



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques



Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine Des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Analyse et contrôle de qualité des denrées alimentaires

Thème

**Évaluation de la qualité physico-chimique et microbiologique
du yaourt en fonction des conditions de conservation**

Présenté par: BEN MAMMAR Merbouha

KOUAR Noura

KAHIL Warda

Devant le jury :

Président : Mm Hihat.S

M.A.B (Univ. El Bachir El Ibrahimi B.B.A.)

Encadrant: Mm Baaziz.N

M.C (Univ. El Bachir El Ibrahimi B.B.A.)

Examineur: Mm Benouadah.Z

M.A.A(Univ. El Bachir El Ibrahimi B.B.A.)

Année universitaire : 2016/2017

Remerciements

Je tiens à remercier en tout premier lieu « DIEU » le Tout-Puissant de nous avoir donné le courage, la volonté, la patience et la santé durant toutes ces années d'étude, et que grâce à lui ce travail a peut être réalisé.

Madame le Dr BAAZIZ NAÏMA. Enseignant à l'université de Mohamed El Bachir El Ibrahimi, Bordj Bou Arréridj, pour avoir encadré ce mémoire et qui nous a suivi au cours de l'élaboration de ce travail.

Elle a toujours été disponible pour répondre à nos questions.

Tout notre respect et notre profonde reconnaissance.

Nos remerciements vont de même aux autres membres de jury. Enseignants à l'université de Mohamed El Bachir El Ibrahimi, Bordj Bou Arréridj qui nous ont fait l'honneur de participer au jury afin d'évaluer et enrichir ce mémoire. Une pensée affectueuse est adressée Aux membres de notre familles en particulier notre parents, notre sœurs et notre frères, Pour leur soutien sans limite et leur encouragement durant toutes mes années d'étude.

Dédicace

Je dédie mon travail :

*A ma mère « TORKIA » ma tante les perles
les plus chère, La source de tous mes espoirs.*

*A la lumière de mes jours, la source de mes
efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et
mon bonheur*

*A mon père « DJAMEL » La base de toute ma
carrière, Je le remercie à ma Manière, Car il
est le plus cher qui existe sur terre.*

*A mes chers frères «sohbi» et « okba» merci,
vous êtes toujours là pour me soutenir*

*A mes très chères sœurs «WARIDA» et
«Donia » et «SABRA » merci, vous êtes toujours
là Pour me soutenir*

A mes chers tout mes amies

*Enfin Je remercie chaleureusement tous les
personnes qui ont Participé de près ou de loin à la
réalisation de ce travail.*

MERBOUHA.B

Je dédie ce mémoire

A mes chères parents ma mère et mon père

Pour leur patience, leurs amour, leurs soutient et leurs

Encouragement

A mes chères sœurs Hamama, Soumia, Aichouch et Marwa

A mes chers frères Lakeder, Said, et Anter

A mes très chère grande mère ftayma et zohra

A mes oncles

A mes cousines

A tous les familles : kouare et megadmi

A mes amies qui sont chères : Ahlame, Djahida,

Hanan, Ibtissame, Karima, Khadîdja,

Kouloud, Soriya , warda

Sans oublier mon binôme Marbouha et warda

« A tout ceux qui ont sacrifié leur temps pour la science

et à tous ceux qui utilisent la science pour le bien et la

prospérité de l'humanité ».

NORA.K

*Je dédie ce mémoire
à la source de la tendresse, ma mère Yamina pour sa
gentillesse sa douceur, pour s affection, son amour se et ses
sacrifices et ses encouragements.*

*A mon très cher père belkacem, pour sa confiance, ses
encouragements et son soutien dans toute ma carrière
d'étude*

A mes chères sœurs Amel et Chaima

A mes chers frères Nejmeddine et Islam

A toute la famille Kahil

A ma très chère binôme Nora et Merbouha

*A mes amies :Lobna, Samira.M, Samira.A, Khalis, Nabila,
Bochra, Nawel , Anissa, Shgira, Ibtisseme, Rahma,
Khadija, Warda, Soria, Kouloude, Khadija*

A tous qui me connait

Warda.K

Liste des abréviations

°D: degré dornic.

AFNOR : Agence Française de Normalisation.

a_w : L'activité de l'eau.

d : densité.

DLC : la date limite de consommation.

Ech : Echantillon.

EPS: exopolysaccharide.

FAO: Food and Agriculture Organization.

FMAT: Flore Mésophile Aérobie Totale.

GC : Giolliti Contonii.

GAMT : Germe Aérobie Mésophile Totaux.

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène.

ISO: Organisation International de Normalisation.

J.O.R.A : Journal Officiel de la république Algérienne.

Kcal : Kilocalorie.

Kg : kilogramme.

Lb : Lactobacillus.

MG : Matière Grasse.

NPP : Nombre le Plus Probable.

ms: millisiemens.

NaCl : Chlorure de sodium.

NaOH : Hydroxyde de sodium.

NF : Norme Française.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

pH : potentiel d'hydrogène.

PCA: Plate Count Agar.

S.t : streptococcus.

SM : suspension mère.

UFC : unités formant colonie.

UFC/ml : Unité Formant de Colonie par millilitre.

U.I : unité internationale.

UHT : ultra haut température.

VRBG : violet red bile glucose agar.

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 1 : Modèle de micelle de caséine avec sous-unités. | |
| Figure 2 : la filière des produits laitiers..... | 10 |
| Figure 3 : Composition physicochimique du yaourt..... | 15 |
| Figure 4 : Les bactéries lactiques du yaourt..... | 20 |
| Figure 5 : voie d'utilisation du lactose par les ferments du yaourt..... | 21 |
| Figure 6 : Diagramme générale de fabrication des yaourts et des laits fermentés.... | 29 |
| Figure 7 : Schéma général des analyses réalisées sur le yaourt..... | 30 |
| Figure 8 : les variations du pH en fonction de temps et de la température..... | 35 |
| Figure 9 : les variations de la densité en fonction de temps et de la température..... | 36 |
| Figure 10 : les variations de la conductivité en fonction de temps et de la température..... | 37 |
| Figure 11 : les variations de l'acidité Dornic en fonction de temps et de la température..... | 38 |
| Figure 12 : Evolution des FTAM en fonction du temps et de la température..... | 39 |
| Figure 13 : Evolution des coliformes totaux en fonction du temps et de la température..... | 41 |
| Figure 14 : Evolution des levures et moisissures en fonction du temps et de la température..... | 42 |
| Figure 15 : l'évolution de pH en fonction de temps après l'ouverture des pots..... | 42 |
| Figure 16 : l'évolution de la densité en fonction de temps après l'ouverture des pots..... | 43 |
| Figure 17 : l'évolution de la conductivité en fonction de temps après l'ouverture des pots..... | 44 |
| Figure 18 : l'évolution de l'acidité dornic en fonction de temps après l'ouverture des pots..... | 44 |

Figure 19 : l'évolution des FTAM et en fonction de temps après l'ouverture des pots.....45

Figure20 : l'évolution des coliformes totaux en fonction de temps après l'ouverture des pots.....46

Figure 21: l'évolution des levures et moisissures en fonction de temps après l'ouverture des pots.....47

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau I : La composition moyenne du lait entier..... | 4 |
| Tableau II : Classification des protéines..... | 6 |
| Tableau III : Composition minérale du lait de vache..... | 7 |
| Tableau IV : Composition vitaminique moyenne du lait cru..... | 8 |
| Tableau V : Teneur moyenne du yaourt pour 100g de produit..... | 15 |
| Tableau VI : Normes microbiologiques pour les yaourts..... | 26 |
| Tableau VII : donne les causes possibles d'homogénéisation inadéquate d'un mélange et les incidences sur la qualité du yaourt..... | 28 |

Sommaire

| | |
|------------------------------------|----------|
| Résumé | |
| Remerciement | |
| Dédicace | |
| Liste des abréviations | |
| Liste des figures | |
| Liste des tableaux | |
| Introduction Générale | 1 |

Partie bibliographique

Chapitre I : Généralité sur le lait

| | |
|--|----|
| I.1. Définitions de lait..... | 3 |
| I.2. Composition physico-chimique du lait..... | 3 |
| I.2.1. Eau..... | 5 |
| I.2.2. Matière grasse..... | 5 |
| I.2.3. Protéines..... | 5 |
| I.2.3.1. Caséines..... | 5 |
| I.2.3.2. Protéines du lactosérum..... | 6 |
| I.2.4. Lactose..... | 7 |
| I.2.5. Minéraux..... | 7 |
| I.2.6. Vitamines..... | 8 |
| I.3. Propriétés physico-chimiques du lait..... | 8 |
| I.3.1. Masse volumique..... | 9 |
| I.3.2. Point de congélation..... | 9 |
| I.3.3. Point d'ébullition..... | 9 |
| I.4. Les produits laitiers..... | 10 |
| I.4.1. Fromage..... | 11 |
| I.4.2. Fromage frais..... | 11 |
| I.4.3. Crèmes laitière et beurre..... | 11 |

Chapitre II : Généralité sur le yaourt

| | |
|---|----|
| II.1. Historique..... | 12 |
| II.2. Définitions..... | 12 |
| II.2.1. Yaourt..... | 12 |
| II.2.2. Lait fermentés..... | 12 |
| II.2.3. fermentation..... | 12 |
| II.3. Constituants du yaourt..... | 13 |
| II.3.1. le lait..... | 13 |
| II.3.1.1. les types de lait utilisés dans la fabrication du yaourt..... | 13 |
| II.3.1.1.1. le lait en poudre..... | 13 |
| II.3.1.1.2. le lait frais..... | 13 |
| II.3.2. Les ferments..... | 14 |
| II.3.3. Les fruits..... | 14 |
| II.3.4. Les additifs..... | 14 |
| II.4. les caractéristiques..... | 14 |
| II.4.1. les caractéristiques physicochimiques..... | 14 |

| | |
|---|----|
| II.4.2. les caractéristiques nutritionnelles..... | 15 |
| II.4.3.les caractéristiques organoleptiques..... | 16 |
| II.4.3.1.Facteurs influençant les caractéristiques sensorielles..... | 17 |
| II.4.3.1.1. Goût..... | 17 |
| II.4.3.1.1.1.Teneur en graisses..... | 17 |
| II.4.3.1.1.2.Cultures de démarrage..... | 17 |
| II.4.3.1.1.3. Addition des poudres/protéines de lait..... | 17 |
| II.4.3.1.1.4.Durée de conservation..... | 18 |
| II.4.3.1.2.Texture..... | 18 |
| II.4.3.1.3. Apparence..... | 18 |
| II.4.3.1.4. Odeur..... | 18 |
| II.5.Classification du yaourt..... | 18 |
| II.6.Microflore de yaourt..... | 19 |
| II.6.1.Flore bénéfique (les bactéries lactiques)..... | 19 |
| II.6.1.1.Définition..... | 19 |
| II.6.1.2.Caractéristiques générales des bactéries du yaourt..... | 19 |
| II.6.1.2.1. <i>Streptococcus thermophilus</i> | 19 |
| II.6.1.2.2. <i>Lactobacillus bulgaricus</i> | 20 |
| II.6.1.3.rôles des ferments du yaourt..... | 20 |
| II.6.1.4.voie d'utilisation du lactose par les ferments du yaourt..... | 20 |
| II.6.1.5. Intérêt et fonctions des bactéries du yaourt..... | 21 |
| II.6.1.5.1. Production d'acide lactique..... | 21 |
| II.6.1.5.2. Activité protéolytique..... | 21 |
| II.6.1.5.3. Activité aromatique..... | 22 |
| II.6.1.5.4. Activité texturant..... | 23 |
| II.6.1.6. Principaux facteurs influençant sur le métabolisme des bactéries lactiques..... | 23 |
| II.6.1.6.1.Facteurs physiques..... | 23 |
| II.6.1.6.2. Facteurs chimiques..... | 23 |
| II.6.1.6.3. Facteurs microbiologiques..... | 24 |
| II.6.2.La flore de contamination..... | 24 |
| II.6.2.1.Germes témoins de contamination fécale..... | 25 |
| II.6.2.1.1.Les coliformes totaux..... | 25 |
| II.6.2.1.2. Les coliformes fécaux..... | 25 |
| II.6.3.Normes microbiologiques pour les yaourts..... | 25 |
| II.6.4.Intérêt de la recherche des micro-organismes..... | 26 |
| II.6.5.Défauts et altérations du yaourt..... | 26 |
| II.7.Les différentes étapes de fabrication du yaourt..... | 26 |
| II.7.1. Réception de lait..... | 26 |
| II.7.2. La préparation du lait..... | 26 |
| II.7.3. Le traitement thermique (pasteurisation)..... | 27 |
| II.7.4.L'homogénéisation..... | 27 |
| II.7.5. L'ensemencement..... | 28 |
| II.7.6 .La conservation du yaourt..... | 28 |

Partie expérimentale

| | |
|--|-----------|
| Chapitre III : Matériel et méthode | |
| III.1. Description des échantillons analysés..... | 30 |
| III.1.1. Echantillonnage..... | 31 |
| III.1.1.1. Prélèvements..... | 31 |
| III.1.1.2. Techniques de prélèvement..... | 31 |
| III.1.1. 3. Appareillage et produits chimiques..... | 31 |
| III.2. Analyses physico-chimique..... | 31 |
| III.2.1. Détermination de pH..... | 31 |
| III.2.2. Détermination de la densité..... | 31 |
| III.2.3. Détermination de la conductivité..... | 32 |
| III.2.4. Détermination de l'acidité Dornic..... | 32 |
| III.3. Analyses microbiologiques..... | 32 |
| III.3.1. Préparation des milieux de culture..... | 32 |
| III.3.2. Préparation de la solution mère et des dilutions décimale..... | 32 |
| III.3.3. Recherches et dénombrement de la flore d'altération..... | 33 |
| III.3.3.1. Coliforme totaux..... | 33 |
| III.3.3.2. Coliforme fécaux..... | 33 |
| III.3.3.3. Levures et Moisissures..... | 33 |
| III.3.3.4. Flore aérobie mésophile totale (FTAM)..... | 33 |
| III.3.4. Recherches et dénombrement de la flore pathogène..... | 33 |
| III.3.4.1. <i>Staphylococcus aureus</i> | 33 |
| Chapitre IV : Résultats et discussion | |
| IV.1. Analyses physico-chimiques..... | 35 |
| IV.1.1. Détermination de pH..... | 35 |
| IV.1.2. Détermination de la densité..... | 35 |
| IV.1. 3. Détermination de la conductivité..... | 36 |
| IV.1.4. Détermination de l'acidité Dornic..... | 38 |
| IV.2. Analyses microbiologiques..... | 38 |
| IV.2.1. Flore totale mésophile aérobie (FTAM)..... | 39 |
| IV.2.2. Coliformes totaux..... | 39 |
| IV.2.3. Levures et moisissures..... | 40 |
| IV.2.4. <i>Staphylococcus aureus</i> et coliformes fécaux..... | 41 |
| IV.3. Analyses physico-chimiques après 2 heures de l'ouverture de pots du yaourt..... | 42 |
| IV.3.1. Détermination de pH..... | 42 |
| IV.3.2. Détermination de la densité..... | 42 |
| IV.3. 3. Détermination de la conductivité..... | 43 |
| IV.3.4. Détermination de l'acidité Dornic..... | 44 |
| IV.4. Analyses microbiologiques 2 heure de l'ouverture de pots du yaourt..... | 45 |
| IV.4.1. Flore totale mésophile aérobie (FTAM)..... | 45 |
| IV.4.2. Coliformes totaux..... | 46 |
| IV.4.3. Levures et moisissures..... | 46 |

| | |
|-----------------------------|----|
| Conclusion | 48 |
| Perspectives | 50 |
| Références bibliographiques | |
| Annexe | |
| ملخص | |
| Résumé | |
| Abstract | |

Introduction

Le lait joue un rôle primordial dans notre régime alimentaire journalier puisque il est consommé en grande quantité (surtout au nord d'Algérie) sous forme de laits de consommation en petit déjeuner et avec ou sans café, ou sous forme de produits laitiers variés ou d'ingrédients dans divers préparations culinaires.

Le yaourt avant de connaître une consommation de niveau industriel n'était qu'un simple produit issu d'une fabrication traditionnelle par les crémeries ainsi que les producteurs de lait. C'est à partir du milieu du XX^{ème} siècle que les industriels se sont mis à produire en masse des yaourts, diminuant ainsi son côté traditionnel. (Anonyme, 2015). Aujourd'hui, le yaourt est considéré comme un produit de grande consommation. Il représente la moitié du marché de l'ultra-frais. Les industriels sont contraints de faire face à une demande de plus en plus exigeante et perpétuellement changeante. En Algérie, une quantité considérable du lait de transformation est récoltée, elle sert à la fabrication de produits laitiers, comme les fromages, les yaourts et lait fermentés, mais une meilleure connaissance des bactéries lactiques permettrait de mieux améliorer ces produits. Les bactéries lactiques sont largement impliquées dans la fabrication de produits laitiers fermentés ; tel que le yaourt, qui est obtenu par l'action des deux bactéries spécifiques à savoir : *Streptococcus termophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* qui doivent êtreensemencées simultanément et se trouvées vivantes dans le produit fini ; à raison d'au moins 10 millions de bactéries par gramme, à la date limite de consommation. Avec les progrès technologiques réalisés ; le yaourt apparaît comme un produit laitier très digeste qui possède une grande valeur nutritionnelle et qui est apprécié pour son goût et sa texture. C'est un produit consommé la plupart du temps comme un dessert, de part le monde, car il convient à toutes les tranches d'âge (Pelletier et al, 2007).

De plus, les bactéries lactiques jouent également un rôle essentiel dans la conservation et l'innocuité de ces aliments, par la production des acides organiques et d'autres composés antimicrobiens ; comme les bactériocines qui inhibent la croissance des germes pathogènes ou de contamination (Anonyme, 2015).

En Algérie parmi nos traditions quotidiennes il ya des gens qui ne mettent pas le yaourt dans le réfrigérateur et aussi laissent les pots ouverts pendant quelque temps pour la consommation après et surtout pour les bébés, et c'est à cause de l'ignorance des mamans des conséquences de ce geste.

La présente étude a pour objectif la contribution à la compréhension et l'identification l'impact des changements physico-chimiques et microbiologiques sur la qualité du produit et son aptitude à la santé du consommateur.

Pour cela, des analyses du produit sont effectuées afin de vérifier la conformité des résultats aux normes internationales.

Ce mémoire est subdivisé en deux parties. La première partie prône une mise au point bibliographique. Elle subdivise en deux chapitres. Le premier chapitre est une généralité sur le lait. Le deuxième chapitre dresse une généralité sur le yaourt.

Dans la seconde partie, nous avons étudiés en détail :

- Le matériel et les méthodes pour l'analyse physico-chimique et microbiologique du yaourt.
- Les résultats obtenus sont ensuite présenté et discuté.

Le manuscrit est achevé par une conclusion générale.

I.1. Définition du lait

Le lait était défini en 1908 au cours du congrès international de la répression des Fraudes à Genève comme étant « Le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Le lait doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir du colostrum » (Pougheon et Goursaud, 2001).

Selon (Aboutayeb, 2009), le lait est un liquide blanc, opaque, de saveur légèrement sucrée, constituant un aliment complet et équilibré, sécrété par les glandes mammaires de la femme et par celles des mammifères femelles pour la nutrition des jeunes. Le lait cru est un lait qui n'a subi aucun traitement de conservation sauf la réfrigération à la ferme. La date limite de vente correspond au lendemain du jour de la traite. Le lait cru doit être porté à l'ébullition avant consommation (car il contient des germes pathogènes). Il doit être conservé au réfrigérateur et consommé dans les 24h (FREDOT, 2006).

Le lait doit être en outre collecté dans de bonnes conditions hygiéniques et présenter toutes les garanties sanitaires. Il peut être commercialisé en l'état mais le plus souvent après avoir subi des traitements de standardisation lipidique et d'épuration microbienne pour limiter les risques hygiéniques et assurer une plus longue conservation (Jeanteet *al.*, 2008).

I.2. Composition physico-chimique du lait

Le lait est reconnu depuis longtemps comme étant un aliment bon pour la santé. Source de calcium et de protéines (Franworth et Mainville, 2010).

Le lait est une source importante de protéines de très bonne qualité, riches en acides aminés essentiels, tout particulièrement en lysine qui est par excellence l'acide aminé de la croissance. Ses lipides, caractérisés par rapport aux autres corps gras alimentaires par une forte proportion d'acides gras à chaîne courte, sont beaucoup plus riches en acides gras saturés qu'en acides gras insaturés. Ils véhiculent par ailleurs des quantités appréciables de cholestérol et de vitamine A ainsi que de faibles quantités de vitamine D et E. Les principaux constituants du lait par ordre croissant selon (Pougheon et Goursaud, 2001) sont :

- L'eau ; très majoritaire.
- Les glucides principalement représentés par le lactose.
- Les lipides, essentiellement des triglycérides rassemblés en globules gras.

- Les sels minéraux à l'état ionique et moléculaire.
- Les protéines, caséines rassemblées en micelles, albumines et globulines solubles.
- Les éléments à l'état de trace mais au rôle biologique important, enzymes, vitamines et oligoéléments.

Le lait est constitué de quatre phases :

1- Une émulsion de matières grasses ou phase grasse constituée de globules gras et de vitamines liposolubles (A, D).

2- Une phase colloïdale qui est une suspension de caséines sous forme de micelle.

3- Une phase aqueuse qui contient les constituants solubles du lait (protéines solubles, lactose, vitamines B et C, sels minéraux, azote non protéique).

4 - Une phase gazeuse composée d'O₂, d'azote et de CO₂ dissous qui représente environ 5% du volume du lait.

Tableau I : La composition moyenne du lait entier est représentée (FREDOT ,2006).

| Composants | Teneurs (g/100g) |
|--------------------------|-------------------------|
| Eau | 89.5 |
| Dérivés azotés | 3.44 |
| Protéines | 3.27 |
| Caséine | 2.71 |
| Protéines solubles | 0.56 |
| Azote non protéique | 0.17 |
| Matières grasses | 3.5 |
| Lipides neutres | 3.4 |
| Lipides complexes | <0.05 |
| Composés liposolubles | <0.05 |
| Glucides | 4.8 |
| Lactose | 4.7 |
| Gaz dissous | 5 % du volume du lait |
| Extrait sec total | 12.8g |

I.2.1.Eau

L'eau est le constituant le plus important du lait, en proportion. La présence d'un dipôle et de doublets d'électrons libres lui confère un caractère polaire. Ce caractère polaire lui permet de former une solution vraie avec les substances polaires telles que les glucides, les minéraux et une solution colloïdale avec les protéines hydrophiles du sérum. Puisque les matières grasses possèdent un caractère non polaire (ou hydrophobe), elles ne pourront se dissoudre et formeront une émulsion du type huile dans l'eau. Il en est de même pour les micelles de caséines qui formeront une suspension colloïdale puisqu'elles sont solides (Amiot et al., 2002).

I.2.2. Matière grasse

La matière grasse est présente dans le lait sous forme de globules gras de diamètre de 0.1 à 10 µm et est essentiellement constituée de triglycérides (98%). La matière grasse du lait de vache représente à elle seule la moitié de l'apport énergétique du lait. Elle est constituée de 65% d'acides gras saturés et de 35% d'acides gras insaturés (Jeantet et al., 2008).

Elle renferme :

- Une très grande variété d'acides gras (150 différents).
- Une proportion élevée d'acides gras à chaînes courtes, assimilés plus rapidement que les acides gras à longues chaînes.
- Une teneur élevée en acide oléique (C18:1) et palmitique (C16:0).
- Une teneur moyenne en acide stéarique (C18:0).

La matière grasse du lait est produite principalement à partir des acides gras volatils (acides acétique et butyrique). Le premier est formé principalement à partir des glucides pariétaux des fourrages (cellulose) et le second à partir des glucides rapidement fermentescibles (sucre de betterave). Une partie de la matière grasse du lait provient de la mobilisation des réserves lipidiques de la vache (jusqu'à 60 kg). Sous certaines conditions, des graisses alimentaires peuvent également contribuer à la formation de la matière grasse du lait (Stoll, 2003).

I.2.3. Protéines

Le lait de vache contient 3.2 à 3.5% de protéines réparties en deux fractions distinctes :

- Les caséines qui précipitent à pH 4.6, représentent 80% des protéines totales,
- Les protéines sériques solubles à pH 4.6, représentent 20% des protéines totales (Jeantet et al., 2007).

I.2.3.1. Caséines

la caséine est un polypeptide complexe, résultat de la polycondensation de différents aminoacides, dont les principaux sont la leucine, la proline, l'acide glutamique et la sérine. Le caséinate de calcium, de masse molaire qui peut atteindre 56000 g/mol, forme une dispersion colloïdale dans le lait. Les micelles protéiques ont un diamètre de l'ordre de 0,1 μm (Figure 1) (Jean et Dijon, 1993).

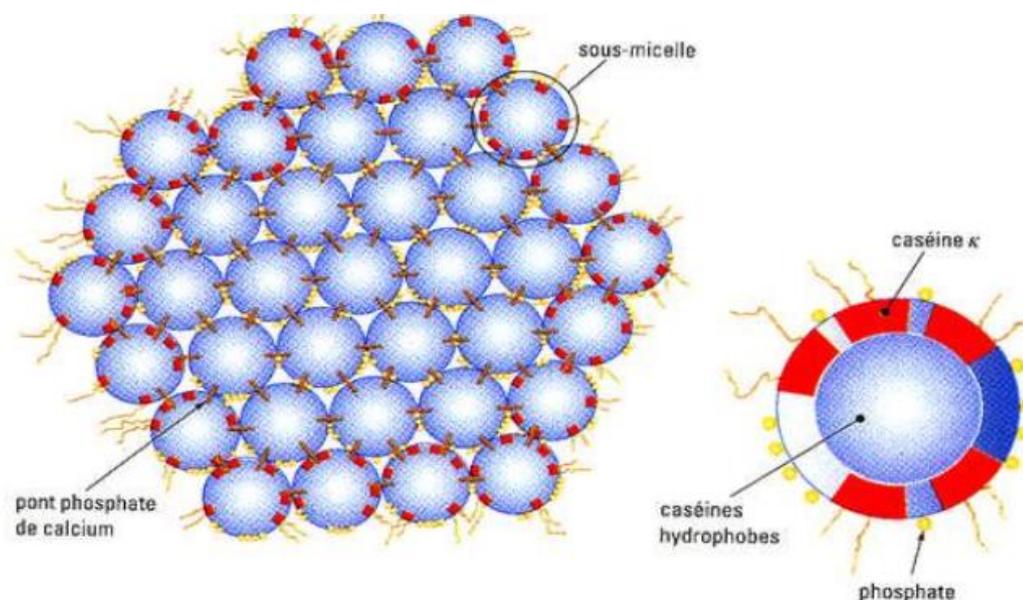


Figure 1: Modèle de micelle de caséine avec sous-unités (Amiot et al., 2002).

I.2.3.2. Protéines du lactosérum

Les protéines du lactosérum représentent 15 à 28% des protéines du lait de vache et 17% des matières azotées (Debry, 2001).

(Thapon, 2005), définit les protéines du lactosérum comme protéines d'excellente valeur nutritionnelle, riches en acides aminés soufrés, en lysine et tryptophane. Elles ont de remarquables propriétés fonctionnelles mais sont sensibles à la dénaturation thermique.

Tableau II: Classification des protéines (Pougheon, 2001).

| <i>NOMS</i> | | <i>% des protéines</i> | <i>Nombre d'AA</i> |
|-----------------|-------------|------------------------|--------------------|
| CASEINES | | 75-85 | |
| Caséine | α S1 | 39-46 | 199 |
| Caséine | α S2 | 8-11 | 207 |
| Caséine | | 25-35 | 209 |
| Caséine | k | 8-15 | 169 |
| Caséine g | | 3-7 | |

| | | |
|---------------------------------|---------|-----|
| PROTEINES DU | 15-22 | |
| LACTOSERUM | | |
| β - Lactoglobuline | 7-12 | 162 |
| α-Lactalbumine | 2-5 | 123 |
| Sérum-albumine | 0.7-1.3 | 582 |
| Immunoglobulines (G1, G2, A, M) | 1.9-3.3 | -- |
| Protéoses-peptones | 2-4 | |

I.2.4.Lactose

Le lait contient des glucides essentiellement représentés par le lactose, son constituant le plus abondant après l'eau. Sa molécule $C_{12}H_{22}O_{11}$, est constituée d'un résidu galactose uni à un résidu glucose. Le lactose est synthétisé dans les cellules des acini à partir du glucose sanguin (Mathieu, 1999). Celui-ci est en grande partie produit par le foie.

Le lactose est quasiment le seul glucide du lait de vache et représente 99% des glucides du lait de monogastriques. Sa teneur est très stable entre 48 et 50 g/l dans le lait de vache. Cette teneur présente de faibles variations dans le sens inverse des variations du taux butyreux. Le lactose est un sucre spécifique du lait (Hoden et Coulon, 1991).

I.2.5.Minéraux

Selon (Gaucheron, 2004), le lait contient des quantités importantes de différents minéraux. Les principaux minéraux sont Calcium, Magnésium, Sodium et Potassium pour les cations et Phosphate, Chlorure et Citrate pour les anions (Tableau 3).

Tableau III : Composition minérale du lait de vache (Jeantet et *al.*, 2007).

| Eléments minéraux | Concentration (mg.kg-1) |
|-----------------------|-------------------------|
| Calcium | 1043-1283 |
| Magnésium | 97-146 |
| Phosphate inorganique | 1805-2185 |
| Citrate | 1323-2079 |
| Sodium | 391-644 |
| Potassium | 1212-1681 |
| Chlorure | 772-1207 |

I.2.6. Vitamines

Selon (Vignola ,2002)les vitamines sont des substances biologiquement indispensables à la vie puisqu'elles participent comme cofacteurs dans les réactions enzymatiques et dans les échanges à l'échelle des membranes cellulaires. L'organisme humain n'est pas capable de les synthétiser (Tableau 4). On distingue d'une part les vitamines hydrosolubles (vitamine du groupe B et vitamine C) en quantité constantes, et d'autre part les vitamines liposolubles (A, D, E et K) (Jeantet et *al.*, 2008).

Tableau IV: Composition vitaminique moyenne du lait cru (Amiot et *al.*, 2002).

| <i>Vitamines</i> | <i>Teneur moyenne</i> |
|--------------------------------|-----------------------|
| <i>Vitamines liposolubles</i> | |
| Vitamine A (+carotènes) | 40µg/100ml |
| Vitamine D | 2.4µg/100ml |
| Vitamine E | 100µg/100ml |
| Vitamine K | 5µg/100ml |
| <i>Vitamines hydrosolubles</i> | |
| Vitamine C (acide ascorbique) | 2mg/100ml |
| Vitamine B1 (thiamine) | 45µg/100ml |
| Vitamine B2 (riboflavine) | 175µg/100ml |
| Vitamine B6 (pyridoxine) | 50µg/100ml |
| Vitamine B12 (cyan cobalamine) | 0.45µg/100ml |
| Niacine et niacinamide | 90µg/100ml |
| Acide pantothénique | 350µg/100ml |
| Acide folique | 5.5µg/100ml |
| Vitamine H (biotine) | 3.5µg/100ml |

I.3. Propriétés physico-chimiques du lait

Les principales propriétés physico-chimiques utilisées dans l'industrie laitière sont la masse volumique et la densité, le point de congélation, le point d'ébullition et l'acidité (Amiot et *al.* ,2002).

I.3.1.Masse volumique :

Selon (Pointurier, 2003), la masse volumique d'un liquide est définie par le quotient de la masse d'une certaine quantité de ce liquide divisée par son volume. Elle est habituellement notée ρ et s'exprime en Kg.m⁻³ dans le système métrique. Comme la masse volumique dépend étroitement de la température, il est nécessaire de préciser à quelle température (T) elle est déterminée :

$$T = m / v$$

La masse volumique du lait entier à 20°C et en moyenne de 1030Kg.m⁻³. La densité d'un liquide est une grandeur sans dimension qui désigne le rapport entre la Masse d'un volume donné du liquide considéré et la masse du même volume d'eau on a : $d = T1/T2$. Comme la masse volumique de l'eau à 4°C est pratiquement égale à 1000Kg.m⁻³, la densité du lait à 20°C par rapport à l'eau à 4°C est d'environ 1.030 ($d_{20/4}$). Il convient de signaler que le terme anglais «density» prête à confusion puisqu'il désigne la masse volumique et non la densité (Pointurier, 2003).

I.3.2.Point de congélation :

Le point de congélation du lait est légèrement inférieur à celui de l'eau pure puisque la présence de solides solubilisés abaisse le point de congélation. Cette propriété physique est mesurée pour déterminer s'il y a addition d'eau au lait. Sa valeur moyenne se situe entre - 0.54 et - 0.55°C, celle-ci est également la température de congélation du sérum sanguin. On constate de légères fluctuations dues aux saisons, à la race de la vache, à la région de production. On a par exemple signalé des variations normales de - 0.530 à - 0.575°C. Le mouillage élève le point de congélation vers 0°C, puisque le nombre de molécules, autres que celles d'eau, et d'ions par litre diminue. D'une manière générale tous les traitements du lait ou les modifications de sa composition qui font varier leurs quantités entraînent un changement du point de congélation (Mathieu, 1999).

I.3.3.Point d'ébullition

D'après (Amiot et al, 2002), on définit le point d'ébullition comme la température atteinte lorsque la pression de vapeur de la substance ou de la solution est égale à la pression appliquée. Ainsi comme pour le point de congélation, le point d'ébullition subit l'influence de la présence des solides solubilisés. Il est légèrement supérieur au point d'ébullition de l'eau, soit 100.5°C.

I.4. Les produits laitiers

A partir du lait, l'homme est capable de produire tout la famille des produits laitiers. Il existe de nombreuse procédé technologique propre a chaque produit laitier : fromage lactique, crème, beurre, fromage affiné...ces procédés demandent une grande maitrise et une rigueur technologique (figure2).

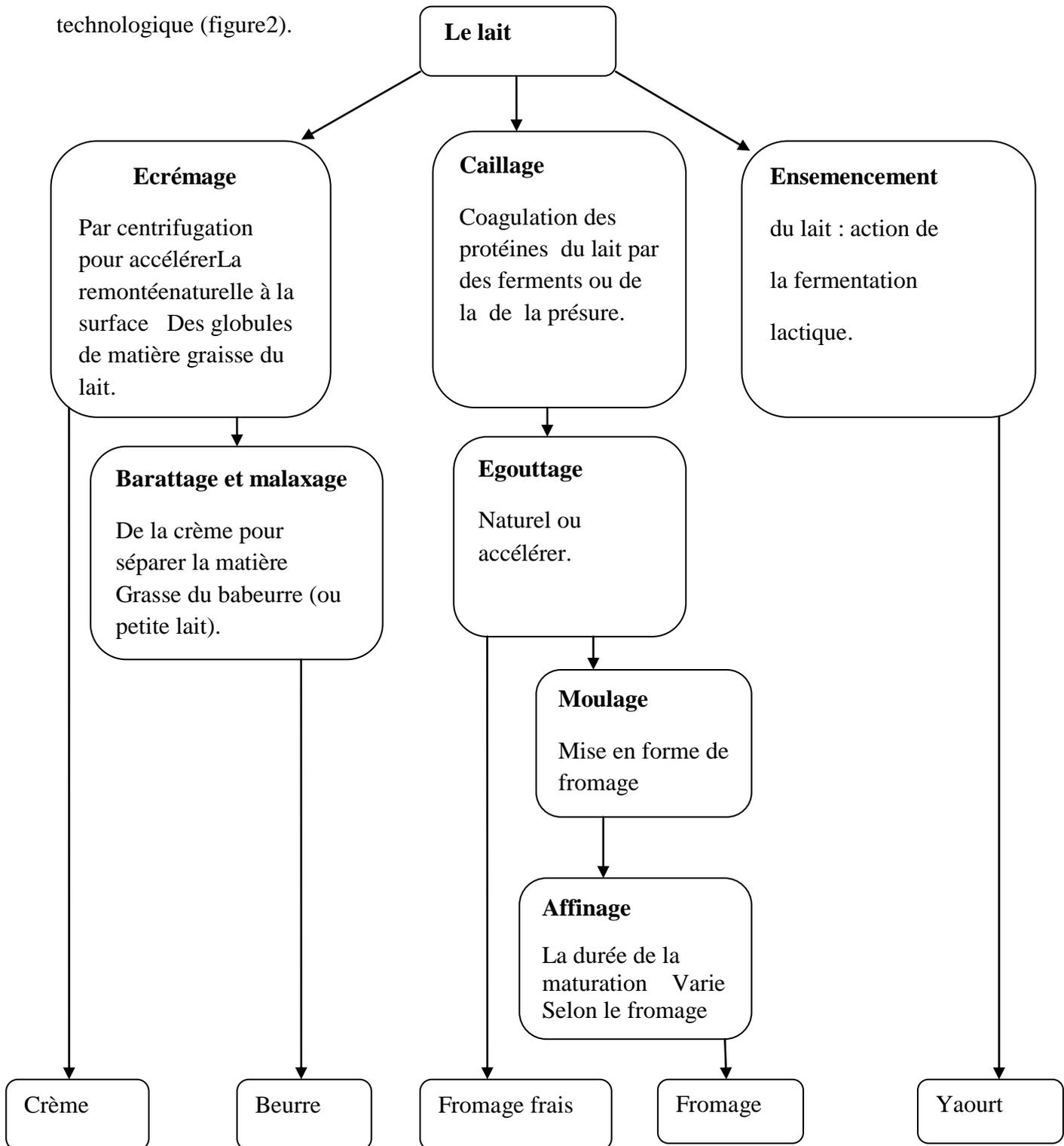


Figure 2: la filière des produits laitiers.

I.4.1. Fromage

Les fromages sont des formes de conservation ancestrale de la matière utile de lait (protéines, matière grasse ainsi qu'une partie de calcium et le phosphore). Ils sont issus de lait de vache, chèvre ou brebis. Leurs qualités nutritionnelles et organoleptiques sont appréciées par l'homme dans tout le globe (Belbeldi, 2013).

I.4.2. Fromage frais

Le fromage frais est un fromage non affiné qui a subi une fermentation principalement lactique et de présure. (Les fromages blancs) fermentés et commercialisés avec le qualificatif « frais » doivent renfermer une flore (ferment) vivante au moment de la vente au consommateur. Sous leur action, le lait se sépare en deux phases : le caillé, solide, et le lactosérum, liquide (Syndifrais, 2011). D'autres étapes (égouttage, centrifugation, fouettage, ajout de crème ou moulage) permettent d'obtenir de la faisselle, du fromage blanc lissé ou de petit-suisse.

I.4.3. Crèmes laitière et beurre

Le beurre et la crème laitière rassemblent principalement les lipides du lait et de l'eau (10 à 15%). Beurre et crème fraîche sont fabriqués à partir du lait, et le plus souvent comme sous-produits de la fabrication du fromage du fait de la standardisation en matières grasses (Christiane, 2010).

II.1. Historique

Le mot yaourt (yoghourt ou yogourt) originaire d'Asie, vient de «yoghumark», mot turc signifiant «épaissir» (Tamime et Deeth, 1980).

En 1902, deux médecins français, Ris et Khoury, isolent les bactéries présentes dans un lait fermenté égyptien. Metchnikoff (1845-1916) isole ensuite la bactérie spécifique du yaourt «le bacille bulgare», analyse l'action acidifiante du lait caillé et suggère une méthode de production sûre et régulière (Rousseau, 2005). En effet, c'est en 1919 qu'Issa Carasso commence à produire du yaourt à Barcelone selon des procédés industriels (Pelletier et al, 2007).

Le yaourt dit «nature» constituait l'essentiel des productions de laits fermentés, mais à partir des années 1960-1970 sont apparus les produits sucrés puis aromatisés et aux fruits.

II.2. Définitions

II.2.1. Yaourt

D'après le CODEX ALIMENTARIUS, 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 avec ou sans addition de substances (lait en poudre, les protéines...) les microorganismes du produit final doivent être viables et abondants (Ngounou et al, 2003).

II.2.2. Laits fermentés

Ils sont obtenus par la multiplication de bactéries lactiques dans une préparation de lait. L'acide lactique produit à partir du lactose contenu dans le lait permet la coagulation du lait et confère une saveur acide aux produits. Les caractéristiques propres des différents laits fermentés sont dues à la variation particulière de certains facteurs, tels que la composition du lait, la température d'incubation ou les ferments utilisés (Luquet et Corrieu, 2005).

II.2.3. La fermentation

La fermentation est un processus au cours duquel le lactose est transformé en acide lactique, sous l'action des microorganismes indigènes du lait ou ajoutés sous forme de ferments lactiques ou levains. La fermentation conduit à la prise en masse du lait par la coagulation de

la caséine. Le coagulum obtenu est ferme, sans exsudation de lactosérum (Luquet et Corrieu, 2005).

L'épaississement du lait fermenté correspond à la modification de la structure des protéines du lait, suite à l'acidification du milieu qui résulte de la transformation du lactose en acide lactique par les ferments. L'aigrissement contribue à rendre le lait caillé plus sain et dans de nombreuses régions du monde où les produits laitiers sont préparés de façon traditionnelle. Il inhibe et finit par détruire beaucoup de germes pathogènes (agents de la Typhoïde et de la Paratyphoïde) ainsi que les coliformes nocifs (Luquet et Corrieu, 2005).

II.3. Constituants du yaourt

II.3.1. Le lait

II.3.1.1. Les types de lait utilisés dans la fabrication du yaourt

II.3.1.1.1. Le lait en poudre

Dans diverses régions du monde, la production laitière ne permet pas un approvisionnement régulier des ateliers de transformation laitière, ceux-ci doivent faire appel en partie ou en totalité à des laits en poudre de provenance extérieure. La matière première mise alors en œuvre peut être un lait reconstitué ou recombinaison. Du fait de ces traitements, les laits en poudre peuvent avoir des aptitudes yaourtières assez différentes de celles d'un lait frais à la reconstitution (Adrian et Lepen, 1987).

Le lait en poudre comme étant un lait déshydraté constitué essentiellement de matière sèche et d'une faible quantité d'eau (2-4 %), ils ont l'avantage de pouvoir :

- Se stocker et se transporter aisément.
- S'utiliser après reconstitution pour la préparation de nombreux produits : lait liquide de consommation, laits fermentés (Mahaut, 2000).

II.3.1.1.2. Le lait frais

Du point de vue physico-chimique, le lait est une suspension colloïdale dans laquelle les particules en suspension sont responsables de sa consistance, de son opalescence, et de sa couleur blanche. Ces particules sont représentées par les globules de matière grasse (en

émulsion dans la phase aqueuse) et les micelles de caséines : constituants protéiques majeurs du lait. La phase aqueuse est essentiellement composée d'eau. Le lait comme étant le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum (Bachir et al, 2005).

II.3.2. Les ferments

Les bactéries lactiques des levains ont été utilisées pour la fabrication des produits laitiers bien avant qu'on ne soupçonne leur existence. La fabrication ancestrale du yaourt utilise des levains empiriques, dont la flore bactérienne non sélectionnée contient plusieurs espèces. En France, conformément aux textes officiels, le levain est exclusivement composé d'une ou deux souches de chacune des deux espèces *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*. Dans les autres pays, d'autres espèces lactiques utiles sont utilisées comme flore complémentaire: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bifidus*, et certains *Leuconostocs* (Boubacar, 2014).

II.3.3. Les fruits

Les fruits dans les yaourts sont apportés sous forme de préparations de fruits avec ou sans sucres ajoutés. Les agents de texture, incorporés dans la préparation de fruit, participent également à l'amélioration de la texture des yaourts (Vignola, 2002).

II.3.4. Les additifs

Ils sont des agents de texture (épaississants ou gélifiants) améliorent l'apparence, la viscosité et la consistance des yaourts. Ils sont souvent ajoutés dans le cas des yaourts brassés sans matière grasse.

Les additifs les plus fréquemment utilisés sont : la gélatine, les alginates, les celluloses, les amidons, et les pectines (Vignola, 2002).

II.4. les caractéristiques

II.4.1. les caractéristiques physicochimique

La composition physicochimique du yaourt est résumée dans la figure suivante.

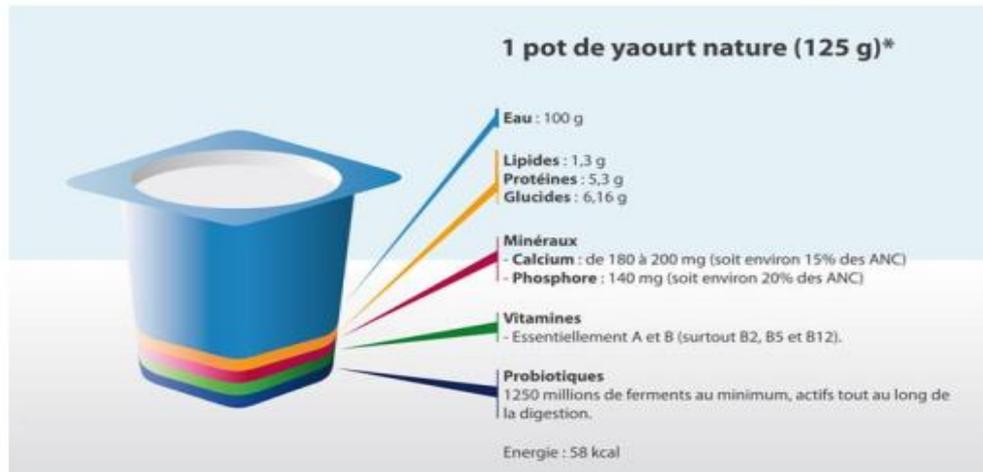


Figure3: Composition physicochimique du yaourt (Laurence etCohen, 2004).

II.4.2.Caractéristiques nutritionnelles

En plus de l'appréciation pour son goût et sa texture, le yaourt est aussi apprécié pour sa valeur nutritionnelle remarquable. Les bactéries lactiques spécifiques (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*) restent vivantes dans le tube digestif et transforment les constituants du lait fermenté en améliorant leur digestibilité. En effet, les laits fermentés et le yaourt ont une digestion plus aisée que le lait. Le sucre du lait (le lactose), pour être digéré a besoin d'une enzyme particulière qui est la lactase. Dans les produits laitiers fermentés, ce sucre est décomposé par les microorganismes lors de la fermentation (Laurence et Cohen, 2004).

Tableau V : Teneur moyenne du yaourt pour 100g de produit (Laurence et Cohen, 2004).

| | Teneur moyenne pour 100g de produit | | | | | | | | |
|-----------------------|-------------------------------------|--------------|---------------|---------------|--------------|-----------------|-----------------|---|----|
| | Protides g | Lipides g | Glucides g | Calcium Mg | Sodium mg | Potassium Mg | Phosphate mg | Valeur énergétique kJoules /kcalories | |
| Yaourt nature | 4,15 | 1,2 | 5,2 | 174 | 57 | 210 | 114 | 201 | 48 |
| Yaourt au lait entier | 3,8 | 3,5 | 5,3 | 171 | 56 | 206 | 112 | 284 | 68 |

| | | | | | | | | | |
|----------------------------------|------|--------|-------|-----|----|-----|-----|-----|-----|
| Yaourt nature 0% | 4,2 | Traces | 5,4 | 164 | 55 | 180 | 100 | 163 | 39 |
| Yaourt nature sucré | 3,8 | 1,1 | 14,5 | 160 | 52 | 195 | 105 | 374 | 83 |
| Yaourt aromatisé au lait entier | 3,2 | 3,2 | 12 | 140 | 50 | 190 | 106 | 372 | 89 |
| Yaourt brassé nature | 4,3 | 1,8 | 5,2 | 165 | 40 | 205 | 115 | 230 | 55 |
| Yaourt brassé aux fruits | 3,75 | 1,65 | 14,15 | 140 | 50 | 190 | 110 | 368 | 88 |
| Yaourt au lait entier aux fruits | 3,1 | 2,7 | 16,5 | 140 | 45 | 180 | 100 | 431 | 103 |
| Yaourt maigre aux fruits | 3,6 | traces | 17,2 | 140 | 45 | 180 | 100 | 351 | 84 |

II.4.3. caractéristiques organoleptiques

Selon (Malang, 1998) le caractère organoleptique du yaourt présente une nature comme suit :

- a- **Couleur** : le yaourt doit présenter un caillé blanc.
- b- **Consistance** : le yaourt a une consistance semi-liquide
- c- **Odeur** : l'odeur du yaourt est agréable à l'olfaction.
- d- **Saveur** : le yaourt a une saveur douce.

II.4.3.1. Facteurs influençant les caractéristiques sensorielles

La teneur en graisses, les cultures de yaourt, l'addition de poudre ou de protéines de lait et les méthodes de transformation (homogénéisation, mélange) sont autant de facteurs influençant les propriétés sensorielles du yaourt nature (Stolz et al, 2011).

II.4.3.1.1. Goût

II.4.3.1.1.1. Teneur en graisses

C'est le facteur ayant l'influence la plus significative sur le goût d'un yaourt nature. En effet, la matière grasse est un vecteur de goût: plus la teneur en matière grasse est élevée, plus le goût du yaourt nature est intense, et donc plus le produit est apprécié par les consommateurs (Stolz et al, 2011).

II.4.3.1.1.2. Cultures de démarrage

Le type de cultures bactériennes utilisé a également une forte influence sur le goût, notamment sur le caractère acide. Le yaourt est traditionnellement produit à partir de cultures de *Streptococcus thermophiles* et de *Lactobacillus bulgaricus*. L'effet de ces deux cultures l'une sur l'autre est mutuellement profitable, c'est-à-dire qu'elles ont une relation symbiotique augmentant l'acidité du produit fini. Parce qu'il existe une forte demande en yaourts plus doux, d'autres microorganismes peuvent être utilisés : c'est le cas de *Lactobacillus acidophilus* et *Bifidobacterium bifidum*. Dans le cas de ces cultures, l'effet mutuel provoquant l'acidité est absent et la production d'acide lactique L (+) augmente. Ces deux facteurs permettent une moindre acidité et un goût plus doux (Stolz et al, 2011).

II.4.3.1.1.3. L'addition poudre/protéines de lait

En ajoutant de la poudre de lait ou des protéines de lait, une quantité plus importante de lactose est alors présente dans le yaourt. Ce lactose peut être fermenté et produire de l'acide lactique, ce qui augmente l'acidité du yaourt nature (Stolz et al, 2011).

II.4.3.1.1.4. Durée de conservation

La durée de conservation a une légère influence sur l'acidité du yaourt nature. En effet, la fermentation n'est pas complètement stoppée lorsque le yaourt est coulé dans des pots, mais elle poursuit alors plus lentement. Plus la date du « à consommer de préférence avant le » est proche, plus le yaourt a été stocké longtemps, et donc plus le yaourt est acide (Stolz et al, 2011).

II.4.3.1.2. Texture

Les facteurs influençant sur la texture sont la teneur en matières grasses, l'addition de poudre ou de protéines de lait, les épaississants ajoutés et la méthode d'homogénéisation choisie. La pasteurisation a également un impact (Elle améliore la consistance du coagulum par la dénaturation de la plupart des protéines solubles qui peuvent ainsi précipiter avec la caséine lors de l'acidification ou elles-mêmes en raison de leur baisse de solubilité). Enfin, il existe aussi une différence sensorielle entre un yaourt nature brassé et semi-solide (Stolz et al, 2011).

II.4.3.1.3. Apparence

L'apparence d'un yaourt nature est influencée par la teneur en matières grasses, l'homogénéisation et si le yaourt est brassé ou semi-solide (Stolz et al, 2011).

II.4.3.1.4. Odeur

Les cultures bactériennes utilisées ont un impact sur l'intensité des odeurs acides, de lait ou de ferments (FiBL, 2011). Certains ferments lactiques possèdent une propriété technologique de synthétiser des composés aromatisants. Ainsi les laits caillés sont plus ou moins aromatisés suivant l'aptitude des microorganismes en présence. Cependant l'utilisation des substances aromatisantes autorisées peut contribuer à parfumer les laits caillés (Dieng, 2001).

II .5. Classification du yaourt

Différentes sortes de yaourt sont trouvées sur le marché selon leurs teneurs en matière grasse, leur goût ou leur texture.

a) selon la teneur en matière grasse on distingue

- le yaourt maigre (moins de 1% de matière grasse).
- le yaourt nature (1% de matière grasse).
- le yaourt au lait entier (3,5% de matière grasse).

b) Selon leur goût il existe

- le yaourt nature (sans addition).
- le yaourt sucré.
- le yaourt aux fruits, au miel et à la confiture (moins de 30% d'éléments ajoutés)
- le yaourt aromatisé (aux arômes naturels ou de synthèses autorisées par la législation).

c) Selon la texture on note

- le yaourt ferme (coagulés en pot).
- le yaourt brassé (coagulés en cuve et brassés pendant la mise en pot).
- le yaourt « à boire » (texture liquide) (Laurence et Cohen, 2004).

II.6. Microflore de yaourt

II.6.1. Flore bénéfique (les bactéries lactiques)

II.6.1.1. Définition

Les bactéries lactiques sont des germes Gram-positifs, incapable de respirer et toute leur énergie vient de la fermentation. (Verdier-Metz et al 2009). Ces bactéries présentent la faculté d'excréter l'acide lactique sous différentes formes (**D(-)**, **L(+)** ou **DL**) à partir d'un substrat glucidique tels (le lactose et glucose). (Ercolini et al 2009).

II.6.1.2. Caractéristiques générales des bactéries du yaourt

II.6.1.2.1. *Streptococcus thermophilus*

St. thermophilus est un coque à Gram positif, anaérobie facultatif, non mobile, On le trouve dans les laits fermentés et les fromages (Roussel et al., 1994). C'est un thermorésistant, sensible au bleu de méthylène (0,1%) et aux antibiotiques. Elle est aussi résistante au chauffage à 60 °C pendant 30 minutes (Dellaglio et al., 1994). Elle est isolée exclusivement du lait et des produits laitiers sous forme de coque disposé en chaînes de longueurs variable ou par paires. Sa température optimale de croissance varie entre 40 à 50°C et son métabolisme est type homofermentaire (Lamoureux, 2000). 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. Elle augmente la viscosité du lait par production de polysaccharides (composés de galactose, glucose, ainsi que de petite quantité de rhamnose, arabinose et mannose) (Bergamaier, 2002).

II.6.1.2.2. *Lactobacillus bulgaricus*

Lb. Bulgaricus est un bacille Gram positif, sporulé, microaérophile. Il est isolé sous forme de bâtonnets ou de chainettes. Il possède un métabolisme strictement fermentaire avec production exclusive d'acide lactique comme principal produit final à partir des hexoses de sucres. Il est incapable de fermenter les pentoses. *Lb. Bulgaricus* est une bactérie thermophile, très exigeante en calcium et en magnésium et sa température optimale de croissance est d'environ de 42°C. Cette bactérie a un rôle essentiel dans le développement des qualités organoleptique et hygiéniques du yaourt (Marty-Teysset et al. 2002).



Figure 4 : Les bactéries lactiques du yaourt (Doleys, 2003).

II.6.1.3. rôles des ferments du yaourt :

Les deux bactéries associées dans la préparation du yaourt ont pour rôle principale d'abaisser le pH du lait au point isoélectrique de la caséine (pH=4,6) de la façon à la former un gel (ou coagulum) (Maltini et al 2006). Outre le goût acidulé qu'elles donnent au gel, elles lui assurent une saveur caractéristique due à la production de composés aromatiques (tels que acétaldéhyde, l'acétone, acétoïne et le diacétyle). Enfin, par la production de polysaccharides (de nature glucane et /ou fructane) certaines souches ont une action dans la consistance du gel (Purwandaria et al 2007).

II.6.1.4. Voie d'utilisation du lactose par les ferments du yaourt

Au cours de la fabrication du yaourt, l'assimilation du lactose par les bactéries lactique débutent par l'action d'une lactase qui hydrolyse le lactose en B-galactose et en D-glucose. Ce dernier est ensuite transformé en acide pyruvique puis en acide lactique pendant que le galactose s'accumule progressivement dans le lait sans qu'il soit utilisé. (Syndifrais, 1994).

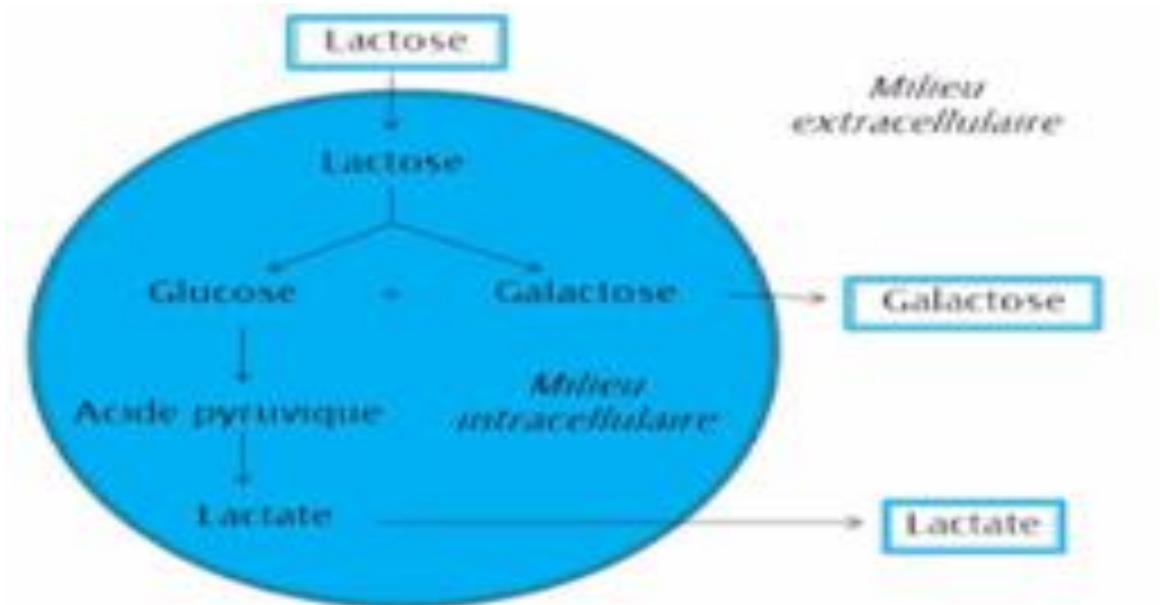


Figure 5 : voie d'utilisation du lactose par les ferments du yaourt.(syndifrait,1994) .

II.6.1.5. Intérêt et fonctions des bactéries du yaourt

II.6.1.5.1. Production d'acide lactique

L'acide lactique existe sous deux formes énantiomères D ou L. Les bactéries lactiques produisent l'un ou l'autre de ces isomères, par fois les deux à la fois ; tout dépend de leur contenu en lactate déshydrogénase.

La production d'acide lactique est une des principales fonctions des bactéries lactiques en technologie laitière, car cet acide organique permet de concentrer et de conserver la matière sèche du lait, en intervenant comme coagulant et antimicrobien (production exclusive de l'acide lactique). L'acidité du yaourt est communément exprimée en degré Dornic ($1^{\circ}\text{D}=0,1\text{g/l}$ d'acide lactique), et elle se situe entre 100 et 300°D (Loones, 1994).

L'importance de l'acide lactique durant la fabrication du yaourt peut se résumer comme suit :

- il aide à déstabiliser les micelles des caséines, ce qui conduit à la fabrication du gel.
- il donne au yaourt son goût distinct et caractéristique, comme il contribue à la saveur et à l'aromatisation du yaourt (Singh et al . ,2006).

II.6.1.5.2. 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 polypeptide.
- *St. Thermophilus* est considéré comme ayant une faible activité endopeptidasique. Elle dégrade les polypeptides par son activité exopeptidasique aminés libres.

II.6.1.5.3. Activité aromatique

Divers composés volatiles et aromatique interviennent dans la saveur et l'appétence du yaourt. C'est principalement le lactose qui intervient dans la formation de ces composés. Parmi ceux-ci, l'acide lactique confère au yaourt son goût acidulé. L'acétaldéhyde, qui provient en grande partie de la thréonine, joue un rôle essentiel dans ces caractéristiques organoleptiques recherchées, la concentration au lactobacille, est augmentée lorsque ce dernier est en association avec le *streptocoque* qui en élabore de faibles quantités.

L'acétaldéhyde peut provenir :

-Du pyruvate, soit par action du pyruvate décarboxylase ou par action du pyruvate déshydrogénase (appelée aussi pyruvate formes lyase).

-De la thréonine par l'action de la thréonine aldolase.

Le diacétyl contribue à donner un goût délicat qui est dû à la transformation de l'acide citrique et, secondairement, du lactose par certaines souches de streptocoque. D'autres composés (acétone, acétoïne, etc) contribuent à la finesse de la saveur. Ceci résulte d'un choix avisé des souches, de leur capacité à produire dans juste rapport les composés aromatiques et du maintien de ce rapport au cours de la conservation des levains et de la fabrication (Anonyme, 1995).

Notons que la saveur caractéristique du yaourt, due à la production diacétyl et de l'acétaldéhyde et qui est recherchée dans les produits type «nature», est en partie masquée dans les yaourts aromatisés.

II.6.1.5.4. Activité texturant

La texture et l'onctuosité constituent pour le consommateur d'importants éléments d'appréciation de la qualité du yaourt. Certaines souches bactériennes produisent à partir du glucose des polysaccharides qui en formant des filaments limitent l'altération du gel par les traitements mécaniques et contribuent à la viscosité du yaourt.

L'augmentation de la viscosité du yaourt est en général attribuée à la production d'exopolysaccharide (EPS) qui, selon une étude portant sur plusieurs souches serait essentiellement composée de rhamnose, de arabinose, et de mannose (Schmidt et *al.*, 1994).

Il est couramment admis que la production des EPS est le résultant de l'action exercée par *St.thermophilus*. Mais d'après (Tamime ,1999), *Lb.bulgaricus* possède une aptitude à produire des EPS composés de galactose, glucose, rhamnose.

II.6.1.7.Principaux facteurs influençant sur le métabolisme des bactéries lactiques

La croissance et l'acidification des bactéries lactiques sont fortement influencées par des facteurs physiques, chimiques et microbiologiques. En outre les effets de ces facteurs peuvent interagir ensemble sur leur activité métabolique.

II.6.1.7.1. Facteurs physiques

- **La température :** est le premier facteur environnemental à considérer pour le développement des bactéries lactiques. Elle agit sur la vitesse des réactions chimiques et biochimiques. Elle doit être aux alentours de 30°C pour les bactéries mésophiles et de 42°C pour les espèces thermophiles.
- **L'activité de l'eau (a_w) :** est liée à la présence de sels ou de sucres. Lorsqu'elle diminue la quantité d'eau libre décroît et la disponibilité des nutriments est affectée.

Concernant les laits fermentés seule la présence de saccharose (cas de yaourts sucrés) peut diminuer cette activité. C'est le cas lorsque cette dernière devient inférieure à 0,99 correspondant à une concentration en saccharose de 10%, l'activité métabolique des bactéries est affectée (Tamime et Robinson ,1985).

II.6.1.7.2.Facteurs chimiques

- **La qualité de lait :** est un facteur d'influence prépondérante pour le développement des bactéries lactique. Si les teneurs initiales en lactose et en sels minéraux sont suffisantes dans le lait, ce n'est pas le cas de la fraction azotée libre (acides aminés et oligopeptides).la limitation en certaines molécules peut constituer un frein à la croissance.
- **Le traitement thermique :** subi par le lait avant l'étape de fermentation va agir favorablement sur le métabolisme des bactéries. En effet, outre son rôle principal de destruction des micro-organismes indésirables et pathogènes (Boudier, 1990), il permet de détruire les principales substances antibactériennes naturellement présentes

dans le lait (agglutinines, lactoperoxydase) ce qui favorisera les croissances bactériennes (Farkye et Imafidon ,1995).

De plus, il génère de faible quantité d'acide formique à partir du lactose, ce qui stimulera la croissance des lactobacilles (Loones, 1994). Il contribue à l'augmentation de la teneur du lait en petits et en acides aminés libres.

- **Le pH** : est le troisième facteur chimique important pour la croissance des bactéries lactiques. Il intervient sur la disponibilité en nutriment du milieu, sur la perméabilité de la membrane cellulaire et sur les vitesses d'activité enzymatique. Lors de la production de yaourt in n'est pas contrôlé et représente donc un facteur majeur de ralentissement du métabolisme bactérien (Beal et Sodini, 2003).

II.6.1.7.3. Facteurs microbiologiques

- **Le taux d'ensemencement** : de lait avec les bactéries lactiques influence fortement sa transformation. Plus il est élevé, plus rapide est la fermentation. Généralement, ce taux situe autour de 10^6 UFC/ml (UFC : unités formant colonie) pour simultanément obtenir des durées de fabrication courtes et limiter le cout d'achat des ferment. Pour un ensemencement direct cela correspond à un taux d'incubation compris entre 2,5 g et 70 g pour 100 L de lait selon l'espèce bactérienne considérée (Beal et Corrieu ,1991).
- **Les équilibres de population** : agissent également sur les cinétiques microbiennes. Ainsi dans le cas de la fabrication du yaourt la durée de la fermentation varie selon la valeur initiale du rapport entre streptocoques et lactobacilles, meme si en fin de culture les streptocoques sont toujours majoritaires (Beal et Corrieu ,1991).

II.6.2.La flore de contamination

Du fait de leur composition et de leurs conditions de production, les produits laitiers peuvent être contaminés par des microorganismes. Lorsque ces derniers se multiplient dans le milieu, ils provoquent des modifications nuisibles à la qualité des yaourts par la dégradation de leurs constituants ou par libération en leur sein de composés indésirables. Ces dégradations peuvent concerner chacun des grands groupes des constituants du produit (protéines, lipides, lactose). Ces dégradations peuvent aussi se traduire par des défauts de goût, d'odeur, de texture ... La présence de ces germes peut nuire à la croissance des bactéries lactiques indispensables à la fermentation. Il faut donc veiller au respect strict des règles de bonnes pratiques de fabrication

et d'hygiène dans l'industrie laitière, afin de produire des denrées alimentaires de bonne qualité (AFNOR, 1999).

II.6.2.1. Germes témoins de contamination fécale

Les germes témoins de contamination fécale sont des bio-indicateurs de contaminations microbiennes et indiquent des manipulations malpropres (AFNOR, 1999).

II.6.2.1.1. Les coliformes totaux

Selon la norme NF ISO 4832, les coliformes sont des bacilles à Gram négatif, non sporulés, oxydase (-) aérobies ou anaérobies facultatifs, capables de se multiplier en présence de sels biliaries ou d'agents de surface ayant les mêmes propriétés et capables de fermenter le lactose avec production d'acide, de gaz et d'aldéhyde en 48 h à une température comprise entre 35 et 37°C (+ 0,5° ou +1°C) (AFNOR, 1999).

II.6.2.1.2. Les coliformes fécaux ou coliformes thermo tolérants

En microbiologie alimentaire, les coliformes thermo tolérants sont des coliformes qui, incubés à une température de 44°C +/- 1°C pendant 24h au moins, présentent les propriétés des coliformes totaux (AFNOR, 1999).

II.6.3. Normes microbiologiques pour les yaourts

Le LNSP s'appuie sur les normes FASONORM basées sur les normes françaises. Ces normes servent d'appui au contrôle et sont utilisées pour l'application des lois et règlements relatifs au contrôle des aliments. Elles imposent aux industriels une dure contrainte mais constituent le gage d'assurance qualité hygiénique et commerciale des produits (Lompol et al, 2006).

Les normes microbiologiques portant sur les germes recherchés sont mentionnées dans le tableau ci-après (Lompol et al, 2006).

Tableau VI : Normes microbiologiques pour les yaourts (Lompol et al, 2006).

| Germes | Normes (UFC/g) |
|-----------------------------|-------------------|
| Bactéries lactiques | < 10 ⁸ |
| Coliformes totaux | < 10 |
| coliformes thermo tolérants | < 1 |
| E. coli | < 1 |
| Levures | <100 |
| Moisissures | 0 |
| Germes pathogènes | 0 |

II.6.4. Intérêt de la recherche des micro-organismes

La recherche des micro-organismes permet d'apprécier quantitativement et qualitativement la flore de contamination d'un produit à un moment donné. Ce qui permet de juger la sécurité (germes pathogènes pour l'homme et les animaux), la conformité aux prescriptions réglementaires ou commerciales, l'hygiène de la préparation et l'efficacité des traitements appliqués et le respect des bonnes pratiques d'hygiène et des bonnes pratiques de fabrication (AFNOR, 1999).

II.6.5. Défauts et altérations du yaourt

L'élaboration du yaourt faisant intervenir plusieurs étapes clés où la fermentation et la formation du gel doivent être minutieusement dirigées et surveillées, il est fréquent que des altérations de goût, d'apparence et de texture apparaissent et que certaines soient préjudiciables à la qualité finale du produit (Lompol et al, 2006).

II .7. Les différentes étapes de fabrication du yaourt

II.7.1. Réception de lait

Il est généralement reconnu qu'on ne peut faire un produit de qualité avec une matière première de mauvaise qualité. Dans cet esprit, il est primordial de mettre en place du lait ou toutes autres matières premières, des méthodes et des procédures rapides et simples permettant de détecter les anomalies et les pertes possibles de contrôle (Loumani, 2009).

II.7.2. La préparation du lait

Il peut être soit du lait reconstitué (à partir de lait en poudre maigre et de matière grasse laitière anhydre), soit du lait reconstitué (à partir de lait en poudre maigre) ou encore un mélange, dans tous les cas, il doit être de bonne qualité microbiologique, exempt d'antibiotiques ou d'autres inhibiteurs et homogénéisé et parfaitement homogénéisé afin d'éviter la remontée de la matière grasse au cours de l'incubation, d'améliorer la consistance du yaourt et de faciliter la digestion de la matière grasse (FAO, 1995).

✓ **Yaourt entier** : au minimum 3% en poids de matière grasse.

✓ **Yaourt partiellement écrémé** : moins de 3% de matière grasse.

✓ **Yaourt écrémé** : au maximum 0.5% de matière grasse.

II.7.3. Le traitement thermique (pasteurisation)

La préparation du lait terminée, celui-ci soumis sans attendre à un traitement thermique. Il a un but :

- ❖ De détruire les microorganismes pathogènes pouvant être présents et la plus grande partie de la flore banale. Il permet aussi la suppression éventuelle d'inhibiteurs naturels et la stimulation des bactéries par l'apparition de facteurs de croissance.
- ❖ De dénaturer une partie importante des protéines solubles, ce qui a pour conséquence d'augmenter la capacité de rétention d'eau du yaourt et permettre à l'expulsion de fixer au cours du stockage est réduite, le yaourt brassé est plus homogène et visqueux. Il faut dénaturer ou moins 80% des protéines solubles, ce qui permet de multiplier par trois la capacité de rétention d'eau, ceci peut se faire pendant 30 minutes à 85°C ou 10min à 90-92°C (si chauffage est de façons discontinue des cuves). Dans les grandes entreprises d'une installation de pasteurisation continue, un chauffage de 3 à 5 min à 92 ou 95°C est suffisant (FAO, 1995).

La stérilisation **UHT** peut remplacer la pasteurisation. Le traitement se fait pendant quelques secondes (3à4) à 135°C-140°C. Ce procédé donne un yaourt moins visqueux, on peut y remédier par l'emploi de souches bactériennes fortement productrices depolysaccharides, mais la structure reste plus fragile, ce qui implique l'augmentation de lateneur en matière sèche du lait en ajoutant 2% de lait écrémé en poudre (FAO, 1995).

II.7.4.L'homogénéisation

Elle est généralement combinée avec le traitement thermique, comme elle peut sefaire avant la pasteurisation ou après celle-ci, dans ce dernier cas, la consistance du yaourtsemble meilleure. Mais les risques de décontamination sont à craindre (FAO, 1995).

Elle a principalement des effets sur deux composantes du lait, soit la matière grasse soit les protéines.

Tableau VII: donne les causes possibles d'homogénéisation inadéquate d'un mélange et les incidences sur la qualité du yaourt (Vignola ,2002).

| Causes | Incidences sur la qualité du yaourt |
|-----------------------------|--|
| Pression trop faible | <ul style="list-style-type: none"> • Séparation du gras, obtention de deux phases (présence d'une surface très crémeuse). • Présence d'un gout d'eau dans le produit non uniformité de la couleur. • produit plus liquide, donc une consistance et une viscosité moindres. • Synérèse pression top fort. |
| Pression trop forte | <ul style="list-style-type: none"> • Diminution dans l'onctuosité. • Viscosité et consistance inappropriées en raison d'un bris des protéines, produit plus liquide. • présence de mousse ou de bulles à la surface. |

II.7.5. L'ensemencement

Immédiatement après le traitement chauffage- homogénéisation, le lait est refroidi à température de fermentation, mis en cuve et ensemencé à l'aide d'un levain comprenant exclusivement une ou plusieurs souches de chacune des bactéries spécifiques du yaourt *Lactobacillus delbruchi* subsp. *Bulgaricus* et *Streptococcus salivarius* subsp. *Thermophilus*. Ces deux bactéries associées ont pour rôle principal d'abaisser le pH du lait de façon à former un gel (coagulation). Elles lui assurent une saveur caractéristique due à la production de composés aromatique (acétaldéhyde principalement, cétone, acétoine, diacétyle). Enfin par la production de polysaccharides (glucides) (FAO, 1995).

II.7.6 .La conservation du yaourt

Préparé dans des conditions hygiéniques strictes, ces produits peuvent se conserver environ 3 semaines sous réserve d'être maintenus au froid. Au cours de la conservation la température ne doit pas excéder 8°C. Si le maintien des yaourts au froid empêche la multiplication bactérienne, il n'arrête pas complètement leur activité métabolique, bien que la production d'acide lactique se produise, des enzymes hydrolysent les protéines avec comme conséquences d'une diminution de la fermeté et de la viscosité et l'apparition de peptides à

gout amer. Pour ces raisons, on procède parfois à un traitement thermique après la fermentation (FAO, 1995).

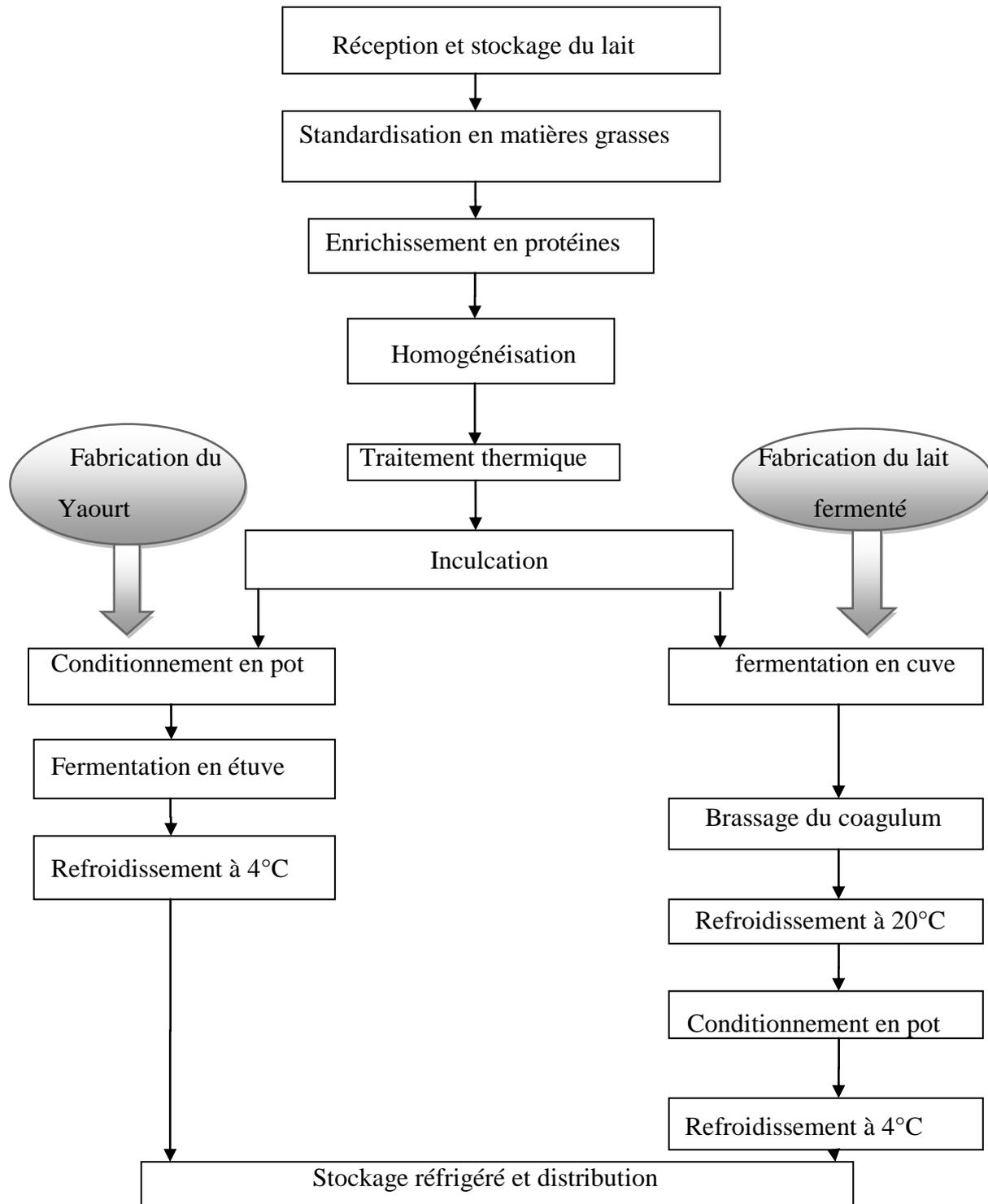


Figure 6. Diagramme générale de fabrication des yaourts et des laits fermentés (Béal et Sodini, 2003).

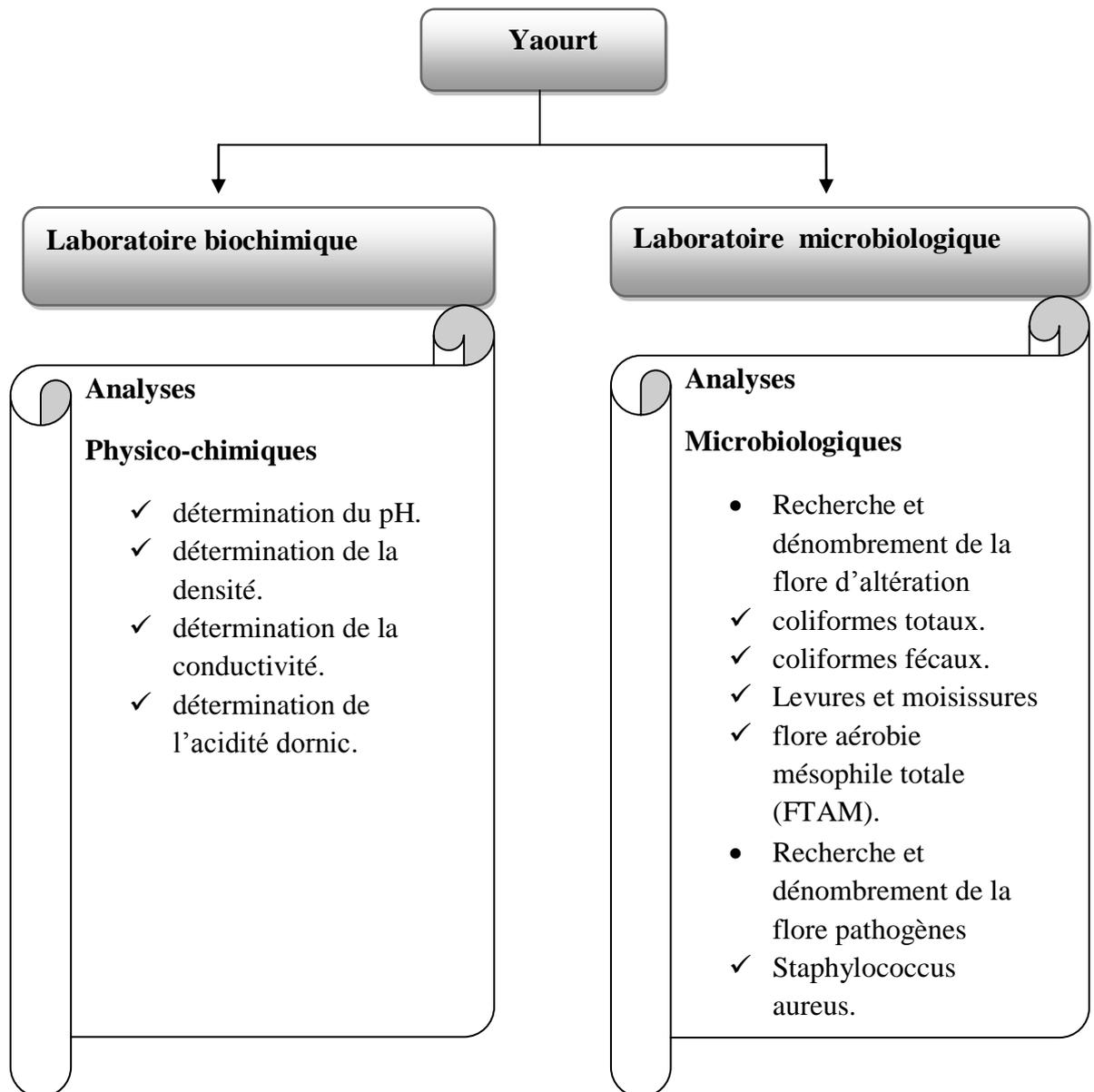


Figure 7 : Schéma général des analyses réalisées sur le yaourt.

III.1.Description des échantillons analysés

Dans ces analyses une seule variété de yaourt a été utilisée, la moitié des échantillons sont maintenus à température ambiante 25°C et le reste sont stockés dans le réfrigérateur à 4°C.

La période d'étude a duré quatre semaine dont au cours de dernière semaine les analyses sont fait après la date limite de consommation (DLC).

III.1.1.Echantillonnage

Afin de réduire la distance de transport, Les échantillons ont été achetés d'un commerçant proche de l'université situé au niveau du commune d'El Anassir.

III.1.1.1.Prélèvement

Les analyses physico-chimiques et microbiologiques sont réalisées sur un nombre total de 75 Échantillons dont 10 Pour les analyses microbiologiques et 65 Échantillons pour les analyses physico-chimiques. Les prises d'essais sont réalisées le matin juste après la réception des pots du yaourt achetés.

III.1.1.2.Techniques de prélèvement

Les prélèvements pour les analyses microbiologiques, doivent s'effectuer aseptiquement après l'homogénéisation du pot de yaourt par une spatule stérile, dans un bécher stérile couvrés avec un papier aluminium. Le bécher et la spatule sont couvertes par le papier aluminium et stérilisés dans le four pasteur pendant 20 min à 180°C. Par contre les analyses physico-chimiques nécessitent seulement une homogénéisation du pot par une spatule propre.

III.1.1.3.Appareillage et produits chimiques

Tous les appareillent et les réactifs utilisés dans ce travail sont mentionnés en détail dans le tableau suivant.

III.2.Analyses physico-chimiques

III.2.1.Détermination du potentiel d'hydrogène (pH) (NF V 04-316)

Le terme pH sert à désigner le degré ou l'intensité d'acidité, la valeur du pH logarithme de l'inverse de la concentration en ions H⁺ dans une solution .Il est mesuré par un pH-Mètre (vignola,2002).(voire l'annexe n°2).

III.2.2.Détermination de la densité

C'est le rapport de la masse d'un certain volume d'un corps a celle du même volume d'eau (ou d'aire pour les gaz) ,et elle nous renseigne sur le taux de matière solide et sur viscosité de la solution. Elle est mesurée par un densitomètre (Mathieu,1998).(voire l'annexe n°3)

III.2.3.Détermination de la conductivité

La conductivité électrique est propriété d'un corps ou d'une substance à transmettre le courant électrique. Elle se mesure en millisiemens par centimètre(ms/cm).

Cette propriété est majoritairement due aux ions (essentiellement chlorures,phosphates, citrate,carbonates et bicarbonate de potassium ,sodium, calcium et magnésium) (Jacquinet,2009)..(voire l'annexe n°4)

III.2.4.Détermination de l'acidité Dornic

L'acidité est déterminée par le dosage de l'acidité lactique à l'aide de l'hydroxyde de sodium à 0,11 mol/l. la présence de phénolphthaléine, comme indicateur coloré, indique la limite de la neutralisation par changement de couleur(rose pale). Cette acidité est exprimée en degré DORNIC(°D) où :1°D représente 0,1g d'acidité lactique dans un litre de lait(Mathieu,1998).(voire l'annexe n°5)

III.3.Analyses microbiologiques

Les analyses microbiologiques recommandées pour le yaourt sont présentées dans l'annexe n°6.

III.3.1. Préparation des milieux de culture

En fonction des besoins et de germes à rechercher , les milieux de culture sont préparés suivant le mode opératoire indiqué sur l'étiquette de la boîte de chaque milieu de culture. Pour préparer un milieu , on pèse la quantité voulue qu'on mélange avec de l'eau distillée dans les proportions indiquées sur le protocole de préparation de chaque milieu de culture . Ce mélange est chauffé et bien homogénéisé dans une erlenmeyer, le tout fait par un agitateur magnétique. La stérilisation du produit se fait à l'autoclave (120°C pendant 15min) et le milieu ainsi préparé est conservé dans un réfrigérateur à 4°C .(voire l'annexe n°7).

III.3.2.Préparation de la solution mère et des dilutions décimales

Au laboratoire, l'échantillon subit un traitement d'obtenir les dilutions décimales selon la norme AFNOR (NF V08-010 ,Mars 1996).dans un flacon stérile sont introduits 25g de yaourt aux quels sont ajoutés 225ml d'eau physiologique stérile.le contenu du flacon est homogénéisé et laissé au repos pendant 30min à température ambiante, pour assurer la revivication des micro-organismes. La solution ainsi obtenue constitue la suspension

mère(SM) à 10^{-1} . En prélevant 1ml de la SM qu'on ajoute 9ml d'eau physiologique contenus dans un tube, on réalise la dilution 10^{-2} . Ainsi de suite on réalise des dilutions ($10^{-3} \dots 10^{-5}$). Le mode opératoire plus détaillé est donné dans l'annexe n°9.

III.3.3. Recherche et dénombrement de la flore d'altération

III.3.3.1. Coliformes totaux

Il s'effectue sur le milieu VRBG selon la norme AFNORE (NF V08-060,1996) 1ml de la solution mère et ses dilutions décimales ($10^{-1} \dots 10^{-5}$) estensemencé en masse dans la gélose, puis incubé à 37°C pendant 48h (Bachtarzi, 2012). (voire l'annexe n°10)

III.2.3.2. Coliformes fécaux

Un aliquote (1ml) de la solution mère et ses dilutions décimales selon le type d'échantillon ($10^{-1} \dots 10^{-5}$) estensemencé en masse dans la gélose VRBG, puis incubé à 44°C pendant 48h (Bachtarzi, 2012). (voire l'annexe n°10)

III.2.3.3. Levures et moisissures

Un ml de la solution mère et ses dilutions décimales ($10^{-1} \dots 10^{-5}$) estensemencé en masse dans la géloses abouraud, ou bien 0,1 ml de 1 dilution choisie ($10^{-1} \dots 10^{-5}$) etensemencé en surface dans la meme gélose puis incubé à 28°C pendant 5 jours. Les colonies des levures et moisissures sont dénombrées séparément, selon la norme AFNOR (xp v 059, 1996). (voire l'annexe n°11)

III.2.3.4. Flore aérobie mésophile totale (FTAM)

Il est réalisé dans la gélose PCA, après ensemencement de 1ml de la solution mère et ses dilutions décimales ($10^{-1} \dots 10^{-5}$) et incubation à 28 ou à 30°C pendant 72h (Guiraud, 2003). (voire l'annexe n° 12).

III.3.4. Recherche et dénombrement de la flore pathogènes

III.3.4.1. *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*)

Le dénombrement des *Staphylococcus aureus* s'effectue sur milieu Giolliti Contonii selon la norme AFNOR (NF V08-057-1 et -2, 1996). Il est réalisé après ensemencement de 1ml de la solution mère et des solutions décimales ($10^{-1} \dots 10^{-5}$) dans des tubes contenant 9ml de milieux Giolliti Contonii puis l'incubation à 37°C pendant 24h.

Seront considérés comme positifs, les tubes ayant virés au noir.

Puis l'isolement sur gélose Chapman préalablement fondue, coulée en boîtes de pétri et bien séchées.

Les boîtes de Chapman ainsiensemencées seront incubées à leur tour à 37°C pendant 24 à 48 heures.(voire l'annexe n°13).

Chapitre IV :

***Résultat et
discussion***

IV.1. Analyses physicochimiques

IV.1.1. Détermination du pH

L'évolution du pH pendant le temps de conservation est représentée par la figure n°8.

Les valeurs de pH diminuent de façon générale, pour la température de stockage à 4°C les valeurs des quatre semaines obtenues sont 5,1 ; 5 ; 4,95 ; 4,92 respectivement, avec une moyenne de 4,99. Pour La température ambiante 25°C, les valeurs varient durant quatre semaines respectivement 4,99 ; 4,97 ; 4,9 ; 4,8 avec une moyenne de 4,92.

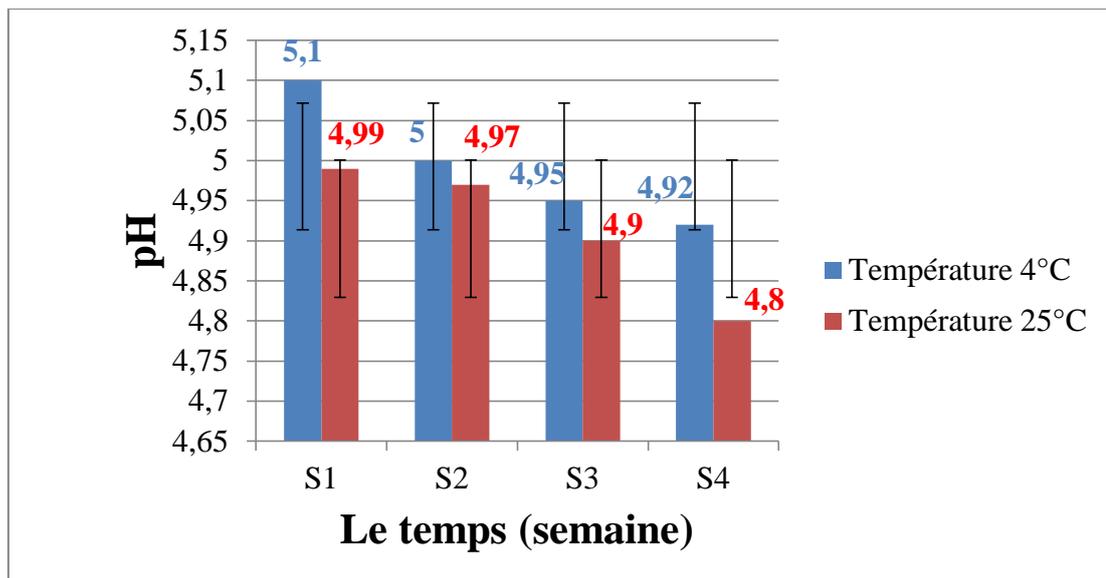


Figure 8 : les variations du pH en fonction du temps et de la température.

Les résultats obtenus indiquent que la température ambiante 25°C abaisse légèrement la valeur du pH comparativement à la température de stockage à 4°C (4,99 pour 4°C et 4,92 pour 25°C).

Selon (Anonyme, 2015) ces travaux sur le petit suisse montrent la valeur du pH obtenue à 4°C est 5, pour la température de stockage 37°C, la valeur obtenue est 4,80.

La baisse du pH peut s'expliquer par la croissance des bactéries lactiques favorisant l'acidification du milieu, ce qui entraîne une baisse du pH.

IV.1.2. Détermination de la densité

Les résultats relatifs à l'évolution de la densité sont illustrés par la figure n°9. Les valeurs de la densité diminuent d'une manière générale, pour la température de stockage 4°C, les valeurs obtenues sont 1,43 ; 1,39 ; 1,32 ; 1,28 g/cm³ respectivement avec

une moyenne de $1,36 \text{ g/cm}^3$. pour la température ambiante de 25°C , les valeurs obtenues sont $1,6$; $1,35$; $1,28$; 1 g/cm^3 avec une moyenne de $1,3 \text{ g/cm}^3$.

Les résultats obtenus indiquent que la température ambiante de 25°C abaisse significativement la valeur initiale de la densité, comparativement à la température de 4°C ($1,36$ pour 4°C vis-à-vis à $1,3$ pour 25°C).

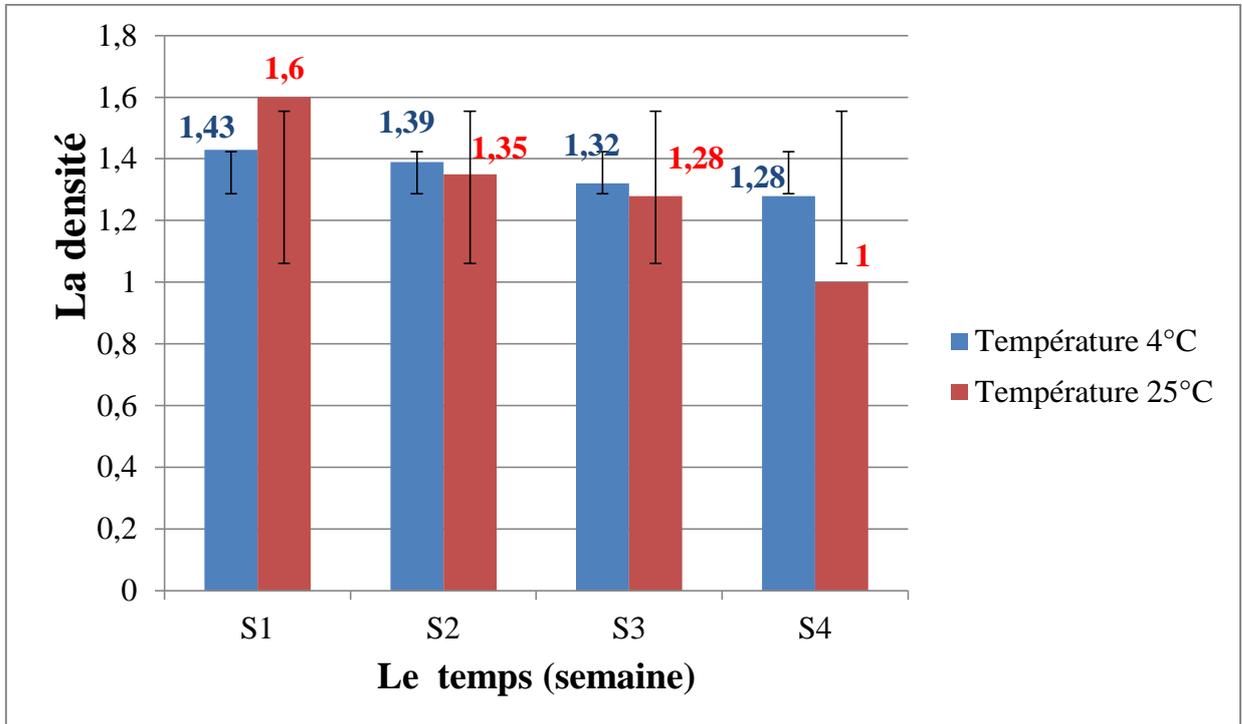


Figure 9: les variations de la densité en fonction du temps et de la température.

Selon (Anonyme, 2015) ces travaux sur le petit suisse montrent la valeur de la densité obtenue à 4°C est $1,39$ pour la température de stockage 37°C , la valeur obtenue est $1,15$.

La baisse de la densité peut s'expliquer par la dégradation des protéines et lipides induite par les bactéries lactiques.

IV.1.3. Détermination de conductivité

Les résultats relatifs à l'évolution de la conductivité sont illustrés par la figure n°10.

Les valeurs de la conductivité augmentent d'une manière générale pour la température ambiante 25°C , les valeurs obtenues durant quatre semaines sont $5,25$; $5,4$; $6,2$; $7 \mu\text{s/cm}$ respectivement, avec une moyenne de $5,96 \mu\text{s/cm}$.

Pour la température de stockage de 4°C, les valeurs obtenues durant les quatre semaines sont 4,9 ; 5,1 ; 5,4 ; 5,9 $\mu\text{s}/\text{cm}$ avec une moyenne de 5,32 $\mu\text{s}/\text{cm}$.

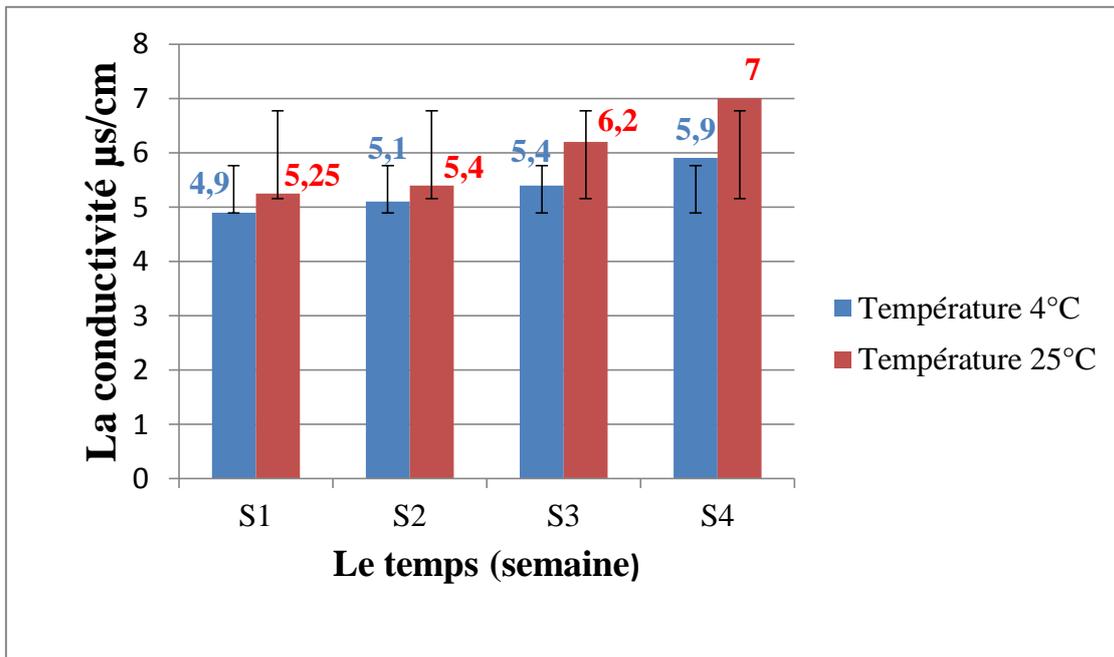


Figure 10 : les variations de la conductivité en fonction du temps et de la température.

Les résultats obtenus montrent que la température ambiante de 25°C augmente significativement la valeur de la conductivité comparativement à la température de stockage 4°C (5,96 $\mu\text{s}/\text{cm}$ pour 25°C vis-à-vis 5,32 à 4°C).

Selon (Anonyme, 2015) ces travaux sur le petit suisse montrent la valeur de la conductivité obtenue à 4°C est 6,23 $\mu\text{s}/\text{cm}$, pour la température de stockage 37°C, la valeur obtenue est 6,24 $\mu\text{s}/\text{cm}$.

L'augmentation de la conductivité obtenue pour la température ambiante de 25°C est due à la dégradation partielle de la matrice laitière et ainsi le changement de l'équilibre ionique du milieu (yaourt) suite aux différentes interactions moléculaires qui résultent de cette dégradation.

Certains sels minéraux (monovalents, polyvalents) peuvent donc interagir avec les différents composants ou nutriments (acides aminés, acides gras, lactose...), mais aussi la diminution du PH entraîne une augmentation du calcium ionique...etc. (Fernandez M et Sans, 1985).

D'après ces résultats on constate que la température ambiante de 25°C a un effet significatif sur la conductivité de l'échantillon en augmentant la thermodynamique de l'eau, la dégradation des nutriments par les micro-organismes présents qui sont plus actifs.

IV.1.4. Détermination de l'acidité Dornic

Les résultats relatifs à l'évolution de l'acidité dornic sont illustrés par la figure n°11.

Une augmentation de l'acidité dornic est observée avec des valeurs 149,6 ; 165,44°D ; 174,24°D ; 177,76°D avec une moyenne de 166,76°D pour la température de stockage de 4°C, pour la température ambiante les valeurs obtenues sont comprise 158,4°D ; 165,44°D ; 170,72°D ; 184,8°D avec une moyenne de 169,84°D.

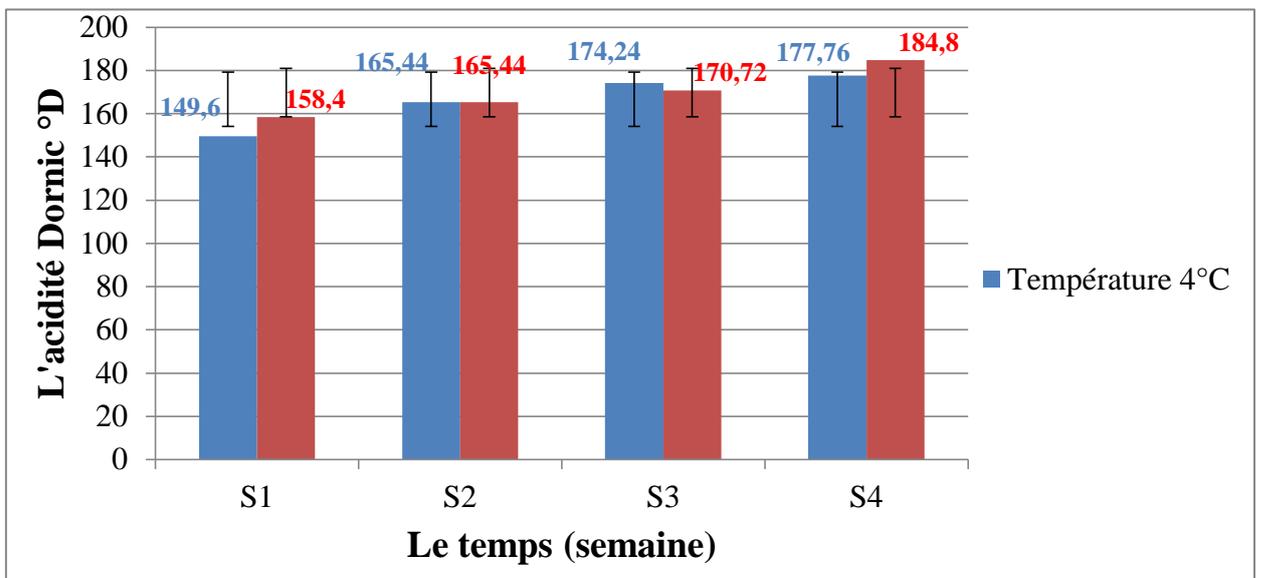


Figure 11 : les variations de l'acidité Dornic en fonction du temps et de la température.

Le résultat obtenu montre que la température ambiante de 25°C augmente significativement la valeur de l'acidité dornic comparativement à la température de stockage 4°C.

Selon (Anonyme, 2015) ces travaux sur le petit suisse la valeur de l'acidité dornic obtenue à 4°C est 161,5°D, pour la température de stockage 37°C, la valeur obtenue est 164°D.

L'augmentation de l'acidité dornic peut s'expliquer par la présence des bactéries lactiques qui dégradent le lactose et libèrent l'acide lactique, rendant ainsi le milieu plus acide.

IV.2. Analyse microbiologique

Durant la quatrième semaine on a remarqué que les pots de yaourt sont gonflés comme on a senti l'odeur d'éthanol et la texture a changé (coagulation) et aussi l'apparition d'une couche d'eau.

IV.2.1. Flore totale aérobie mésophile FTAM

Selon la courbe d'évolution des germes totaux à température ambiante 25°C, un développement de la FTAM est observé, le nombre atteint $2,7 \cdot 10^5$ UFC/g, La charge microbienne est donc élevée et largement supérieure à celle de la température de stockage 4°C $1,07 \cdot 10^3$ UFC/g (Figure n°12)

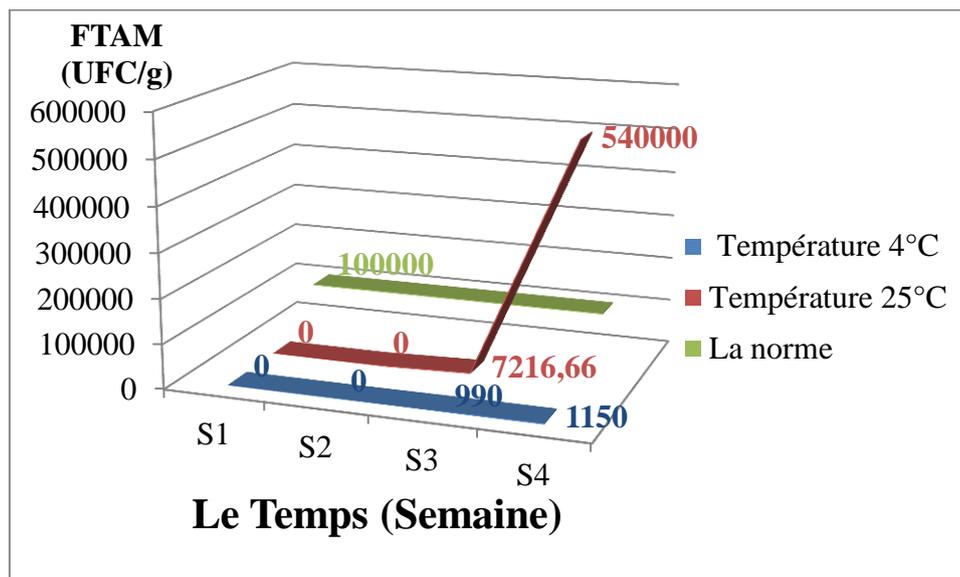


Figure 12 : Evolution des FTAM en fonction du temps et de la température.

Cette augmentation est la conséquence probable de mauvaises pratiques d'hygiène au cours de la fabrication de yaourt.

Un nombre élevé de germes (FTAM) est constaté lorsque les pots de yaourt sont conservés à température ambiante 25°C par rapport à ceux réfrigérés. Bien évidemment, il est bien connu que le froid inhibe la croissance microbienne et permet une meilleure conservation, et la température élevée accélère la croissance microbienne.

IV.2.2. Coliformes totaux

Selon la courbe d'évolution des coliformes totaux, la charge moyenne des coliformes totaux est de l'ordre de $1,7 \cdot 10^3$ UFC/g à 4°C, pour la température ambiante de 25°C la charge moyenne est $4,18 \cdot 10^4$ UFC/g (figure n°13). Pour le produit stocké à 4°C les résultats sont

négatives les trois premières semaines par contre la 4^{ème} semaine montre une croissance des coliformes totaux.

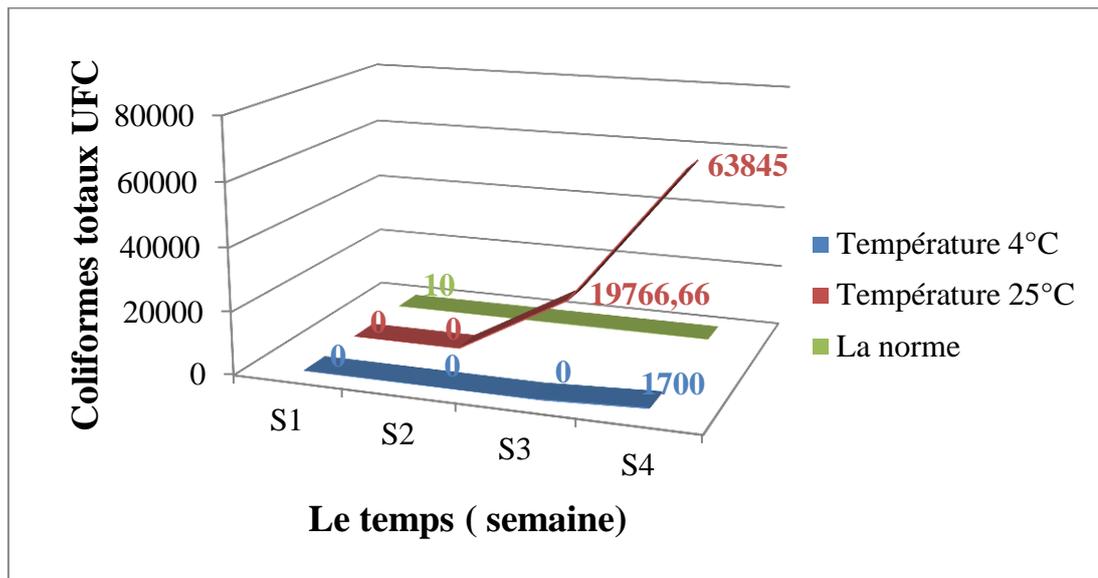


Figure 13: Evolution des coliformes totaux en fonction du temps et de la température.

Les résultats obtenus ne sont pas conformes aux normes du journal officiel ; elles dépassent largement le nombre de germes autorisé (10 UFC) (JORA, 1998).

Selon (Anonyme, 2015) ces travaux sur le petit suisse la charge moyenne des coliformes totaux dans la variété Y est de l'ordre de $1,4 \cdot 10^3$ UFC/g à 4°C, en ce qui concerne les échantillons stockés à température ambiante 37°C sa valeur moyenne est $1,5 \cdot 10^5$ UFC/g.

Les coliformes sont des microorganismes d'altération, leur présence indique une faute hygiénique relevant soit d'une mauvaise qualité du lait utilisé, soit de la malpropreté du matériel de fabrication, mais aussi une grande probabilité grâce aux manipulateurs durant la fabrication de yaourt.

IV.2.3. Levures et moisissures

Les levures et moisissures sont des germes d'altération, la charge moyenne est de l'ordre de $2,5 \cdot 10^3$ UFC/g à température de stockage de 4°C, pour la température ambiante de 25°C la charge moyenne est de l'ordre $1,5 \cdot 10^4$ UFC/g (figure n° 14).

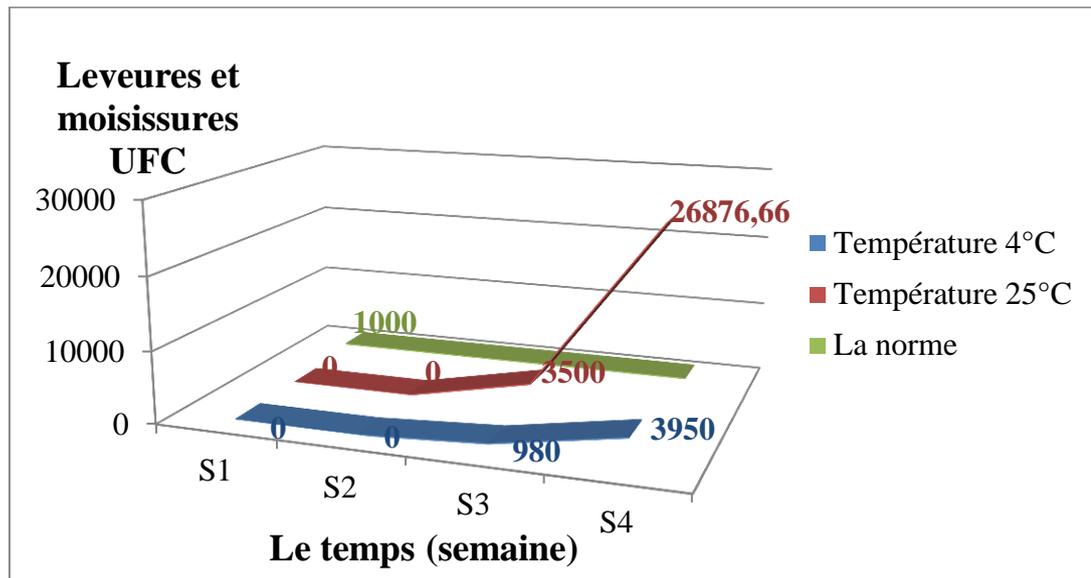


Figure 14 : Evolution des levures et moisissures en fonction du temps et de la température.

Les résultats obtenus ne sont pas conformes aux normes du journal officiel ; elles dépassent largement le nombre de germes autorisé (1000 UFC) (JORA, 1998).

Selon (Anonyme, 2015) la charge moyenne en levures et moisissures est de l'ordre de $5,4.10^8$ à 4°C et de 3.10^9 UFC/g à température ambiante.

Il est bien connu que les levures et les moisissures préfèrent un milieu acide, d'où ces numérations élevées. Elles peuvent donc parfaitement se développer dans le yaourt et peuvent provoquer des altérations, comme l'odeur d'éthanol et le gonflement par suite de la fermentation.

IV.2.4. *Staphylococcus aureus* et coliformes fécaux

La recherche des *staphylococcus aureus* et coliformes fécaux montrent une absence totale de ces germes dans le yaourt à différentes températures (4°C et la température ambiante) et avec les variations de temps (et 2 heures après avoir ouvert les pots).

Les résultats négatifs que nous avons obtenus alors sont conformes aux normes du journal officiel algérien (JORA N° 35 du 27 mai 1998).

L'absence des germes pathogènes dans les échantillons est probablement la conséquence de l'utilisation de matière première de qualité microbiologique satisfaisante et de respect des règles de l'hygiène durant les opérations de préparation du yaourt.

Cependant, cette absence peut être renforcée par l'inhibition par les bactéries lactiques (Alias, 1984), par la production des substances inhibitrice (peroxyde d'hydrogène et/ ou bactériocines) contre ces germes.

IV.3. Analyse physico-chimique après 2 heures de l'ouverture des pots du yaourts

IV.3.1. Détermination de pH

Les résultats relatifs à l'évolution de pH sont illustrés par la figure n°15.

On note que La valeur de pH est diminuée durant les deux heures, pour la température de stockage 4°C après l'ouverture directe la valeur obtenue est 5,1, pour la température 4°C après deux heures d'ouverture la valeur obtenue est 4,97.

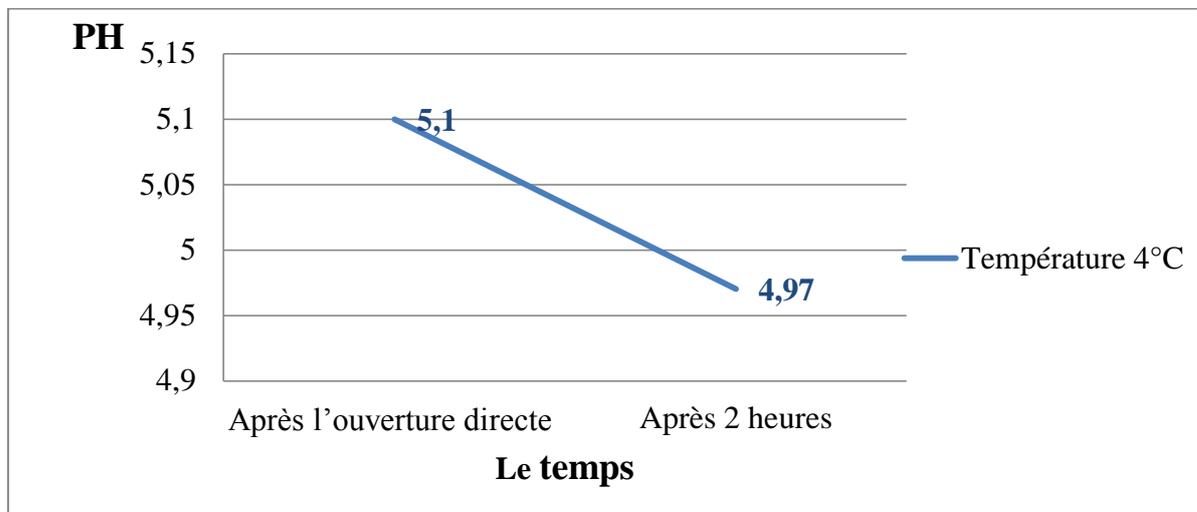


Figure 15 : l'évolution de pH en fonction du temps.

Les résultats obtenus indiquent que l'ouverture de pots de yaourt et le maintient ouvert à l'air ambiante pendant deux heures abaisse légèrement la valeur du pH comparativement à la valeur initiale.

L'abaissement du pH obtenu est dû en grande partie à la synthèse de l'acide lactique par les bactéries lactiques.

IV.3.2. Détermination de la densité

Les résultats relatifs à l'évolution de la densité sont illustrés par la figure n°16.

On note que La valeur de la densité est diminuée durant les deux heures, pour la température de stockage 4°C après l'ouverture directe la valeur obtenue est 1,39, pour la température 4°C après deux heures d'ouverture la valeur obtenue est 1,37

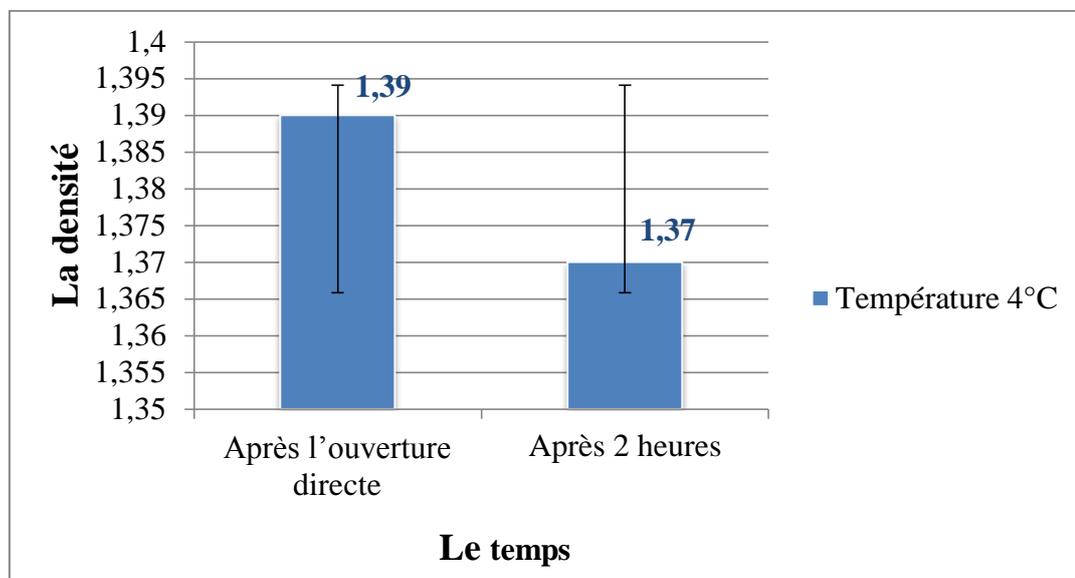


Figure 16: l'évolution de la densité en fonction du temps.

Les résultats obtenus indiquent que l'ouverture de pots de yaourt et le maintien ouvert à l'air ambiante pendant deux heures abaisse légèrement la valeur de la densité comparativement à la valeur initiale.

La diminution de la densité obtenue est probablement due à la dégradation des protéines et lipides induite par les bactéries lactiques.

IV.3.3.Détermination de la conductivité

Les résultats relatifs à l'évolution de la conductivité sont illustrés par la figure n°17.

On note que La valeur de la conductivité est augmentée durant les deux heures, pour la température de stockage 4°C après l'ouverture directe la valeur obtenue est 5,1ms/cm, pour la température 4°C après deux heures d'ouverture la valeur obtenue est 5,2ms/cm.

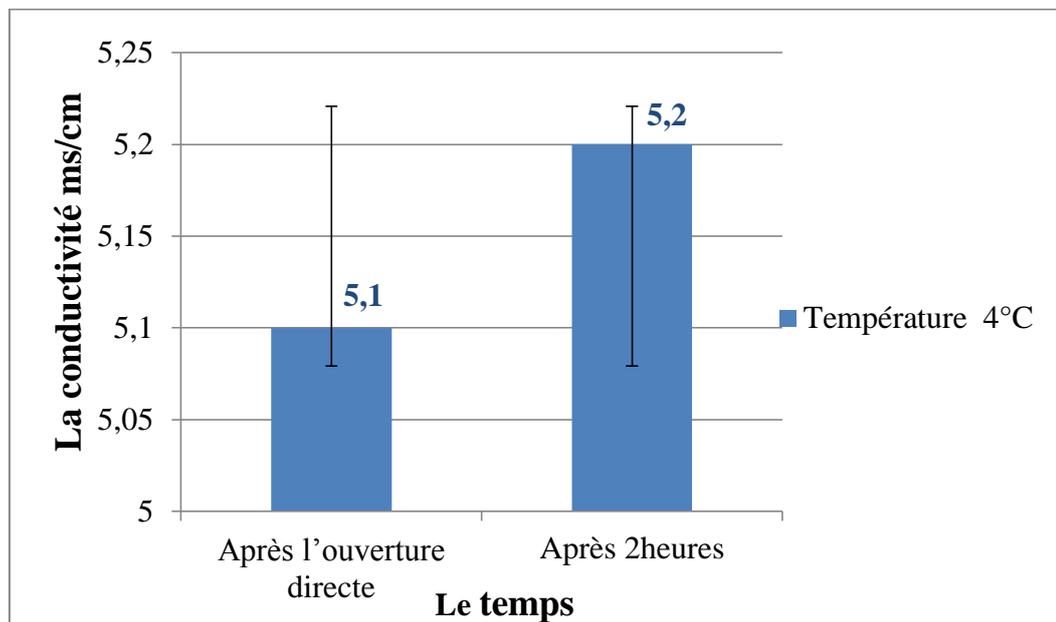


Figure 17: l'évolution de la conductivité en fonction du temps.

Les résultats obtenus indiquent que l'ouverture de pots de yaourt et le maintien ouvert à l'air ambiante pendant deux heures augmente légèrement la valeur de la conductivité comparativement à la valeur initiale.

IV.3.4.Détermination de l'acidité dornic

Les résultats relatifs à l'évolution de l'acidité dornic sont illustrés par la figure n°18.

On note que la valeur de l'acidité dornic est augmentée durant les deux heures, pour la température de stockage 4°C après l'ouverture directe la valeur obtenue est 149,6°D, pour la température 4°C après deux heures d'ouverture la valeur obtenue est 153,12°D.

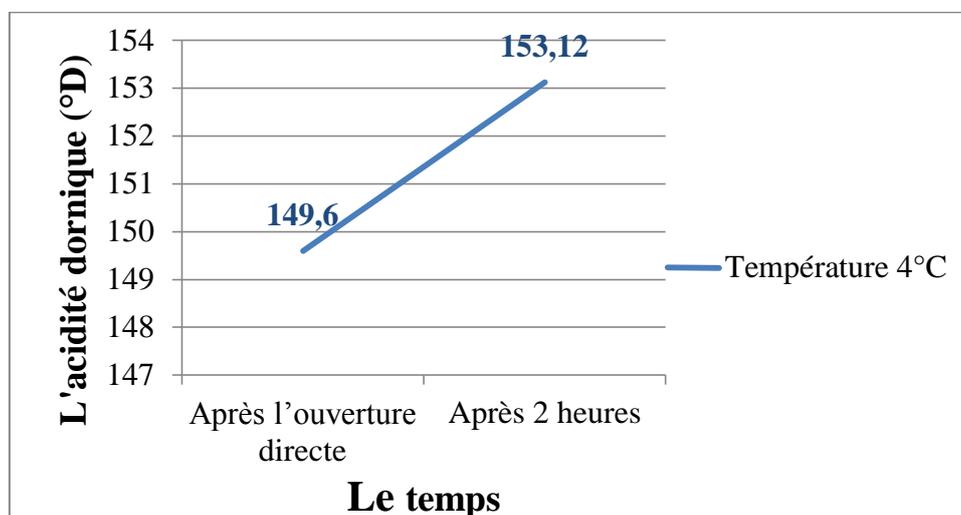


Figure 18 : l'évolution de l'acidité dornic en fonction du temps.

Les résultats obtenus indiquent que l'ouverture de pots de yaourt et le maintien ouvert à l'air ambiante pendant deux heures augmente significativement la valeur de l'acidité dornic comparativement à la valeur initiale.

L'augmentation de l'acidité dornic peut s'expliquer par la présence des bactéries lactiques qui dégradent le lactose et libèrent l'acide lactique, rendant ainsi le milieu plus acide.

IV.4. Analyse microbiologique Après l'ouverture des pots du yaourts

IV.4.1. Flore totale aérobie mésophile FTAM

D'après les résultats obtenus les FTAM sont absents pour la température de stockage 4°C après l'ouverture directe, ils sont présents avec une charge moyenne de l'ordre de $8,4 \cdot 10^3$ UFC/g pour la température 4°C après deux heures d'ouverture. (Figure n° 19)

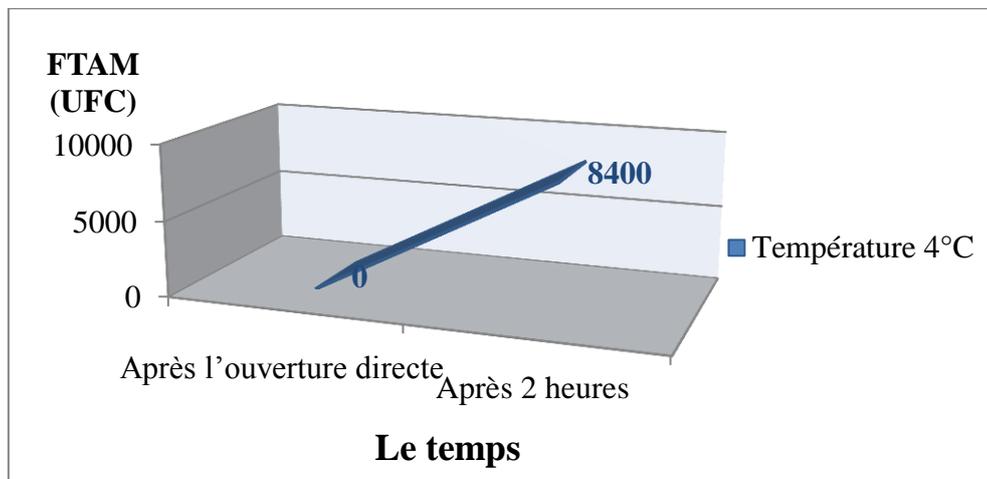


Figure 19: l'évolution des FTAM en fonction du temps.

Un nombre élevé de germes (FTAM) est constaté lorsque les pots de yaourt maintiennent ouvert à l'air ambiant pendant deux heures.

La recherche des micro-organismes aérobies non pathogènes dits « revivifiables » permet de dénombrer les bactéries se développant dans des conditions habituelles de culture et représentant la teneur moyenne en bactéries d'une ressource naturelle.

Ces germes n'ont pas d'effets directs sur la santé mais sont des indicateurs qui révèlent la présence possible d'une contamination bactériologique.

IV.4.2. Coliformes totaux

D'après les résultats obtenues les coliformes totaux sont absents pour la température de stockage 4°C après l'ouverture directe, ils sont présentent une charge moyenne de l'ordre de $3,29 \cdot 10^4$ UFC/g pour la température 4°C après deux heures d'ouverture. (Figure n°20).

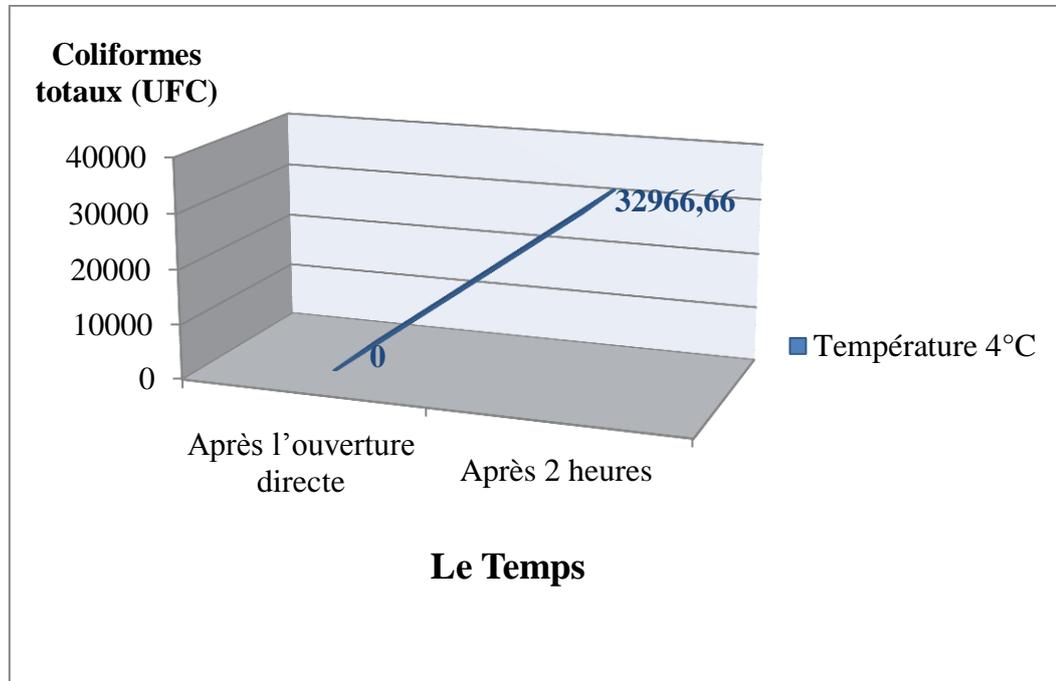


Figure 20: l'évolution des coliformes totaux en fonction du temps.

Un nombre élevé de germes (coliformes totaux) est constaté lorsque les pots de yaourt maintiennent ouvert à l'air ambiant pendant deux heures.

La présence des coliformes totaux n'est pas obligatoirement indication directe de la contamination fécale. Certains coliformes sont, en effet, présents les résidus humides rencontrés au niveau de l'équipement laitier (Larpen, 1997).

IV.4.3. Levures et moisissures

D'après les résultats obtenue les levures et les moisissures sont absents pour la température de stockage 4°C après l'ouverture directe, ils sont présentent une charge moyenne de l'ordre de $2,51 \cdot 10^5$ UFC/g pour la température 4°C après deux heures d'ouverture. (Figure n°21).

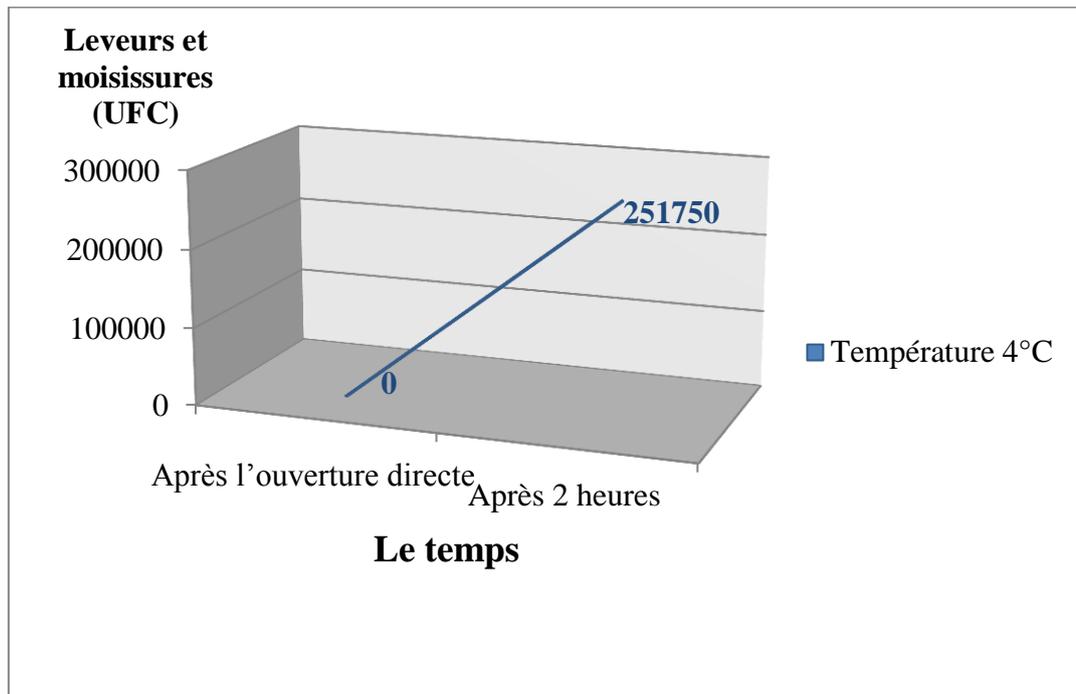


Figure 21: l'évolution des levures et moisissures en fonction du temps.

Un nombre élevé de germes (levures et moisissures) est constaté lorsque les pots de yaourt maintiennent ouvert à l'air ambiant pendant deux heures.

Selon la nature et la concentration environnementale des agents en cause et selon la susceptibilité des individus exposés, les moisissures ont été associées à des effets de type irritatif, immunologique (aussi bien des réactions allergiques que des réponses immunitaires nocives), toxiques (réactions aiguës à de fortes concentrations et réactions systémiques à la suite d'expositions répétées ou mycotoxiques) et, plus rarement, à des infections opportunistes chez des individus sévèrement immunodéprimés ainsi qu'à des effets cancérigènes et immunosuppresseurs, dans des contextes d'exposition importante (Marie et al.,2002).

Conclusion

Cette étude avait pour le but d'évaluation de la qualité microbiologique et physico-chimique de yaourt en fonction des conditions de conservation pour une marque la plus consommés chez la plupart des gens et la moins chère.

L'objectif essentiel : l'importance de connaissance des défauts les plus dominants quotidiennement dans nos maisons et son risque à notre santé.

Pour cette étude, on a choisi une marque et consommés dans la région de BBA selon l'enquête, elle a montré que le yaourt est largement consommé d'une manière incorrecte par presque 25% de la population (de région d'étude).

Ces fausse habitude menace en particulière la santé des enfants, des bébés et des gens âgés.

Les résultats des analyses physico-chimiques ont montrés que durant les quatre semaines de conservation à température 4°C la variation des paramètres ; pH, densité présente une diminution significative en raisons de la présence des bactéries lactiques. Par contre ces analyses ont présentés une augmentation significative de la conductivité et de l'acidité dornic.

Les analyses microbiologiques ont montré que des échantillons stockés à une température à 4°C dans les deux premières semaines à la conservation une absence totale des germes, et dans les dernier semaines de la conservation (même après DLC) Aussi une absence des germes, par contre les échantillonnes stockés à 25°C soit pour les semaines avant ou après la DLC, les résultats montrent une présence des germes pathogènes (*Staphylococcus aureus*) car le produit devient acide où c'est un milieu favorable à la multiplication des levures et des moisissures.

Après deux heures de l'ouverture des pots du yaourt stocké à 4°C, les analyses ont montré le changement des paramètres physico-chimique et microbiologique comme celles stocké à 25°C à la corruption de produit dont il est affecté par des nombreux facteurs ; l'air, l'humidité.....etc.

Conclusion et perspectives

Selon nos résultats, bien que le produit a dépassé la date DLC dans les conditions de conservation à 4°C, il est reste propre à la consommation (qualité satisfaisante) à condition de consommé immédiatement après l'ouverture. En conclusion, l'ensemble des résultats obtenus a confirmé que : le froid agit essentiellement en retardant la multiplication et l'apparition des phénomènes d'altération et en ralentissant la multiplication microbiennes surtout pour les micro-organismes pathogène. Toute hausse de température provoque et accélère la croissance microbienne et réduit la durée de vie du produit. Pour la sécurité sanitaire des consommateurs en particulière les personnes âgées et les enfants, il faut respecter la conservation de ce produit à la température conseillé au réfrigérateur qui doit être rester aussi constante , jusqu'à la consommation.

Il faut conseiller consommé le yaourt immédiatement après de l'ouverture car il devient impropre définitivement à la consommation notamment pour les personnes sensibles où l'immunité est faible. Pour cela le produit "YAOURT" nécessite conservé dans une température 4°C.

Pour les futures études, nous proposons :

- Faire des études approfondies sur la qualité de yaourt avec d'autre paramètre, exemple: les vitamines.

- Faire des testes sur d'autre produits les plus consommés.

- Faire des déplions de sensibilisation concernant les mauvaises habitudes culinaires.

- Evaluer les habitudes quotidiens d'utilisation et de consommation des produits ; fromage, jus, eau.....

Perspectives

- ✓ Etudier l'effet de la température du stockage sur la qualité organoleptique du yaourt.
- ✓ Etudier l'effet de la température du stockage sur la qualité nutritionnelle ; dosage des protéines, des vitamines et la teneur de lactose.

Références

1. **Aboutayeb R. (2009)**. Technologie du lait et dérivés laitiers <http://www.azaquar.com>.
2. **ACCOLAS J.P. (1979)**. Congrès International de Microbiologie et Industrie Alimentaire. 4ème journée (11 octobre 1979), p. 1 à 24 + planche.
3. **Adrian J et Lepen B. (1987)**. Le lactose *in* : le lait matière première de l'industrie laitière, 99-107, NRA-CEPIL ; Paris.
4. **AFNOR. (1999)**. Microbiologie alimentaire : Méthodes horizontales, Tome 1.- Paris : AFNOR.- 630 p.
5. **Alais C. (1984)**. Science du lait : principes et technique laitiers, paris, p814.
6. **Amiot J. Fournier S. Lebeuf Y. Paquin P. Simpson R et Turgeon H. (2002)**. Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et Techniques d'analyse du lait In VIGNOLA C.L, Science et technologie du lait & Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, ISBN : 3-25-29 (600 pages).
7. **Anonyme. (1995)**. Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO : Alimentation et nutrition : p 28.
8. **Anonyme. (2015)**. Analyse microbiologique d'un produit laitier (Yaourt) : enquête alimentaire 43P.
9. **Anonyme. (2015)**. L'effet de la température de stockage sur la qualité physico-chimique de petit-suisse .p39.
10. **Bachir N. Kadim S. Karine. (2005)**. annuaire des statistiques du commerce extérieur 2006 (Direction de la Statistique et de la Démographie du Sénégal).
11. **Bachtarzi N. (2012)**. qualité microbiologique du lait cru des destine a la fabrication d'un type de camembert dans une unité de l'est algérien, pp 37-38.
12. **Barry B. (2014)**. Amélioration de la technique de fabrication du yaourt pratiquée dans la Commune Urbaine de Mamou.
13. **Beal C et Corrieu G. (1991)**. Influence of pH, temperature, and inoculums composition on mixed cultures of *Streptococcus thermophilus* 404 and *Lactobacillus bulgaricus* 398. Biotechnol. Bioeng.
14. **Beal C. & Sodini I. (2003)**. Fabrication des yaourts et des laits fermentés. Techniques de l'Ingénieur, traité Agroalimentaire, Doc. F6 315.
15. **Belbeldi A., (2013)**. Contribution à la caractérisation du fromage bouhezza : contenu lipidique et vitamines, pp04.
16. **Bensoltane, A ; Yaguoubi, A ; Mahi, M. and Cheriguene, A. (2004)**. Characterization of lactic acid bacteria used in traditional Algerian butter milk. (Soumis à la revue Egyptian Journal of Applied Sciences). EGYPTE.
17. **Bergamaier D. (2002)**. Production d'exopolysaccharides par fermentation avec des cellules immobilisées de *Lactobacillus rhamnosus* RW-959M dans un milieu à base de permeat de lactosérum. Thèse de doctora, Université de Laval, Canada.
18. **Boubacar B. (2014)**. Amélioration de la technique de fabrication du yaourt pratiquée dans la Commune Urbaine de Mamou p39.
19. **Boudier J.F. (1990)**. Produits frais. *In* laits et produits laitier : Vache – Brebis – Chèvre. pp. 35-66. ed. Luquet, F.M., Technique et Documentation, Lavoisier, paris.
20. Cambridge, woodhead Publishing.
21. **Cntiha H.B.Souza, Susana M.I. Saad(2009)**. Viability of *Lactobacillus acidophilus* la-5 added solely or in co-culture with a yoghurt starter culture and implications on physico-chemical and related properties of Minas fresh cheese during storage.
22. **CODEX ALIMENTARIUS, (1975)**. Normes n°A 11(A).- Rome : FAO/OMS.- 86p.
23. **Dabireb D. (2002)**. Analyse biochimique et microbiologique de yaourts et laits fermentés. Mémoire Maîtrise des Sciences et Techniques : Ouagadougou.
24. **Debry G. (2001)**. Lait, nutrition et santé, Tec et Doc, Paris : 21 (566 pages).
25. **DIENG M, (2001)**. Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits caillés industriels commercialisés sur les marchés dakarois. Thèse : Méd. Vét, Dakar, 10.
26. **Doleyres Y. (2003)**. Production en continue du ferment lactique probiotique par la technologie des cellules immobilisées. Thèse de Doctorat. Université de Laval, Quebec.

27. **Ercolini Danilo, Russo Federica, Ferrocino Ilario Villani, Francesco Dietitians and Managers Dietary (2009).** Food microbiology.
28. **FAO. (1995).** le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine, P : 154-164.
29. **Farky N.Y & Imafodon G.I. (1995).** Thermal denaturation of indifenuous milk enzymes. *In* Heat-induced changes in milk, 2nd Ed . . Fox, P.H., International Dairy Federation, Brussels.
30. Federighi M. (2005).Bactériologie Alimentaire compendium d'hygiène des aliments.2^{ème} Edition, Economica.292p.
31. **FRANCE / Cidil et Inra. (2009).** Du lait aux produits laitiers. –Paris : Cidil. – 19p.
32. **FRANCE / Ministère de l'Economie et des Finances. (2009)** .Spécifications techniques de l'achat public lait et produits laitiers. – Paris : OEAP.-47p.
33. **Franworth E.,Mainville I. (2010).** Les produits laitiers fermentés et leur potentiel thérapeutique, Centre de recherche et de développement sur les aliments, Saint-Hyacinthe. <http://www.dos.transf.edwa.pdf>
34. **Fredot E. (2005).** Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier : 10-14 (397 pages).
35. **Fredot E., (2006).** Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier : 25 (397 pages).
36. **Gaucheron F. (2004).** Minéraux et produits laitiers, Tec et Doc, Lavoisier:783 (922 pages).
37. GHAOUES SouheilaEvaluation de la qualité physico-chimique et organoleptique de cinq marques de laits reconstitués partiellement écrémés commercialisés dans l'est Algérien 2010-2011
38. **Guiraud J.P.(2003).**Microbiologie Alimentaire. Edition. Dunod. Paris.
39. **Hermier et Accolas , (1990).** Tech d'analyse et de contrôle dans les industries agro alimentaire. Edition APRIA.
40. **Jacquinet S.A.,(2009).**Evaluation du dépistage des mammites par la conductivité électrique du lait, Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE 3-410,pp 27.
41. **Jeanet R. Croguennec T. Mahaut M. Schuck P. et Brule G. (2008).** Les produits laitiers ,2^{ème} édition, Tec et Doc, Lavoisier : 1-3-13-14-17 (185 pages).
42. **Jeanet R. Croguennec T. Schuck P. et Brule G. (2007).** Science des aliments-technologie des produits alimentaires tec et doc, Lavoisier : 17 (456pages).
43. **Kostinek. M., Specht. I, Edward. V.A, Pinto. C, Egonlety. M, Sossa. C, Mbugua.S, Dortu . C, Thonart. P , aljaardl. T, M. Mengu, C.M.A.P. Franz, W. H. Holzapfel,(2006).** Characterisation and biochemical properties of predominant lactic acid bacteria from fermenting cassava for selection as starter cultures.
44. **Lamoureux L. (2000).** Exploitation de l'activité β - galactosidase de culture de bifidobactéries en vue d'enrichir des produits laitiers en galacto-oligosaccharides. Mémoire de maîtrise. Université de Laval, Canada.
45. **Larpent.J.P.(1997).** Mémento techenique de micro-biologie Techenique et documentation.
46. **Laurence Audenet V. et Cohen Maurel E. (2004).** Conserve traditionnelle et fermière Paris édition Technique et Documentation-Lavoisier, p633.
47. **Leory F., Degeest B. & De Vuyst L. (2002).** A novel area of predictive modling: describing the functionally of beneficial micro-organisms in foods. *International Journal of Food Microbiology*, **73**, 251-259.
48. **Lompo I. Niculescu N., Broutain C. (2006).** Démarche d'élaboration d'un guide de bonnes pratiques d'hygiène : maîtrise de la qualité dans la transformation laitière. – Ouagadougou : GRET.- 44p.- (Compte rendu atelier sous régional de restitution).
49. **Loones A. (1994).** Laits fermentés par les bactéries lactiques. *In* Bactéries lactiques. De Roissart , H. et Luquet,F.M., II , Lorica, paris.
50. **Loones A. (1994).** Laits fermentés par les bactéries lactiques. *In* Bactéries lactiques : Aspects fondamentaux et techenologiques. De Roissart,H. et Luquet, F.M., II , Lorica, paris.
51. **Luquet f M et Corrieu G. (2005).**Bactéries lactiques et probiotiques. Edition Tec 8c Doc, Lavoisier. Paris 307p.
52. **Mahaut H. (2000).** Initiation à la technique fromagère édition tec et doc, P : 1-187.
53. **Mahaut M., Jeanet R., Brulé G. et Schuck P.(2000).** Les produits industriels laitiers. *Technique et documentation.* Lavoisier(Ed), paris.

54. **Malang, S. (1998).** Contrôle de qualité des aliments et analyses microbiologiques 3^{ème} éditions, p 76.
55. **Maltini Enrico, Di Nardo Paolo, (2006).** Preparation of freeze-dried youghurt as a space food Elena Venir.
56. **Marie-Alix d'Halewyn, M , Jean-Marc Leclerc, M . (2002).**les risques à la santé associés à la présence de moisissures en milieu intérieur.p159
57. **Marshall V.M.E. (1987).** Lactic acid bacteria: starts for flavore, *FEMS Microbiology Review*, **46**, 327.
58. **Marty-Teyssset C., De la Torre F. et Garel J.R. (2002).** Increased production of hydrogen peroxyde by lactobacillus delbruekii ssp bulgaricus upon aeration: involvement. *Applied and Environmental Microbiology*, **66**(1), 262-267.
59. **Mathieu J.(1998).**initiation à la physicochimie du lait.Guides technologiques des IAA.Edition Lavoisier Tec et Doc, Paris.
60. **Mietton B., Weber F., Desmazeaud M. & De Roissart H. (1994).** Transformatio des produits animaux Transformation du lait en framage. *In Bactéries lactiques: Aspects fondamentaux et technologique. Vol 2. De Roisseart, H. & Luquet, F. M. (Eds), Lorica, Uriage, 55-133.*
61. **Ngounou C., Ndjouenkeu R., Mbofung F et Noubi I. (2003)** Mise en évidence de la biodisponibilité de calcium et du magnésium au cours de la fermentation du lait par des bactéries lactiques isolées du lait caillé du Zébu. *Journal of Food Engineering*, **57**, p: 301-307.
62. **Ongol Martin Patrick , Sawatari Yuki , Ebina Yoshiko , Sone Teruo , Tanaka Michiko, Tomita Fusao , Yokota Atsushi , Asano Kozo , (2007).** Yoghurt fermented by Lactobacillus delbruechii subsp. Bululgaricus H+-ATPase-defective mutants exhibits enhanced viability of Bifidobacterium breve during storage.
63. **Palletier J-F., Faurie J-M. & François A. (2007).** Lait fermenté : la techenologie au service du goutte. *In Cahiers de Nutrition et de Dietetique, Volume 42, Issue 2, 18-05-2007.*
64. **Pissang t D.(1992).** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits et produits laitiers commercialisés au Togo. Thèse : Med. Vet. : Dakar(EISMV) ; 9.
65. **Pointurier H. (2003).** La gestion matière dans l'industrie laitière, Tec et Doc, Lavoisier, France: 64 (388 pages).Somesthésie-Neurosciences, Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes <http://www.yopdf.en>.
66. **Pougheon S. (2001).** Contributiona l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière, Ecole Nationale Vétérinaire Toulouse, France: 34 (102 pages).
67. **Pougheon S. Goursaud J., (2001).** Le lait caractéristiques physicochimiques *In DEBRY G., Lait, nutrition et santé, Tec et Doc, Paris : 6(566 pages).*
68. **Purwandaria U., N.P.Shaha, T. Vasiljevica, (2007).** Effects of exopolysaccharide-producing strains of Streptococcus thermophilus on technological and rheological properties of set-type yoghurt.
69. **Rheotest M. (2010).** Rhéomètre RHEOTEST® RN et viscosimètre à capillaire RHEOTEST® LK R Produits alimentaires et aromatisants <http://www.rheoest.de/download/nahrungs.fr.pdf>.
70. **Rian J. Potus J. Frangne R. (2004).** La science alimentaire de A à Z ,2^{ème} édition, Tec et Doc, Lavoisier : 79 (477 page).
71. **Righi M. (2006).** Microorganismes en action : le yaourt, PISTES, FSE, Université Laval.
72. **Rousseau M. (2005).** La fabrication de yaourt, les connaissances. INRA.
73. **Schoda P., Hechler A. Hinrichs J. (2001).** Influence of the protein content on structural characteristics of stirred fermented milks. *Milchwissenschaft*, **56**, 19-22.
74. **Singh Sudheer K., Ahmed Syed U. & Ashkor P. (2006).** Yourt science and technology, 2nd Ed. Cambridge, woodhead Publishing.
75. **Sshmidt J.L., Tourneur C. & Lenoire J. (1994).** Fonction et choix des bactéries lactiques laitières. *In bactéries lactiques. De Roissart, H. et Luquet, F.M.,II, Lorica, parise.*
76. **Stoll W. (2003).** Vaches laitières -L'alimentation influence la composition du lait , vol 9, [http:// www.db- alp-admin-ch/ fr/ publication en / docs/ 2612.pdf](http://www.db-alp-admin.ch/fr/publication/en/docs/2612.pdf).
77. **Stolz, H., Espig, F., Kretzschmar, U. (2011).** Fact sheets on all the tested products in the appropriate language. Deliverable No. 6.3 of ECROPOLIS Project. Research Institute of Organic Agriculture (FiBL), Frick, Switzerland.
78. **Syndifrais,(2011) .**Tous savoir sur le fromage blanc. P 01-20.Paris.

79. **Tamime A .Y. et Robinson R.K. (1980).** Yoghurt: technology and biochemistry. *Journal of Food Protection*, **43**(12), 939-977.
80. **Tamime A. Y. et Deeth H.C.(1980).** Yoghurt: technology and biochemistry. *Journal of Food Protection*, **43** (12), 939-977.
81. **Tamime A.Y et Robinson R.K. (1985).** Background to manufacturing practice. In *Yogourt . Science and technology*. . Tamime, A.Y. et Robinson, R.K., Pergamon Press, Paris.
82. **Tamime A.Y. et deeth H.C. (1980).** Yoghurt: technology and biochemistry. *Journal of food protection*, 43 (12), 939-977.
83. **Thaponj L. (2005).** Science et technologie du lait, Agrocampus-Rennes, France: 14(77 pages).
84. **Van Marle M. (1998).** Structure and rheological properties of yoghurt gels and stissed yoghurt. Thèse. Université de Twente, Enschede, Pays Bas.
85. **Vierling E. (2003).** Aliment et boisson-Filière et produit, 2^{ème} édition, doin éditeurs, centre régional de la documentation pédagogique d'Aquitaine:11(270 pages).
86. **Vignola C. (2002).** Science et technologie du lait Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, ISBN: 29-34 (600 pages).

| | | |
|------------|--|---|
| Annexe n°1 | Matériels et méthodes |  UNIVERSITE MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI BORDJ BOU ARRERIDJ <small>UNIVERSITY ESTABLISHED BY DECREE OF THE PRESIDENT</small> |
| | Appareillages et les produits chimiques | |

| | | | |
|---|---|--|---|
|  |  |  |  |
| Balance précision | Agitateur vortex | Conductimètre | pH-mètre |

| | | | |
|---|---|--|---|
|  |  |  |  |
| Densitomètre | Réfrigérant | autoclave | La haute microbiologique |



Compteur de colonies



Bain marie



four pasteur



Etuve microbiologique



Distillateur



Plaque chauffante



Bec bunsen



micropipette



Boites de pétri



Erlenmyer

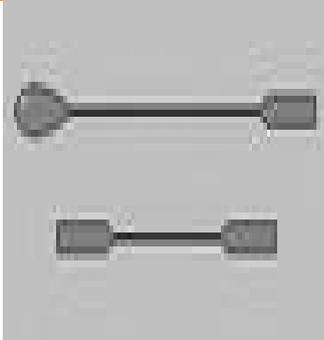


Entonnoir



flacon

| | | | |
|---|---|--|---|
|  |  |  |  |
| Les béchers | Eprouvette graduée | Les Pipettes pasteures | Les tubes à culture |

| | | | |
|--|--|---|--|
|  |  |  |  |
| Pissette | spatule | Agitateur magnétique | Burette graduée |

Les produits chimiques

Phénolphtaléine

Hydroxyde de sodium NaOH

Chlorure de sodium NaCl

| | | |
|-------------------|--------------------------------|--|
| Annexe n°2 | Partie physico-chimique |  <small>UNIVERSITE MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI BORDJ BOU ARRERIDJ BORDJ BOU ARRERIDJ</small> |
| | Détermination de pH | |

Mode opératoire

Il s'agit de potentiométrie avec un pH-mètre.

- Préparation de l'échantillon pour essai : un pot de yaourt du 75gramme.
- Etalonner le pH-mètre à l'aide des solutions tampon à $\text{pH}=7\pm 0,1$.
- Régler la température de l'appareil à 20°C .
- Introduire l'électrode dans le pot contenant l'échantillon à 20°C .
- Attendre la stabilisation du pH pour effectuer la lecture.



Figure N°1 A: pH mètre durant l'analyse de l'échantillon (photo originale).

Lecture

La lecture des résultats se fait directement à partir de l'affichage sur le cadran du pH-mètre.

| | | |
|-------------------|------------------------------------|---|
| Annexe n°3 | Partie physico-chimique |  |
| | Détermination de la densité | |

Mode opératoire

Il s'agit de déterminer la densité de produit à analysé par densitomètre.

- Préparation de l'échantillon pour essai : 4 pots du yaourt pour chaque un 75gramme.
- Verser doucement l'échantillon dans une éprouvette (250ml) tenue inclinée, afin d'éviter la formation de mousse.
- Remplir l'éprouvette jusqu'à ras bord de manière que l'échantillon déborde légèrement pour entrainer les traces de mousse qui pourrait gêner la lecture.
- Plonger le densitomètre dans l'échantillon en le retenant jusqu'au voisinage de l'équilibre
- Lire directement la température et la densité.
- Si la température est inférieure ou supérieur à 20°C, il faut soustraire ou additionner respectivement le nombre de graduations qui séparent le niveau de la température correspondante à 20°C.



Figure N°2 A : la détermination de la densité (photo originale).

Mode opératoire

Il s'agit de déterminer la conductivité de produit donnée, elle est mesuré par conductimètre.

- Préparation de l'échantillon pour essai : un pot de yaourt de 75gramme.
- Régler la température de l'appareil à 20°C.
- Introduire l'électrode dans le récipient contenant l'échantillon à 20°C.
- Attendre la stabilisation du conductimètre pour effectuer la lecture.

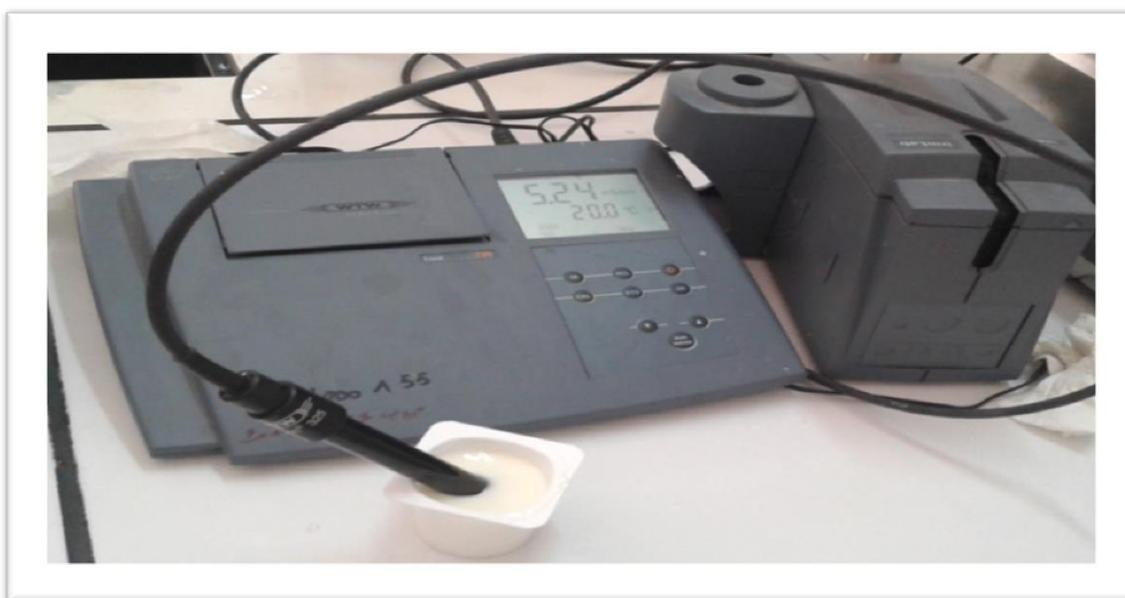


Figure N°3 A: la détermination de la conductivité (photo originale).

Lecture

La lecture des résultats se fait directement à partir de l'affichage sur le cadran du conductimètre.

Mode opératoire

- Le yaourt présente une activité qui peut être déterminée et ceci s'effectue par le titrage de la soude (hydroxyde de sodium) en présence de la phénolphtaléine.

- **Préparation de la solution de NaOH 0,1mol V=0,1l**

$$C=n/v = m/M.v \leftrightarrow m= c.M.v = 0,1\text{mol} \times 0,11 \times 40\text{g/l} \\ = 0,4\text{g}$$

0,4g de NaOH dans 100ml d'eau distillé.

- **Préparation de la solution de phénol phtaléine 10% V=10ml**

10g → 100ml H₂O

$$X\text{g} \rightarrow 10\text{ml H}_2\text{O} \quad \leftrightarrow \quad m = 10 \times 10 / 100 = 1\text{g}$$

1g phénolphtaléines dans 100ml d'éthanol.

- Dans l'ernmeyer on introduit 10 ml de yaourt et on y ajoute quelques gouttes de phénolphtaléine.
- On titre par la solution de soude le contenu de l'ernmeyer avec une agitation jusqu'à un virage rose pâle et on lit la valeur sur la burette.

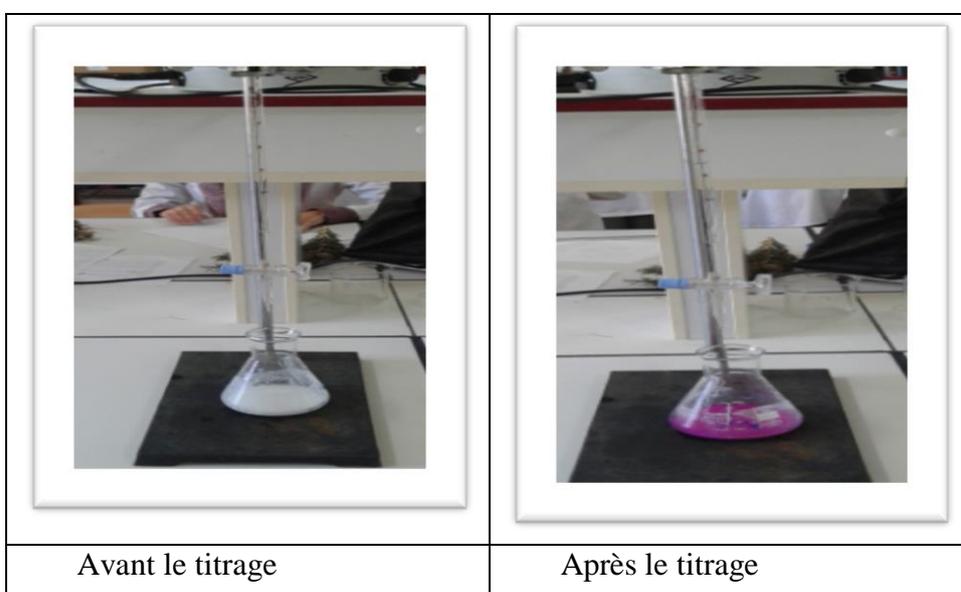


Figure N°4 A: la détermination de l'acidité titrable (photo originale).

Expression des résultats

Après le titrage

On a la relation suivant $C_1V_1=C_2V_2$

C_1 =concentration de l'acide lactique.

V_1 = Volume de lait 10ml.

C_2 =concentration de NaOH 0,1mol/l.

V_2 =volume de NaOHajouté par exemple $V_2=18,8$ ml.

$C_1=C_2V_2 / V_1 = 0,1 \times 18,8 / 10 = 0,188$ mol/l

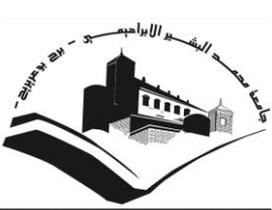
$C=n / v = m/M.v \leftrightarrow m= c.M.v = 0,188 \times 1L \times 88g/1mol.$

L'acide lactique = 16,544g/l

$1^\circ D \rightarrow 0,1g/L$

$x \rightarrow 16,544g/l$

$x=16,544/0,1= 165,44^\circ D$

| | | |
|-------------------|--|---|
| Annexe n°6 | Partie microbiologique |  <small>UNIVERSITE MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI BORDJ BOU ARREDJ</small> |
| | Les critères microbiologiques de yaourt | |

d'après l'arrêté interministériel du **25 Ramadhan 1419** correspondant au **27 mai 1998** relatif aux spécifications microbiologiques de certains denrées alimentaires. (**J .O.R.A N°35 du 27-05-1998**).

Tableau 01: Spécification microbiologique du yaourt

| Yaourt | n | c | m |
|-----------------------|---|---|------------------|
| coliformes | 5 | 2 | 10 |
| Coliformes fécaux | 5 | 2 | 1 |
| Staphylococcus aureus | 5 | 2 | 10 |
| Levures | 5 | 2 | <10 ² |
| moisissures | 5 | 0 | absence |
| salmonella | 5 | 0 | absence |

Sachant que

n : Représente le nombre d'unités d'échantillonnage qui est généralement prélevé au hasard dans un lot. « n » représente la taille de l'échantillon. Selon le cas, « n » peut être égal à 1, 2, 3, 4, 5, etc. Le « n » peut varier en fonction du risque, du nombre d'unités disponibles, et aussi de la grosseur des lots selon le plan d'échantillonnage utilisé. Dans les tableaux, n=5 sera retenu à titre d'application générale, mais ne représente pas la règle à suivre dans tous les cas, particulièrement pour la recherche des microorganismes pathogènes.

m : La valeur numérique de « m » représente des concentrations acceptables de microorganismes, habituellement par g ou ml.

c : Représente le nombre maximal permis d'unités d'échantillonnage de qualité médiocre. Si le nombre d'unités de qualité médiocre est supérieur à « c », le lot d'où provient l'échantillon devrait être rejeté.

| | | |
|-------------------|--|---|
| Annexe n°7 | Partie microbiologique |  <small>UNIVERSITE MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI BORDJ BOU ARRERIDJ</small> |
| | Préparation des milieux déshydratés | |

Etapes de Préparation des milieux déshydratés

-Peser la quantité appropriée de milieu en prenant soin de mettre en place les équipements de protection individuelle (EPI) indiqués dans les fiches de donnée de sécurité.

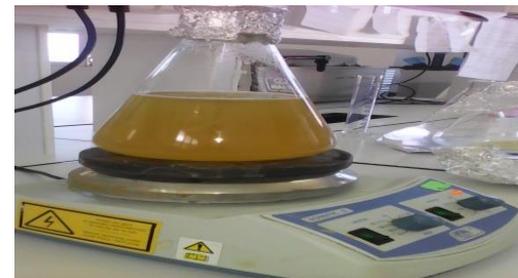


-Ajouter progressivement le volume d'eau nécessaire à la reconstitution (indiqué sur l'étiquette et la fiche technique).

-Agiter lentement et régulièrement pour solubiliser les composants.

-Répartir la gélose de façon homogène..

-Porter à ébullition (sans les surchauffer) les milieux contenant de l'agar avant de répartir en tubes ou en flacons. la dissolution complète de la gélose est obtenue lorsque la solution visqueuse ne contient plus aucune particule d'agar s'accrochant aux parois de récipient.



Pour les milieux liquides, on obtient des solutions limpides sans avoir besoin de chauffer avant d'autoclaver .Sauf dans le cas de certain bouillon (se référer à la fiche technique et à l'étiquette).

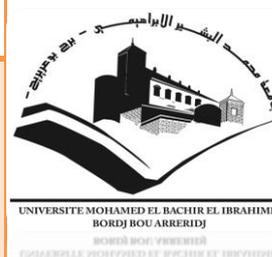
Répartir le volume de milieu requis en flacons ou en tubes selon l'utilisation.

Stérilisation

Les flacons et les tubes ainsi préparés sont stérilisé pendant une durée et à une température spécifique à chaque milieu de culture.

Les particularités propres à chaque milieu sont notifiées dans la fiche technique sur l'étiquette.





| milieu | composition | préparation |
|--------------------------------------|--|--|
| Milieu PCA | -Hydrolysattrypsique de caséine...5g -Extrait de levure2,5g -Glucose.....1g -Agar15g -Eau distillée.....1000ml -PH final.....7 | -Mettre en suspension 23 g dans 1 litre d'eau distillée. -porter le milieu à ébullition sous agitation constante pendant au moins 1min. -répartir en tubes ou flacons. -autoclaver à 121°C pendant 15 minutes. |
| Milieu de Giolitti et Cantoni | Tryptone.....10 g Extrait de viande.....5 g Extrait de levure.....5 g Chlorure de lithium.....5 g Mannitol.....20 g Chlorure de sodium.....5 g Glycine..... 1,2 g Pyruvate de sodium..... 3 g Eau distillée..... 1000 ml | -Faire dissoudre les produits dans l'eau en chauffant et en agitant pour obtenir une dissolution complète. Refroidir à 50 - 60 °C et ajuster le pH à 6,9 ±0,1. Répartir à raison de 19 ml dans des tubes de 20 x 200. Autoclaver 20 mn à 115 °C. Avant utilisation, chasser l'air par chauffage à 100 °C pendant 20 mn. Refroidir. |

| | | |
|-----------------------|--|---|
| sabauraud | Peptone.....10g D-glucose.....40g Agar.....12g pH final:5,3±0,2 | - Dissoudre 65,5g dans un litre d'eau distillée - Stérilisation en autoclave à 121°C pendant 20 minutes. |
| Gélose Chapman | Extrait de viande.....3g Extrait de levure.....3g Tryptone5g Peptone bactériologique.....10g Chlorure de sodium.....70g Mannitol.....10g Rouge de phénol.....0,05g Agar.....18g | -Dissoudre 119g dans un litre d'eau distillée. -autoclaver 15min à 121°C ; PH=7,4±0,1 |
| Milieu VRBG | Peptone.....7g extrait de levure.....3g glucose.....10g chlorure de sodium.....5g sels biliaires.....1,2g rouge neutre.....0,03g Cristal violet.....0,002g Agar.....12g PH final.....7,2±0,2 | -Verser 38,5g de poudre dans un litre d'eau distillée ou déminéralisée. -Porter lentement à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution complète. -Ne pas autoclaver. -Ne pas Bien mélanger Et répartir. |



Eau physiologique

Composition et Préparation : (institut pasteur, 2003)

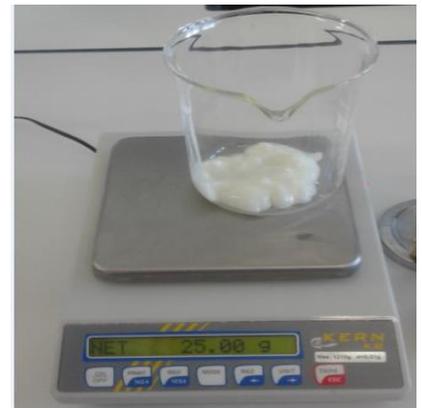
| Constituants | Quantité en g/l |
|--|-----------------|
| Chlorure | 9 |
| <ul style="list-style-type: none">- Dissoudre 9 g dans un litre d'eau distillée.- autoclaver 15min à 121°C ; PH=7 | |



| | | |
|-------------------|---|---|
| Annexe n°9 | Partie microbiologique |  |
| | Préparation de la solution mère et des dilutions | |

Mode opératoire

- On prélève stérilement 25 g de yaourt que l'on introduit dans un flacon contenant 225 ml de l'eau physiologique.



- Le flacon est agité par des mouvements de rotation ou au moyen d'un vortex. On obtient ainsi une dilution au 1/10 (10^{-1}).



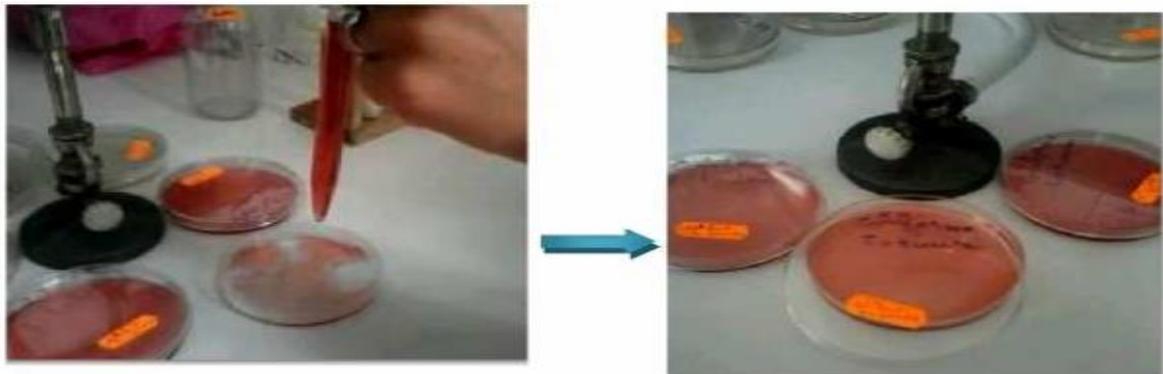
- Avec une nouvelle pipette de 1ml on prélève 1ml de cette dilution que l'on introduit dans nouveau tube de diluant de 9ml : on obtient une dilution au 1/100 (10^{-2}) et ainsi de suite jusqu'au niveau recherché 1/100000 (10^{-5}).



| | | |
|--------------------|------------------------------------|---|
| Annexe n°10 | Partie microbiologique |  <small>UNIVERSITÉ MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI BORDJ BOU ARRERIDJ</small> |
| | Dénombrement des coliformes | |

Mode opératoire

- Une prise de 15ml de VRBG coulée dans des boîtes de pétri vide pour le dénombrement mélanger soigneusement et laisser solidifier.
- Après solidification, ces boîtes sontensemencées avec 1ml des dilutions en surface.



A : Ensemencement en masse la gélose VRBG. **B** : solidification de la gélose VRBG.

Incubation

- **Série 1** : à 37°C pendant 24 à 48h pour les coliformes totaux.
- **Série 2** : à 44°C pendant 24 à 48h pour les coliformes fécaux.



C : après l'incubation

Les premières lectures se feront au bout de 24h et consistent à repérer les petites colonies rouges ayant poussé en masse.

Dénombrement

Il s'agit de compter toutes les colonies ayant poussé sur les boîtes en tenant compte des facteurs de dilutions, de plus :

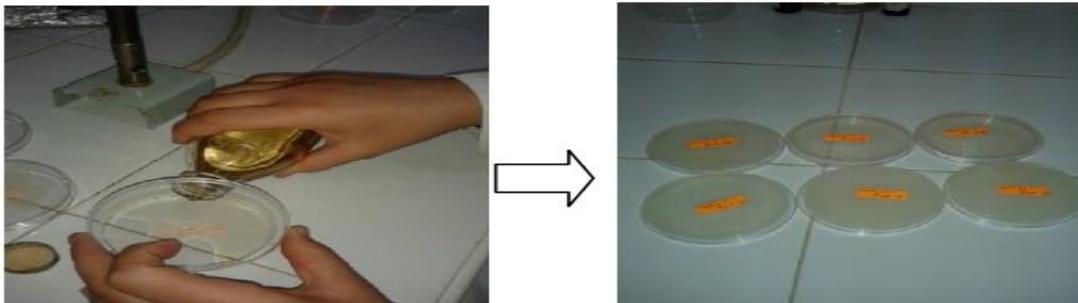
- ne dénombrer que les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies.
- multiplier toujours le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution.
- faire ensuite la moyenne arithmétique des colonies entre les différentes dilutions.
- il est impossible de trouver plus de coliformes fécaux que de coliformes totaux.

| | | |
|--------------------|--|---|
| Annexe n°11 | Partie microbiologique |  |
| | dénombrement des levures et moisissures | |

Mode opératoire

Le dénombrement des levures et moisissures a été réalisés sur Sabouraud

- .une prise de 10 ml de sabouraud est coulée dans des boites de pétri vides.
- Après solidification, ces boites sontensemencées avec 0,1ml des dilutions en surface.



A : Mettre la gélose dans le boit.

B : solidification de la gélose sabouraud et

Ensemencement en surface.

Incubation

Les boites sontincubées à la température (25 - 30°C) pendant 3 à 5 jours.



C : après l'incubation

Lecture

La lecture permet d'apprécier deux types de colonies :

Les levures dont l'aspect rappelle celui des colonies bactériennes. Elles sont rondes à contours réguliers, opaques, plates en surface et lenticulaires en profondeur, les moisissures souvent pigmenté, d'aspect velouté, plus ou moins proéminents.

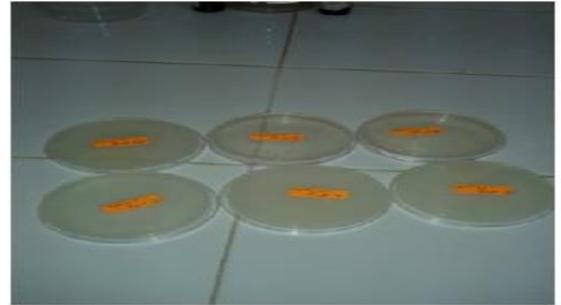
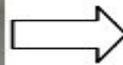
Dénombrement

Il s'agit de compter toutes les colonies ayant poussé sur les boites en tenant compte des facteurs suivant :

- ne dénombrer que les boites contenant entre 15 et 300 colonies
- multiplier toujours le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution
- faire ensuite la moyenne arithmétique des colonies entre les différentes dilutions.

**Dénombrement de la flore aérobie
mésophile totale (FTAM)****Mode opératoire**

- Une prise de 15ml de gélose PCA (Plate Count Agar) coulée dans des boîtes de pétri vide pour le dénombrement liquéfiée à 45°C, mélanger soigneusement et laisser solidifier.
- Après solidification, ces boîtes sontensemencées avec 0,1ml des dilutions en surface.



A : Ensemencement en masse la gélose PCA

B : solidification de la gélose PCA

Incubation

Les boîtes sont incubées à la température 30°C pendant 72 heures.



C : Après l'incubation

Lecture

Les colonies des FTAM se présentent sous forme lenticulaire en tenant compte des factures suivant.

Dénombrement

-ne dénombrer que les boites contenant entre 15 et 300 colonies.

- multiplier toujours le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution.

-faire ensuite la moyenne arithmétique des colonies entre les différentes dilutions.

Illustration

| Inoculum | Nombre de colonies | Pour revenir à 01 | Nombre réel | Moyenne arithmétique |
|-----------|--------------------|-------------------|-------------|---------------------------------|
| 10^{-1} | 70 | $\times 10$ | 700 | 25200/3 = 8400 UFC/g |
| 10^{-2} | 45 | $\times 100$ | 4500 | |
| 10^{-3} | 20 | $\times 1000$ | 20000 | |

| | | |
|--------------------|--|---|
| Annexe n°13 | Partie microbiologique |  UNIVERSITE MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI BORDJ BOU ARRERIDJ FAKHRELLAH BOUARRERIDJ ET MOHAMMED EL BACHIR EL IBRAHIMI |
| | Dénombrement des <i>staphylococcus aureus</i> | |

préparation du milieu d'enrichissement

Au moment de l'emploi, ouvrir aseptiquement le flacon contenant le milieu de Giolitti Cantonii pour y ajouter 15ml d'une solution de tellurite de potassium.

Mélanger soigneusement. Le milieu est alors prêt à l'emploi.

Ensemencement

- à partir des dilutions décimales retenues, porter aseptiquement 1ml par dilution dans un tube à vis stérile.
- Ajouter par la suite environ 15 ml du milieu d'enrichissement.
- Bien mélanger le milieu et l'inoculum.

Incubation

L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Lecture

Seront considérés comme positifs, les tubes ayant virés au noir.

Pour s'assurer qu'il s'agit bien d'un développement de staphylococcus aureus, ces tubes feront l'objet d'un isolement sur gélose Chapman préalablement fondue, coulée en boîtes de pétri et bien séchées.

Les boîtes de Chapman ainsi ensemencées seront incubées à leur tour à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Après ce délai, repérer les colonies suspectes à savoir les colonies de taille moyenne, lisses, brillantes, pigmentées en jaune et pourvues d'une catalase et d'une coagulase.