

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A.MIRA-Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie
Filière : Sciences biologiques
Option : Microbiologie Alimentaire et santé



Réf :

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

MASTER

Thème

**Suivi de la flore lactique d'un yaourt étuvé aromatisé
au niveau de la laiterie « Ramdy » lors de la
conservation à 6°C et à 22°C**

Présenté par :

ATTIK Wissam & BENSEGHIR Fatiha

Soutenu le : 19 juin 2017

Devant le jury composé de :

Melle. Bendali F.	MCA	présidente
Mme. Benachour K.	MAA	Encadreur
Mme. Faradji S.	MCB	Examinatrice

Année universitaire : 2016/2017.

Remerciements

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

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

Nous ne pouvons que sincèrement vous exprimer notre respect et notre gratitude.

*Nous somme particulièrement reconnaissantes à **M^{elle}. Bendali F.** d'avoir accepté d'examiner notre travail en tant que présidente ainsi que, **M^{me}. Faradji S.** d'avoir voulu évaluer et examiner ce mémoire.*

*Nous tenons à remercier le gérant de la laiterie Ramdy et la responsable du laboratoire : **M^{elle}. Sedda** d'avoir mis à notre disposition tout ce dans nous avons besoin au cours de notre stage. Nos remerciements vont également au personnel du laboratoire (**Souad, Naima, Amel et Soraia**) pour leur aide et leurs conseils.*

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

Dédicaces

A ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour, à ceux qui m'ont encouragé et soutenu dans les moments les plus durs et ceux à qui je dois tant, à mes parents, pour leur amour et leur support affectif, que ce travail soit le témoignage de mon amour.

A la mémoire de ma défunte sœur Farah qui nous a quittée pour un monde meilleur laissant un vide immense, tu seras toujours vivante dans mon cœur.

Que ton âme repose en paix

A mes chères sœurs, Khadîja, Melissa et Thinhinane pour leurs encouragements, que Dieu vous garde en bonne santé et à mes côtés.

A mon adorable petit frère AMIAS, la plus belle chose qui me soit arrivée.

A mes chères amies (es): Wafa, Djimou, Koukou, Chahra, Hamou et Farouk, avec lesquelles j'ai passé les plus beaux moments.

A ma Fatima avec laquelle j'ai partagé ce travail, je lui souhaite plein de bonheur, réussite et une bonne santé.

*Et à tout mes camarades de la promotion de microbiologie alimentaire et santé :
2016/2017*

Wissam

Dédicaces

A ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour, a ceux qui m'ont encouragé et soutenu dans les moments les plus durs et ceux à qui je dois tant, a mes parent, pour leur amour et leur support affectif, que ce travail soit le témoignage de mon amour.

*A mes chères frères, **Atman, Hocine, Jakoub, Kader, Lakhdar**, pour leurs encouragements, que Dieu vous garde en bonne santé et à mes cotés.*

*A mon unique sœur **Zineb** qui m'a toujours soutenu dans les moments de joie comme dans les moments de peines et a son mari **Salim**.*

*A ma belle sœur **Lila** avec laquelle j'ai partagé ton de choses.*

*A mes adorables neveux **Islam, Aziz, Moataze, Salah, Brahim**.*

*A mes chères amies (es): **Nedjma, Keltoum, Kahina, Hadjer, Yasmine, Samira, Salwa, Abdellah, said et Farouk**, avec lesquelles j'ai passé les plus beaux moments.*

A mon cher binôme avec laquelle j'ai partagé ce travail, il lui souhaite plein de bonheur, réussite et une bonne santé.

*Et a tout mes camarades de la promotion de microbiologie alimentaires santé :
2016/2017*

Fatiha

Liste des abréviations**Liste des figures****Liste des tableaux en annexe****Introduction**1**I. Synthèse bibliographique**

I. 1. Définition du yaourt.....	3
I. 2. Historique.....	3
I. 3. Caractéristiques général des bactéries du yaourt.....	4
3.1 <i>Streptococcus thermophilus</i>	4
3.2. <i>Lactobacillus delbrukii subsp. bulgaricus</i>	4
I. 4. Intérêt et fonction des bactéries du yaourt.....	4
4. 1. Activité aromatique.....	4
4. 2. Activité texturant.....	5
4. 3. Activité acidifiante.....	5
4. 4. Activité protéolytique.....	6
I. 5. Comportement associatif des deux souches.....	6
I. 6. Facteurs influençant le métabolisme des bactéries du yaourt.....	8
6. 1 Influence du milieu de culture.....	8
6. 2. La protocoopération ou symbiose.....	8
6. 3. Les paramètres technologiques.....	9
I. 7. Technologie de la fabrication du yaourt.....	10
7. 1. Préparation et traitement du lait.....	10
7. 2. Fermentation	11
7. 3. Conditionnement.....	12
7. 4. Stockage.....	12

II. Matériel et méthodes

II. 1. Analyses physico-chimiques du produit.....	13
1. 1. Mesure et suivi du pH	13
1.2. Mesure et suivi de l'acidité Dornic.....	14
1.3. Suivi et mesure de la synérèse.....	15
II. 2. Analyse microbiologiques	15
2. 1. Préparation des milieux de cultures.....	15
2. 2. Préparation de la suspension mère et des dilutions décimales	15
2.3. Dénombrement de la flore lactique.....	16

III. Résultats et discussions

III. 1. Suivi des paramètres physico-chimiques.....	18
1. 1. Suivi du pH au cours de la maturation.....	18
1. 2. Suivi du pH et de l'acidité Dornic du yaourt pendant le stockage.....	19
1. 3. Le suivi de la synérèse.....	21
III. 2. Suivi des paramètres microbiologiques	22

Conclusion.....	27
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des abréviations

°D: Degrés Dornic

DLC: Date Limite de Consommation

F.A.O: Food and Agriculture Organization

Lb: *Lactobacillus*

MRS: de Man Rogosa Sharp

S.A.R.L : Société à responsabilité limitée

St: *Streptococcus*

ssp: sous espèce

UFC : unités formant colonie

Liste des figures

N° Figure	Titre	Page
Figure 01	Schéma illustrant les interactions de <i>Streptococcus thermophilus</i> et <i>Lactobacillus bulgaricus</i> en culture mixte dans le lait.	7
Figure 02	pH-mètre	13
Figure 03	Evolution du pH au cours de la maturation du yaourt étuvé aromatisé.	18
Figure 04	Evolution de l'acidité Dornic au cours de stockage à 6°C et à 22°C du yaourt étuvé aromatisé « Ramdy ».	19
Figure 05	Evolution du pH au cours de stockage à 6°C et à 22°C du yaourt étuvé aromatisé « Ramdy ».	20
Figure 06	Evolution de la synérèse pendant le stockage à 6°C et à 22°C.	21
Figure 07	Evolution de la microflore de yaourt étuvé aromatisé « Ramdy » conservé 40 jours à 6°C.	23
Figure 08	Evolution de la microflore de yaourt étuvé aromatisé « Ramdy » conservé 40 jours à 22°C.	23
Figure 09	Succession des interactions entre les bactéries lactiques du yaourt.	24

Liste de tableaux en annexes

Annexe II :

Tableau I : Résultats du suivi du pH au cours de la maturation.

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

Tableau III : Résultats du suivi du pH et de l'acidité Dornic au cours du stockage à 22°C.

Tableau IV : Résultats de l'évolution de la synérèse :

Tableau V : Résultats de l'évolution de la croissance de *Lb. bulgaricus* et *St. thermophilus* sur les milieux MRS et M17 respectivement au cours du stockage du yaourt à 6°C.

Tableau VI : Résultats de l'évolution de la croissance de *Lb. bulgaricus* et *St. thermophilus* sur les milieux MRS et M17 respectivement au cours du stockage du yaourt à 22°C.

Annexe III :

Tableau I : Composition du milieu MRS.

Tableau II : Composition du milieu M17.

Tableau III : Composition de la solution Ringer.

Annexe V :

Tableau I: Teneur moyenne des composés du yaourt pour 100 gramme de produit.



Introduction

Les laits fermentés ont représenté pendant des millénaires, pour de nombreuses population essentiellement situées au Moyen Orient, une alimentation privilégiée car riche en protéines et très digeste. Ils sont définis comme étant des produits obtenus par la fermentation du lait avec des bactéries lactiques et/ou de levures, cette définition est issue d'une étude portant sur la réglementation de 27 pays (REINE, 1984).

Ils se différencient les uns des autres par leur état final: coagulum (ou gel) plus ou moins ferme; crème plus ou moins visqueuse et liquide. Ils constituent un mode de protection et de conservation du lait (denrée très périssable) grâce à l'abaissement du pH lors de la transformation du lactose en acide lactique par les bactéries lactiques (FAO, 1975).

La fermentation modifie les composants du lait et les caractères organoleptiques de celui-ci. Certaines de ces transformations sont communes aux divers laits fermentés; c'est le cas de l'acidification et de la gélification, d'autres sont spécifiques de chaque type de lait fermenté, comme la formation de composés aromatiques, de gaz, d'éthanol et l'hydrolyse des protéines. Ces produits présentent un grand intérêt dans les pays en développement en raison de leur acidité qui en fait des aliments hygiéniques, sans inconvénients pour les consommateurs intolérants au lactose. De plus, ils présentent une bonne valeur nutritionnelle, des qualités organoleptiques généralement très bien acceptées ainsi qu'une relative facilité de préparation et de distribution (FAO, 1975).

Le yaourt ou yoghourt est le lait fermenté le plus connu. Il est obtenu par la fermentation lactique du lait. Le lait, préalablement pasteurisé, ensemencé avec un levain lactique, constitué par le mélange *Streptococcus thermophilus*, et *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. Il n'y a pas d'élimination des constituants du lait. Seule une partie du lactose est transformée en acide lactique (LARPENT, 1997).

La quantité d'acide lactique produite par la culture mixte est supérieure à la somme des acidités produites par chacune des cultures pures, et la quantité libre contenue dans le yaourt de ce dernier ne doit pas être inférieure à 0,8g/100g et il doit contenir 10^7 bactéries lactiques thermophiles spécifiques vivantes par gramme de yaourt lors de la vente aux consommateurs (LOONES, 1994).

Comme de très nombreux produits alimentaires, les yaourts ont une date limite de consommation (DLC) qui est de 30 jours à partir de la date de fabrication, car les bactéries doivent rester vivantes et en nombre suffisant (10^7 bactéries par gramme de yaourt à la DLC). Cependant, les yaourts peuvent être consommés plusieurs jours après cette date limite de consommation sans que l'on remarque une différence de qualité du produit.

L'étude effectuée dans ce mémoire est portée sur le suivi de la cinétique de la flore lactique du yaourt et différents paramètres physico-chimiques qui influencent la qualité du yaourt au cours de stockage à 6°C et à 22°C jusqu'à dix jours après la DLC, ce travail a pour objectif :

- ✓ d'étudier la cinétique de croissance des deux espèces (*Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*) au cours du stockage du yaourt à 6°C et à 22°C.
- ✓ Evaluer la viabilité de la flore lactique à un taux conforme à la norme lors et après dix jours de la DLC.
- ✓ Voir l'influence de la température de conservation sur les paramètres physico-chimiques et microbiologiques du yaourt.

Ce mémoire renferme deux parties : une partie théorique consacrée à la présentation du yaourt et le comportement des bactéries lactiques dans ce produit ; et une partie pratique dans laquelle sont décrites les différentes méthodes utilisées ainsi que la discussion des résultats obtenus lors de ce travail et enfin une conclusion générale résumera les résultats obtenus et des perspectives seront apportées à ce travail.

Synthèse bibliographique

I.1. Définition du yaourt

Selon le *Codex alimentarius* et la FAO (*Food and Agriculture Organization*, 1975), Le yaourt est un produit laitier coagulé obtenu par la fermentation lactique grâce à l'action de *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* à partir du lait (pasteurisé, concentré, partiellement écrémé, enrichi en extrait sec) avec ou sans addition de substances (lait en poudre, poudre de lait écrémé, les protéines lactosériques concentrées ou non, la caséine alimentaire... etc.). Les bactéries dans le produit fini doivent être viables et abondantes.

La FIL (Fédération International de la Laiterie) fixe la quantité de ferment vivant, égale à 10^7 bactéries par gramme jusqu'à la date limite de consommation. Ces produits doivent notamment être maintenus jusqu'à leur consommation à une température comprise entre 0 et 6°C.

I.2. Historique :

Le yaourt ne serait pas originaire de la Bulgarie, comme on peut souvent l'entendre, mais d'Asie centrale. L'origine du mot "yaourt" se retrouve d'ailleurs dans le mot turc « yogurmark », qui signifie « épaissir » (TAMIME et DEETH, 1980).

En 1902, deux médecins français, Rist et Khoury, isolent les bactéries présentes dans un lait fermenté égyptien ; Elie Metchnikoff isole ensuite une bactérie spécifique du yaourt « le bacille bulgare » (ROUSSEAU, 2005).

En 1919 qu'Issac Carasso commence à produire du yaourt à Barcelone selon des procédés industriels (PELLETIER et *al.*, 2007).

Le yaourt dit « nature » constituait l'essentiel de laits fermentés, mais à partir des années 1970 sont apparus les produits sucrés puis aromatisés et aux fruits.

I.3. Caractéristiques générales des bactéries du yaourt

I.3.1. *Streptococcus thermophilus* :

St. thermophilus est un coque à Gram positif, anaérobie facultatif, se trouve dans les laits fermentés et les fromages (DELLAGIO et al., 1994 ; ROUSSEL et al., 1994). Cette espèce se distingue essentiellement des autres Streptocoques lactiques par la croissance thermophile avec un optimum autour de 42-43 °C, l'absence de tout antigène de group D, sa thermorésistante à 60 °C (parfois 65 °C) pendant 30 minutes (GARVIE, 1984), une activité fermentaire le plus souvent réduite à quelques sucres et une forte sensibilité au NaCl (HARDIE, 1986b), le GC % de son ADN varie de 37 à 40 % (FARROW et COLLINS, 1984).

Le rôle principal de *St. thermophilus* est la fermentation du lactose du lait en acide lactique. En plus de son pouvoir acidifiant, elle est responsable de la texture dans les laits fermentés. Cette bactérie augmente la viscosité du lait par production de polysaccharides (composés de galactose, glucose, ainsi que de petites quantités de rhamnose, arabinose et mannose) (BERGAMAIER, 2002).

I.3.2. *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*

Lb. bulgaricus appartient au Groupe I de la subdivision du genre *Lactobacillus* de la classification d'Orla –Jensen (1919), qui regroupe les espèces homofermentaires obligatoires. C'est un bacille Gram+, non sporulé, immobile, il est isolé sous forme de bâtonnets en chainettes. *Lb. bulgaricus* est une bactérie thermophile et sa température optimale de croissance est variée de 43-46°C (RADKE-MICHELL et SANDINE, 1986). Le GC% de son ADN varie de 49-51% (BOTTAZZI, 1988).

I.4. Intérêt et fonction des bactéries lactiques

I.4.1. Activité aromatique

Divers composés volatiles et aromatiques interviennent dans la saveur et l'appétence du yaourt. L'acétaldéhyde est le composé aromatique le plus caractéristique de la saveur du yoghourt, d'autres molécules intervenant dans la note aromatique ont également été identifiées. L'acétaldéhyde est principalement produit par *Lb. bulgaricus* à partir de la thréonine, réaction catalysée par la thréonine aldolase (MARSHALL et COLF, 1983).

- Le défaut de goût est généralement causé par une insuffisance en arôme qui est due à un déséquilibre en faveur de streptocoques, ou à la présence de streptocoque ayant une activité alcool-déshydrogénase qui a pour effet de transformer l'acétaldéhyde en éthanol (LOONES, 1994).

I. 4.2. Activité texturante

La production d'acide lactique par les bactéries, a pour effet de diminuer le pH du lait. Dès que celui-ci atteint le point isoélectrique de la caséine (pH : 4,6), il y a formation d'un caillé dont la fermeté et la viscosité sont fonction, entre autres facteurs, du pH final et de l'activité protéolytique des souches (BOUILLANNE et DESMAZEAUD, 1980).

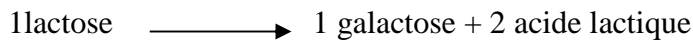
Certaines bactéries lactiques produisent des polysaccharides qui jouent le rôle d'agents de texture et donneront au produit fini son caractère onctueux ou filant. La production de polysaccharides a été mise en évidence avec *Lb. bulgaricus* (CERNING et al., 1986), ainsi qu'avec *St. thermophilus* (CERNING et al., 1986). Elle est variable suivant les souches utilisées. Les polysaccharides reliés aux micelles de caséine augmentent le pouvoir de rétention d'eau du caillé lactique et protègent ce dernier contre les traitements mécaniques durant la fabrication (pompage, réfrigération) (LOONES, 1994).

Les principaux défauts de texture dont sont responsables les bactéries lactiques sont (LOONES, 1994) :

- ✓ La présence de sérum en surface du caillé (acidification trop forte ou trop faible donnant un gel fragile),
- ✓ Une texture trop filante (bactéries excessivement filantes ou déséquilibre entre souches),
- ✓ Une texture liquide (acidification insuffisante par défaut de croissance des bactéries),
- ✓ Une texture hétérogène : présence de points blancs, texture granuleuse, texture sableuse en bouche (mauvais choix des souches et des paramètres technologiques).

I.4.3. Activité acidifiante

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



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

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

I.4.4. Activité protéolytique

Pour satisfaire leurs besoins en acides aminés, les bactéries du yaourt doivent dégrader la fraction protéique du lait constituée de caséine et de protéines sériques, leur système protéolytique est constitué de deux types d'enzymes distinctes : les protéases et les peptidases. *Lb. bulgaricus* possède des protéases localisées, pour l'essentiel, au niveau de la paroi cellulaire (MARSHALL, 1987). Cette activité protéasique permet d'hydrolyser la caséine en polypeptides.

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

I.5. Comportement associatif des deux souches

L'association de souche de *St. thermophilus* et de *Lb. bulgaricus* pour la fabrication du yaourt est l'exemple le plus connu et probablement le plus stable. Dans le lait, *Lb. bulgaricus* plus protéolytique que *St. thermophilus* fournirait les acides aminés et / ou les peptides dont cette souche a besoin et stimulerait ainsi sa croissance (DESMAZEAUD et HERMIER, 1972). En retour, la croissance de *St. thermophilus* en absence de faible concentration d'oxygène produirait de l'acide formique stimulant le développement de *Lb. bulgaricus* (VERINGA et al., 1968). En plus du formiate, le CO₂ produit par *St. thermophilus* à partir de l'urée présente dans le lait (TINSON et al., 1982b) serait lui aussi nécessaire pour stimuler la croissance de *Lb. bulgaricus* (DRIESSEN et al., 1982).

Cette interaction peut aboutir à une augmentation de la croissance de ces souches (DRIESSEN et *al.*, 1982) et à une acidification du lait plus importante que la somme de ces activités propre à chacune des deux espèces (MOON et REINBOLD, 1976 ; ACCOLAS et AUCLAIR, 1983).

Cependant la réussite de l'association dépend de la concentration des deux bactéries et des propriétés des souches elles-mêmes. Pour fabriquer un bon yaourt, le rapport entre les deux bactéries doit être de 1 : 1. La dominance du *St. thermophilus* conduit un yaourt sans arôme et celle du *Lactobacillus* à un yaourt trop acide (RASIC et KURMAN, 1978). *St. thermophilus* pourrait aussi inhiber la croissance de *Lb. bulgaricus* quand la culture mixte arrive en phase stationnaire (MOON et REINBOLD, 1976).

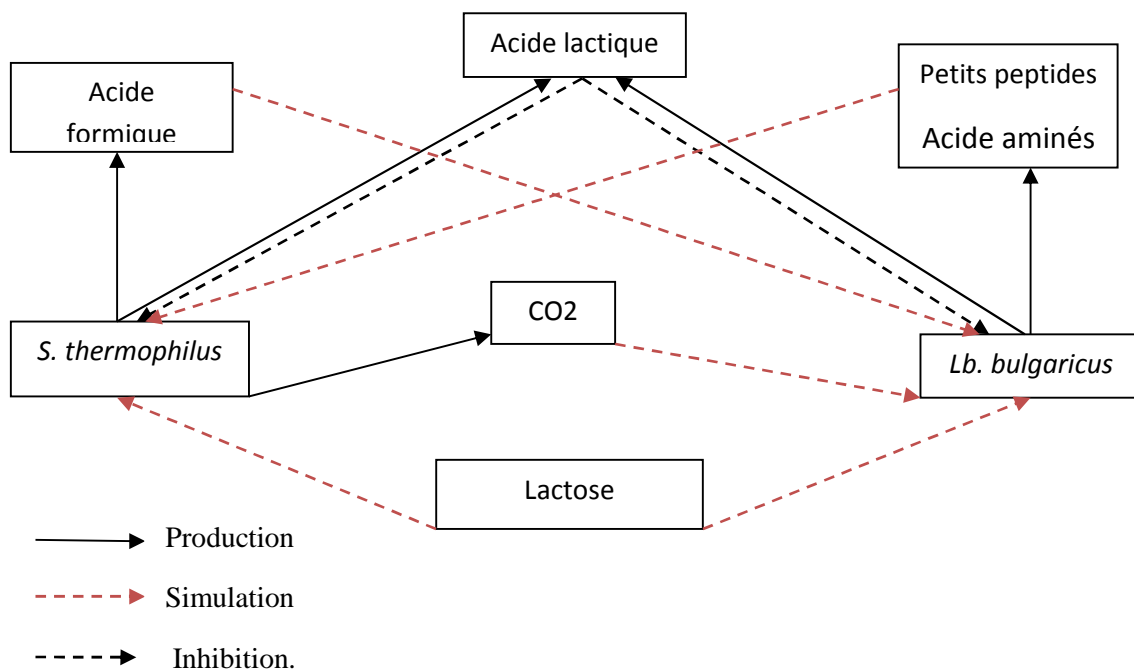


Figure 01: Schéma illustrant les interactions de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* en culture mixte dans le lait (DRIESSEN, 1981).

I.6. Facteurs influençant le métabolisme des bactéries lactiques

I.6.1. Influence du milieu de culture

A. Qualité du lait

La qualité du lait est primordiale pour la croissance des bactéries lactiques puisqu'il leur apporte les composés carbonés et azotés ainsi que les facteurs de croissance indispensables. L'exigence nutritionnelle est la quantité de l'azote libre qui peut être apporté sous forme d'acides aminés libres ou sous forme de petits peptides. Certains travaux ont montré l'importance de ces acides aminés : effet stimulant de l'acide glutamique, de l'histidine, de la méthionine, effet inhibiteur par compétition de l'acide aspartique et l'isoleucine, sur la croissance de *St. thermophilus* (BRACQUARD, 1985).

B. Sucre

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

C. Antibiotiques

Les bactéries lactiques thermophiles sont très sensibles à la présence d'inhibiteurs tel que des traces d'antibiotiques. *St. thermophilus* est en général plus sensible que *Lb. bulgaricus*, ce qui a pour effet de déséquilibrer la flore (COGAN, 1972).

I.6.2. La protocoopération ou symbiose

Le yaourt résulte de la fermentation du lait par l'association des deux espèces *St. thermophilus* et *Lb. bulgaricus*. Cette interaction positive est facilement mise en évidence en comparant les productions d'acide lactique en cultures pures et mixtes des deux espèces. La quantité d'acide lactique produite par la culture mixte est supérieure à la somme des acidités produites par chacune des cultures pures. Le même phénomène est exactement observé pour la production d'acétaldéhyde (HARTLEY et *al.*, 1989). Cette stimulation dans la coculture s'explique par l'exigence différente en facteurs de croissance des deux espèces.

I.6.3. Les paramètres technologiques

a. Le traitement thermique

Le traitement thermique du lait induit des réactions physico-chimiques qui agissent sur le métabolisme des bactéries lactiques, mais également sur les propriétés organoleptiques des laits (LOONES, 1994).

b. Les conditions de la fermentation

- La température d'incubation :

Les températures optimales de croissance se situent entre 36 et 42 °C pour *St. thermophilus* et de 42 à 46 °C pour *Lb. bulgaricus*. Ainsi, en fonction du produit désiré, les souches doivent être appariées en tenant compte de leur température de croissance (RADKE-MITCHELL et SANDINE, 1986).

- La durée de la fermentation :

La durée de la fermentation joue un rôle important sur l'équilibre des microorganismes ; le rapport streptocoques/lactobacilles diminue avec le temps pendant la fermentation du lait (LOONES, 1994).

c. Les conditions de conservation :

Une conservation à 5°C pendant 30 jours modifie peu la flore lactique, en revanche une température plus élevée entraîne une baisse plus marquée du nombre de *Lb. bulgaricus* et *St. thermophilus* (HAMANN et MARTH, 1984).

➤ L'influence des traitements thermiques post-fermentaires :

Le chauffage du yaourt dans le but d'une augmentation de sa durée de conservation a des conséquences très négative sur l'intérêt nutritionnel du produit obtenu ; outre l'inactivation et la destruction de la flore du yaourt, le traitement thermique provoque des diminutions importantes des vitamines du groupe B (DE FELIP et *al.* 1977) et d'enzymes, en particulier de la β -galactosidase ou lactase (SPECH et GEOFFRION, 1980). La malabsorption du lactose chez les individus déficients en lactase est pratiquement corrigée par ingestion de yaourt à flore vivante, mais persiste quand la flore a été détruite par chauffage (SAVAIANO et *al.* 1984).

➤ **Influence de la congélation**

La congélation a une influence défavorable sur la survie des bactéries lactiques, elle provoque une perte de 30 à 80%, et le taux de survie est inférieur à 10% après 3 mois de conservation à -18°C (OTTIGALLI et RONDININI, 1974). Par ailleurs, l'activité lactasique d'un produit congelé est fortement diminuée (SPECK et GEOFFRION, 1980).

I.7. Technologie de la fabrication du yaourt

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

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

I.7.1 Préparation et traitement du lait

Enrichissement en matière sèche

La teneur en matière sèche du lait mis en œuvre dans la fabrication du yaourt est un facteur important, car elle conditionne la viscosité et la consistance du produit.

Les protéines ont un rôle déterminant sur la texture et la matière grasse sur les caractéristiques organoleptiques (saveur, arôme). Les protéines et la matière grasse contribuent également à masquer l'acidité du produit. Cet enrichissement est réalisé par concentration (évaporation ou osmose inverse) ou plus fréquemment par addition de poudre de lait écrémé ou de protéines de lactosérum à des doses variant de 1 à 3%. Le poudrage, effectué à 40°C environ pour une bonne réhydratation des poudres, est généralement suivi d'une étape de filtration et de désaération (JEANTET *al.*, 2008).

Traitement thermique

Le lait enrichi subit un traitement thermique qui a pour but :

- ✓ De détruire tous les germes pathogènes et indésirables (bactéries, levures, moisissures), ce qui favorisera le développement ultérieur des ferments (JEANTET *al.*, 2008);

- ✓ D'inactiver les γ -globulines et de nombreuses enzymes (phosphatase, peroxydase) et de favoriser le développement de la flore lactique spécifique par la formation d'acide formique et d'autres facteurs de croissance (JEANTET *al.*, 2008);
- ✓ La dénaturation de la β -globuline qui en se fixant sur la caséine κ de la surface des micelles, participera à la formation d'un gel ferme et sans synérèse (DAVIES et *al.*, 1978) ;
- ✓ De modifier les équilibres salins qui vont avoir pour effet l'augmentation de la taille des micelles et ainsi de la quantité d'eau liée (LOONES, 1994).

Le couple température/temps utilisé, est généralement supérieur à 90°C pendant 3 min (LOONES, 1994).

Homogénéisation :

Ce traitement est pratiqué dans le cas des laits gras, l'homogénéisation en réduisant la taille des globules gras et en générant une interface de nature protéiques évite la remontée et la coalescence de la matière grasse pendant la gélification, limite la synérèse en améliorant la rétention de l'eau et améliore la texture du produit fini (JEANTET *al.*, 2008).

I.7.2. Fermentation :

Ferments :

L'ensemencement d'une culture de *Lb. bulgaricus* et de *St. thermophilus* doit se faire à un taux assez élevé pour assurer une acidification correcte : il varie selon la vitalité des cultures entre 1 et 7%.

Ce sont des bactéries lactiques homofermentaires, microaérophiles et thermophiles dont la température optimale de développement se situe selon les auteurs de 37 à 46°C pour *St. thermophilus* et de 42 à 50°C pour *Lb. bulgaricus* (JEANTET *al.*, 2008).

Incubation :

Pour les yaourts fermes, le mélange lait/ ferments est soutiré et l'acidification se fait en pots. Pour les yaourts brassés, le lait est acidifié en cuve. Dans les deux cas, l'incubation est réalisée à des températures comprises entre 42 et 45 °C dure entre 2h 30 et 3h 30.

L'objectif de cette phase est d'atteindre une acidité de 70-80 °D dans le cas des yaourts étuvés et de 100-120°D dans le cas des yaourts brassés (JEANTET *al.*, 2008).

Arrêt de la fermentation :

Lorsque est l'acidité atteinte, on procède à un refroidissement rapide pour bloquer la fermentation. Dans le cas des yaourts étuvés, ce refroidissement est effectué soit dans des chambres froides fortement ventilées (le plus souvent), soit dans un tunnel (JEANTET *al.*, 2008).

Dans des yaourts brassés, un brassage est réalisé au préalable permettant d'améliorer l'onctuosité du produit et de réduire la synérèse (JEANTET *al.*, 2008).

I. 7.3. Conditionnement :

Les yaourts sont généralement conditionnés dans des pots en plastiques. Parfois, la machine de conditionnement assure à la fois la formation des pots à partir des films d'emballage et le remplissage des pots (LOUAILECHE, 1998).

I.7.4. Stockage :

Le produit fini est conservé au frais à une température comprise entre 2 et 8°C (LOUAILECHE, 1998).

Matériel et méthodes

Pour la réalisation de ce travail nous avons effectué un stage pratique au sein de la laiterie « Ramdy » d'une durée d'un mois et demie (du 1 février au 15 mars).

Pour cela nous avons prélevé 80 pots du même lot (40 pots ont été conservés à 6°C et 40 à 22°C).

II. Matériel et méthodes

Le suivi de l'évolution de la croissance des bactéries lactiques sur le taux de croissance est réalisé par des analyses physico-chimiques (suivi du pH et de l'acidité) et par le dénombrement des *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* durant 40 jours de stockage à 6°C et 22°C.

II.1. Analyses physico-chimiques du yaourt

Les analyses physico-chimiques d'un produit sont réalisées afin de garantir les caractéristiques nutritionnelles et organoleptiques de ce dernier (SCRIBAN, 1999).

Les protocoles d'analyses physico-chimiques suivis sont ceux de l'entreprise

II.1.1. Mesure et suivi du pH

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

Le pH a été mesuré avec des sondes de pH mètres électroniques « HANNA » (figure 3)



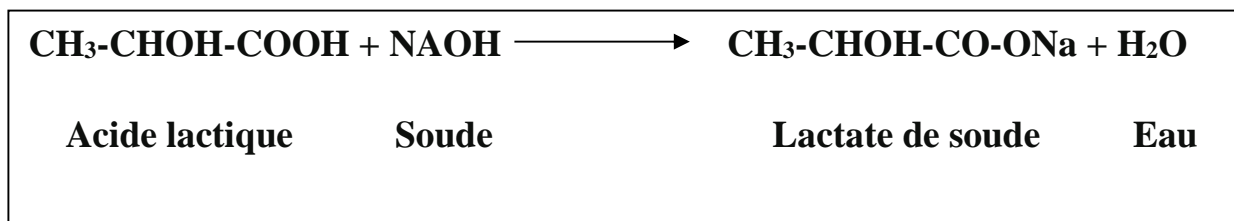
Figure 03 : pH-mètre « HANNA ».

Après étalonnage dans des solutions tampons pH7 et pH4, l'électrode du pH-mètre est plongée dans le pot du yaourt. La valeur du pH est obtenue par simple lecture sur l'écran du pH-mètre.

II.1.2. Mesure et suivi de l'acidité Dornic :

L'acidité Dornic du yaourt est exprimée en degré Dornic où $1^{\circ}\text{D} = 0,1 \text{ g d'acide lactique par litre}$. Pour un yaourt le degré Dornic doit être de 80°D à 100°D et pour le lait il doit être inférieur à 22°D .

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



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

Pour cela, 10g de l'échantillon est placé dans un bécher additionné de 10ml d'eau distillée puis mélangé, puis ajouté 2 à 3 gouttes de phénolphthaléine et par la suite titré avec la solution de NaOH à N/9 est placée dans une burette jusqu'au virage de la coloration au rose correspondant à la zone d'équivalence. Le volume de NaOH ainsi obtenu est noté en ml puis les résultats sont exprimés selon le calcul suivant :

$$\text{°D} = \text{V} \times 0,9 \times 10$$

°D : acidité en acide dornic.

V : volume de soude.

L'acidité dornic a été mesurée pour un pot de yaourt conservé à 6°C et à 22°C .

II.1.3. Suivi et mesure de la synérèse

La synérèse du yaourt est mesurée à l'aide d'une balance électronique, d'abord on verse le lactosérum d'un pot du yaourt dans une fiole après on le pèse sur une balance électronique.

II.2. Analyse microbiologiques

Il s'agit de dénombrer la flore lactique qui est constituée de deux espèces, *St. thermophilus* et *Lb. bulgaricus* dans des yaourts aromatisés stockés à 6°C et à 22°C.

II. 2.1. Préparation des milieux de culture

Milieu MRS (CONDA prodinisa)

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

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

Milieu M17 (OXOID) :

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

Pour la préparation de cette gélose, 48,25 g de milieu de culture déshydraté ont été dissous dans 1L de l'eau distillée puis le mélange est porté à l'ébullition lentement en agitant jusqu'à dissolution complète Par la suite le milieu est reparti à raison de 250ml par flacons puis autoclavé à 120°C pendant 20 minutes, avant l'ensemencement 10,5ml de lactose stérile sont ajoutés aseptiquement dans le milieu de culture.

II. 2.2. Préparation de la suspension mère et des dilutions décimales

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

✚ Préparation de la solution mère :

Après avoir mélangé soigneusement le contenu du pot de yaourt 10g de l'échantillon a été pesé aseptiquement, et introduit dans un flacon stérile préalablement contenant 90 ml de la solution Ringer stérile. L'homogénéisation a été réalisée manuellement. On obtient ainsi la dilution au 1/10.

✚ Préparation des dilutions décimales :

Un millilitre de la solution mère est prélevé aseptiquement à l'aide d'une pipette gradué stérile et introduit dans un tube à essai contenant 9 ml de la solution Ringer (cette opération est poursuivie jusqu'à la dilution 10^{-8}).

- ✓ Chaque dilution est agitée pendant 10 secondes sur un appareil vibreur (Bosco).

II. 2.3. Dénombrement de la flore lactique:

Un volume d'un ml des trois dernières dilutions ($10^{-6}, 10^{-7}, 10^{-8}$) effectuées, à fait l'objet d'un ensemencement en masse dans la gélose M17 et en double couche sur gélose MRS à raison de deux boites par dilution qui seront ensuite incubée à 37°C pendant 48 et 72 heures respectivement.

Les lactobacilles sont généralement des microaérophiles, leur incubation en anaérobiose a été assurée par la mise des boites de Pétri dans une jarre pour culture anaérobie.

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

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

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

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

N_1 : nombre de boîtes retenues à la première dilution ;

N_2 : nombre de boîtes retenues à la deuxième dilution ;

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

Résultats et discussion

III.1. Suivi des paramètres physico-chimiques

Le suivi est porté sur l'étude de l'influence de la température de conservation sur le pH et l'acidité au cours de la maturation et du stockage à 6°C et à 22°C.

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

III.1.1. Suivi du pH au cours de la maturation

Après conditionnement, le yaourt est stocké à 45°C dans des chambres chaudes. Cette température correspond à l'optimum de développement symbiotique des bactéries lactiques (LONNES, 1994).

La figure (03) présente les résultats du suivi du pH du yaourt au cours de la maturation. Lorsque le pH atteint une valeur comprise entre 4,6 et 4,5, un refroidissement rapide est appliqué afin de stopper la fermentation.

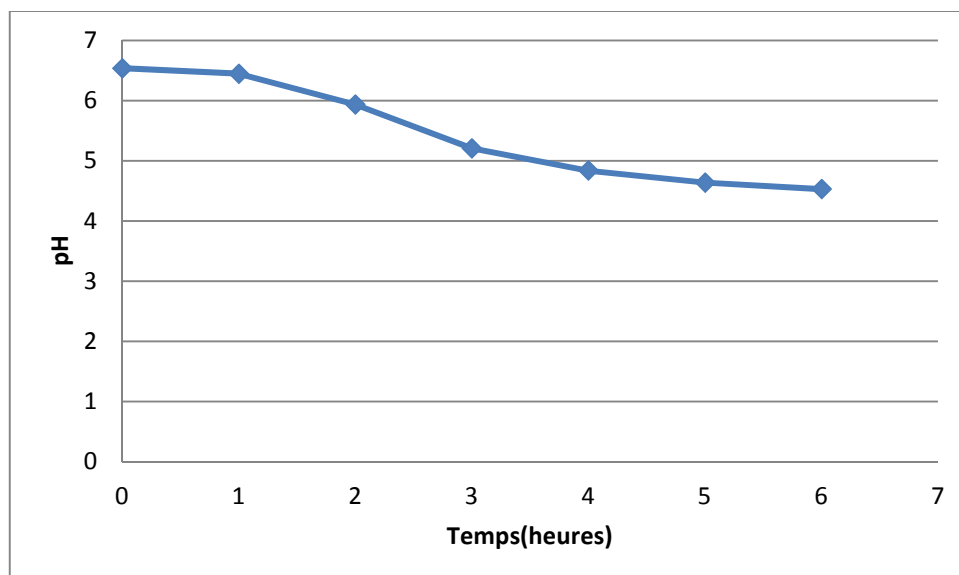


Figure 03 : Evolution de pH au cours de la maturation du yaourt étuvé aromatisé.

Les résultats obtenus montrent que le pH diminue progressivement pour passer de 6,54 à 4,53 au bout de 6 heures, Cette diminution est due à la production progressive de l'acide lactique à partir du lactose présent dans le lait par l'action des bactéries lactiques en libérant des H⁺ lors de la transformation du pyruvate en acide lactique (SCHMIDT et *a.*, 1994).

III.1.2 Suivi du pH et de l'acidité Dornic du yaourt pendant le stockage

Les valeurs du pH et de l'acidité enregistrés pour le yaourt conservé à 6°C et à 22°C sont illustrées sur les figures (04) et (05) :

➤ Suivi de l'acidité Dornic

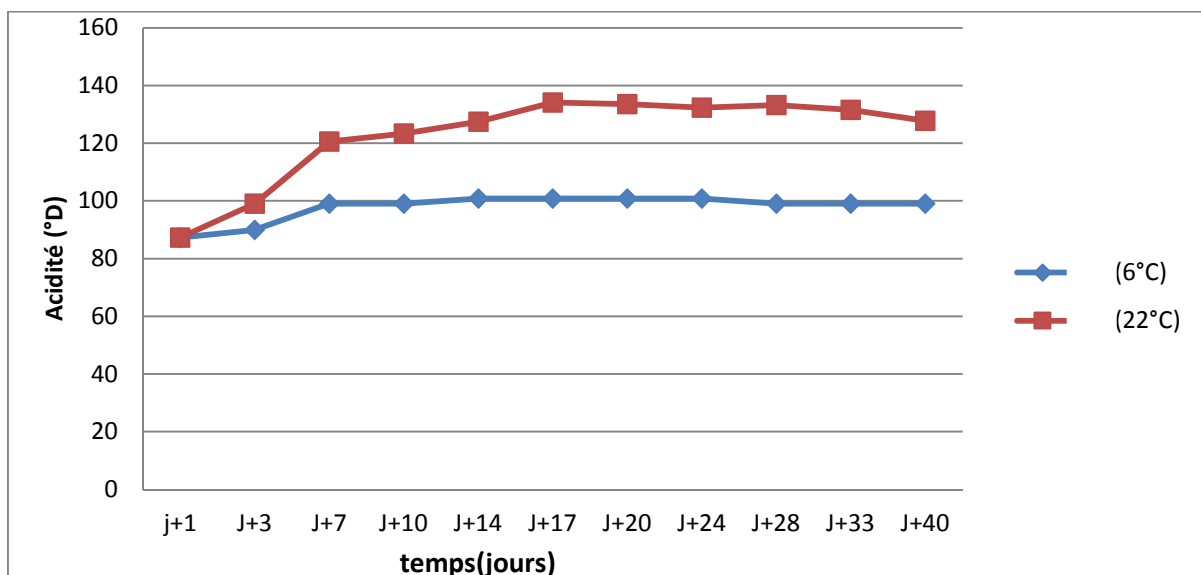


Figure 04 : Evolution de l'acidité Dornic au cours de stockage à 6°C et à 22°C du yaourt étuvé aromatisé « Ramdy ».

La figure (05) montre que l'acidité du yaourt étuvé aromatisé conservé à 6°C augmente légèrement et ne s'éloigne pas trop de sa valeur initiale pendant les 40 jours de conservation. Contrairement à celui conservé à 22°C, l'acidité augmente rapidement durant la première semaine puis elle se stabilise. Ceci s'explique par le fait qu'à basse température, l'activité acidifiante des bactéries du yaourt est ralentie. Plus la température augmente et plus

elle se rapproche de la température optimale de croissance des bactéries du yaourt, plus ils produisent de l'acide lactique.

➤ Suivi du pH

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

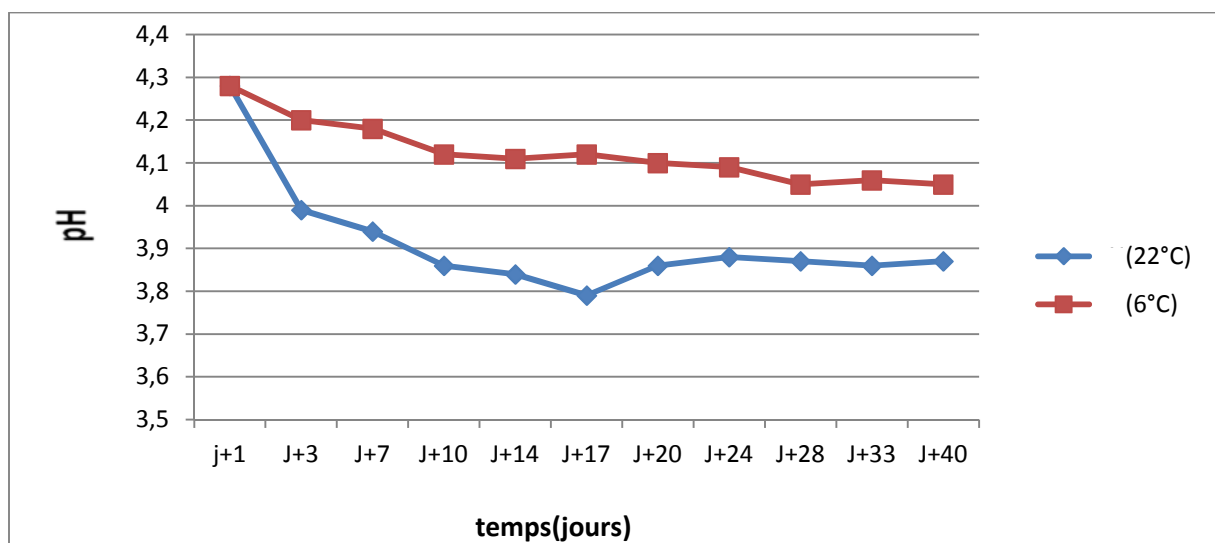


Figure 05 : Evolution de pH au cours du stockage à 6°C et à 22°C du yaourt étuvé aromatisé « Ramdy ».

Les résultats obtenus montrent qu'après 17 jours de stockage à 22°C, la diminution du pH est importante, Cette diminution est expliquée par l'accumulation d'acide lactique produite par les bactéries lactiques lors de la fermentation du lactose.

Après 10 jours de conservation à 6°C, la diminution du pH est faible cela est due à l'arrêt de la multiplication des bactéries lactiques du yaourt mais elles conservent néanmoins une activité métabolique en ralenti (LOONES, 1994).

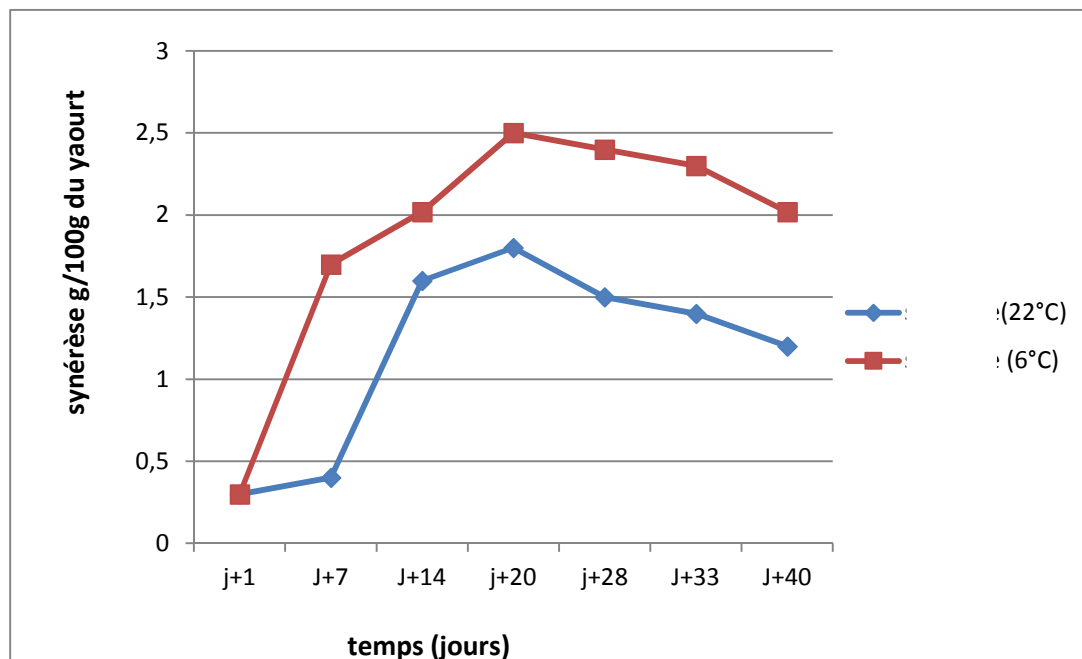
Le pH du yaourt conservé à 22 °C diminue plus rapidement que celui qui est conservé à 6°C ; à j+17 le pH du yaourt stocké à 22°C diminue de 4,24 à 3,79 alors qu'à 6°C il diminue de 4,24 à 4,12.

L'acidité Dornic évolue progressivement et inversement avec le pH durant toute la durée de stockage, d'autant plus rapidement que la température de conservation est élevée.

1.1.3 Le suivi de la synérèse

La synérèse, est définie comme étant la séparation du lactosérum du yaourt sans application d'une force extérieure, en particulier pendant le stockage (PENG et al., 2009).

Le sérum de séparation qui se forme dans un produit laitier fermenté est dû à l'agrégation et à la sédimentation des particules de caséines durant le stockage (TOWLER, 1998).



Figure(06) : Evolution de la synérèse pendant le stockage à 6°C et à 22°C.

La figure montre les changements du taux de la synérèse mesuré durant 40 jours de stockage à 22°C et à 6°C. Le taux de la synérèse du yaourt augmente jusqu'à 2,5g/100g de yaourt et 1,8g/ 100g de yaourt conserve à 6°C et à 22°C respectivement, cependant,

nous avons noté une diminution remarquable du volume du lactosérum séparé au 20^{ème} jour du yaourt stocké à 6°C avec 2,02g/g de yaourt et 1,2 pour le yaourt conservé à 22°C.

D'une manière générale on remarque que la synérèse mesurée à 6°C est plus grande que celle qui est mesurée à 22°C.

Dans une étude réalisée par Olson et Aryana (2008), le sérum évacué pendant les deux premières semaines de stockage atteint 23,5 -24,5 ml/100g du yaourt, ces résultats sont largement supérieurs à ceux trouvés dans notre étude.

L'addition de sucre augmente la force du gel, augmente la température de gélification et diminue la synérèse (CHRISTENSEN, 1986).

D'autre part, la synérèse fournit une indication de la non-homogénéité dans le gel du yaourt, ainsi, une séparation plus élevée de lactosérum est liée à l'instabilité du gel qui est également liée au pH du yaourt (LUCEY et SINGH, 1998). En effet, lors de l'homogénéisation du lait, les caséines et les protéines du lactosérum forment une nouvelle couche extérieure sur la surface des globules gras, qui augmente le nombre de groupements participant à la structure du yaourt (WALSTRA, 1998).

Ces résultats suggèrent que l'augmentation de la température contribue à la rétention d'eau au niveau du gel du yaourt.

III.2 Suivi des paramètres microbiologiques

Les figures (07) et (08) présentent l'évolution de la flore lactique du yaourt étuvé aromatisé « Ramdy » durant le stockage à 6°C et à 22°C respectivement :

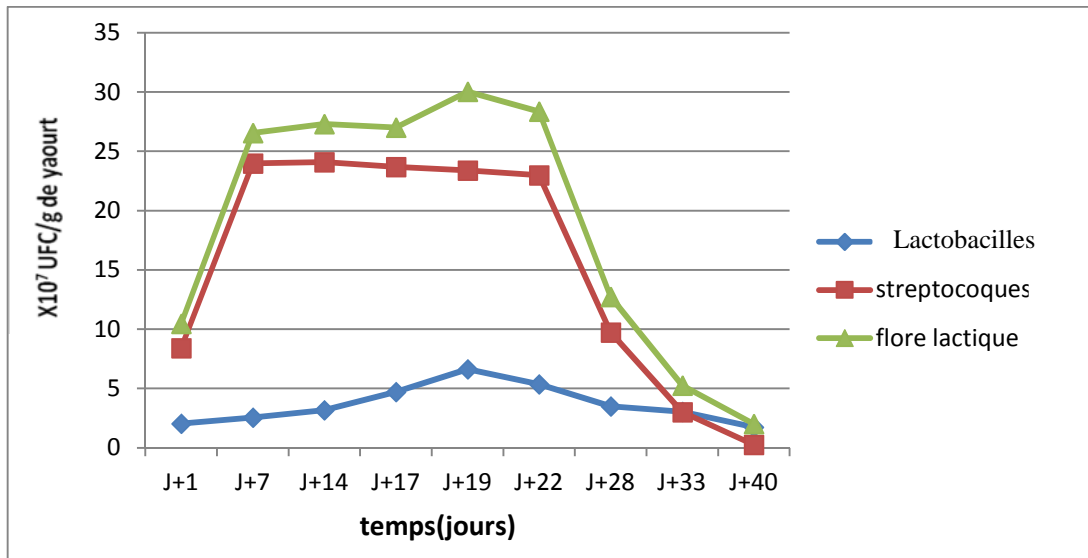


Figure (07) : Evolution de la flore lactique du yaourt étuvé aromatisé « Ramdy » conservé 40 jours à 6°C.

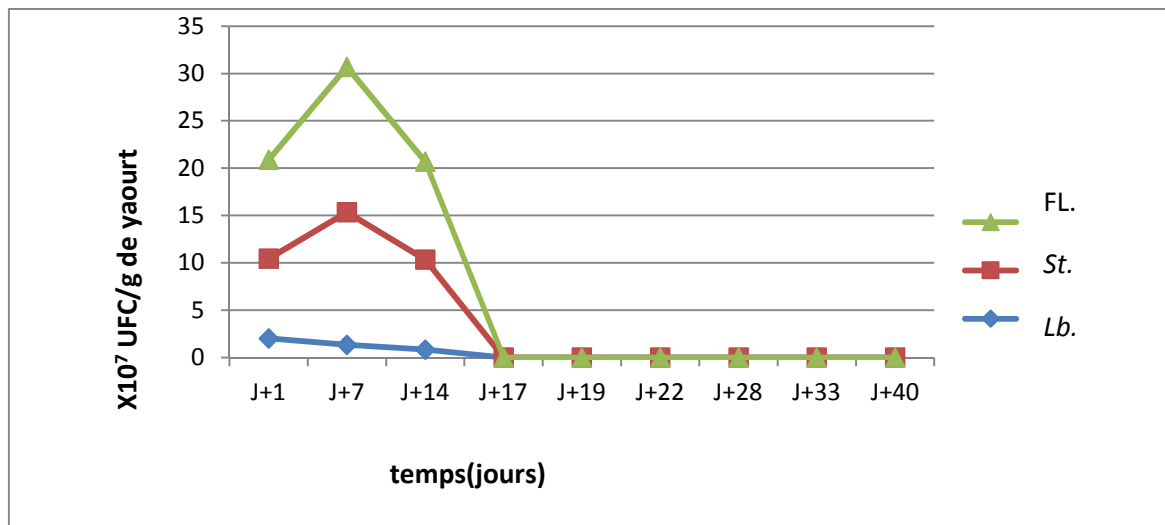


Figure (08) : Evolution de la flore lactique de yaourt étuvé aromatisé « Ramdy » conservé 40 jours à 22°C.

D'après les résultats, le taux de croissance de *St. thermophilus* atteint son maximum ($24,1 \times 10^7$ UFC/g de yaourt) à J+14, puis se stabilise durant une dizaine de jour pour ensuite diminuer jusqu'à $2,5 \times 10^6$ UFC/g de yaourt à la DLC+10 jour de conservation à 6°C, alors que celle de *Lb. bulgaricus* atteint son maximum ($6,63 \times 10^7$ UFC/g de yaourt) à J+19 pour ensuite diminuer jusqu'à $1,75 \times 10^7$ UFC/g de yaourt à la DLC+10 jour de conservation. Cette différence est due à la synergie entre les deux espèces. Au début de la fermentation, c'est le

St. thermophilus qui se développe plus rapidement et produit différents acides, et une très faible quantité de CO₂. L'abaissement progressif du pH et la présence de ces substances vont activer doucement la croissance du lactobacille qui est plus acidophile (ALAIN. et al., 2007).

A J+7 le taux de *St. thermophilus* atteint une valeur proche à son maximum (24×10^7 UFC/g de yaourt) par contre les Lactobacilles sont entrain de croitre ceci est expliqué par l'inhibition des Streptocoques qui sont beaucoup plus sensible au pH que les lactobacilles et sa croissance va être progressivement inhibé par l'acidité du milieu. On parle alors d'amensalisme, le streptocoque est amensale du Lactobacilles, ce qui veut dire que cette interaction n'apport rien au second alors que le premier est inhibé (ALAIN. et al., 2007) (figure 08). Ce qui explique le taux inférieur des streptocoques par rapport aux Lactobacilles à la fin du suivi.

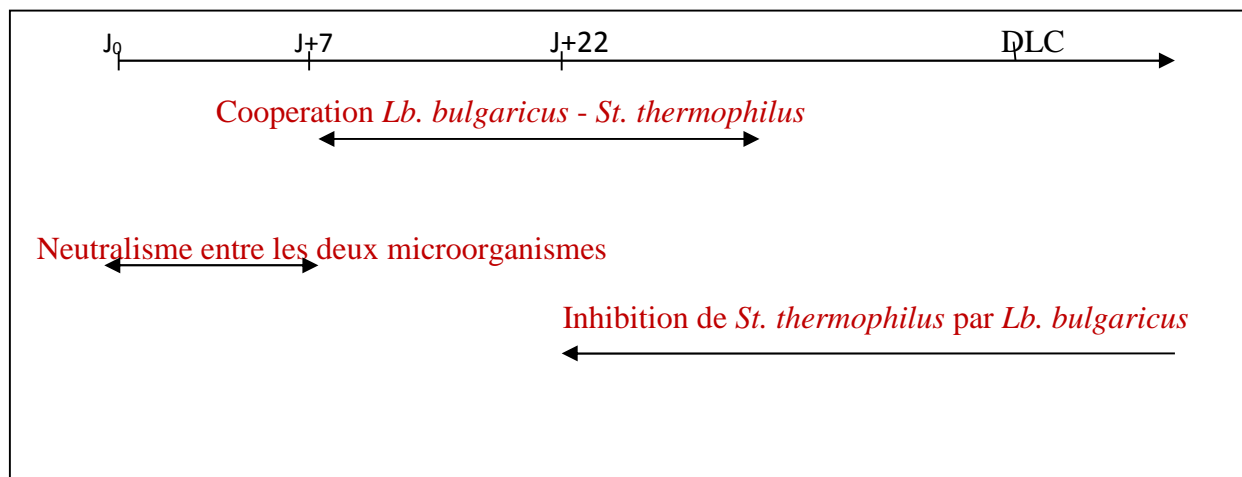


Figure (09) : Succession des interactions entre les bactéries lactiques du yaourt

A 6°C, le nombre de bactéries lactiques augmente pour atteindre son maximum au 19^{ème} jour puis diminue jusqu'atteindre 2×10^7 UFC/ g de yaourt après 40 jours de conservation.

A 22°C, le nombre de cellules viables décroît brutalement dès les premiers jours de conservation. Cette chute s'explique par l'augmentation plus rapide du degré d'acidité à 22°C qu'à 6°C. En effet, Lusian et ses collaborateurs en 1974 ont constaté qu'un yaourt conservé à 5°C modifié peu la flore lactique pendant les 30 jours de conservation, en revanche une température plus élevée entraîne une baisse plus marquée de *Lb.bulgaricus* et de *St. thermophilus*.

La diminution du nombre des cellules viables lors du stockage à 6°C a été expliquée par plusieurs auteurs, LANKAPUTHRA et al.(1996b) ont démontré que l'acidité, le pH et le Peroxyde d'hydrogène ont un effet pendant la fabrication et le stockage de yaourt. Une production en ralenti qui engendre un arrêt progressif de la croissance des bactéries lactiques (SCHMIDT et al.,1994). La présence des substances inhibitrices produites par les bactéries lactiques tels que les bactériocines (JUILLARD et al.,1987). D'autres facteurs, tels que la température de stockage, et les différentes concentrations d'acide lactique, sont présumés des facteurs qui affectent la viabilité des microorganismes du yaourt. De ce fait, quand le yaourt est conservé dans des conditions inadéquates, les ferments lactiques tendent à augmenter leur développement ce qui augmente l'acidité et par conséquent provoquent l'auto-inhibition (TAMINE et ROBINSON, 2007).

Les résultats obtenus montrent que le yaourt conservé à 6°C présente encore un nombre considérable de ferments lactiques après 10 jours de la DLC. En effet, Lusiani et ses collaborateurs (1974), ont trouvé que dans un yaourt aromatisé conservé à 5°C un nombre supérieur à 10^7 de ferments lactiques à 40 jours de conservation

La réglementation Algérienne exige une concentration totale de bactéries lactiques d'au moins 10^7 UFC/g. En effet, selon l'arrêté interministériel du 16 *Joumada Ethania* 1419 correspondant au 7 octobre 1998 relatif aux spécifications techniques des yaourts et aux modalités de leur mise à la consommation : « *Les bactéries lactiques thermophiles spécifiques doivent êtreensemencées simultanément et se trouver vivantes dans le produit fini à raison d'au moins 10 millions de bactéries par gramme rapportées à la partie lactée.* » Nous déduisons alors que le yaourt étuvé aromatisé « Ramdy » est conforme à la réglementation Algérienne.

Par ailleurs des concentrations de 10^8 et 10^9 UFC/g de produit, à la fin de sa durée de conservation, ont été recommandées pour compenser la perte de viabilité qui a lieu lors du passage dans le tractus gastro-intestinal (VERSALOVIC et WILSON, 2008).

D'après les résultats, le taux de *St. thermophilus* est supérieur à celui de *Lb. bulgaricus* dans le produit fini. En effet d'après les données de la littérature, les proportions individuelles des différents ferments lactiques dans le produit fini ne sont pas identiques à leurs proportions initiales, le nombre du *St. thermophilus* est plus élevé que celui de *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus*. En effet, Bielecka et Majkowska (1998), ont trouvé dans un

yaourt nature $1,4 \times 10^9$ UFC de *St. thermophilus* /g et $9,9 \times 10^8$ UFC de *Lb. bulgaricus* /g, malgré le fait que le lait était inoculé par une proportion identique de ces bactéries.

Conclusion

La flore lactique du yaourt est à l'origine des processus de transformation conditionnant la texture, la flaveur et la qualité du produit fini. L'évolution et la viabilité de cette flore sont très influencées par les conditions de la fermentation et du stockage.

Ce travail avait pour objectif de réaliser un suivi de cette flore et des paramètres physico-chimiques au cours du stockage à 6 et à 22°C d'un yaourt étuvé aromatisé, et en parallèle voir l'effet de la température de conservation sur les paramètres physico-chimiques et microbiologiques du yaourt, ainsi qu'une vérification de la possibilité de pousser la DLC de 10 jours.

D'après les résultats des analyses physico-chimiques, le pH diminue proportionnellement au temps au cours de la maturation et du stockage, l'acidité Dornic évolue progressivement et inversement au pH avec une vitesse plus importante dans le yaourt conservé à 22°C.

Le suivi de la flore lactique montre une chute brutale des deux espèces (*St. thermophilus* et *Lb. bulgaricus*) dès les premiers jours de conservation à 22°C, par contre à 6°C les deux espèces continuent de croître pendant les premières semaines de conservation pour ensuite diminuer tout en gardant le taux de la flore lactique dans la norme de la réglementation Algérienne.

Etant admis qu'une des caractéristiques principales d'un bon yaourt est représentée par la présence d'une flore lactique acidifiante abondante, on peut conclure que même après 30 jours de conservation à 6°C le produit maintient encore favorable ses propriétés biologique. Les résultats obtenus montrent clairement qu'un yaourt fabriqué selon les règles normales et conservé au froid (6°C) contient encore un nombre considérable de ferment vivant même après 10 jours de la DLC (pourvu que la chaîne de froid soit maintenue). Néanmoins, des études plus approfondies peuvent être réalisées afin de vérifier les résultats obtenus concernant la possibilité de pousser la DLC de 10 jours.

A, B

- ACCOLAS J.P. et AUCLAIR J. (1983)**. Thermophilic lactic starters. *Ir. J. Food Sci. Technol.*, **7**: 27-38.
- ALAIN B., MARI-MADELEINE R., SEBASTIEN R. (2007)**. Microbiochimie et alimentation. Ed. *Educagri*. Paris, pp 91-96.
- BIELECKA M. et MAJKOWSKA A., (1998)**. Survival of synergistic sets of *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* cultures during spray drying of yogurt. *Polish Journal of Food and Nutrition Science*, **48**, 267-274.
- BILLS D.D., YANG C.S., MORGAN M.E., BODYFELT F.W. (1972)**. Effect of sucrose on the production of acetaldehyde and acids by yogurt culture bacteria. *Dairy science*, **55**, 1570.
- BOTTAZZI V., (1988)**. An introduction to rodshaped lactic-acid. *Biochimie*, **70**: 303- 315.
- BOUILLANE C., DESMAZEAUD M.J. (1980)**. Les levains lactiques thermophiles : propriétés et comportement en technologie laitière. *Le lait*, **60** 598, 458.
- BRACQUARD P. (1985)**. Thèse Université Nancy I. *In* : Bactéries lactiques Vol. II, De Roissart H., Luquet F.M. Ed. *Lorica*. Paris.146p.

C, D

- CERNING J., BOUILLANE C., DESMAZEAUD M., LANDON M. (1986)**. Isolation and characterization of exocellular polysaccharide produced by *Lactobacillus bulgaricus*. *Biotechnol. Letters*, **9**, 625.
- CHRISTENSEN, S. H (1986)** Pectins. *In* "Food Hydrocolloids III" (M.GLCKSMAN, ed) *CRC Press*, Boca Raton, Florida pp. 205-203.
- COGAN T.M. (1972)**. Applied Microbiology, **23**, 960. *In* : Bactéries lactiques Vol. II, De Roissart H., Luquet F.M. Ed. *Lorica*. Paris. 146p.
- **DAVE R.I., SHAH N.P., (1997)**. Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. *International Dairy Journal*, **17**, 31-41.

- DAVIES F.L., SHANKAR P.A., BROOKER B.E., HOBBS D.S (1978)**. A heat-induced of milk and its effect on gel formation in yoghurt. *J. of Dairy. Res.* **45**, 53.
- DE FELIP G., CROCI L., GIZZARELLI S. (1977)**. Igièna Moderna, **70**, 288. In : Bactéries lactiques Vol. II, De Roissart H., Luquet F.M. Ed. *Loric*, Paris. 152p.
- DELLAGIO F., DE ROSSART H., TORRIANIS S., CURIK M., JANSSENS D. (1994)**. Caractérisation générale des bactéries lactique. In. Bactéries lactiques Vol. I, De Roissart H., Luquet F.M. Ed. *Lorica*. Paris, pp 25-60.
- DESMAZEAUD M., HERMIER J.H. (1972)**. Isolement et détermination de la composition qualitative des peptides issus de la caséine, stimulant la croissance de *Streptococcus thermophilus*. *Eur. J. Biochem.*, **28** : 190-198.
- DRIESSEN F. (1981)**. in Mixed Culture Fermented. In. Les produits laitiers 2^{ème} ed., Jeantet R., Croguenec T., Mahaut M., Shuck P., Brule G. Ed. *Tec & Doc*. Paris.
- DRIESSEN F. M., KINGMA F., STADHOUDERS J. (1982)**. Evidence that *Lactobacillus bulgaricus* in yogurt is stimulated by carbon dioxide produced by *Streptococcus thermophilus*. *Neth. Milk Dairy J.*, **22**: 135-144.

F, G

- FAO(1975)**. Norme FAO pour les laits fermentés. Source :
<http://www.fao.org/docrep/t4280f/T4280F0d.htm>
- FARROW J.A.E., COLLINS M.D (1984)**. DNA base composition, DNA/DNA homology and long –chain fatty acid studies on *Streptococcus thermophilus* and *Streptococcus salivarius*. *J. Gen. Microbiol.*
- GARVIE E.I. (1984)**. Taxonomy and identification of bacteria important in cheese and fermented dairy products. In : Microbiologie industrielle: Les micro-organismes d'intérêt industriel, Leveau J.Y., Boux M. Ed. *Tec & Doc*, Paris. 175p.

H, I

- HAMANN W.T., MARTH E.H. (1984). *J. Food Protection*, **45**, 781. In : Bactéries lactiques Vol II, De Roissart H., Luquet F.M. Ed. *Lorica*, Paris.152p.
- HARDIE J.M., (1986b). Other Streptococci. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 2, 1068-1071, Williams, Wilkins, Baltimore. In : Microbiologie industrielle: Les micro-organismes d'intérêt industriel, Leveau J.Y., Boux M. Ed. *Tec & Doc*, Paris.175p.
- HARTLELY D., DUONG C., DAVID P., FAZEL A. (1989). Les Laits fermentés, Actualités de la recherche. In : Bactéries lactiques Vol. II, De Roissart H., Luquet F.M. Ed. *Lorica*, Paris. 147p.
- JEANTET R., CROGUENEC T., MAHAUT M., SHUCK P., BRULE G. (2008). Les produits laitiers 2^{ème} ed. Ed. *Tec & Doc*. Paris. pp. 22-32.

K, L

- LANKAPUTHRA W. E. V., SHAH N. P., BRITZ M. L., (1996b). Survival of bitidobacteria during refrigerated storage in the presence of acid and hydrogen peroxide. *Milchwissenschaft*, **51**, 65-70.
- LARPENT J., (1997). Microbiologie alimentaire : Technique de laboratoire. Ed. *Tec & Doc*, Paris. pp. 330 -345.
- LOONES A., (1994). Laits fermentés par les bactéries lactiques. In : Bactéries lactiques. Vol II. De Roissart, H. et Luquet, F. M., *Lorica*, Paris, France. pp. 37 -151.
- LOUIALECHE H. (1998). Lait et Laits fermentés. Ed. Centre Universitaire Abderrahmane MIRA-BEJAIA Institut des Sciences de la Nature. 17p.
- LUCEY J.A., SINGH H., (1998). Formation and physical properties of acid milk gels. *Food Research*, **30**, 529-542.

-LUSIANI G., SALVADORI P., BIANCHI-SALVADORI B. (1974). Evaluations microbiologiques sur le yaourt en rapport avec les temps et les températures de conservation. *Le Lait*, INRA Editions, 54(531-532), pp.53-59.

M, O

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

-MARSHALL VM., COLE W.M. (1983). Threonine aldolase and alcohol dehydrogenase activities in *Lb. blgaricus* and *Lb. bulgaricus* and their contribution to flavor production in fermented milks. *J.Dairy Res.*50 (3),375.

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

-OLSON D.W. et ARYANA K.J., (2008). An excessively high *Lactobacillus acidophilus* inoculation level in yogurt lowers product quality during storage. *LWT - Food Science and Technology*, **41**, 911-918.

-OTTOGALLI G., RONDINI G., (1974). Revue Générale du Froid, **5**, 443. . In : Bactéries lactiques Vol. II, De Roissart H., Luquet F.M. Ed. *Lorica*, Paris. 152p.

P, R

-PELLETIER J-F., FAURIE J-M., FRANÇOIS A. (2007). Lait fermenté : La technologie au service du gout. In cahier de Nutrition et de Dietetique, Vol. 42, Issue 2,18-05-2007. pp 2-15.

-PENG Y., SERRA M., HORNE D. S. et LUCEY J. A., (2009). Effect of fortification with various types of milk protein on the rheological properties and permeability of nonfat set yogurt. *Journal of Food Science*, **74**, 666-673.

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

-RADKE-MITCHELL L., SANDINE W.E. (1986). Influence of temperature on Associative Growth of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*. *J. Dairy Science*, **69**, 2558.

-REINES D. (1984). Bulletin de la FIL, **179**, 93.

-ROUSSEL Y., PEBAY M., GUEDON G., SIMONET J.P., DECARISN B. (1994). Physical and genetic map of *Streptococcus thermophilus* A054. *J. of Bacteriology*. **176** (24), 7413-7422.

-ROUSSEAU M. (2005). La fabrication du yaourt, les connaissances. INRA. 9p.

S, T

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

-SPECK M. L., GEOFFRION J.M. W. (1980). Lactase and Starter Culture Survival in Heated and Frozen Yogurts. *J. Food Protection*, **43**, 26.

-TAMINE A.Y., DEETH H.C. (1980). Yoghurt: Technology biochemistry. *J. of Food Protection*, **43**, 12, 939-977.

-TAMIME A.Y., ROBINSON R.K., (2007). Tamime and Robinson's Yoghurt, Science and Technology, 3rd Edition. *Cambridge Woodhead Publishing*, England. pp. 608-650.

-TINSON W., BROOME M. C., HILLIER A. J., JAGO G. R. (1982b). Metabolism of *Streptococcus thermophilus*. 2. Production of CO₂ and NH₃ from urea. *Aust. J. Dairy Technol.*, **37**: 14-16.

TOWLER C., (1998). Sedimentation in a cultured milk beverage. *Journal of Dairy Science and Technology*, **19**, 205-211.

V

-**VERINGA H. A., GALESTLOOT T. E., DAVELAAR H. (1968)**. Symbiosis in yoghurt (II) Isolation and identification of a growth factor for *Lactobacillus bulgaricus* produced by *Streptococcus thermophilus*. *Netherland Dairy Journal*, In : Bactéries lactiques et probiotiques, Luquet F-M. et Corrieu G. Ed. *Toc & Dec*, Paris. 307p.

- **VERSALOVIC M., WILSON T., (2008)**. Therapeutic Microbiology: Probiotics and Related Strategies. ASM Press 420.

W

-**WALSTRA P., (1998)**. Relationship between structure and texture of cultured milk products. Texture of Fermented Milk Products and Dairy Desserts, *International Dairy Federation*. Brussels.



Annexes

Historique

La S.A.R.L. Ramdy Ex (laiterie **Djurdjura**) a été créée le 01/01/1983. Elle s'est spécialisée dans la production des yaourts, crèmes desserts, fromages frais et fondus. Le 15 Octobre 2001, le groupe français **Danone** s'est associé avec la laiterie **Djurdjura** pour les activités yaourts, pâtes fraîches et desserts. Depuis, l'activité de la laiterie **Djurdjura** s'est consacrée à la production des fromages fondus, aux pâtes molles (camembert) et au lait pasteurisé.

Deux années plus tard, elle s'est implantée dans une nouvelle unité située en plein cœur de la zone industrielle **Taharacht** (Akbou) triplant, ainsi, sa capacité de production en fromages fondus.

Dans le souci de répondre à une demande croissante du consommateur, la laiterie s'est équipée d'un matériel hautement performant dont une nouvelle conditionneuse de 220 portions /mn et une ligne complète du fromage en blocs (barres). En Juin 2004, la S.A.R.L. laiterie **Djurdjura** a changé de raison sociale pour devenir S.A.R.L.Ramdy.

Aujourd'hui, les produits laitiers **Djurdjura** s'affichent sous la nouvelle dénomination « Ramdy »

En Octobre 2009, la S.A.R.L. Ramdy a repris la production de yaourts et de crèmes desserts.

Pour une surveillance constante de la qualité du produit et pour une protection optimale du consommateur, la S.A.R.L. Ramdy s'est équipée d'un laboratoire d'autocontrôle afin d'effectuer toutes les analyses physico-chimiques et microbiologiques exigées. Des techniciens qualifiés veillent, sans relâche, au respect des conditions d'hygiène et au maintien de la qualité du produit.

Situation géographique

L'unité laitière industriel « S.A.R.L Ramdy » est situé dans la zone industrielle de Taharacht d' Akbou à 200 m de RN26, sur le chemin qui relie la commune d'Akbou à celle d'Amalou, qui se trouve à 60Km de Bejaia et à 170 Km à l'est de la capitale d'Alger.

Moyen

➤ **Infrastructures**

L'entreprise dispose d'un complexe intégré composé de deux(02) principaux départements de production « Atelier yaourt et crème dessert, Atelier fromage », et pour une surveillance de la qualité du produits et une protection optimale du consommateur, la SARL RAMDY s'est équipée d'un laboratoire d'autocontrôle afin d'effectuer toutes les analyses physico-chimiques et microbiologiques exigées.

➤ **Equipements :**

a. Production :

-Atelier yaourt et crème dessert :

Poudrage : Une salle de poudrage bien équipée.

- **Traitement** : un processus pour la production de yaourts, crème desserts et brassés.
- **Conditionnement** : deux(02) conditionneuses de 12 000 Pots/h. une de 9 000 Pots/h et une 216 000 Pots/h, 5 000 Pots/h et deux de 7 500 Pots/h.

-Atelier fromage :

- Une salle de préparation du produits, et une pour préparation des moules bien équipée.
- Deux cuissons (un pour fromage portions et l'autre pour le fromage barre).
- Trois machines de conditionnement du fromage portion et deux machines pour le fromage barre, une machine Banderoleuse et deux salles bien équipée pour la mise en cartons.

➤ **Activités :**

Les principaux produits fabriqués par l'entreprise sont les suivants :

-Yaourt aromatisé : yaourt fraise 100g, banane 100g, pêche 100g, fruits de bois 100g, multi packs rouge 100g, multi packs jaune 100g, multi packs vanille 100g, multi sens 80g, multi sens 75g, mono citron 80g, mono orange 80g.

-Yaourt nature 100g.

-Yaourt brassé aux fruits : fraise , abricot , pêche , fruits des bois.

-Crème dessert : flan nappé , caramel , chocolat , cookies , cappuccino.

-Fromage portions : 16 ramdy, 08 ramdy, 16 huile d'olive, 08 huile d'olive.

-Fromage barre : barre 1700g, barre 900g, barre 300g.

Organigramme de la SARL RAMDY

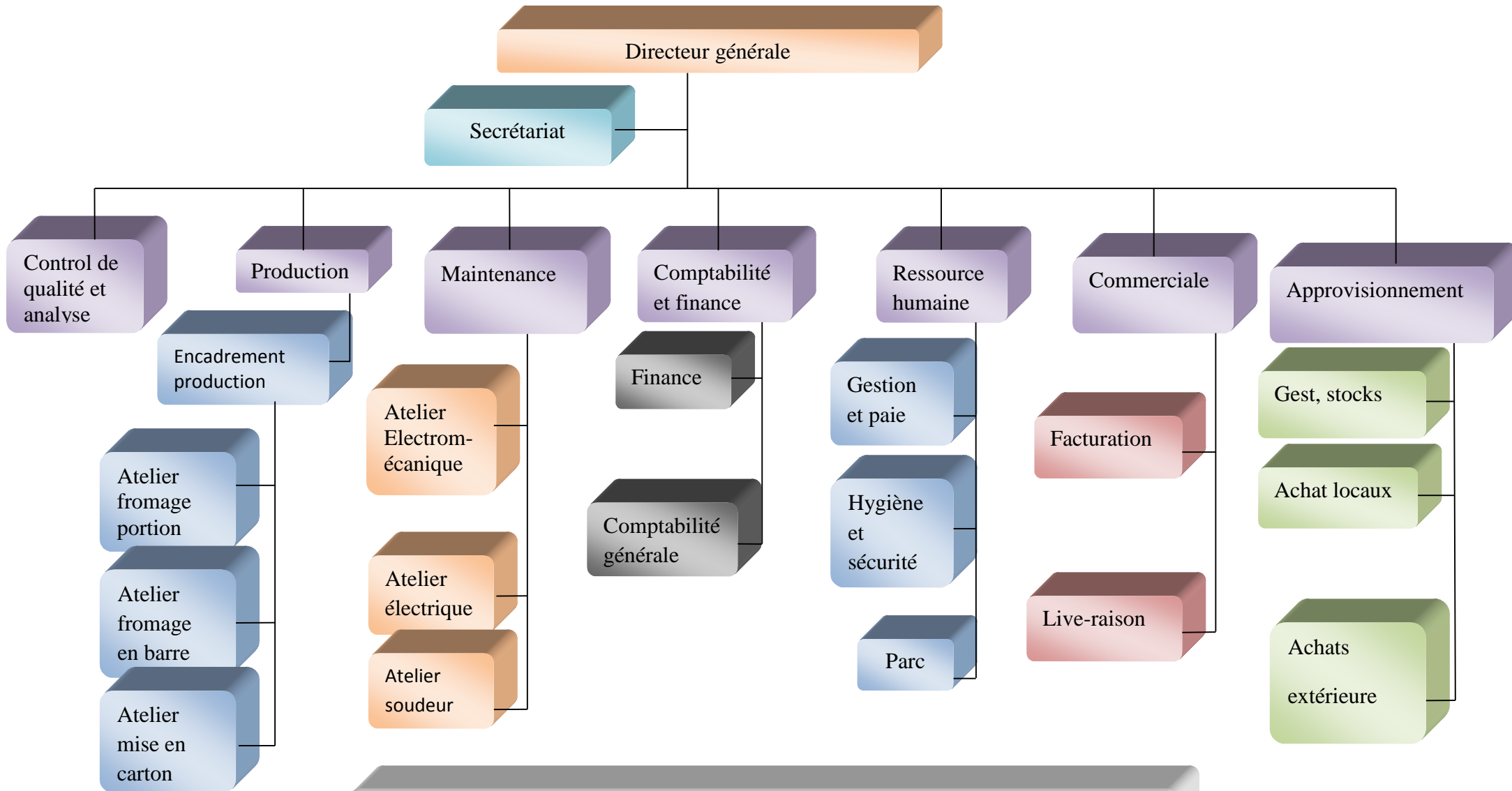


Figure 02: Organigramme de SARL RAMDY(2017).

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

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

Tableau I : Résultats du suivi du pH au cours de la maturation :

Temps (min)	0	60	120	180	240	300	380
pH	6,54	6,45	5,94	5,21	4,84	4,64	4,53

Tableau II : Résultats du suivi du pH et de l'acidité Dornic au cours de stockage dans 6°C

Temps (jour)	1	3	7	10	14	17	20	24	28	33	40
pH	4,28	4,2	4,18	4,12	4,11	4,12	4,1	4,09	4,05	4,06	4,05
Acidité (°D)	87,3	89,9	99	99	100,8	100,8	100,8	100,8	99	99	99

Tableau III : Résultats du suivi du pH et de l'acidité Dornic au cours de stockage dans 22°C.

Temps (jour)	1	3	7	10	14	17	20	24	28	33	40
pH	4,28	3,99	3,94	3,86	3,84	3,79	3,86	3,88	3,87	3,86	3,87
Acidité (°D)	87,3	99	120,6	123,3	127,4	134,1	133,5	132,3	133,2	131,5	127,8

Tableau IV : Résultats de l'évolution de la synérèse :

JOURS	J+1	J+7	J+14	J+20	J+28	J+33	J+40
Synérèse (6°C)	0	1,7	2,02	2,5	2,4	2 ,53	2,02
Synérèse (22°C)	0	0,4	1,6	1,46	1,5	1,4	1,6

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

Tableau V : Résultats de l'évolution de la croissance de *Lb. bulgaricus* et *St. thermophilus* sur les milieux MRS et M17 respectivement au cours du stockage du yaourt à 6°C.

Temps (Jours+)	Dénombrement de colonies (10⁷ UFC/ml)		
	<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus</i>	La flore lactique
1	8,41	2,04	10,45
7	24	2,54	26,54
14	24.1	3,18	25,18
17	23.7	4,72	27
19	23.4	6,63	29,73
22	23	5,36	27,69
28	9,72	3,50	12,72
33	3	3,04	5,24
40	0,25	1,75	2

Tableau VI : Résultats de l'évolution de la croissance de *Lb. bulgaricus* et *St. thermophilus* sur les milieux MRS et M17 respectivement au cours du stockage du yaourt à 22°C.

Temps (Jours+)	Dénombrement de colonies (10^7 UFC/ml)		
	<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus</i>	La flore lactique
1	8,4	2,04	10,44
7	14	1,35	15,35
14	0,84	9,51	10,35
17	0	0	0
19	0	0	0
22	0	0	0
28	0	0	0
33	0	0	0
40	0	0	0

Tableau I : la composition du milieu MRS

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

Tableau II : la composition du milieu M17

Composition	Gramme/litres
Trypton	5g
Peptone pepsique de viande	5g
Peptone papaïnique de soja	5g
Extrait de levure déshydraté	2.5g
Di-sodium-β-glycerophosphate	19g
Sulfate de magnésium 7 H ₂ O	0.25g
Acide ascorbique	0.50g
Agar	11 g
pH 6,9 ± 0,2	

Autoclavé à
120°C pendant
20 min

Tableau III : Composition de la solution Ringer :

Liquide Ringer	Sodium bicarbonate	0,1/31
	Sodium chloride	6,75/31
	Calcium chloride dihydrate	0,18/31
	Potassium chloride	0,33/31

fgf

1- Appareillage :

- **L'autoclave (Systec) :** pour stériliser (par la chaleur humide : 120°C/20 min) des équipements en verrerie ainsi que des milieux de culture.
- **Bain Marie :** Pour liquéfier les milieux de culture.
- **Balance de précision :** pour peser des ingrédients des milieux de culture et les sels de la solution Ringer.
- **Etuve (37°C) :** pour incuber les boîtes pétries ensemencées.
- **pH-mètre**
- **Plaque chauffantes agitrices :** faire agiter la solution ringer jusqu'à la dissolution complète des sels et les milieux de culture durant leur préparation jusqu'à l'ébullition.
- **Réfrigération :** pour conserver les milieux de culture et les réactifs.

2- verreries :

Béchers à différents volume, burettes, entonnoirs, erlenmayer, flacons en verre (250ml), pipettes (1, 2, 5,10ml), tubes à essai.

3- Réactifs et milieux de cultures :

Alcool, eau distillé, milieu MRS, milieu M17, solution NaOH (0.1N), Solution Ringer.

Tableau I: Teneur moyenne des composés du yaourt pour 100 gramme de produit
(JEANTET *al.*, 2008).

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

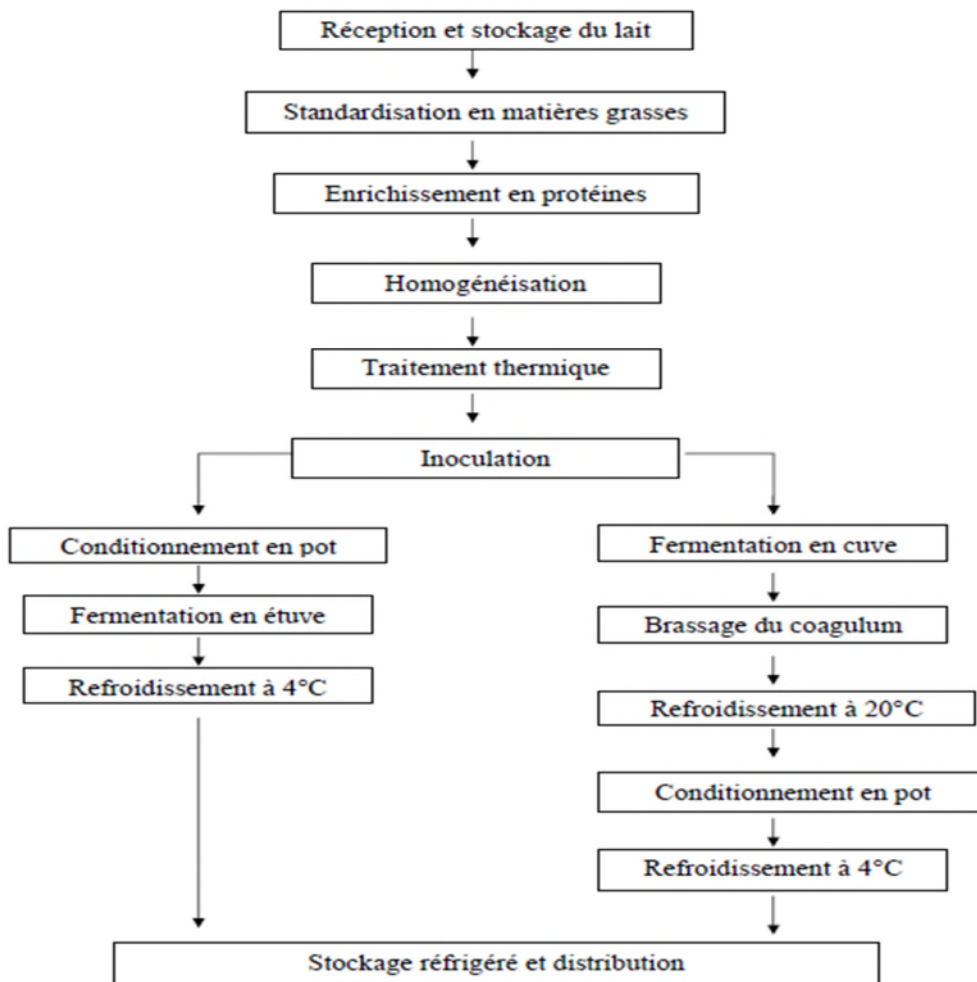


Figure 11: Diagramme de la fabrication du yaourt

Résumé

Ce travail avait pour but d'effectuer un suivi de la croissance de la flore lactique et des paramètres physico-chimiques d'un yaourt étuvé aromatisé « Ramdy » durant le stockage à 6°C et 22°C, en parallèle voir l'effet de la température de conservation sur les paramètres microbiologiques et physico-chimiques, ainsi qu'une vérification de la possibilité de pousser la DLC de 10 jours.

Le suivi de la flore lactique montre que le taux de croissance des deux espèces (*St. thermophilus* et *Lb. bulgaricus*) chute brutalement dès les premiers jours de conservation à 22°C, pendant qu'elles continuent encore de croître à 6°C durant les premières semaines de stockage, pour ensuite diminuer progressivement jusqu'à 10 jours après la DLC. Le pH diminue proportionnellement avec le temps au cours de la maturation, l'acidité Dornic évolue progressivement et inversement au pH d'autant plus rapidement que la température de conservation est élevée. Durant la post acidification, le pH et l'acidité présentent un effet inhibiteur sur la croissance de la flore lactique tout en gardant le taux de ces ferments conforme à la norme lors de la DLC et même après 10 jours pour le yaourt conservé à 6°C.

Les résultats montrent qu'un yaourt fabriqué dans de bonnes conditions et conservé au froid (6°C) sans rupture de la chaîne de froid assure un produit de bonne qualité qui contient encore un nombre considérable de ferments lactiques vivants même après 10 jours de DLC.

Mots clés : yaourt étuvé aromatisé, *St. thermophilus*, *Lb. bulgaricus*, flore lactique, suivi, température de conservation, DLC.

Abstract

the work aimed to monitor the growth of the lactic flora and the physico-chemical parameters of a "Ramdy" flavored steamed yogurt during storage at 6 ° C and 22 ° C, in parallel to see the effect of the storage temperature on the microbiological and physicochemical parameters, as well as a check on the possibility of pushing the DLC by 10 days.

Monitoring of the lactic flora shows that the growth rate of two species (*St. thermophilus* and *Lb. bulgaricus*) drops sharply from the first days of storage at 22 ° C, while they continue to grow at 6 ° C during The first weeks of storage, and then gradually decreased up to 10 days after the DLC. The pH decreases proportionally with time at maturity, Dornic acidity evolves gradually and vice versa at pH all the more quickly as the storage temperature is high. During post acidification pH and acidity have an inhibitory effect on the growth of the lactic flora while keeping the level of these ferments conforming to the standard during the DLC and even after 10 days for the yoghurt stored at 6 ° C.

The results show that yoghurt made in good condition and kept cold (6 ° C) without breaking the cold chain ensures a good quality product which still contains a considerable number of living lactic acid ferment even after 10 days of DLC.

Key words: flavored steamed yogurt, *St. thermophilus*, *Lb. bulgaricus*, lactic flora, monitoring, storage temperature, DLC.