique est étroitement liée à la matière sèche et minérale, les valeurs obtenues ont montré la présence de deux groupes de produits l'un centré sur le yaourt produit à J<sub>14</sub>, l'autre sur le reste de la production, cela dit la faible teneur en matière organique est obtenu au cours du J<sub>14</sub> avec une moyenne de 13.4%, en revanche pour les autres produits, elle est de 17.05%, 18.40% et 17.95% respectivement pour la production J<sub>1</sub>, J<sub>7</sub> et J<sub>21</sub>.

L'analyse statistique (test de DUNCAN) a montré une différence hautement significative entre le teneur en matière organique du yaourt produit en J<sub>14</sub> et celle des yaourts produit à J<sub>1</sub>, J<sub>7</sub> et J<sub>21</sub> (P < 0.01).

**Tableau XIV :** Evolution de la matière sèche, minérale et organique du produit fini (yaourt étuvé).

<b>Ms, Mmi, Mo</b> \ <b>Jours</b>	<b>J<sub>1</sub></b>	<b>J<sub>7</sub></b>	<b>J<sub>14</sub></b>	<b>J<sub>21</sub></b>	<b>Signification statistique</b>
Ms %	20.05 a	19.7 a	15.4 c	18.95 b	* à **
Mmi %	3 a	1.1 b	2 c	1 b	* à **
Mo %	17.05 a	18.60 a	13.40 b	17.95 a	* à **

J : jour

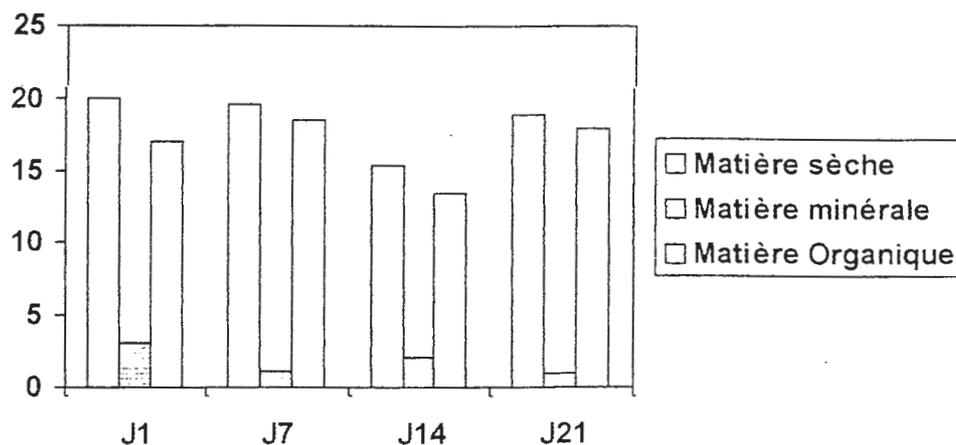
Ms : Matière sèche

Mmi : Matière minérale

Mo : Matière organique

\* : Significatif

\*\* : Hautement significatif.



**Figure 20** : Evolution de la matière sèche,minérale et organique du yaourt étuvé.

#### III.4.2. Paramètres microbiologiques du yaourt :

Nos résultats représentés dans le tableau XV montrent l'absence des germes recherchés.

Partant du principe « le yaourt est un produit vivant », il en ressort qu'au sein de notre produit règne une flore abondante, et la flore lactique est la plus dominante.

L'absence des contaminants signes de contaminations fécales est liée à la bonne pratique de l'hygiène au niveau de la yaourterie.

L'absence des pathogènes est liée au respect du processus technologique notamment la pasteurisation et la stérilisation de la matière première et au rôle inhibiteur qu'exercent les bactéries lactiques envers les différentes flores par le biais de leurs produits métaboliques à savoir l'acide lactique.

Les résultats obtenus sont justifiés par **BOURGEOIS et LARPENT, (1996)** qui rapportent que :

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 ne peut être qu'accidentelle, mais il est à noter qu'un yaourt à un pH inférieur ou égale à 4 (contenant 1% d'acide lactique) est un milieu hostile pour les germes pathogènes comme pour la plupart des autres bactéries indésirables, en ce qui concerne les micro-organismes non pathogènes les levures et les moisissures sont capables de se développer dans le yaourt.

Enfin, notre produit est de très bonne qualité microbiologie.

Tableau XV : Résultats de l'analyse microbiologique du yaourt ferme.

Flores à contrôler (germes/mL)	Jours				Normes algériennes
	J <sub>1</sub>	J <sub>7</sub>	J <sub>14</sub>	J <sub>21</sub>	
Coliformes totaux (10 <sup>+2</sup> )	0	0	0	0	10/ml
Coliformes thermotolérants (10 <sup>+1</sup> )	0	0	0	0	1/ml
<i>Staphylococcus Aureus</i> (10 <sup>0</sup> )	0	0	0	0	10/ml
<i>Salmonella</i>	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
Levures 10 <sup>2</sup>	Abs	Abs	Abs	Abs	10 <sup>2</sup> /ml
Moisissures 10 <sup>2</sup>	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
Flore lactique 10 <sup>2</sup>	395 × 10 <sup>2</sup>	528 × 10 <sup>2</sup>	560 × 10 <sup>2</sup>	225 × 10 <sup>2</sup>	

Abs : Absence.

### III.4.3. Examen microscopique :

D'après les observations microscopiques des bactéries du yaourt au cours de notre étude, on a noté ce qui suit :

- Présence des Gram<sup>+</sup>, en paires et surtout en chaînes (*Streptococcus thermophilus*). C'est une des espèces constituant la flore du yaourt.
- Absence des Gram<sup>-</sup>.
- Du fait qu'il n'existe que des coques, on pense donc que notre ferment est de composition pure.

**Tableau XVI** : Résultats de l'examen microscopique de la flore du yaourt (produit fini)

Jours	J <sub>1</sub>	J <sub>7</sub>	J <sub>14</sub>	J <sub>21</sub>
Coques	Présence de coques	Présence de coques	Présence de coques	Présence de coques
Bacilles	Absence	Absence	Absence	Absence

#### III.4.4. Contrôle des pots et de leur contenu (*pot entier*)

Selon les résultats représentés dans le tableau XVII et illustrés par la figure 21, on constate une variation de la quantité du yaourt par pot qui doit être normalement identique. On s'est assuré que cela est dû à un problème technique au niveau de la doseuse ou il y a un débit de mousse au lieu de laitensemencé.

Pour le poids de l'emballage, on a remarqué que ce dernier est constant, cela s'explique par l'utilisation du même emballage avec la même matière première (plastique).

Enfin, pour le paramètre produit sans Lactosérum et en comparaison avec le produit entier le lactosérum ne présente qu'une fraction infime du produit formée généralement de micelles de caséine et une faible quantité d'eau.

Les valeurs enregistrées montrent l'hétérogénéité du contenu des pots mais le poids du produit fini reste dans les normes.

**Tableau XVII** : Résultats des pesées : Pot entier, emballage et produit sans lactosérum

<b>Pesées</b> \ <b>Jours</b>	J <sub>1</sub>	J <sub>7</sub>	J <sub>14</sub>	J <sub>21</sub>
Pot entier (gramme)	134.9	132.6	132.6	128.1
Emballage (gramme)	6	6	6	6
Produit sans Lactosérum (gramme)	126.8	125.8	123.6	121.3

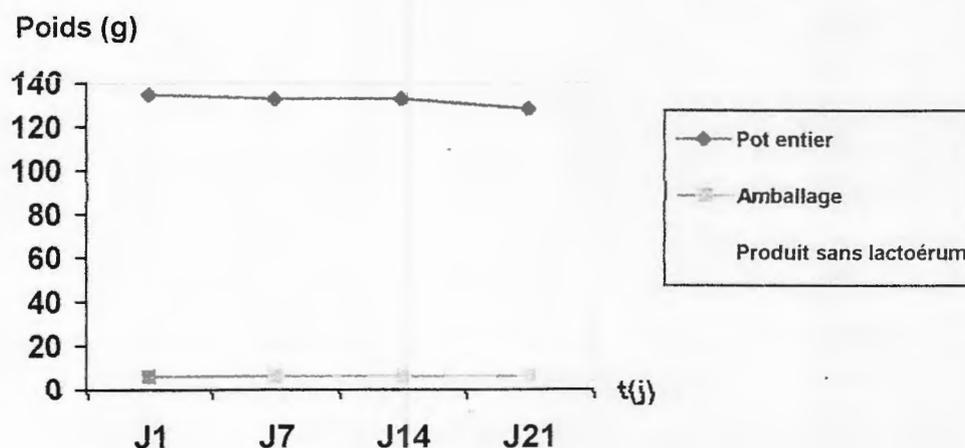


Figure 21 : Résultats du rendement de produit.

### III.4.5. Contrôle de la résistance de l'emballage :

Les résultats du tableau XVIII montrent que l'emballage utilisé supporte les différents poids testés. Donc, ce type d'emballage protège le produit des différents facteurs physiques externes.

Tableau XVIII : Résultat de la résistance de l'emballage

Poids utilisé (kg)	Jours			
	J <sub>1</sub>	J <sub>7</sub>	J <sub>14</sub>	J <sub>21</sub>
0.5	+	+	+	+
1	+	+	+	+
1.5	+	+	+	+
2	+	+	+	+
2.5	+	+	+	+
3	+	+	+	+
3.5	+	+	+	+
4	+	+	+	+
4.5	+	+	+	+

+ : Résistant.

### III.4.6. Analyse sensorielle :

L'objectif de l'analyse sensorielle est d'évaluer par test de dégustation l'évolution de la qualité du yaourt étuvé au cours de notre étude.

Les critères d'évaluation sont : L'aspect, l'odeur, la texture et la saveur.

Les résultats du test de dégustation mentionnés dans le tableau XIX et illustrés par les figures ont montré ce qui suit :

- **L'aspect** : Selon la moyenne de notation, l'aspect de notre produit est bon. Les différences sont liées aux taux de matière sèche ainsi qu'à la production des agents épaississants selon **CORNING (1990 in BOURGEOIS et LARPENT, 1993)**, les ferments lactiques produisent des polysaccharides qui évitent la séparation de sérum et de coagulum (figure 22).
- **L'odeur** : D'après les résultats enregistrés au cours de ce test, notre produit est de bonne odeur, cela est dû à l'addition d'arôme synthétique (figure 23).
- **La texture** : En général, la texture de notre produit est bonne, ceci s'explique par la production de polysaccharides et de l'ensemencement suffisant, aux bonnes conditions et au ferment actif (figure 22).
- **La saveur** : La saveur caractéristique du yaourt provient d'une combinaison de l'acide lactique et de divers composés carbonylés, comme l'acétaldéhyde et le diacétyl. Plusieurs tests ont montré que l'acétaldéhyde pouvait être directement associé à la saveur et à l'arôme caractéristique du yaourt entier.

D'après nos résultats, la saveur est considérée moyenne, cela s'explique par la faible production du composés carbonyles par les souches du ferment (figure 23).

L'analyse de variance par le test de **FREIDMAN** montre le suivant :

- Une différence significative entre l'aspect du produit fini fabriqué à J1 et celui des autres produits (à J1 l'aspect est meilleur).
- Une différence hautement significative entre l'odeur du yaourt fabriqué à J14 et celles des autres produits dont on a décelé une dégradation extrême de l'odeur à J14.
- Aucune signification n'a été à l'égard de la texture, tous les produits forment un groupe homogène.
- Une différence hautement significative entre la saveur des yaourts fabriqués à J1 et J14 et celles des yaourts fabriqués à J7 et J21, cette dernière est la meilleure.

Tableau XIX : Résultat de l'analyse sensorielle du yaourt ferme.

Traitement / sujet		J <sub>1</sub>	J <sub>7</sub>	J <sub>14</sub>	J <sub>21</sub>	S.S.
Aspect	1	4	4	4	4	N.S.
	2	4	3	4	3	
	3	4	3	3	3	
	4	4	4	4	4	
	Score totale	16	14	15	14	
	Moyenne	4	3.5	3.75	3.5	
	S.S.	*				
Odeur	1	4	4	2	5	N.S.
	2	4	4	3	4	
	3	4	5	3	4	
	4	4	3	3	4	
	Score totale	16	16	11	17	
	Moyenne	4	4	2.75	4.25	
	S.S.	* à **				
Texture	1	3	3	3	4	N.S.
	2	4	4	4	4	
	3	3	4	4	3	
	4	4	4	3	4	
	Score totale	14	15	14	15	
	Moyenne	3.5	3.75	3.5	3.75	
	S.S.	N.S.				
Saveur	1	3	4	2	4	*
	2	3	3	3	3	
	3	3	4	3	4	
	4	2	3	3	3	
	Score totale	11	14	11	14	
	Moyenne	2.75	3.5	2.75	3.5	
	S.S.	* à **				

S.S : Signification Statistique.

N.S : Non significatif.

\* : Significatif.

\* à \*\* :Significatif à hautement significatif

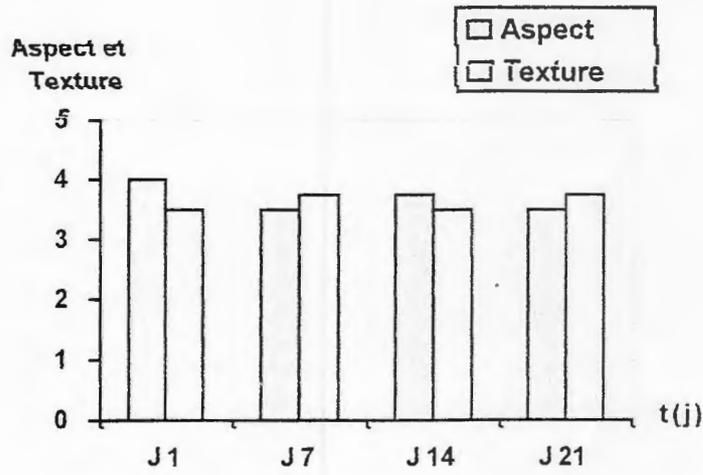


Figure 22 : Evolution de l'aspect et de la texture

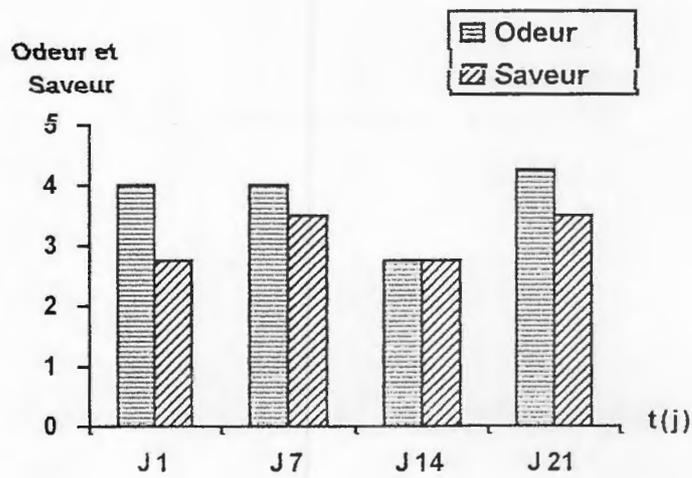


Figure 23 : Evolution de l'odeur et de la saveur

## Conclusion générale

Nous avons commencé ce travail par l'étude de quelques aptitudes technologiques du ferment YC-X16. Il apparaît qu'il est apte à acidifier le lait et d'abaisser son pH à des valeurs demandées (80°D et pH 4,57) au bout de 5 heures avec la dose 4% de levain. Ce ferment est capable de dégrader les protéines du lait (caséines), sur le milieu à 3% de lait écrémé, et de modifier la viscosité et l'onctuosité du produit par la production d'exopolymères avec la dose 2% de saccharose, il est sensible à quelques antibiotiques à savoir PI et IPM et il présente également un pouvoir antagoniste vis-à-vis de *Salmonella*.

Les résultats du contrôle des deux matières premières ont révélé que :

Le lait présente les caractères physico-chimiques suivants : une acidité de 16 à 16,5°D et un pH de 6,73 à 6,78, la matière grasse est ajustée à 24g/l pour l'obtention d'un yaourt demi-gras, ainsi que la densité était de 1035, alors le lait est dans les normes.

L'analyse microbiologique du lait montre l'absence des germes pathogènes et la présence d'une flore aérobie mésophile totale avec un maximum de 7500 germes/ml représentée par des levures, signe de contamination au niveau de laboratoire ou lors du prélèvement.

Le contrôle microbiologique de l'eau montre la présence d'une flore aérobie mésophile totale dont le maximum est de 99 germes/ml représentée toujours par des levures, ainsi que la présence de quelques coliformes totaux : 4 à 9 germes/ml, mais ces résultats restent dans les normes.

En ce qui concerne notre produit fini, l'analyse physico-chimique montre que le yaourt présente une richesse en extrait sec et les paramètres : acidités de 84 à 85°D et le pH 4,44 à 4,55, ces derniers sont dans les normes.

Le contrôle microbiologique du yaourt montre que le respect du côté hygiénique et l'effet des ferments ont contribué à l'obtention d'un yaourt de qualité microbiologique satisfaisante suite à l'absence des germes de contamination fécale et ceux pathogènes.

Les résultats de l'analyse sensorielle montrent que le yaourt présente une bonne qualité organoleptique.

Enfin nous souhaitons que notre travail soit complété par l'étude du pouvoir aromatisant du ferment et la recherche des phages.

# ANNEXES

## ANNEXE 1 :

### Milieu de culture :

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

▪ Extrait de levure	5g.
▪ Glucose	20g.
▪ Agar	20g.
▪ Eau distillée	1000ml.

#### 2) BAIRD-PARKER : Par 950ml de milieu :

▪ Tryptone	10g.
▪ Extrait de viande	5g.
▪ Extrait autolytique de levure	1g.
▪ Pyruvate de sodium	10g.
▪ Glycine	12g.
▪ Chlorure de lithium	5g.
▪ Agar Agar lacteohyrique	15g.
▪ pH :	7,2 ± 0,2

#### 3) Gélose lactosée au diœxycolate :

▪ Proteose – peptone (Difis)	10g.
▪ Lactose	10g.
▪ Desoxycolate de sodium	0.5g.
▪ Chlorure de sodium	5g.
▪ Citrate de sodium	2g.
▪ Agar	15g.
▪ Rouge neutre	0,03g.
▪ Eau distillée	1000ml.

#### 4) Milieu de MAN, ROVIOVA, SHARPE. (M.R.S) :

▪ Peptone	10g.
▪ Extrait de viande	8g.
▪ Extrait de levure	4g.
▪ Acétate de sodium	5g.
▪ Phosphate bipotassique	2g.
▪ Citrate d'ammonium	2g.
▪ Sulfate de magnésium, 7H <sub>2</sub> O	0.2g.
▪ Sulfate de manganèse, 4H <sub>2</sub> O	0.05g.
▪ Glucose	20g.
▪ Tween	1ml.
▪ Agar	10g.
▪ pH 6,2	

#### 5) Milieu YMA: (yeast milk agar): Lait levuré Gélosé:

▪ Extrait de levure	3g.
▪ Peptone	5g.
▪ Lait en poudre (ou lait 10ml)	1g.
▪ Gélose	5g.
▪ Acétate de thalium à 0.5% (facultatif).	
▪ pH	7.1 stéuilié à 120°C 115 minutes.

**Antibiotiques :**

CF : Cefaloptine (30mg).

TE : Tétracycline (304I).

S : streptomycine (304I).

Fox: Cefoxitine (30Mg).

P: Penicilline (6Mg).

CZ: Cegazoline (30Mg).

**Coloration de Gram :**

Violet de gentiane: 30 à 40secondes.

Lavage à l'eau.

Lugal : 1 à 2minutes.

Lavage à l'eau.

*Alcool* → ~~30 minutes~~  
Fuschine : recoloration légère.

Lavage à l'eau.

## ANNEXE 2 :

Le questionnaire de la qualité organoleptique du yaourt étuvé.

Nom : ..... Prénom : .....

Date de test : .....

Les pots du yaourt vous sont présentés, il vous est demandé d'évaluer les caractéristiques : Couleur, Odeur, Saveur et Consistance, au moyen du barème suivant :

- |                          |   |              |
|--------------------------|---|--------------|
| <input type="checkbox"/> | 5 | Très bonne   |
| <input type="checkbox"/> | 4 | Bonne        |
| <input type="checkbox"/> | 3 | 1 Moyenne    |
| <input type="checkbox"/> | 2 | Médiocre     |
| <input type="checkbox"/> | 1 | Inacceptable |

## Annexe 3 :

### Analyse statistique

#### Test de FRIEDMAN :

#### Comparaison globale de tous les échantillons :

Soient : J : Le nombre de sujets :

P : Le nombre d'échantillons (ou de produits) ;

$R_1, R_2, \dots, R_p$  : Les sommes des rangs attribuées aux P échantillons pour les J sujets.

Calculer :

$$F = \frac{12}{JP(P+1)} (R_1^2 + R_2^2 + \dots + R_p^2) - 3J(P+1)$$

F est comparé aux valeurs critiques du test de FRIEDMAN.

Si  $F \geq F$  de table au seuil choisi de 5% ( $\alpha = 0,05$ ) ou de 1% ( $\alpha = 0,01$ ), on peut conclure à une différence significative globale entre les échantillons.

En cas des ex aequo : On peut remplacer F par :

$$F' = \frac{F}{1 - \frac{E}{JP(P^2-1)}}$$

Où : E s'obtient de la façon suivante :

Soient :  $n_1, n_2, \dots, n_k$  le nombre d'ex aequo dans chacun des groupes de ex aequo existant.

$$E = (n_1^3 - n_1) + (n_2^3 - n_2) + \dots + (n_k^3 - n_k)$$

Par exemple, dans le tableau N° 2 figurent cinq groupes d'ex aequo:

Le 1<sup>er</sup> provient du sujet 1 ( $n_1 = 2$ ) (1,5-4,5), le 2<sup>ème</sup> provient du sujet 2 ( $n_2 = 2$ ) (3,5 - 3,5), le 3<sup>ème</sup> provient du sujet 3 ( $n_3 = 2$ ), le 4<sup>ème</sup> provient du sujet 4 ( $n_4 = 2$ ), le 5<sup>ème</sup> provient du sujet 5 ( $n_5 = 3$ ).

De ce fait :  $E = (2^3 - 2) + (3^3 - 3) = 6 + 24 = 30$

Comme  $J = 3$  et  $P = 4$ , effectuer le test. après avoir calculer F. en utilisant la valeur :

$$F' = \frac{F}{1 - \frac{30}{3 \times 4(4^2-1)}} = 0,74F$$

## Comparaison des moyennes des échantillons ;

Pour l'analyse statistique de la couleur :

1. Différence significative après cuisson (1<sup>er</sup> jour) :

La comparaison des échantillons est représentée de la façon suivante : ABMT

2. Différence significative après 15 jours de conservation :

La comparaison des échantillons est représentée de la façon suivante : BATM

3. Différence significative après 45 jours de conservation :

La comparaison des échantillons est représentée de la façon suivante : BTAM

Pour l'analyse statistique de la flaveur :

La comparaison des échantillons est représentée de la façon suivante : TAMB

Donc, on peut les représenter par : [T(a), A(a,b), B(b) et M(b)]

### Méthodes de calcul :

$$|R_i - R_j| \geq 1.96 \sqrt{J_p(p+1)/6}$$

ou le nombre de couple (R<sub>i</sub>, R<sub>j</sub>) est égale à p(p+1)/2

R<sub>i</sub> : Rang d'un échantillon.

R<sub>j</sub> : Rang d'un autre échantillon.

Les facteurs étudiés dans notre expérimentation sont :

- Facteur 1 : traitement aux NaNO<sub>3</sub>, NaNO<sub>2</sub> (4 variables (T). (A).(B). (M). après chaque même durée de conservation où : F<sub>table</sub> = 7,8 (au risque de 5%) et 9,96 (au risque de 1%).
- Facteur 2 : durée de conservation (5 variable 1, 15, 30, 45, et 60 jours). entre chaque même traitement aux NaNO<sub>3</sub> et NaNO<sub>2</sub> où : F<sub>table</sub> = 8,96 (au risque de 5%) et 11,52 (au risque de 1%).

## Dispositif mono-factoriel en bloc

$$tCG = \frac{\left( \sum_1^{tb} x \right)}{t.b}$$

$$SCE_T = \sum x_2 - tCG$$

$$SCE = \frac{\sum_1^t \left( \sum_1^b x_i \right)^2}{b} - tCG$$

$$SCE = \frac{\sum_1^b \left( \sum_1^t x_p \right)^2}{t} - tCG$$

$$SCE_r = SCE_T - (SCE_{fE} + SCE_{fC})$$

## Analyse de la variance

$\sum CE$	$SCE$	$ddl$	$CM$	$F_{obs}$
$ToT$		$(t.b)-1$		
$f.E$		$t-1$	$\frac{SCE_{fE}}{t-1}$	$\frac{CM_{fE}}{CM_r} = a$
$f.C$		$b-1$	$\frac{SCE_{fC}}{b-1}$	$\frac{CM_{fC}}{CM_r} = b$
$r$		$(t-i)(b-1)$	$\frac{SCE_r}{(t-1)(b-1)}$	

t : Nombre de traits

b : Nombre de blocs.

tCG : Taux Global

SCE : la somme des carrés des écarts.

f.E : Facteurs étudiés.

f.C : Facteurs contrôlés

r : Ecart résiduel.

$SCE_r$  : La somme des écarts résiduels.



## Références bibliographiques

1. ACCOLAS J.P,1979.  
Microbiologie et industrie alimentaire. TOME 4.  
TEC et DOC Apria ; PP. 33-38.
2. ADJMI H.,1987.  
Etude comparative de souches fermentaires repiquées utilisées dans la fabrication du yaourt.  
Mémoire en vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur en industrie alimentaire.  
Institut des sciences biologiques, Université de Constantine ; PP. 1 - 3
3. AFNOR.,1995.  
Contrôle de la qualité des produits alimentaires .5<sup>eme</sup> édition  
TEC et DOC. LAVOISIER, Paris. ; PP.133 - 301.
4. ANONYME , 2001.  
Yaourt et yaourt à boire  
Yo-Flex ; PP. 1 - 33.
5. ANONYME, 1982.  
Taxonomic features and identification of *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*.  
Document 145 ; PP. 1 -10
6. BADECHE CH., 1986.  
Essais de fabrication de yaourt et du Lben à partir de poudre de lait enrichi en extrait de levure et en ferments lactiques.  
Thèse de magister. Université de Constantine.
7. BEEKNS H. et LUQUET F.M., 1987.  
Guide pratique d'analyse microbiologique des laits et produits laitiers.  
TEC et DOC. LAVOISIER, Paris ; PP. 103 – 281.
8. BOURGEOIS C.M. et LEVEAU J-Y. , 1980.  
Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaire. Volume 3.  
TEC et DOC. LAVOISIER ; PP. 132 - 213.

9. BOURGEOIS C.M. et LEVEAU J-Y. ,1991.

Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. TOME 3.  
2<sup>ème</sup> édition. LAVOISIER ; PP. 152 -183.

10. BOURGEOIS C.M. et LARPENT J-P., 1996.

Microbiologie alimentaire.

TEC et DOC. LAVOISIER ; PP. 303 – 315.

11. CHEFTEL J.C., 1979.

Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments. Volume1.

TEC et DOC ; PP. 1 - 400.

12. DESMAZEAUD M. et MICHEL J., 1983.

L'état de connaissances en matières de nutrition des bactéries lactiques

Revue le lait ; PP. 9 - 48.

13. DESMAZEAUD M, 1996.

Alimentation et santé ; PP. 331 - 343..

14. ECK. A. et LAVOISIER., 1987.

Le fromage

TEC et DOC. LAVOISIER ; PP .1-14.

15. FULLER R., 1989.

Les laits ferments.

Actualité de la recherche. ; PP. 197 - 206.

16. GUIRAUD J-P ; 1998.

Microbiologie Alimentaire.

DUNOD, Paris ; PP. 369 - 425.

17. GUYOT A, 1992 .

Les yaourts

TEC et DOC ; PP.1 - 411.

18. JERMYJA R. L. J.,1989

Yaourt nutritionnal and health properties.

P 332.

19 JOFFIN .C et JOFFIN. J- N., 1999.

Microbiologie Alimentaire 5<sup>ème</sup> édition.

C.R de DOC.PED.d'AQU,Bordeaux ;PP.124 - 145.

20 LEVEAU.J-Y et BOUIX. M ., 1993.

Microbiologie industrielle.

TEC et DOC.LAVOISIER, Paris ; PP.170 - 386.

21 LENOIR. J, HERMIER. J et WEBER. F.,1992.

Les groupes microbiens d'intérêt laitier.

C.I.P.I.L ; PP.9 - 59.

22 LUQUET. F.M ., 1990.

Lait et produits laitiers. TOME 2 ,2<sup>ème</sup> édition. .

TEC et DOC. LAVOISIER ; PP.42 - 59.

23 LECLERC. H et MOSSEL .D.A.A. , 1990.

Microbiologie :Le tube digestif, l'eau et les aliments.

DOIN éditeurs. Paris. ; P.525.

24 MOUILLET. L et LUQUET .F.M., 1981.

« Antibiotique » dans « technique d'analyse et de contrôle dans les I.A.A ». Volume 1

Analyse des constituants alimentaires.

TEC et DOC. LAVOISIER. ; PP 307 - 395.

25 NOVEL.G., 1993.

Les bactéries lactiques.

TEC et DOC. LAVOISIER. ; P 612.

26 PETRANSXIENE. D et LAPID. L., 1981.

La qualité bactériologique du lait et des produits laitiers, analyse et test, 2<sup>ème</sup> édition.

TEC et DOC. LAVOISIER, Paris. ; PP 29 - 34.

27 PIARD. D et DESMAZEAUD. M ., 1991.

Les levains lactiques, propriétés et comportement en technologie laitière.

Revue, le lait N 60. ; PP 487 - 584.

**28** RAMESH. C et CHAUDUM. PH.D ., 1989.

Yogourt: Nutritional and health properties.

C.I.R DANIEL CARASSO, DOC. ; PP 95 - 115.

**29** RAOULL . L ., 1965.

Manuel d'analyse alimentaire et d'expertise usuelle TOME 2.

Edition DOIN .Paris ; PP 1151 - 1213.

**30** SALMINEN .S et WRIGHT . A.V .,1993.

Lactic Acid Bacteria.

MARCEL.DEKKER ; PP 1 - 63.

**31** VUILLEMARD. J-C,1986.

Microbiologie des aliments. Volume 3

TEC et DOC. LAVOISIER ,Paris ; P 168.

# Etude de quelques aptitudes technologiques d'un ferment thermophile et évaluation de la qualité physico-chimique, microbiologique et organoleptiques du yaourt étuvé (IGILAIT)

## Résumé

Notre étude a été menée sur quelques propriétés technologiques d'un ferment thermophile du yaourt, ainsi que le contrôle de la qualité des deux matières premières (lait et l'eau) et sur l'analyse physico-chimique, microbiologique et organoleptique du produit fini (yaourt).

D'après les résultats obtenus, il apparaît que notre ferment possède un bon pouvoir acidifiant (80°D avec la dose 4% de levain), un pouvoir texturant remarquable avec la dose 2% de saccharose, pouvoir protéolytique bien clair avec la dose 3% de lait écrémé, une sensibilité aux antibiotiques : PI et IPM et un effet antagoniste puissant sur *Salmonella*.

L'analyse physico-chimique montre que le lait et le yaourt obéissent aux normes par ailleurs le lait, l'eau et le yaourt ont une bonne qualité microbiologique.

L'analyse sensorielle montre que le yaourt est de bonne qualité organoleptique.

Mots clés : ferment, yaourt, lait, qualité.

## Summarized

Our study has been lead on some technological properties of a yogurt ferment thermophile, as well as the control of the two raw material quality (milk and water) and on analysis physico-chimical, microbiological and organoleptical of the product finished. (yogurt)

According to the gotten results, it appears that our ferment possess a good power acidifying (80°D with the dose 4% of leaven), a power remarkable texturant with the dose 2% of sucrose, to can very lucid protéolytique with the dose 3% of skim milk, a sensibility to antibiotics: PI and IPM and a powerful antagonistic effect on *Salmonella*.

Analysis physico-chimical shows that milk and yogurt obey to the same norms otherwise milk, water and yogurt have a good microbiological quality.

The analysis sensory watch that yogurt is good organoleptical quality.

Key words: ferment, yogurt, milk, quality.

## ملخص

دراستنا تمت حول بعض الخصائص التكنولوجية لخميرة الياؤورت، مراقبة نوعية المادتين الأوليتين و كذلك التحاليل الفيزيوكيميائية و الميكروبيولوجية و الحسية للمنتوج النهائي. من خلال النتائج المحصل عليها تبين أن الخميرة تملك قدرة جيدة على تغيير حموضة الوسط °D 80 باستعمال الجرعة 4 % من الخميرة، قدرة معتبرة في تغيير لزوجة و هيئة الوسط باستعمال الجرعة 2% من السكر، أيضا القدرة على هدم البروتينات باستعمال الجرعة 3% من الحليب منزوع المادة الدسمة كذلك الحساسية اتجاه بعض المضادات الحيوية مثل: PI, IPM قدرة كبيرة على تثبيط سالمونيلا.

بينت التحاليل الفيزيوكيميائية أن للحليب و الياؤورت خصائص مطابقة للمعايير و أن النوعية الميكروبيولوجية للمادتين الأوليتين و المنتوج النهائي جيدة. بينت التحاليل الحسية أن الياؤورت يتميز بنوعية حسية جيدة. الكلمات المفتاح: خميرة، ياؤورت، حليب، نوعية.