

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun-Tiaret
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie (D04)

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté par :

-M^{elle} AOUNI FATIMA ZOHRA

-M^{elle} BENSFIA ZOHRA

-M^{elle} BOUKHALOUA NAWAL

Thème

Effet de la variation des proportions des bactéries lactiques (*Streptococcus* et
Lactobacillus) sur les qualités du yaourt

Soutenu publiquement le 29-06-2019

Jury:

Président: Mme MOULAY M

Encadreur: M. HADJSAID A.

Co-encadreur: M.HOCINE L.

Examineur : M. BENBEGUARA M.

Grade

MCA

MCA

MCA

MAA

Année universitaire 2018-2019



Remerciements

Nous remercions notre créateur Allah grand et miséricordieux le tout puissant pour le courage qu'il nous a donné pour mener ce travail.

Nous commençons par exprimer notre vif remerciement à Mr. Hadj Saïd. A qu'a accepté d'être notre promoteur et d'avoir dirigé ce mémoire avec rigueur et tolérance à la fois et pour ces conseils.

Nous tenons à exprimer notre très grande considération et notre profond respect à Mr. Hocine. L qui nous a fait l'honneur de Co promoteur de ce jury malgré toutes ces responsabilités et ses nombreuses occupations. Merci de nous avoir guidées avec patience et d'avoir consacré autant d'heures pour les corrections de ce manuscrit.

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

Nous remercions également, le président de jury Mme Moulay.M de nous avoir fait l'honneur d'évaluer notre travail.

Nous tiens à remercier Mr. Benbeguara.M d'avoir examiné notre travail.

Nous nous sentirions coupable d'ingratitude, si nous ne remercions pas l'ensemble du personnel du laboratoire de microbiologie appliquée notre chères M^{lle} Kheira et M^{lle} Zahra qui m'ont toujours soutenue tout au long de ce travail et pour ces précieux conseils. Nous remercions du fond du cœur nos très chères.

Nous disons merci à tous qui m'ont aidée de près ou de loin pour l'élaboration de ce modeste travail.

Dédicace

Je dédie ce mémoire à tous ceux qui me sont chers :

*A ma chère mère « Zineb » ma source de vie, d'amour et de la tendresse
qu'est toujours présente et prête à sécher mes larmes.*

A mon cher père « Ahmed » ma sens de l'honneur et de la responsabilité.

Merci d'avoir toujours avec moi, sans votre amour et votre soutien

*Je ne serais jamais arrivé là où je suis. Je vous aime qu'ALLAH
vous protège et vous octroie une longue et heureuse vie.*

A mes chères khiera et Zahra

*A mon très cher frère Mohamed merci pour leur aide et leur générosité, je souhaite
de vif cœur de réussir dans leurs vie et de trouver le bonheur.*

A mes sœurs : karima, Najwa et Saida, je vous souhaite de réussir dans leur étude

A mes amies adorable : Fatima, Aicha et Houda

A tous mes amis qui sont chers : Amar, Fateh et Walid

A toute la famille Aouni

A toute la promotion de Microbiologie Appliquée

Sans oublier mes chères Nawal et Zohra



Fatima

Dédicace

Je rends grâce à ALLAH LE TOUT PUISSANT pour tous les bienfaits dont il m'a comblé.

Ce mémoire ayant été rédigé, je le dédie :

A mes chers parents : ma mère et mon père ; je vous aime beaucoup pour m'avoir soutenu tout au long de mes études.

Qu'ALLAH le tout puissant vous bénisse.

À mes très chers frères : kadi, Mansour, Lakhdar et particulièrement Hocine pour leur aide et leur générosité.

À mes très chères sœurs adorables :Meriem, Fatima, Djamila et Nassi.

A mes belles sœurs et beaux frères.

A mes très chères amis ceux et celles avec qui j'ai partagé des moments agréables et qui ont contribué au bon déroulement de ce mémoire :Aicha, Amel, Fatima, Nawal ,Nounou, Soumia , Widad.

A tout mes amis sans exceptions qu'ils soient proche ou loin.

Toute la promotion de Microbiologie appliquée

Sans oublier Fatima et Nawal



Zohra

Dédicace

Je rends grâce à ALLAH LE TOUT PUISSANT pour tous les bienfaits dont il m'a comblé.

Ce mémoire ayant été rédigé, je le dédie :

A mes chers parents : ma mère et mon père ; je vous aime beaucoup pour m'avoir soutenu tout au long de mes études.

Qu'ALLAH le tout puissant vous bénisse.

À mes très chers frères :Djalal, Mhamed, Yacine

À mes très chères sœurs adorables : Fayza et Bakhta.

A mes belles sœurs et beaux frères.

A mes très chères amis ceux et celles avec qui j'ai partagé des moments agréables et qui ont contribué au bon déroulement de ce mémoire :Aicha, Fatima, Houda

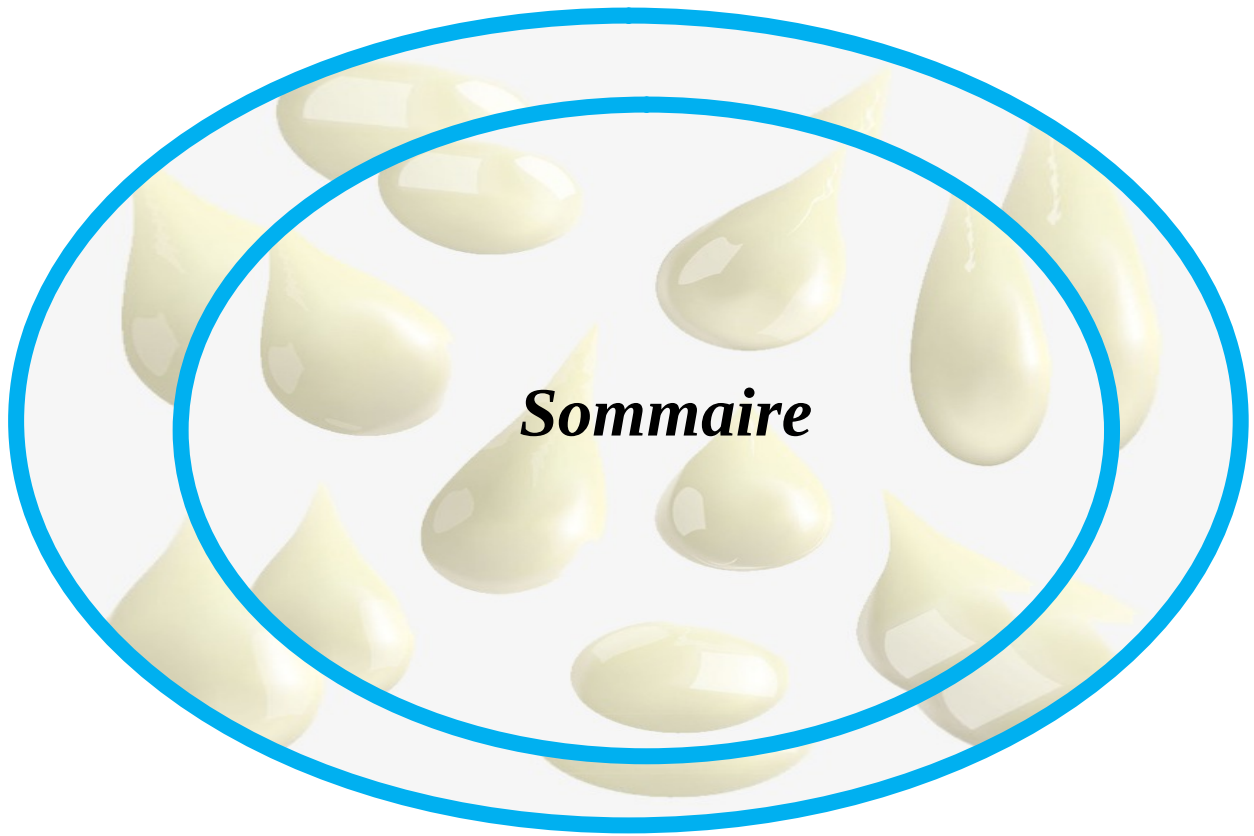
A tout mes amis sans exceptions qu'ils soient proche ou loin.

Toute la promotion de Microbiologie appliquée

Sans oublier Fatima et Zohra



Nawal



Sommaire

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des photos

Liste des tableaux

Introduction.....1

Première partie : Synthèse bibliographique

1- Lait fermenté	2
1-1-Yaourt.....	2
1-2- Différents types de yaourt.....	2
1-2-1- La technologie de fabrication.....	2
1-2-2- La teneur en matière grasse	2
1 -3- Composition du yaourt	3
1 -4- Bactéries lactiques du yaourt	3
1 -4-1- Streptococcus salivarius subsp. thermophilus.....	3
1-4-2- Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus	4
1-4-3- Classification	4
1-5- Intérêts et fonctions des bactéries du yaourt	5
1 -6- Comportement associatif des deux bactéries lactiques.....	6

Deuxième partie: Partie Expérimentale

Chapitre I: Matériels et méthodes

I-1- Objectif du travail	7
I-2- Lieu et période de travail.....	7
I-3- Matériels et méthodes	7
I-3-1- Matériels.....	7
I-3-2- Matières premières.....	7
I-3-2-1- Lait utilisé	8
I-3-2-2- Matériels biologiques.....	8
I-4- Méthodes	8
I-4-1- protocole expérimental.....	9

I-4-1-1- Isolement et identification des bactéries lactiques.....	10
I-4-1-2- Purification.....	10
I-4-1-3- Conservation de la souche.....	12
I-4-1-4- Identification des souches <i>Lactobacilles</i> et <i>Streptocoques</i>	12
I-4-1-4- 1-Tests phénotypiques	12
a)-Examen macroscopique	12
b)-Examen microscopique... ..	12
I-4-1-4- 2-Tests biochimiques	12
a)-Test de catalase.....	12
b)-Type fermentaire	13
I-4-1-4- 3-Standardisation du nombre des bactéries lactiques utilisées	14
I-5- Fabrication du yaourt	15
I-5-1- Préparation du levain lactique	15
I-5-2- Préparation de lait reconstitué	16
II-5-3- La pasteurisation du lait	16
I-5-4- Refroidissement	16
I-5-5- L'ensemencement du lait en ferments.....	16
I-5-6- Conditionnement en pots.....	16
I-5-7- Etuvage et conservation	16
I-6- Analyses physicochimiques et microbiologiques	17
I-6-1- pH	17
I-6-1-1- Principe	17
I-6-1-2- Le mode opératoire	17
I-6-2- Acidité titrable	17
I-6-2-1- Principe	17
I-6-2-2- Mode opératoire	17
I-6-2-3-Expression des résultats	17
I-6-3- Dénombrement des bactéries lactiques du yaourt.....	18
I-6-3-1- Echantillonnages.....	18
I-6-3-2- Dénombrement des bactéries lactiques	18
I-6-3-2-1- Mode opératoire	18
I-6-3-2-2- Mode de calcul	18
I-6-4- Analyse Sensorielle.....	19

Chapitre II :Résultats Et Discussion

II-1-1- Identification des bactéries.....	20
II-1-1- 1- Caractérisation macroscopique	20
II-1-1- 2- Caractérisation microscopique	21
II-1-1-3-Tests biochimiques	22
II-2- Analyses physicochimiques	23
II-2-1- pH	23
II-2-2- Acidité titrable (°D)	24
II-2-3- Analyse microbiologique	25
II-2-4- Résultats d'analyses sensorielles	26
Conclusion	27
Références bibliographique	
Annexes	
Résumé	

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
1	Teneur moyenne pour 100 gramme de produit	3
2	Classification des bactéries lactiques du yaourt	4
3	Aptitudes technologiques des bactéries lactiques du yaourt	5
4	Interactions métaboliques entre <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> et <i>Streptococcus thermophilus</i> en culture mixte dans le lait	6
5	Appareillages et verreries utilisés	7
6	Réactifs chimiques et solutions	8
7	Milieux de cultures	8
8	Préparation des levains lactiques (<i>Lactobacillus</i> majoritaire)	15
9	Préparation des levains lactiques (<i>Streptococcus</i> majoritaire)	15
10	Appréciation de certaines propriétés organoleptiques du yaourt	19
11	Evolution du nombre des bactéries lactiques dans le yaourt à différentes proportions des souches lactiques	24
12	Propriétés organoleptiques du yaourt au rapport différent	26

Liste des figures

Numéro	Titre	Page
1	Les principales étapes du protocole expérimental	9
2	Isolement, purification et identification des souches lactique des yaourts	11
3	Standardisation des bactéries lactiques	14
4	Aspect macroscopique des bactéries lactiques dans un milieu liquide (Bouillon)	21
5	Aspect macroscopique des bactéries lactiques sur un milieu solide (Gélose)	21
6	Aspect microscopique des bactéries lactiques	22
7	Evolution du pH du yaourt aux différents rapports Str/Lb du levain lactique.	23
8	Evolution de l'acidité titrable du yaourt aux différents rapports des souches lactiques.	24

Liste des photos

	Titre	Page
A	Aspect macroscopique de <i>Sc.thermophilus</i> (trouble) sur M17 après 24h d'incubation à 45°C	21
B	Aspect macroscopique de <i>Lb. bulgaricus</i> (trouble) sur MRS après 24h d'incubation à 45°C	21
C	Aspect des colonies de <i>Str.thermophilus</i> sur M17 solide après 24h d'incubation à 45°C.	21
D	Aspect des colonies de <i>Lb.bulgaricus</i> sur MRS solide après 24h d'incubation en anaérobiose à 45°C.	21
E	Aspect microscopique de <i>Str.thermophilus</i> après coloration de Gram (100X)	22
F	Aspect microscopique de <i>Lb.bulgaricus</i> après coloration de Gram (100X)	22

Liste des abréviations

AA : Acide aminé

AOAC : Association of Official Analytical Chemists

CaCO₃ : Carbonate de calcium

°D : Degré Dornic

EP : Eau Physiologique

EPS : Exopolysaccharides

FAO : Food and Agriculture Organization

H₂O₂ : Eau oxygénée

HCl : Chlorure d'Hydrogène

Lb : *Lactobacillus bulgaricus*

Str: *Streptococcus thermophilus*

M17 : Gélose de Mac Key

MRS : Man; Rogosa et Sharpe

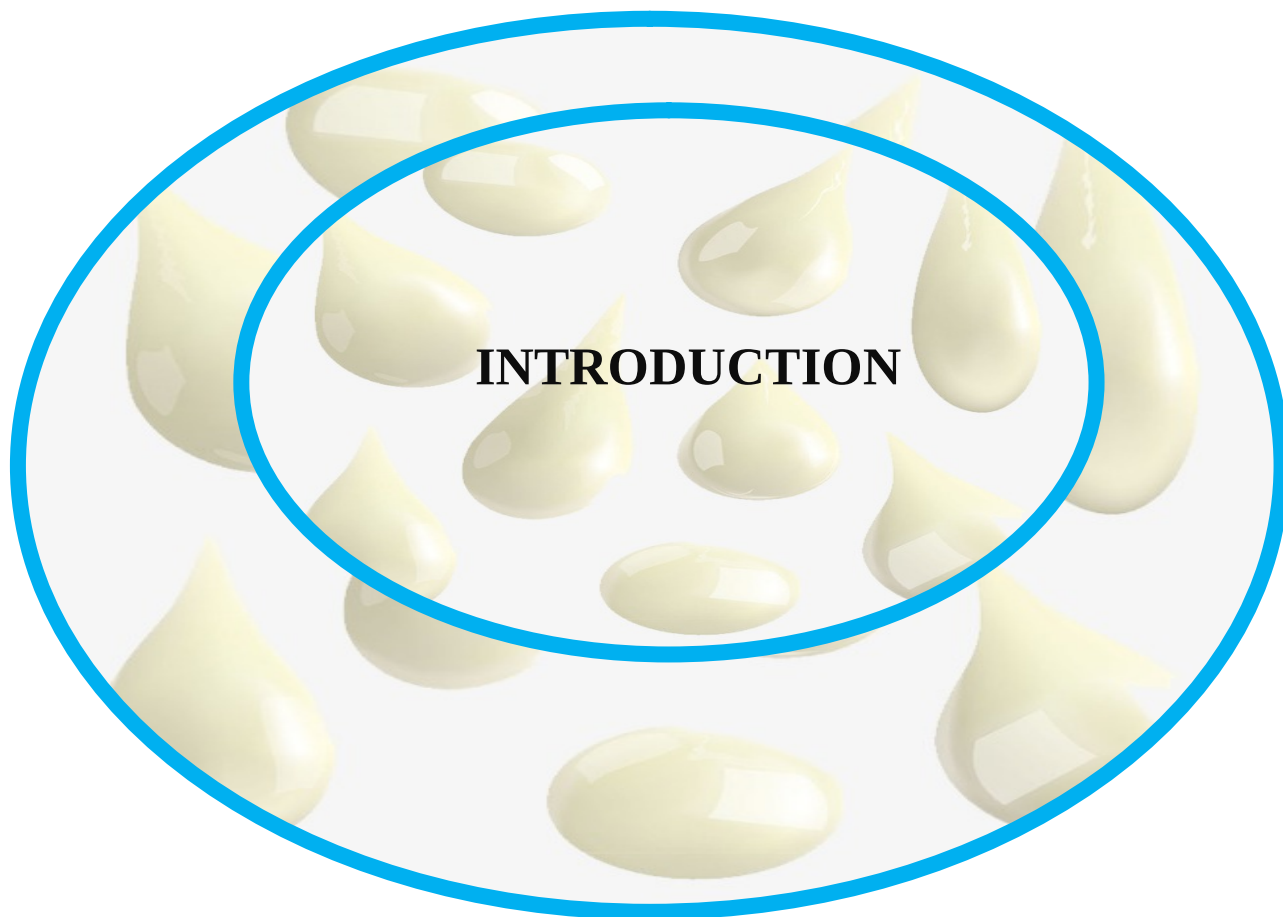
NaOH : Hydroxyde de sodium

OMS : Organisation mondiale de la santé

pHi : Potentiel d'hydrogène isoélectrique

Subsp : Sous espèce

UFC : Unité formant colonies



INTRODUCTION

Le lait est défini comme « le produit intégrale de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée ». Il doit être en outre collecté dans de bonnes conditions hygiéniques, présenté toute les garanties sanitaires et ne pas contenir de colostrum.

L'évolution des processus technologiques, des techniques de conservation et de distribution a permis l'élaboration d'une large gamme de « laits de consommation » qui se distinguent par leur composition, leur qualité nutritionnelle, organoleptique et leur durée de conservation **(Romain et al, 2008)**.

La fermentation du lait conduisant à la formation d'acides organiques, notamment l'acide lactique, entraîne une gélification du lait. Ces laits fermentés peuvent résulter d'ensemencements spontanés à température ambiante, ou d'ensemencements par flore à une température contrôlée. Ce contrôle porte sur le choix des espèces et des souches en fonction de leur intérêt technologique (texture du produit) ou organoleptique **(FAO, 1995)**.

Les laits fermentés ont une caractéristique commune : ils sont tous obtenus par le développement d'une flore lactique. Les caractéristiques propres des différents laits fermentés sont attribuées à la variation particulière de certains facteurs tels que la composition du lait, la température d'incubation et la nature de la flore microbienne lactique ou autres. Historiquement il s'agit de permettre une meilleure conservation du lait, qui est une matière première rapidement périssable **(Lamye Glory et al, 2017)**.

Parmi les nombreux produits laitiers fermentés, les yaourts tiennent une place de choix. Ils sont obtenus par la mise en œuvre des procédés connus et transformés en processus de fabrication industrielle.

La technologie du yaourt est basée sur la mise en œuvre simultanée de deux espèces de bactéries lactiques *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* et *Lactobacillus delbruckii* subsp. *bulgaricus*, cependant la composition du levain est adaptée aux caractéristiques recherchées pour le produit fini. Le yaourt est considéré comme un produit de grande consommation, il apparaît comme un produit laitier très digeste qui possède une grande valeur nutritionnelle et qui est apprécié pour son goût et sa texture **(Mahrous et al, 2014)**.

L'objectif de cette étude est de suivre la cinétique de coagulation aux différents rapports des ferments au cours de la fabrication du yaourt, afin d'optimiser le rapport idéal qui donne un yaourt de bonnes qualités physicochimiques et organoleptiques.

Première partie :
Synthèse
Bibliographique

1- Lait fermenté

Le lait fermenté est un produit laitier obtenu par la fermentation du lait, lequel peut avoir été fabriqué à base de produits obtenus à partir de lait avec ou sans modification de composition, par l'action de micro-organismes caractérisé et spécifique et résultant dans la réduction du pH avec ou sans coagulation (**FAO/OMS, 2011**).

Le lait fermenté doit subir un traitement au moins équivalent à la pasteurisation ; la teneur en acide lactique exigée est de 0.6g/ 100g de produit (**Verrler, 2007**).

Il existe une grande variété de laits fermentés caractérisés par la diversité de leurs qualités et leurs levains et leur mode de fabrication. Parmi eux, on trouve le yaourt.

1-1-Yaourt

D'après le Codex Alimentarius (n°A -11(a) 1975 année adopté 2013), le yaourt est un produit laitier coagulé obtenu par fermentation lactique grâce à l'action de ***Lactobacillus bulgaricus*** et de ***Streptococcus thermophilus*** à partir du lait frais ainsi que du lait pasteurisé (concentré, partiellement écrémé, enrichi en extrait sec) avec ou sans addition (lait en poudre, poudre de lait écrémé, etc.). Les micro-organismes du produit final doivent être viables et abondants.

Le yaourt est un produit très apprécié par les consommateurs. L'intérêt réside dans le fait d'utiliser tout le lait sans aucune perte puisqu'il n'y a pas d'égouttage (**Raiffaud, 2017**).

Selon **Sodini et Béal (2003)**, la teneur en acide lactique minimale est de 0.7 % et contenant au moins 10 millions de bactéries vivantes par gramme de produit au moment de la vente au consommateur.

1-2- Différents types de yaourt

Les différents types sont classés en fonction de :

1-2-1- La technologie de fabrication

D'après **Romain et al (2008)**, les types du yaourt sont :

- **Yaourts fermes** : dont la fermentation a lieu en pots, ce sont généralement les yaourts nature ou aromatisés.
- **Yaourts brassés** : dont la fermentation a lieu en cuve avant le conditionnement, ce sont généralement des yaourts brassés naturels ou aux fruits.

1-2-2- La teneur en matière grasse

D'après **FAO/OMS, (2000)** On distingue trois types de yaourt :

Synthèse bibliographique

- ✓ **Yaourt entier** : Ce yaourt est à base de lait entier. Il contient 3% de matière grasse au minimum.
- ✓ **Yaourt partiellement écrémé**: C'est un produit qui renferme moins de 3% (en poids) de matière grasse.
- ✓ **Yaourt écrémé (maigre)**: Le produit contient au maximum 0.5% (en poids) de matière grasse.

1 -3- Composition du yaourt

Au cours de la fermentation, la composition du lait subit un certain nombre de modifications. Certaines de ces modifications en font un produit de meilleure valeur nutritionnelle que le lait (tableau 01).

Tableau 01 : Teneur moyenne pour 100 gramme de produit (Romain et al, 2008).

	Teneur moyenne pour 100 gramme de produit							Valeur énergétique
	Protéine (g)	Lipide (g)	Glucide (g)	Calcium (mg)	Sodium (mg)	Potassium (mg)	Phosphore (mg)	KJ
Yaourt nature	4,15	1,2	5,2	174	57	210	114	201
Yaourt au lait entier	3,8	3,5	5, 3	171	56	206	112	284
Yaourt nature 0% MG	4 ,2	Trace	5,4	164	55	180	100	163
Yaourt brassé nature	4,3	1,8	5,2	165	40	205	115	230
Yaourt maigre	5 ,4	1,5	6,2	185	45	180	100	213

1 -4- Bactéries lactiques du yaourt

Ce sont des bactéries lactiques homofermentaires, micro-aérophiles et thermophiles dont la température optimale de développement se situe entre 37 et 46 °C pour les *Streptococcus thermophilus* et entre 42 et 50 °C pour *Lactobacillus bulgaricus*. Ils confèrent un caractère plus ou moins filant au produit par production d'exopolysaccharides en quantité variable selon les souches, la composition du mélange et les paramètres (durée, température) de fermentation, en dehors de leur impact sur le produit final (amélioration de la texture et réduction de la synérèse) (Romain et al, 2008).

1 -4-1- *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*

La souche bactérienne (*Str.thermophilus*) est Gram(+), de forme sphérique, thermorésistante, anaérobie facultative, sous formes de coques disposées en chaîne de longueur variable ou en

Synthèse bibliographique

paires. Son rôle principal est la fermentation du lactose en acide lactique. Sa température de croissance varie entre 40 et 50°C, elle augmente la viscosité du lait par production de polysaccharides (**Batt et Tortorello, 2014**).

Elle est à catalase(-), non mobile, ne forme pas des spores et homofermentaire. Elle est responsable de la texture dans les laits fermentés (**Tannock, 2005**).

1 -4-2- *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*

La souche bactérienne ***Lb. bulgaricus*** est homofermentaire et immobile. Elle est isolée sous forme de bâtonnet ou de chainettes thermophile, exigeante en calcium et en magnésium et elle possède un métabolisme strictement fermentaire avec production d'acide lactique. Elle joue un rôle essentiel dans le développement des qualités organoleptiques et hygiéniques du yaourt (**Yildiz, 2010**).

Cette souche est Gram(+), ne forme pas de pores, de catalase(-) et micro-aérophile. Sa température optimale de croissance est d'environ 45 °C (**Batt et Tortorello, 2014**).

1-4-3- Classification

La classification des espèces est présentée dans le tableau 2

Tableau 02 : Classification des bactéries lactiques du yaourt (**Vos et al, 2011**).

<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	<i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i>
Règne: Bacteria	Règne: Bacteria
Division: Firmicutes	Division: Firmicutes
Classe: Bacilli	Classe: Bacilli
Ordre: Lactobacillales	Ordre: Lactobacillales
Famille: Lactobacillaceae	Famille: Streptococcaceae
Genre: Lactobacillus	Genre: Streptococcus
Espèce: <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	Espèce: <i>Streptococcus thermophilus</i>
Sous-espèce: <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	Sous-espèce: <i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i>

Synthèse bibliographique

1-5- Intérêts et fonctions des bactéries du yaourt

Les deux bactéries associées dans la température du yaourt ont pour rôle principal d'abaisser le pH du lait au point isoélectrique de la caséine (pHi 4,6) de façon à former un gel. Outre le gout acidulé qu'elles donnent au gel, elles lui assurent une saveur caractéristique due à la production de composés aromatique (acétaldéhyde) et par la production de polysaccharides qui assurent une consistance du gel.

Le tableau 3 illustre les principaux intérêts et fonctions des bactéries lactiques dans le yaourt.

Tableau 03 : Aptitudes technologiques des bactéries lactiques du yaourt.

Intérêts	Rôles	Références
Production d'acide lactique	✓ Inhibe des microorganismes indésirables ✓ Coagulation des protéines (formation du gel)	(Yildiz, 2010)
Activité protéolytique	✓ <i>Lb.bulgaricus</i> hydrolyse les caséines en polypeptides par l'action des protéases ✓ <i>Str.thermophilus</i> dégrade les polypeptides par son activité exopeptidasique en AA libres	(Yildiz, 2010) (FAO, 1995)
Activité aromatique	✓ Production d'acétaldéhyde et diacétyl (gout délicat, saveur typique)	(Yildiz, 2010)
Activité texturant	✓ Production des EPS filaires (augmente la viscosité, texture lisse et crémeuse et synérèse faible)	(Yildiz, 2010)

1 -6- Comportement associatif des deux bactéries lactiques

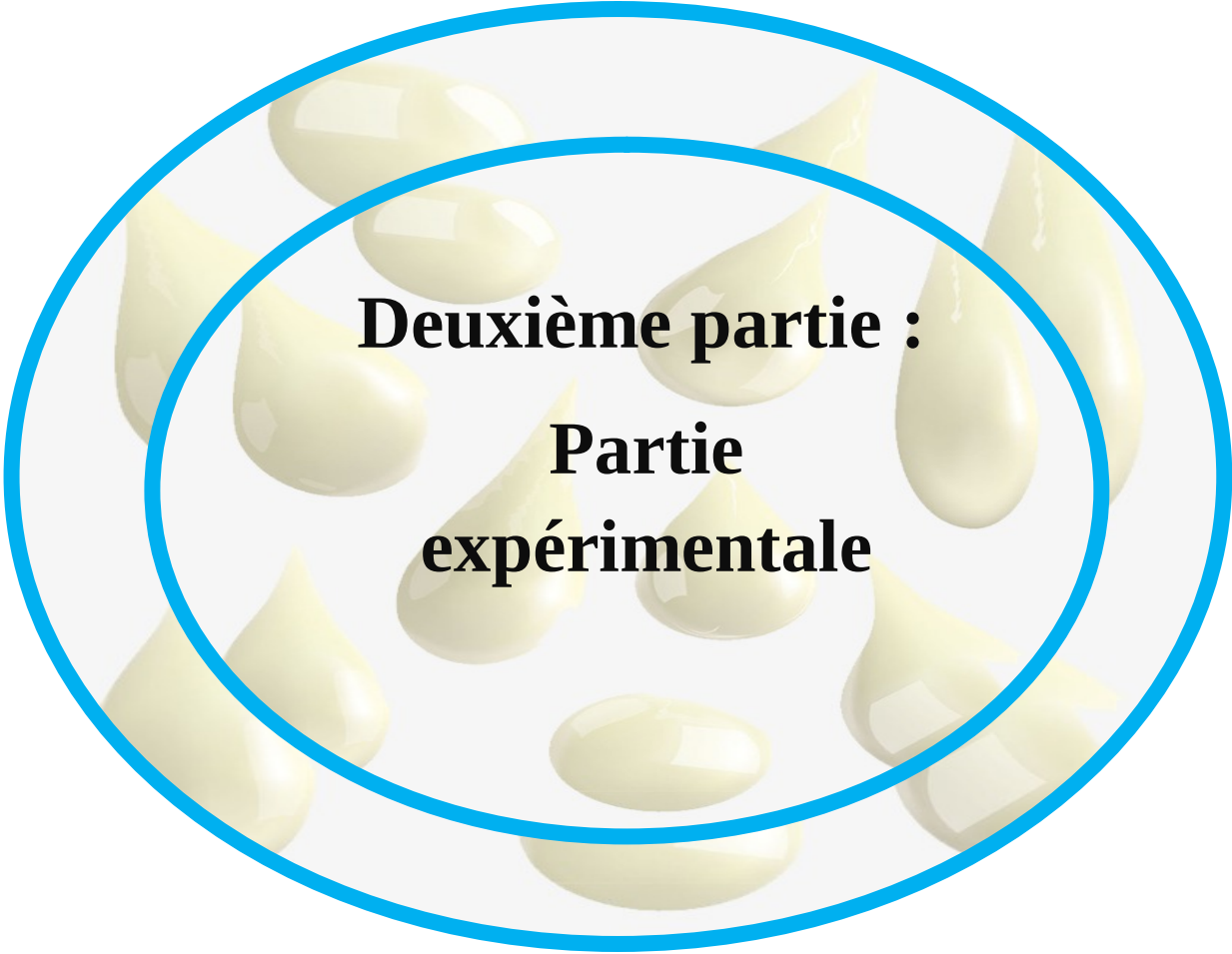
Lors de la production de yaourt, l'utilisation combinée de *Str.thermophilus* et *Lb. bulgaricus* permet de valoriser l'interaction indirecte positive existant entre ces deux espèces. Cette interaction, appelée proto-coopération, est bénéfique et se traduit par divers phénomènes (**Corrieu et Luquet, 2008**).

Les différents changements métaboliques sont indiqués dans le tableau 4.

Synthèse bibliographique

Tableau 04: Interactions métaboliques entre *Lactobacillus delbrueckii* subsp.*bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* en culture mixte dans le lait (Corrieu et Luquet, 2008).

	<i>Str.thermophilus</i> ↑↓ <i>Lb.bulgaricus</i>	<i>Str.thermophilus</i> ↑ <i>Lb.bulgaricus</i>	<i>Str.thermophilus</i> ↓ <i>Lb.bulgaricus</i>		
Mécanisme et facteur d'interaction	Synthèse d'acide lactique à partir du lactose	Production de peptides et d'acides aminés sous l'action de protéinase PrtB	Production de CO2 par activité uréase	Acide formique	Acide pyruvique Acide folique
Rôle de l'interaction	Inhibition de la croissance	Activation de la croissance	Synthèse de l'acide aspartique	Synthèse des bases puriques	Non caractérisé



Deuxième partie :

**Partie
expérimentale**

Chapitre I :
Matériels et
méthodes

I-1- Objectif du travail

L'objectif principal de notre étude est :

- ✓ Suivi les paramètres physicochimiques et la cinétique de croissance aux différents rapports des ferments lactiques (*Streptococcus* / *Lactobacillus*), afin d'optimiser le rapport optimal de coagulation du yaourt.

I-2- Lieu et période de travail

Notre étude a été effectuée au niveau du laboratoire de microbiologie du département des Sciences de la Nature et de la Vie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Ibn Khaldoun, Tiaret du 10 Février jusqu'au 28 Avril 2019.

I-3- Matériels et méthodes**I-3-1- Matériels**

Les tableaux 5, 6 et 7 montrent le matériel utilisé dans notre expérimentation.

Tableau 5 : Appareillages et verreries utilisés.

Appareillages	Verreries	Autre matériels
▪ Agitateur magnétique (STUART) ▪ Autoclave ▪ Balance électrique(SARTORIUS) ▪ Etuve(MEMMERT) ▪ Four pasteur(MEMMERT) ▪ Microscope optique(OPTIKA) ▪ Spectrophotomètre (UV-1600 PC SPECTROPHOTOM2TRE) ▪ Vortex ▪ pH-mètre (HI2211pH/ORPMetre ,HANNA) ▪ Réfrigérateur(IRIS)	▪ Bêchers ▪ Burettes graduées ▪ Boîtes de pétri ▪ Cloches de durham ▪ Eprouvettes ▪ Fioles jaugées ▪ Flacons en verre ▪ Lames ▪ Pipettes graduées ▪ Pipettes pasteur ▪ Tubes à essai ▪ Dessiccateur	▪ Anse de platine ▪ Bac de coloration ▪ Bains- marie ▪ Micropipette ▪ Pince en bois et en métal ▪ Portoir ▪ Spatule ▪ Bec bunsen

Tableau 6 : Réactifs chimiques et solutions

Réactifs	Utilisation
➤ Alcool (96 %) ➤ Fuchsine ➤ Lugol ➤ Violet de gentiane	Coloration de gram
➤ Carbonate de calcium (CaCO₃)	Préparation du milieu MRS (abaissement de pH)
➤ Eau distillée ➤ Eau physiologique	Préparation des dilutions
➤ Phénolphthaléine ➤ NaOH (1/9N)	Acidité titrable
➤ HCl	Abaissement du pH
➤ Solution tampons de pH=7 et pH=4	Analyse du pH

Tableau 7 : Milieux de cultures

Recherche	Milieux de culture
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	Gélose et bouillon MRS
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Gélose et bouillon M17

I-3-2- Matières premières

I-3-2-1- Lait utilisé

- Lait entier en poudre (Candia 26% de matière grasse et de 24,5% de protéines), ce lait a été utilisé pour la fabrication de lait reconstitué (Annexe 3).

I-3-2-2- Matériels biologiques

- **Les ferments lactiques :**

Les ferments utilisés dans notre expérimentation sont : des souches lyophilisées mixtes (bactéries lactiques *Streptococcus et Lactobacillus*) YC-X16 fournies par GIPLAIT de Tiaret et des bactéries lactiques isolées à partir de yaourt nature (Annexe 3).

I-4- Méthodes

I-4-1- protocole expérimental

Les principales étapes de notre protocole expérimental sont indiquées dans la figure 1.

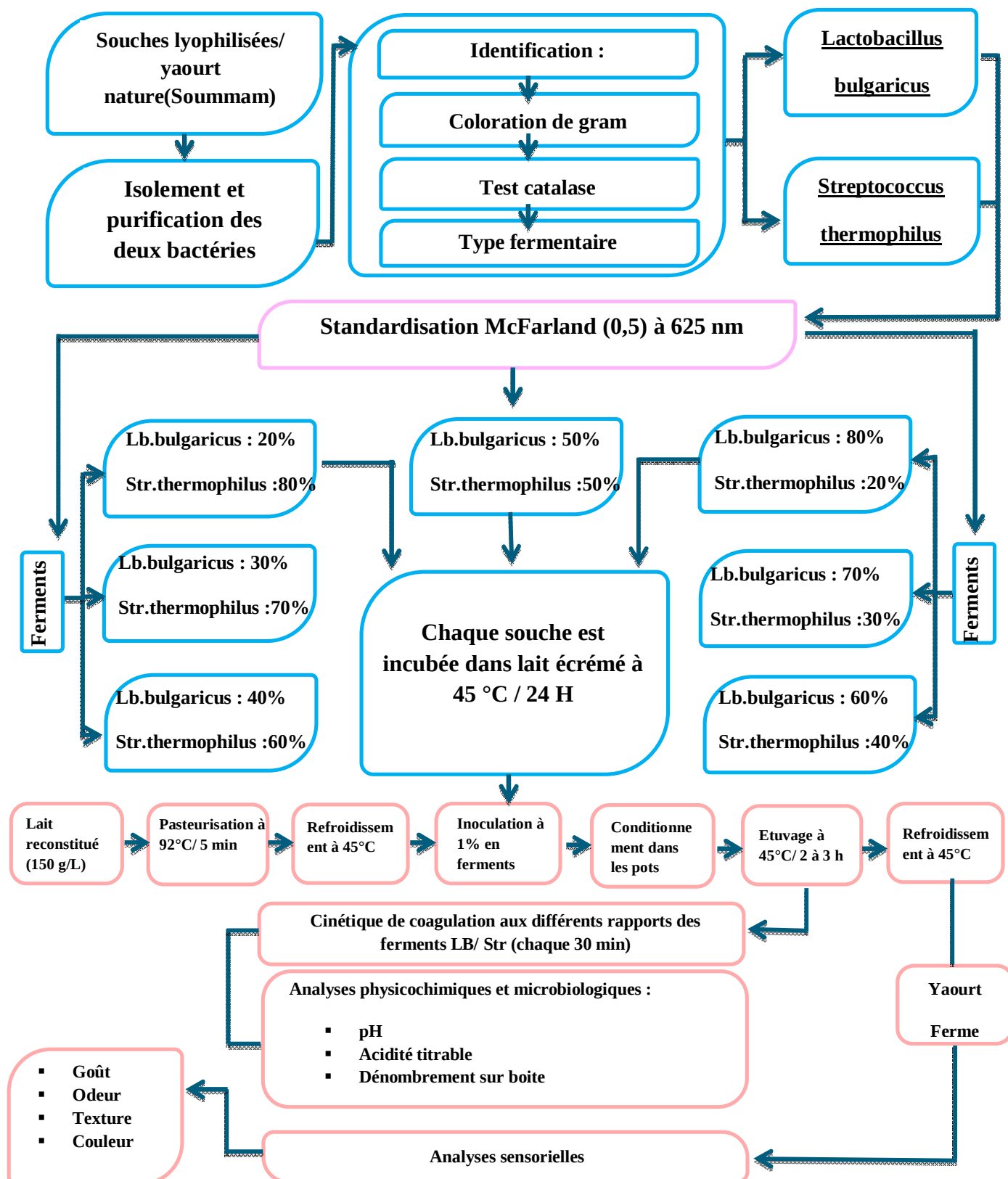


Figure 1 : Les principales étapes du protocole expérimental.

I-4-1-1- Isolement et identification des bactéries lactiques

- **Isolement des bactéries lactiques à partir du yaourt**

Une quantité de 1 g de yaourt a été mélangée à 9 ml d'eau physiologique. Après homogénéisation, une série de dilutions de 1/10 a été préparée à partir de cette solution mère, en utilisant l'eau physiologique jusqu'à 10^{-5} . Un volume de 1 ml de chaque dilution a été ensemencée sur gélose MRS modifié par l'ajout de carbonate de calcium (CaCO_3) à un pH=5,4 pour les *Lactobacilles* et gélose M17 pour les *Streptocoques* à raison de deux boîtes par dilution, qui seront par la suite incubées en anaérobiose à 45°C pendant 24h à 72h.

Les *Lactobacilles* sont généralement des microaérophiles qui ont été mise dans des boîtes de pétri dans un dessiccateur.

- **Isolement des bactéries lactiques à partir des souches lyophilisées**

Une quantité de 0,06 g des souches a été ajouté dans des tubes à essai stérile contenant bouillon M17 pour les *Streptocoques* et bouillon MRS modifié (pH=5,4) pour les *Lactobacilles*. Ces tubes ont été incubés à 45°C pendant 24 h à 72 h.

I-4-1-2- Purification

La purification des souches isolées à partir du yaourt a été réalisée par repiquage solide-liquide successifs sur bouillon MRS et M17. A partir des boîtes incubées une colonie bien distincte a été prélevée aseptiquement et mise dans des tubes contenant le milieu spécifique pour chaque souche. L'incubation est réalisée à 45°C pendant 72 h.

La purification des bactéries lactiques isolée à partir des souches lyophilisées mixtes par repiquage liquide-solide, des boîtes de pétri contenant de la gélose MRS modifiée et M17 sont ensemencées en strie par des souches prélevées à partir des tubes incubées. L'incubation des boîtes a été faite à 45°C pendant 24 h. Une colonie bien distincte a été prélevée aseptiquement et mise dans le bouillon MRS modifié et M17 et incubée à 45°C pendant 24 h à 72 h. Plusieurs repiquages ont été réalisés pour obtenir des souches pures. La pureté des souches est révélée par la présence des colonies homogène sur gélose, ayant le même aspect, la même taille et la même forme. Les étapes de l'isolement, purification sont présentés dans la figure 2.

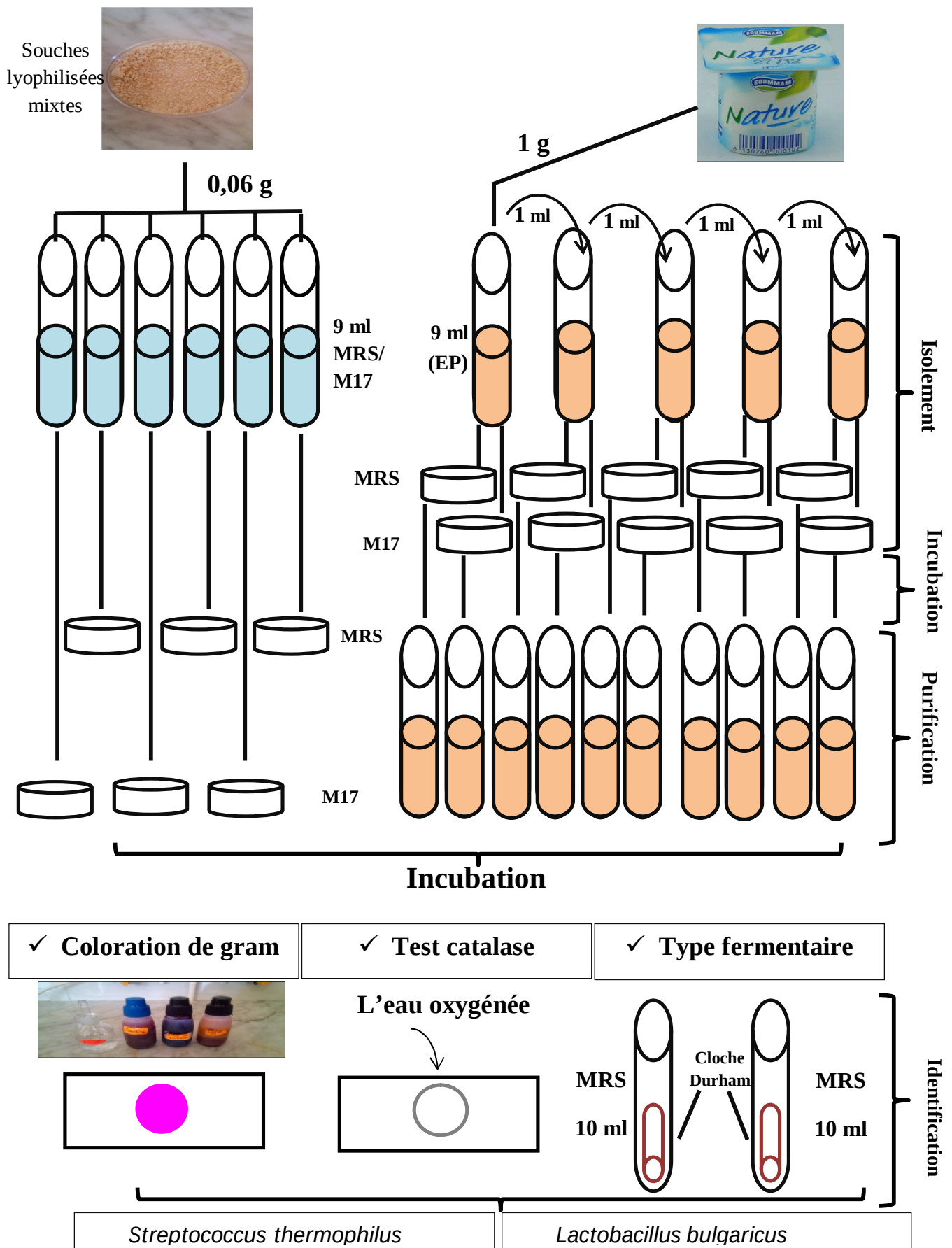


Figure 2 : Isolement, purification et identification des souches lactiques du yaourt.

La coloration de gram a été faite pour confirmer la pureté des souches.

I-4-1-3- Conservation de la souche

La souche ainsi purifiée doit être conservée et selon la durée de conservation on applique deux techniques :

- **Conservation à courte durée**

La souche est conservée dans le milieu MRS solide incliné dans des tubes à essai, après ensemencement et incubation dans des conditions optimales de 45°C pendant 24 à 72 h. Elle est conservée au réfrigérateur à 4°C pendant 3 à 4 semaines.

L'identification a été établie en se basant sur des caractères morphologiques et divers caractères biochimiques.

I-4-1-4- Identification des souches *Lactobacilles* et *Streptocoques*

I-4-1-4- 1-Tests phénotypiques

a) Examen macroscopique

Afin de déterminer les caractères culturels des bactéries, ces dernières doivent être cultivées sur milieu gélosé solide en boîte de pétri et dans un milieu liquide en tube. Permet de décrire les cultures bactériennes sur milieu liquide : on relève la turbidité, trouble, formation d'une pellicule, sédiment sur des tubes.

Sur milieu solide : on relève la taille, la forme des colonies, couleur, élévation de la colonie, surface, consistance, pigmentation (Dellaras, 2014).

b) Examen microscopique

L'observation des bactéries à l'aide d'un microscope pour déterminer la forme générale et particulière, le mode de regroupement et le Gram (Annexe 2).

I-4-1-4- 2-Tests clés

a) Test de catalase

Chez les bactéries dotées d'un métabolisme oxydatif, le système respiratoire compte parmi d'autres enzymes une catalase. Celle-ci décompose l'eau oxygénée selon la réaction suivante :



La méthode de recherche de la catalase consiste à étaler une colonie sur une lame de verre sur laquelle on ajoute une goutte de H_2O_2 . La présence de l'enzyme se manifeste par un dégagement de bulle de gaz (Tang, 2018).

b) Type fermentaire

Ce test a été effectué par l'ensemencement des souches *Lactobacillus* et *Streptococcus* dans le bouillon MRS et M17 contenant de la cloche de Durham et incubation à 37°C pendant 24 h à 48 h. Le développement d'une bactérie hétérofermentaire se manifeste par l'apparition de gaz dans la cloche de Durham, qu'est absenté chez les bactéries homofermentaires (Dellaras, 2007).

I-4-1-4-3- Standardisation du nombre des bactéries lactiques utilisées

Les souches lactiques représentatives des groupes d'espèces les plus fréquentes au cours de la fabrication du yaourt en se basant sur leur forte de croissance. La mesure de leur biomasse est réalisée de la manière suivante : la croissance bactérienne est estimée par la mesure de l'absorbance à 625 nm (Corrieu, 2008). Après une incubation de 24 h à 45°C sur milieu M17 et MRS modifié, les souches sont décongelées et pré-cultivées deux fois successivement dans leur milieu spécifique pour chaque bactéries M17 et MRS modifié liquide (24 h à 45°C). La pureté est vérifiée par repiquage sur gélose M17 et MRS (48 h à 45°C).

A partir de cette solution mère, une gamme de dilution de 1/10 à 1/1000 est effectuée avec le diluant l'eau distillée stérile. Les dilutions sont effectuées afin d'obtenir une densité optique à 625 nm comprise entre 0,08 à 0,13 qui correspond une charge microbienne ($1,5 \times 10^8$).

La standardisation des deux bactéries lactiques a été montrée dans la figure 3.

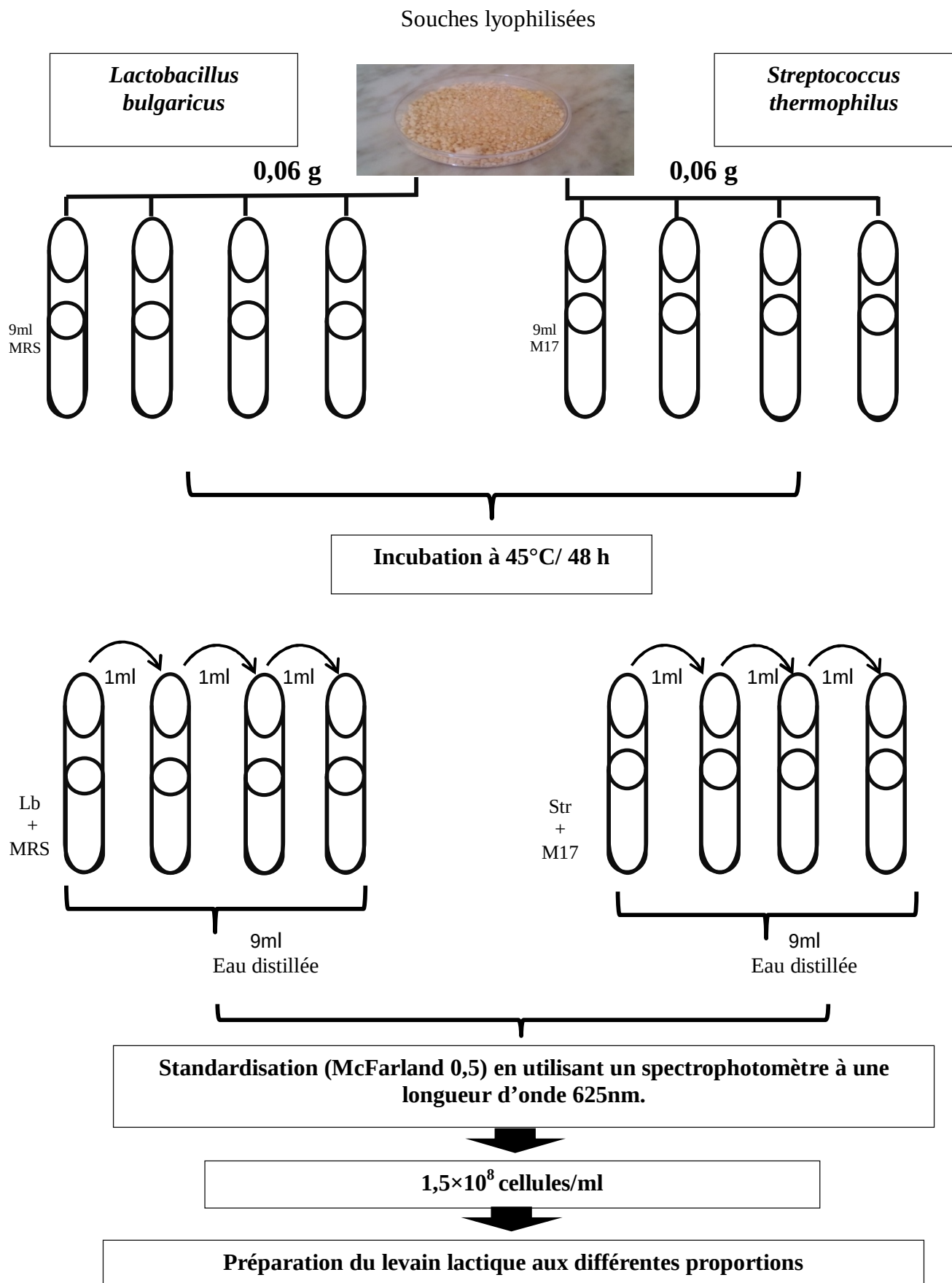


Figure 3 : Standardisation des bactéries lactiques.

I-5- Fabrication du yaourt

Le procédé de fabrication du yaourt aux différents rapports comprend les étapes suivantes :

I-5-1- Préparation du levain lactique

Le levain est préparé par l'inoculation des ferments dans du lait écrémé, puis incubé à 45°C pendant 24 h et ce après vérification de la pureté et standardisation des deux souches bactériennes (*Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*).

Les tableaux (8 et 9) représentent les valeurs de la préparation du levain lactique aux différents concentrations des bactéries lactiques de type *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*.

Tableau 8 : Préparation des levains lactiques (*Lacobacillus* majoritaire).

Proportions	20% / 80%		30% / 70%		40% / 60%		50% / 50%	
Ferments (ml)	Str	Lb	Str	Lb	Str	Lb	Str	Lb
	0,4	1,6	0,6	1,4	0,8	1,2	1	1
Lait écrémé (ml)	9,6	8,4	9,4	8,6	9,2	8,8	9	9

Tableau 9 : Préparation des levains lactiques (*Streptococcus* majoritaire).

Proportions	80% / 20%		70% / 30%		60% / 40%		50% / 50%	
ferments (ml)	Str	Lb	Str	Lb	Str	Lb	Str	Lb
	1,6	0,4	1,4	0,6	1,2	0,8	1	1
Lait écrémé (ml)	8,4	9,6	8,6	9,4	8,8	9,2	9	9

I-5-2- Préparation de lait reconstitué

La teneur en matière sèche, protéines et matière grasse, conditionne les caractéristiques organoleptiques du yaourt. Parmi lesquelles, on peut citer, la consistance, la viscosité, la texture et les arômes. A cet effet, il été important de déterminer la concentration optimale en matière sèche du lait nécessaire pour obtenir un yaourt de bonne qualité organoleptique. Pour cela, nous avons préparé du lait reconstitué aux différentes concentrations en matière sèche (130, 140 et 150g/l).

II-5-3- La pasteurisation du lait

La pasteurisation du lait a été effectuée à 92°C pendant 5 min dans un bain-marie.

I-5-4- Refroidissement

Le refroidissement du lait jusqu'à 45 °C, a été réalisé dans un bain-marie régulé à cette même température.

I-5-5- L'ensemencement du lait en ferments

- Après pasteurisation et refroidissement, dans des conditions aseptique le lait reconstitue préparé à partir de différentes concentration (130 /140/150 g /L) de lait entier en poudre est ensemencé à l'aide du rapport (50% / 50%) d'un levain de *Lactobacillus* et *Streptococcus*.
- Ensuite, on a préparé le lait reconstitué à partir de la concentration (150g/l) et transvasé dans un bécher stérile (480 ml). Puis, le lait a été ensemencé avec les levains lactiques de types *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* préparés précédemment aux différentes proportions (Lb₈₀/Str₂₀, Lb₇₀/Str₃₀, Lb₆₀/Str₄₀) et après modification des proportions avec une augmentation de la concentration de la souche *Streptococcus thermophilus* (Str₈₀/Lb₂₀, Str₇₀/Lb₃₀, Str₆₀/Lb₄₀) comme il a été noté dans les tableaux (8 et 9).

I-5-6- Conditionnement en pots

Le lait ainsi inoculé est mis dans des pots.

I-5-7- Etuvage et conservation

L'étuvage des pots a été faite dans un bain-marie chauffé entre 45 et 50°C pendant 2 à 3 heures, suivi d'une conservation dans un réfrigérateur à 4°C.

I-6- Analyses physicochimiques et microbiologiques

Pour suivre la maturation du yaourt durant l'étuvage, des mesures du pH, de l'acidité et le dénombrement bactérien, ont été effectués chaque 30 min pendant 3 heures.

I-6-1- pH

Le pH donne une indication de l'acidité d'une substance, il est déterminé à partir de la quantité d'ions H^+ contenue dans l'échantillon. Le résultat d'une mesure de pH est défini par la quantité d'ions H^+ et OH^- présent dans l'eau.

I-6-1-1- Principe

Le pH est mesuré à l'aide d'un pH-mètre. Les ions H^+ et OH^- vont créer de léger charge négative et positive de part et d'autre de l'électrode est reliée au pH-mètre. Le potentiel des charges calculé par ce dernier permet de déterminer la quantité d'ions dans l'échantillon (Carole, 2002).

I-6-1-2- Le mode opératoire

L'électrode du pH-mètre (préalablement étalonné à l'aide de deux solutions tampons de pH égale 4 et 7 respectivement) est rincée avec l'eau distillée puis plongée dans l'échantillon à analyser. La valeur de pH de l'échantillon est obtenue directement par simple lecture.

I-6-2- Acidité titrable

I-6-2-1- Principe

Le dosage de l'acidité par titrage est l'une des mesures analytiques les plus courantes en technologie laitiers. C'est une méthode officielle de (AOAC, 947.05). La méthode de dosage de l'acidité par titrage permet de quantifier la teneur totale de l'acide lactique présent dans le yaourt (Danielle, 2009).

I-6-2-2- Mode opératoire

- Mettre 10 ml du yaourt dans un bécher et ajouter 3 gouttes de phénolphtaléine ;
- Mettre sur un agitateur magnétique ;
- Remplir la burette graduée par la soude NaOH (1/9 N) et verser goutte à goutte dans le yaourt ;
- Déclencher une agitation, attendre jusqu'à l'apparition d'une coloration rose pâle ;
- Lire le volume du NaOH titré.

I-6-2-3- Expression des résultats

Le degré dornic ($^{\circ}D$) est défini comme le volume (1/10) de NaOH (0,11 N) utilisé pour titrer 10 ml de yaourt en présence de la phénolphtaléine. Ainsi $1^{\circ} D = 0,1 \text{ g/l}$ d'acide lactique.

$$\text{Acidité } (^{\circ}D) = V \times 10$$

V : volume de NaOH versé.

I-6-3- Dénombrement des bactéries lactiques du yaourt

I-6-3-1- Echantillonnages

D'après le suivi de temps de coagulation du yaourt qu'a été effectué, notre échantillonnage est basé sur le prélèvement du yaourt aux différents niveaux de production (chaque 30 min durant l'étuvage pendant 3 h).

Le prélèvement doit se faire toujours de manières stérile avant et après prélèvement afin d'éviter la contamination.

I-6-3-2- Dénombrement des bactéries lactiques

I-6-3-2-1- Mode opératoire

Afin de dénombrer les deux bactéries de type *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* dans le yaourt, on retire un pot du yaourt de chaque rapport est prélevé un volume de 1 ml de chaque échantillon du yaourt ajouter à 9 ml d'eau distillée ; puis l'ensemble est homogénéisé durant 2 min à la vitesse normale dans le vortex. Une série de dilution décimales jusqu'au 10^{-4} est réalisé à partir de la solution mère. Puis, prélevé un volume de 0,01 ml de suspension microbienne est le déposer stérilement à la surface du milieu MRS (pH =5,4), en dénombre seulement les boites contenant 3 à 60 colonies. Chaque dilution décimale est le déposer en 4 fois à raison de 6 boites pour chaque proportion des bactéries lactiques (**Bulard, 2012**).

I-6-3-2-2- Mode de calcul

D'après **Joffin et Leyral, (2006)**, les résultats sont exprimés selon la relation suivante :

$$N = \frac{\sum C}{(n_1 + 0,1 n_2) d}$$

N : Nombre total des cellules comptés dans les boites de péttrie (UFC/ml).

C : Nombre des colonies dans la boite de petri .

n₁ : nombre des boites compté à la dilution la plus faible.

n₂ : nombre des boites compté à la dilution la plus élevée.

d : valeur correspondant à la dilution à partir de laquelle les premiers dénombrements ont été retenus.

I-7- Analyses sensorielles

L'analyse sensorielle est la science développée pour permettre la mesure des propriétés sensorielles des aliments, qui vont évaluer le produit. Elle est permet par exemple d'évaluer l'effet d'un ingrédient du procédé de fabrication ou des conditions de conservation sur les propriétés sensorielles du produit **(Bauer et al, 2010)**.

Les qualités organoleptiques évaluées concernant le goût, la texture, l'arôme et aspect, l'aspect visuel qui consiste à examiner la surface des yaourts, texture, granulosité, couleur et l'aspect gustatif permettre à évaluer la saveur.

Tableau 10 : Appréciations de certaines propriétés organoleptiques du yaourt **(Bauer et al, 2010)**.

Appréciation	Caractères évaluées
Couleur	Jaunâtre
	Blanchâtre
Texture	Ferme
	Granulée
	Lisse
Goût	Bon
	Moyen
	Acide
	Amer
	Sucré
Odeur	Lait
	Yaourt nature
	L'ben

**Chapitre II :
Résultats et
discussion**

II-1- Résultats et discussion

II-1-1- Identification des bactéries

II-1-1- 1- Caractérisation macroscopique

Sur milieux M17 et MRS liquides : l'observation macroscopique du développement des deux genres montre un trouble dans le tube dû au caractère microaérophile (**photos A, B**).

Sur milieux M17 solides : l'apparition de petites colonies, bien isolées, de couleur blanchâtre, de surface lisse, avec une forme lenticulaire, et à contour régulier **photo C**.

Sur milieux MRS solides : les souches isolées produisent sur milieux MRS modifié solide à pH 5.0 après 48/72 h d'incubation à 45°C en anaérobiose, des petites colonies de forme ronde, de couleur blanche à crème avec une surface lisse **Photo D**.

Les résultats obtenus sont conformes à ceux décrits par **Lapointe-Vignola (2002)**.

II-1-1- 2- Caractérisation microscopique

Après coloration de Gram, les observations microscopiques révèlent que toutes les bactéries retiennent la couleur violette, donc elles sont Gram (+). Ces observations microscopiques ont permis aussi de déterminer la forme et le mode de regroupement :

Des coques disposées en paires et surtout en chaînes : *Str.salivarius* subsp. *thermophilus* **photoE**.

Des bâtonnets courts isolées ou en chainettes : *Lb.delbrueckii* subsp. *bulgaricus* **photo F**.

Les mêmes résultats sont décrits par **Badis et al (2005)**.

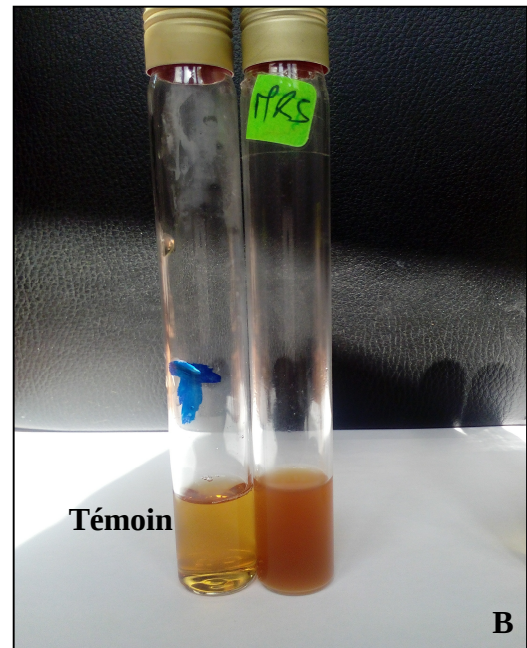
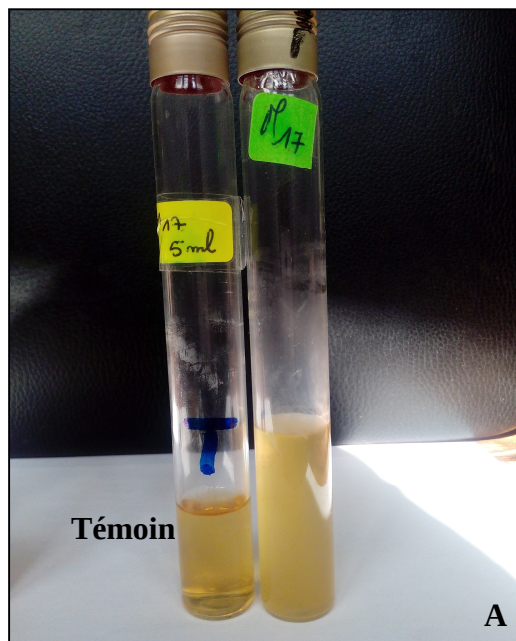


Figure 4: Aspect macroscopique des bactéries lactiques dans un milieu liquide (Bouillon)
photo A : Aspect macroscopique de *Str.thermophilus* (trouble) sur M17 après 24h d'incubation à 45°C.

photo B : Aspect macroscopique de *Lb. bulgaricus* (trouble) sur MRS après 24h d'incubation à 45°C.

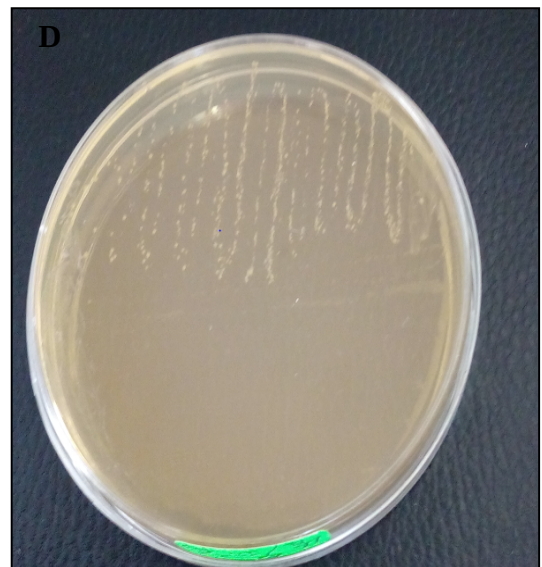
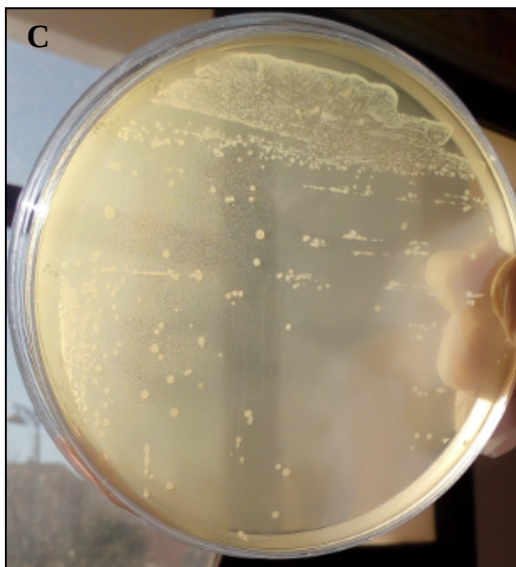


Figure 5: Aspect macroscopique des colonies sur un milieu solide (Gélose)

Photo C : Aspect des colonies de *Str. thermophilus* sur M17 solide après 24h d'incubation à 45°C.

Photo D : Aspect des colonies de *Lb.bulgaricus* sur MRS solide après 24h d'incubation en anaérobiose à 45°C.

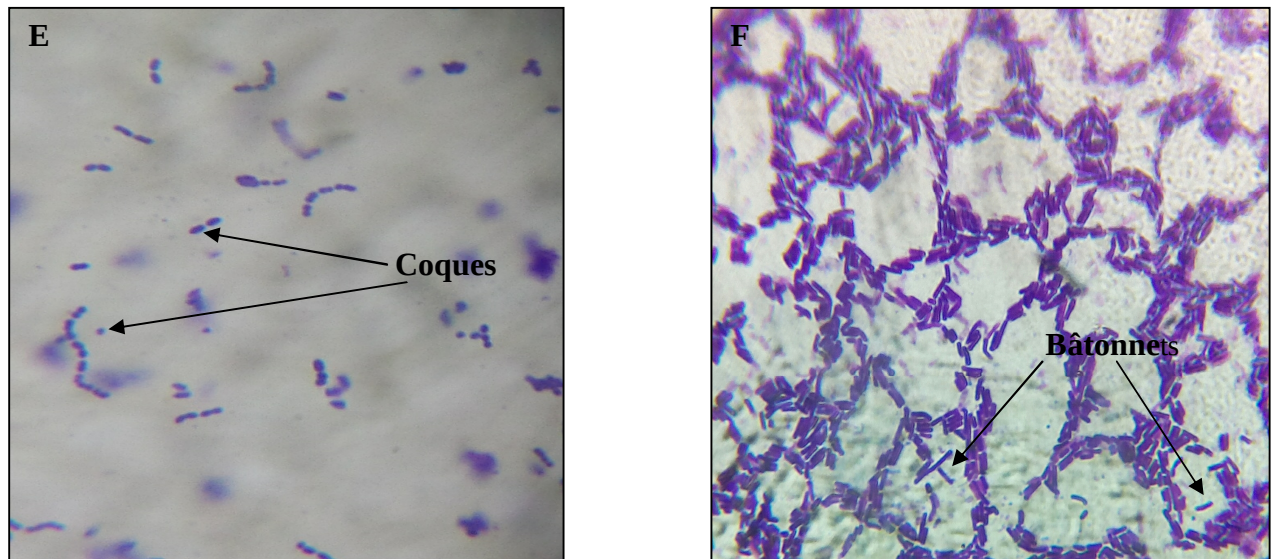


Figure 6: Aspect microscopique des bactéries lactiques

Photo E: Aspect microscopique de *Str. thermophilus* après coloration de Gram (100X).

Photo F : Aspect microscopique de *Lb. bulgaricus* après coloration (100X).

II-1-1-3-Tests biochimiques

➤ Test de catalase

Le test de catalase pour les deux souches révèlent une réaction négative (absence de bulles de gaz) donc les souches bactériennes utilisées sont toutes les deux de catalase (-).

➤ Type fermentaire

Pour le test de type fermentaire, on note l'inexistence de bulles de gaz au fond des cloches, qui signifie que les souches utilisent la voie homofermentaire dans leurs métabolismes.

Nos résultats sont comparables à ceux obtenus par **Guessas et kihal (2004)**.

II-2- Analyses physicochimiques

Les valeurs de la variation du pH et de l'acidité titrable en fonction du temps durant l'étuvage du yaourt sont indiquées dans les tableaux 13 et 14 (Annexe 7).

II-2-1- pH

La figure 7 montre l'évolution du pH du yaourt aux différents rapports Str/Lb du levain lactique. On constate que la variation du pH en fonction du temps évolue de la même manière quelle que soit le rapport Str/ Lb, il est au minimum 3,94 et au maximum 4,82. Ce qui nous permet de dire qu'il n'y a aucun effet de ce rapport sur le pH.

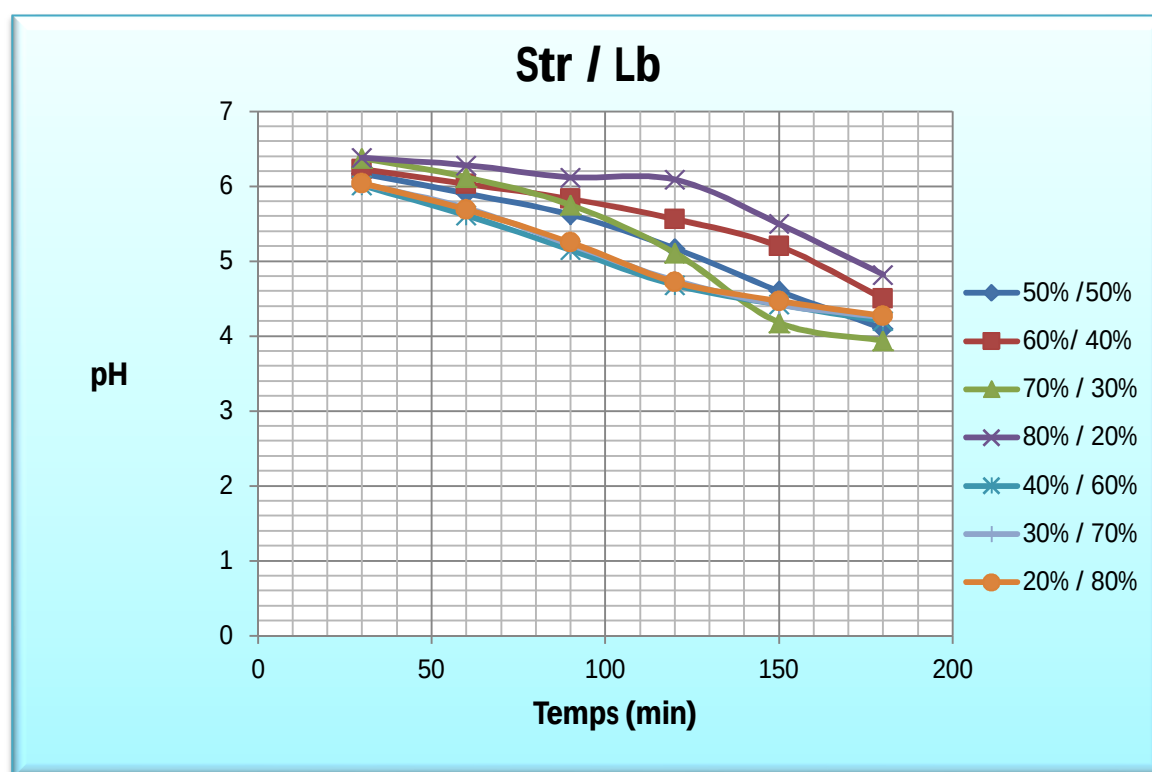


Figure 7 : Evolution du pH du yaourt aux différents rapports Str/Lb du levain lactique.

II-2-2- Acidité titrable (°D)

La figure 8 indique l'évolution de la variation de l'acidité (°D) du yaourt au cours de l'étuvage en fonction du temps de coagulation. Les courbes montrent que le rapport Str (60%) /Lb (40%) donne un yaourt répondant aux normes de bonne qualité (soit une acidité $\geq 70^{\circ}\text{D}$) (Dudez et al,2017).

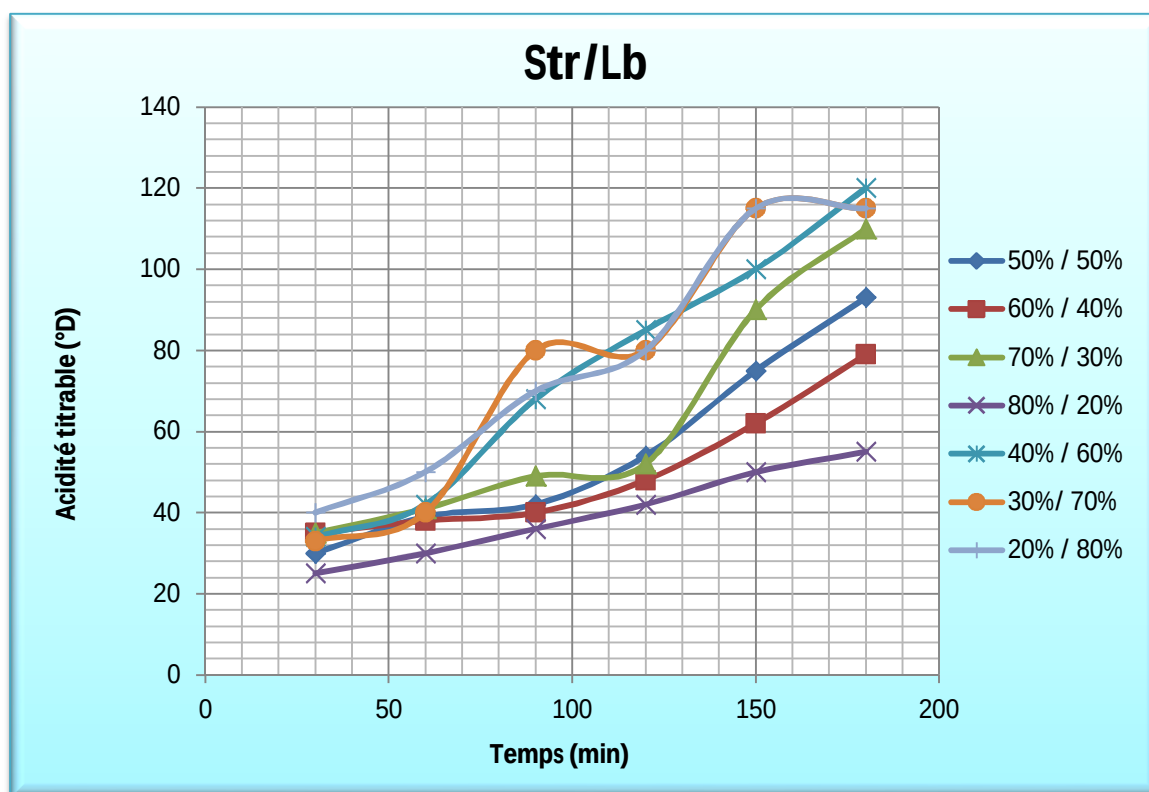


Figure 8 : Evolution de l'acidité titrable du yaourt aux différents rapports des souches lactiques.

I-2-3- Dénombrement des bactéries

Le tableau 11 montre l'évolution de la variation du nombre des ferments lactiques présents dans le yaourt au cours de l'étuvage en fonction du temps de coagulation.

Tableau 11 : Evolution du nombre des bactéries lactiques dans le yaourt aux différentes proportions des souches lactiques.

	Nombre des bactéries(log N)						
	Temps de couagulation (min)						
Rapports Str/Lb	0	30	60	90	120	150	180
20% /80%	4,99	5,69	6,80	5,96	4,72	4,56	/
30% /70%	5,53	6,81	6,71	5,80	4,78	4,50	/
40% /60%	4,51	6,57	4,57	4,9	4,67	5,89	5,13
50% /50%	4,77	4,84	4,85	4,89	4,98	6,56	4,88
60%/40%	4,53	4,63	4,77	5,79	5,00	4,74	4,70
70% /30%	5,55	4,85	4,96	5,15	4,97	6,29	5,02
80% /20%	5,83	5,8	5,87	5,87	4,92	5,59	4,63

D'après les valeurs de la variation du $\log(N)$ des bactéries lactiques indiquées dans le tableau on remarque:

- Au début les valeurs du $\log(N)$ des ferments sont pratiquement constants, elles varient entre 4,51 et 5,83, ceci est probablement dû aux erreurs de comptage (ou probablement de pré-culture).
- Aux rapports où les *Lactobacillus* sont majoritaires (Lb_{70%}/Str_{30%} et Lb_{80%}/Str_{20%}), il y a disparition des ferments au temps T₅ (2h30 min), indiquant des conditions défavorables au développement des bactéries lactiques.
- Aux rapports où les *Streptococcus* sont majoritaires (Lb_{30%}/Str_{70%} et Lb_{20%}/Str_{80%}), il n'y pas eu de disparition des ferments au temps T₅ (2h30 min), indiquant des conditions favorables au développement des bactéries lactiques.
- Quant aux rapports (Lb_{50%}/Str_{50%}) et (Lb_{40%}/Str_{60%}) la variation de leurs valeurs du $\log(N)$ sont restées pratiquement les mêmes lors de la période de l'étuvage, qui a duré 3 heures. Ces deux rapports donnent un yaourt répondant aux normes du pH et de l'acidité titrable (°D).

II-2-4- Analyses sensorielles

Les résultats de l'évaluation sensorielle du yaourt sont rassemblés dans le tableau 12.

A partir du test descriptif présenté aux différents membres du jury dégustateurs, nous avons constaté d'une manière générale que la plupart d'entre eux ont indiqué que tous les échantillons du yaourt ont une couleur blanchâtre, une texture plus ou moins ferme avec une odeur du yaourt nature pour certains et pour d'autres il y a présence d'une odeur de L'ben, mais l'acidité reste légèrement différente d'un rapport à un autre.

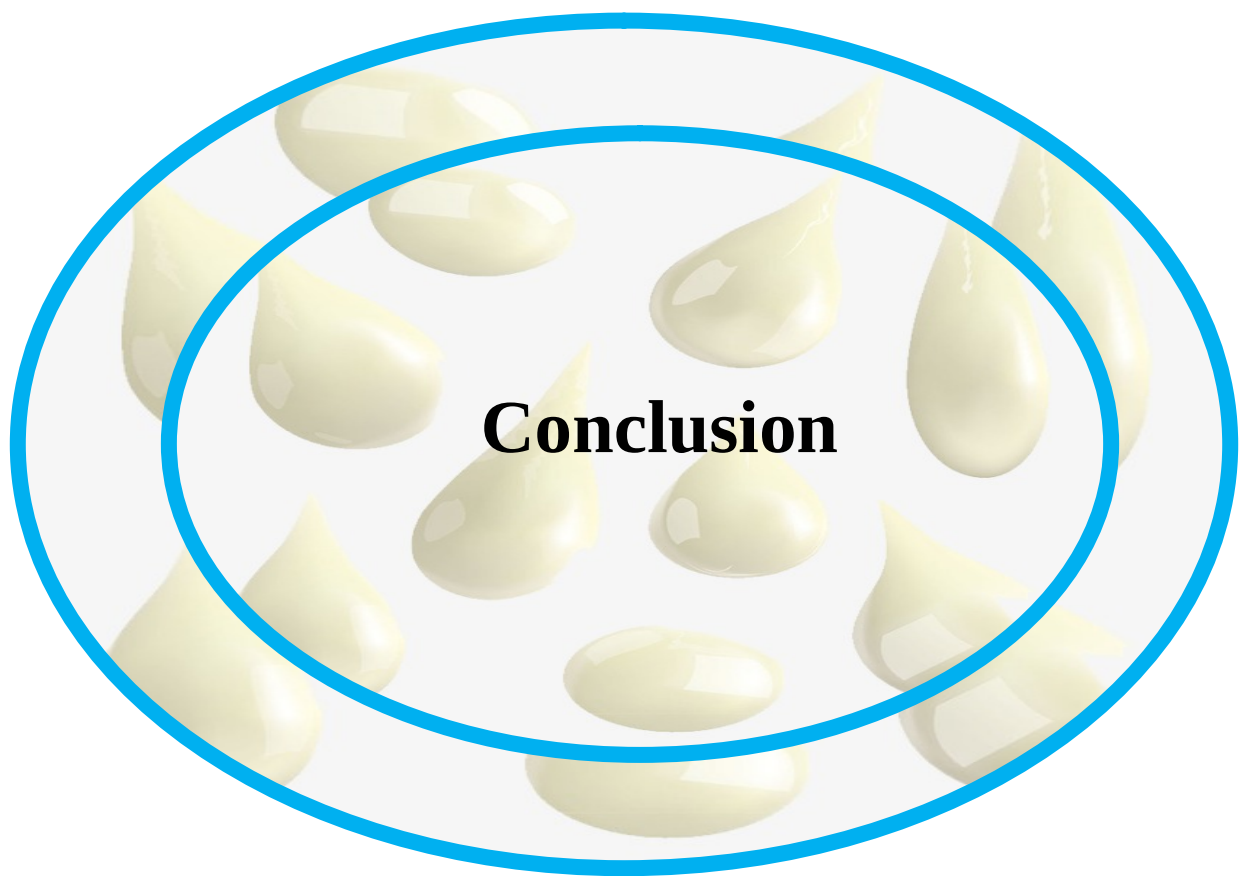
Dans le tableau 12, on peut constater que l'évaluation par le jury des propriétés organoleptiques des différents yaourts obtenus, a révélé :

- Aux rapports où les *Lactobacillus* sont majoritaires, la présence d'arôme de l'ben caractéristique de la production des composés aromatiques par l'action métabolique des bactéries *Lactobacillus bulgaricus* et une acidité trop élevée liée à l'activité des bactéries lactiques qui auraient produit de l'acide lactique.
- Aux rapports où les *Streptococcus* sont majoritaires et surtout le rapport Str_{60%}/Lb_{40%}, le yaourt présente une couleur blanchâtre, une texture lisse, plus ferme, une acidité moyenne et une odeur d'un yaourt nature.

La représentation graphiques du pH, de l'acidité et l'appréciation de certaines propriétés organoleptiques des membres de dégustation confirment que le yaourt du rapport Str_{60%}/Lb_{40%} et Str_{50%}/Lb_{50%} répondent aux normes de qualités physicochimiques et organoleptiques du yaourt.

Tableau 12 : Propriétés organoleptiques du yaourt au rapport différent.

Rapports Str/ Lb	Caractéristiques			
	Couleur	Texture	Goût	Odeur
20% / 80%	100% blanchâtre 0% Jaunâtre	10% granulée 0% ferme 90% lisse	80% acide 0% amer 10% bon 10% moyen 0% sucré	0% lait 40% L'ben 60% yaourt nature
30%/ 70%	100% blanchâtre 0% Jaunâtre	10% granulée 0% ferme 90% lisse	80% acide 0% amer 10% bon 10% moyen 0% sucré	0% lait 30% L'ben 70% yaourt nature
40%/ 60%	100% blanchâtre 0% Jaunâtre	0% granulée 0% ferme 100% lisse	50% acide 0% amer 20% bon 30% moyen 0% sucré	0% lait 20% L'ben 80% Yaourt nature
50% /50%	100% blanchâtre 0% Jaunâtre	0% granulée 80% ferme 20% lisse	20% acide 0% amer 20% bon 80% moyen 0% sucré	0% lait 0% L'ben 100% Yaourt nature
60% / 40%	100% blanchâtre 0% Jaunâtre	0% granulée 90% ferme 100% lisse	10% acide 0% amer 80% bon 10% moyen 0% sucré	0% lait 0% L'ben 100% Yaourt nature
70% / 30%	100% blanchâtre 0% Jaunâtre	10% granulée 80% ferme 90% lisse	60% acide 0% amer 20% bon 10% moyen 10% sucré	0% lait 0% L'ben 100% Yaourt nature
80% / 20%	100% blanchâtre 0% Jaunâtre	10% granulée 10% ferme 80% lisse	80% acide 0% amer 10% bon 10% moyen 0% sucré	0% lait 0% L'ben 100% Yaourt nature



CONCLUSION

Le yaourt apparaît comme un produit laitier très digeste qui possède une valeur nutritionnelle et que est apprécié par le consommateur pour son goût et sa texture.

Ce travail a pour but d'étudier la cinétique de croissance des bactéries lactiques (ferments lyophilisés) du yaourt ferme aux différents rapports (*Streptococcus/ Lactobacillus*). Des analyses physico-chimiques et microbiologiques (pH, acidité Dornic, dénombrement sur boîte) ont été effectuées au cours de l'étuvage, suivi d'une évaluation sensorielle par un jury de dégustation sur les qualités organoleptiques (couleur, goût, texture et odeur).

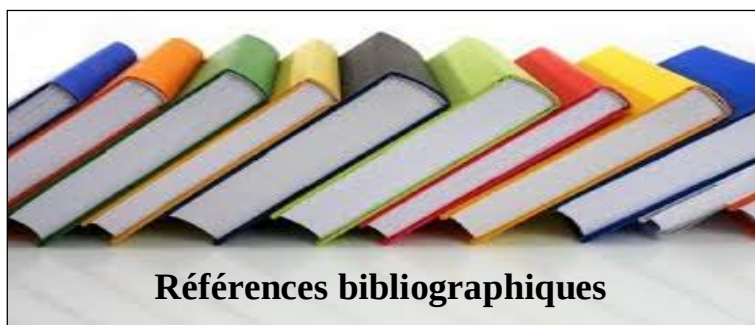
Les résultats obtenus, montrent que :

- Le pH diminue au cours de la fermentation, alors que l'acidité titrable augmente progressivement pour l'ensemble des proportions (Str/Lb) utilisés. La production de l'acide lactique en grande quantité présente un effet inhibiteur sur la croissance de la flore lactique particulièrement *Lactobacillus bulgaricus*.
- Le taux de croissance où les *Lactobacillus* sont majoritaires est plus important que celui des *Streptococcus*.
- L'ensemble des résultats de l'évaluation de la qualité organoleptique du yaourt ont révélé que le rapport Str_{60%}/Lb_{40%} donne un yaourt de bonne qualité avec un temps de coagulation réduit.

Les résultats physicochimiques, microbiologiques et l'évaluation sensorielle, nous permettent de dire que le yaourt obtenu au rapport (Str 60%/Lb 40%) est de bonne qualité.

En perspective, nous recommandons d'effectuer des analyses sensorielles plus approfondies et d'utiliser un jury de dégustation professionnel.

**Références
Bibliographiques**



.A.

 **Alain BRANGER. (2004).** Fabrication de produits alimentaires par fermentation : les ferments.

 **Alain Branger. (2007).** Microbiochimie et alimentation, 343 pages.

 **Aly SAUADOGO, Alfred S.TRAORE. (2011).** La flore microbienne et les propriétés fonctionnelles des yaourts et lait fermenté, 19 pages.

. B .

 **BADIS. A., LAOUABDIA-SELLAMI. N., GUETAMI. D., KIHAL. M., OUZROUT.R. (2005).** Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locale « ARABIA et KABYLE » Sciences & Technologie, pages 30 à 37.

 **Bulard E. (2012).** L'adhésion bactérienne sondée à l'échelle moléculaire. Thèse de Doctorat. Université Paris-Sud, Paris.

.C.

 **Carl A. Batt, Mary Lou Tortorello. (2014)** .Encyclopedia of Food Microbiology, 3248 pages.

 **Carole Lapointe-Vignola. (2002).** Science et technologie de lait : transformation de lait, Fondation de technologie laitières du Québec, 600 pages.

 **Catherine BEAL, Isabelle Socini . (2003).** Fabrication des yaourts et des laits fermentés.

 **Codex alimentarius. (1975).** Lait et produits laitier.

 **Courrieu Georges, LUQUET Francois. (2008).** Bactéries lactiques. De la génétique aux ferments , 872 pages.

. D .

 **Daniell Cachau-Herreillat. (2009).** Des expériences de la famille acide-base, 392 pages.

 **DELARRAS Camille. (2014).** Pratique en microbiologie de laboratoire ? Recherche de bactéries et de levures-moisissures, 772pages.

. E .

 **Elisabeth Guichard. (2012).** Texture et Flaveurs des aliments : vers une conception maîtrisée, 298pages.

. F .

 **FAO et OMS. (2000).** Lait et produits laitier, 136 pages.

 **FAO et OMS. (2011).** Lait et produits laitiers, pages 257.

 **FAO: Alimentation et Nutrition n° 28, 1995.** Lait et produits laitiers dans la nutrition humaine, 271 pages.

 **Fetih Yildiz. (2010).** Developpement and Manufacture of yogurt and other Fonctional Dairy Product, 451 pages.

 **François Denis. (2007).** Bactériologie médicale : Technique usuelle, 553 pages.

 **From Algerian Arid Zone Raw Goat's /Milk.** African Journal of Biotechnology, pages 339 à 342.

. G .

 **Gerald W. Tannock .(2005).**Probiotics and Prebiotics, 230 pages.

 **GUESSAS B, KIHALL M. (2004).** Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated

. H .

 **Henri Dupin. (1992).** Alimentation et nutrition humaine, 1533 pages.

 **Henri- Eaic SPINNLER. (2008).** Transformation et conservation des produits agroalimentaires.

 **Houda Mahrous, Weddad M El-Kholy and Rafaat M Elsanhoty . (2014).**
Production of New Synbiotic Yoghurt with Local Probiotic Isolate and Oat Study its Effect on Mice, 7 pages.

. J .

 **J.Mendham. (2005).** Analyse chimique quantitative de Vogel ,920 pages.

 **Joffin J.N et Leyral G. (2006) .Microbiologie technique 2.** Documentation technique Bordeaux.

 **Jean-Louis Schlienger. (2011).** Nutrition Clinique Pratique, 336 pages.

. L .

 **Lamye Glory Moh¹, Suffo Kamela Arnaud Landry¹, Pamo Tendonkeng Etienne², Kuiat Jules-Roger¹ . (2017) .Physical and Chemical Quality Appraisal of Locally Made Yoghurt Markted in Some Regions of Cameron, 9 pages.**

. M .

 **Magali Pradal . (2012).** La transformation fromagère caprine fermière : Bien fabriquer pour mieux valoriser ces fromages de chèvre, 295 pages.

 **Maryvonne Lassalle-d Salins . (2012).** Lobbying de l'agroalimentaire et normes internationales : le cas du codex alimentaire, 264 pages.

. P .

 **Philippe DUDEZ, Martine François, Christine RAIFFAUD . (2017).** Transformer les produits laitiers frais à la ferme, 126pages.

. R .

 **Romain J, Thomas C, Michel M, Pierre S, Gérard B . (2008).** Les produits laitiers, 200 pages.

. S .

 **S. LAIRINI¹, N. BEQQALI¹, R. BOUSLAMTI¹, R. BELKHOU¹ et ZERROUQ¹. (2014).** Isolement des bactéries lactiques à partir des produits laitiers traditionnelles Marocaine et formulation d'un lait fermenté proche de Kéfir, 11pages.

. V .

 **Vos P, Garrity G, Jones D, Kriej N, Ludwing W, Rainy F, Schleifer K, Whitman. W. (2011).** Bergey's Manuel of Systematic bacteriology: volume 3: The Firmicute, 1450 pages.

. W .

 **Werner J. Buaer, Raphaël Badoud, Jürg Loliger. (2010).** Science et technologies des aliments, 720 pages.

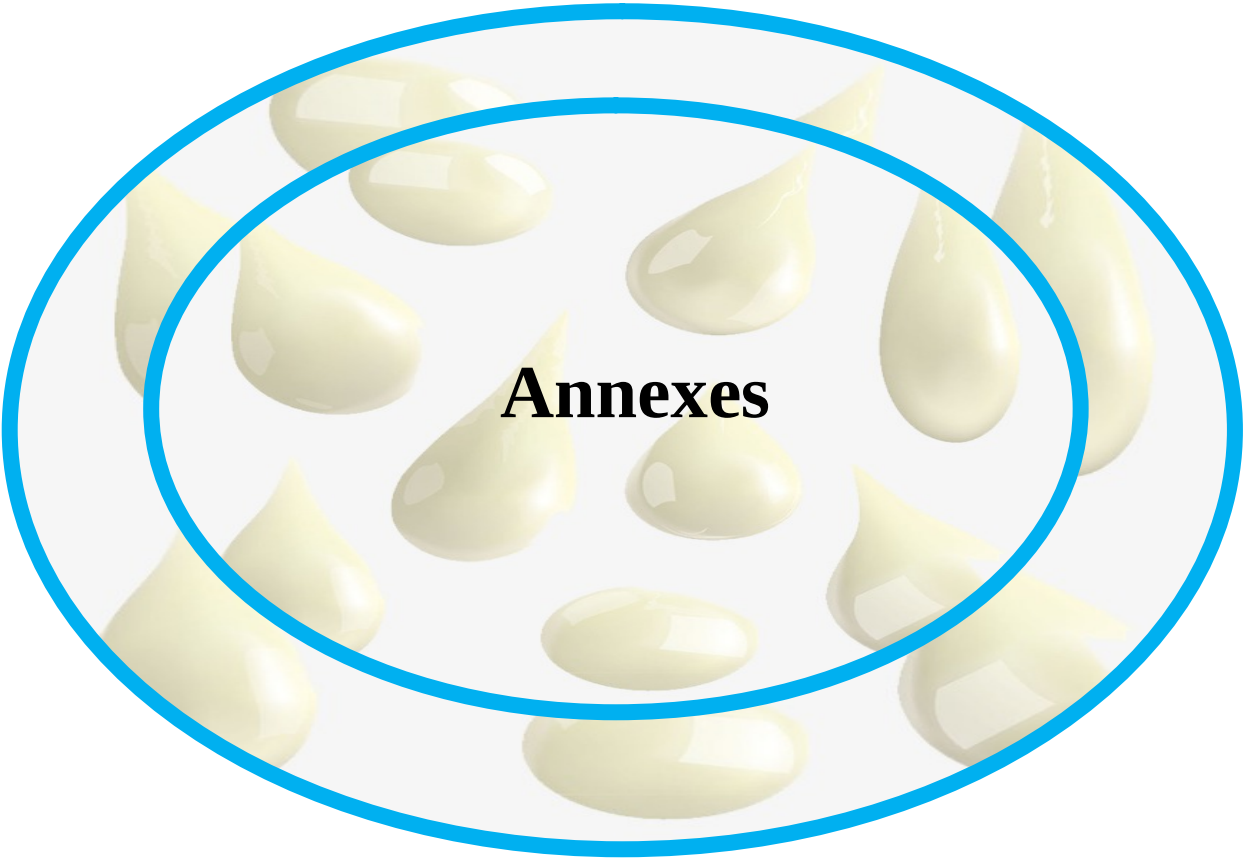
. Y .



Y.Hachana¹, R. RAJEB¹, N. CHIBOUB¹, I.A ZNEIDI¹ . (2017). Etude de facteurs de variation de la qualité du yaourt durant le processus de production, 11 pages.



Yi-Wei Tang, Charles W. Stratton.(2018). Technique avancées en microbiologie diagnostique, 541 pages.



Annexes

Annexes

Annexe 1 : Composition des milieux de culture

Milieu M17

Acide ascorbique	0,5g
Eau distillée	1000ml
Extrait de levure	2,5g
Extrait de viande	5g
Lactose	5g
MgSO ₄	0,25g
Peptone de caséine	10g
Peptone papaïne de soja	5g
Peptone persique de viande	2,5g
B-glycérophosphate	19g
pH = 6,2	

Milieu MRS

Acétate de sodium	5g
Citrate de sodium	2g
Eau distillée	1000ml
Cystéine-HCL	0,5g
Extrait de levure	5g
Extrait de viande	10g
Glucose	20g
KH ₂ PO ₄	2g
MgSO ₄	0,25g
MnSO ₄	0,05g
Peptone	10g
pH= 6,2 et diminue avec HCl pure (96%) à pH= 5	
CaCO ₃ (1g/L)	

Annexes

Tous les milieux sont stérilisés par un autoclavage à 120°C pendant 20min.

Lait écrémé

Eau distillée	100ml
Lait écrémé	10g

Préparation du lait écrémé

- ❖ 10 g de lait écrémé en poudre mélangée avec 100 ml d'eau distillée ;
- ❖ Homogénéisation ;
- ❖ Verser dans des tube stériles ;
- ❖ Stérilisation à 110°C pendant 10 min ;
- ❖ Refroidir et ensuite inoculée par les bactéries lactiques standardisées.

Annexe 2 : Coloration de Gram

La coloration de gram a été effectuée par la méthode suivante :

Sur une lame, fixer à la chaleur une culture bactérienne.

- Recouvrir la lame avec la solution de violet de gentiane pendant une Minute.
- Ajouter du lugol pendant une minute.
- Décolorer avec de l'alcool à 30 min, puis rincer à l'eau distillée .
- Colorer avec la fuchsine et laisser agir à une minute.
- Laver à l'eau distillée.
- Après séchage, soumettre à une observation microscopique à immersion (G×100).

Annexes

Annexe3



Figure 9 : Matières premières utilisées

Annexe4



Figure 10 : Les levains lactiques aux différents rapports

Annexe 5

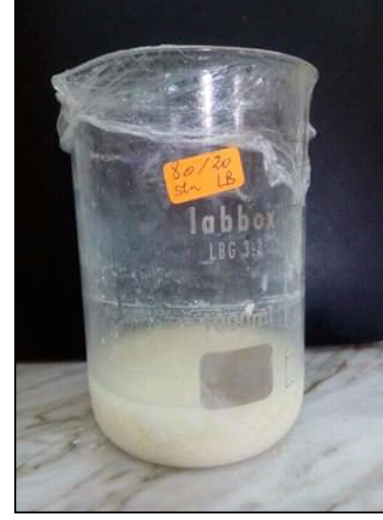
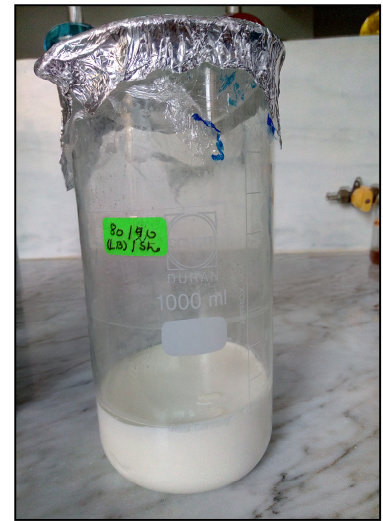


Figure 11 : Le yaourt aux différents rapports

Annexes

Annexe 6

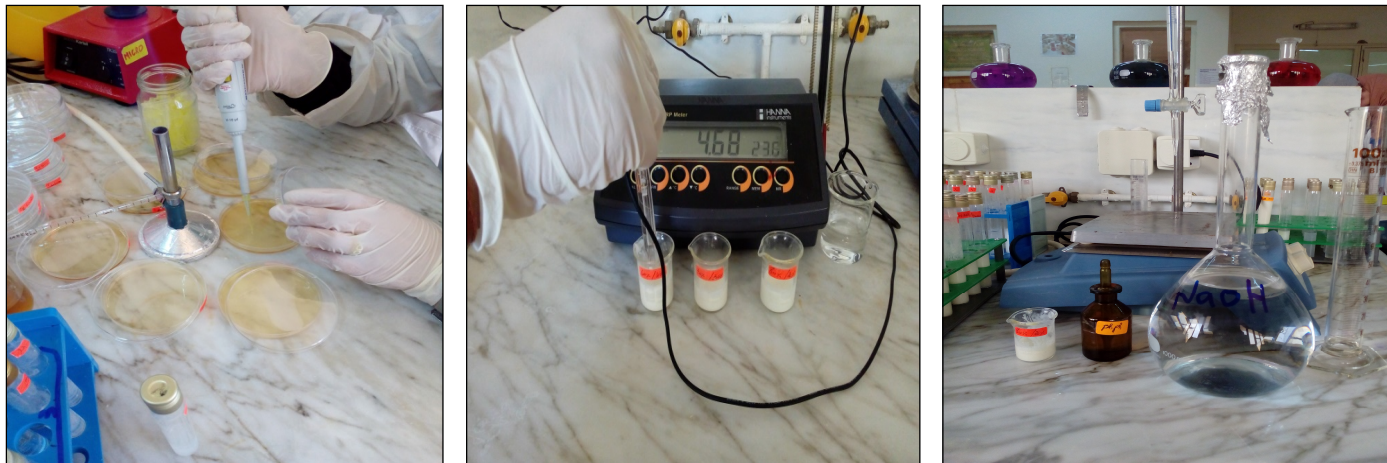


Figure 12 : Techniques d'analyses physicochimiques et microbiologiques

Annexe 7

Tableau 13 : Paramètres physicochimiques du yaourt (*Streptococcus* majoritaire).

Rapport	Str ₆₀ /Lb ₄₀		Str ₇₀ / Lb ₃₀		Str ₈₀ / Lb ₂₀		Str ₅₀ / Lb ₅₀	
Paramètres temps	pH	°D	pH	°D	pH	°D	pH	°D
T ₁	6,23	35	6,37	35	6,38	25	6,17	30
T ₂	6,03	38	6,12	41	6,28	30	5,9	39
T ₃	5,83	40	5,75	49	6,12	36	5,62	42
T ₄	5,56	48	5,11	52	6,09	42	5,17	54
T ₅	5,20	62	4,18	90	5,5	50	4,6	75
T ₆	4,5	79	3,94	110	4,82	55	4,1	93

Tableau 13: Paramètres physicochimiques du yaourt (*Lactobacillus* majoritaire).

Rapport	Lb ₆₀ /Str ₄₀		Lb ₇₀ /Str ₃₀		Lb ₈₀ /Str ₂₀	
Paramètres temps	pH	°D	pH	°D	pH	°D
T ₁	6,01	34	6,03	33	6,04	40
T ₂	5,61	42	5,71	40	5,69	50
T ₃	5,15	68	5,22	80	5,25	70
T ₄	4,68	85	4,74	80	4,72	80
T ₅	4,42	100	4,42	115	4,47	115
T ₆	4,2	120	4,25	115	4,27	115

Résumé

Après l'isolement, purification et identification des bactéries lactiques, caractéristiques de la fabrication du yaourt (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*) à partir des souches lyophilisées mixtes, nous avons préparé les levains lactiques aux différents rapports, puis inoculé dans le lait reconstitué pasteurisé à 92°C. Des analyses physicochimiques (pH et acidité titrable), microbiologiques (dénombrement des bactéries) et sensorielles (couleur, goût, texture, odeur) ont été effectuées sur les yaourts obtenus. Les résultats de ces analyses montrent que le rapport Str_{60%}/Lb_{40%} donne un yaourt de bonne qualité (pH=4,5 et °D=79) avec un bon goût, une texture ferme et une odeur d'un yaourt nature.

Mots clé : yaourt nature, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, rapports en ferments, cinétique de croissance, pH, acidité titrable, évaluation sensorielle.

ملخص

بعد العزل، التنقية والتعرف على البكتيريا الخاصة بصناعة ياغورت من سلالات مختلطة مخففة بالتجميد، قمنا بتحضير الخميرة اللبنية بنسب متفاوتة و اضافتها الى حليب محضر ومعقم على درجة حرارة 92°م. ثم اخضعنا المنتج ياغورت الى تحاليل فيزيوكيميائية (درجة الحموضة و كمية الحمض اللبني) ميكروبيولوجية (عد البكتيريا) وحسية (اللون، الذوق، القوام والرائحة). اظهرت نتائج هذه التحاليل ان المزيج Str_{60%}/Lb_{40%} يعطينا ياغورت ذو نوعية جيدة، قوام متماسك، رائحة ياغورت طبيعي بدوق رفيع (درجة الحموضة = 4,5 و كمية الحمض اللبني = 79 °D).

الكلمات المفتاحية: *Streptococcus thermophilus*، *Lactobacillus bulgaricus*، نسبة الخميرة ، ياغورت طبيعي، حركية النمو، درجة الحموضة، كمية الحمض اللبني، تقييم حسي.