

République Algérienne Démocratique et populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université SAAD DAHLAB – Blida
Faculté des sciences Agro- vétérinaires et biologiques
Département des sciences agronomiques.

Projet de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de Master en sciences de la nature et de la
vie

Filière : Sciences alimentaires

Spécialité : sciences alimentaires

Cinétique de croissance des bactéries lactiques au cours de la fermentation d'un yaourt à base de lait de soja

Présenté par : M^{elle} BOUNEDJAR HIBA

Soutenu le: 03 novembre 2011

Devant le jury:

Ramdane Sidali.	MAA	USDBLIDA	Président
Hadj sadok Taher.	MCB	USDBLIDA	Examineur
Doumanji Amel.	MCA	USDBLIDA	Examinatrice
Amalou Djamel	MAA	USDBLIDA	Directeur de mémoire

Promotion 2010/2011

Remerciements :

On dit souvent que le trajet est aussi important que la destination. Les cinq années de maîtrise m'ont permis de bien comprendre la signification de cette phrase toute simple. Ce parcours, en effet, ne s'est pas réalisé sans défis et sans soulever de nombreuses questions pour lesquelles les réponses nécessitent de longues heures de travail.

Je tiens à la fin de ce travail à remercier ALLAH le tout puissant de m'avoir donné la foi et de m'avoir permis d'en arriver là.

Mes remerciements vont également à mes parents bounedjar ahmed et bounedjar rajaa, pour me permettre de suivre mes études dans les meilleures conditions possibles et n'avoir jamais cessé de m'encourager tout au long de mes années d'étude.

Je remercie infiniment le professeur Dr Amalou, mon directeur de mémoire dont la disponibilité, le savoir faire et le soutien ne m'ont jamais fait défaut.

Je remercie mon oncle teyeb bounedjar de m'avoir aidé de trouver mon lieu de stage.

Je remercie aussi tous ceux qui m'ont aidé à réaliser ce travail.

Enfin je remercie tous les professeurs de la faculté des sciences agro-vétérinaire et biologiques de Blida.

Dédicace :

Aux deux personnes que j'ai tant aimé qu'elles assistent à ma soutenance mon cher père et mon adorable mère.

A mes chers frères mohamed larbie et mohamed islem .

A mes chères sœurs fatima zohra et hind.

Particulièrement à ma grand-mère, tous mes oncles et mes tantes et bien sur mes chers cousins et cousines particulièrement riad , abd rahmen hadjer houria wissam hanaa nadira .

A Tous mes collègues du BCH Douaouda.

A tous mes amis et particulièrement nabila, yessmine, siham et ahlem.

Je dédie ce mémoire.

La liste des abréviations :

AG : acide gras.

CEP : le coefficient d'efficacité protéique.

CUDP : coefficient d'utilisation digestive des protéines.

D : dilution.

EPEI : eau peptoné exempt d'indole.

E.U : l'union européenne.

FAO : Food and agriculture organization.

FMAT : la flore mésophile aérobie totale.

GC : Milieu Giolitti cantonii.

H : humidité.

KD_A : kilo dalton.

MS : matière sèche.

N₀ : valeur atteinte par le niveau inférieur de la colonne grasse.

N₁ : valeur atteinte par le niveau supérieur de la colonne grasse.

N_m : nombre moyen de germe.

NPP : nombre plus probable.

OGA : oxytétracycline glucose gélosé.

OMS : organisation mondiale de la santé.

PCA : Gélose plate count agar.

pH : le potentiel d'hydrogène.

PMM : partie par million

SM : solution mère.

TSE : tryptone sel eau.

UFC : unité formant colonie.

UHT : ultra haute température.

USDA : United States Department of Agriculture.

V : volume.

VB : la valeur biologique

VBL : Bouillon lactosé au vert brillant.

VF : milieu viande foie.

X : nombre de germe par ml ou gramme de produit.

La liste des figures :

Figure1 : Les différentes parties d'une jeune pousse de soja.	4
Figure 2 : La structure chimiques de l'enzyme lipoxgénase et l'uréase.	8
Figure 3 : La structure chimique d'un inhibiteur de protéase.	9
Figure 4 : la structure chimique d'une lectine.	10
Figure 5 : la structure chimique d'un phytate.	10
Figure 6 : la structure chimique d'une saponine.	11
Figure 7 : structures des différents lipides de soja.	11
Figure 8 : structures des sucres solubles.	13
Figure 9 : structure de la fraction insoluble.	13
Figure 10 : structure de différentes vitamines de soja.	14
Figure 11 : diagramme des opérations préliminaires de la graine de soja	18
Figure12 : diagramme de production de tonyu.	23
Figure13 : diagramme de fabrication du yaourt de soja.	27
Figure 14 : digramme de fabrication du yaourt au niveau de laboratoire de la laiterie de trèfle	31
Figure15 : recherche et dénombrement des <i>coliformes totaux</i> .	37
Figure16 : recherche et dénombrement des <i>coliformes fécaux</i> .	38
Figure 17: recherche et dénombrement des <i>streptocoques fécaux</i> .	40
Figure 18: recherche et dénombrement des <i>staphylococcus aureus</i> .	42
Figure19: recherché et dénombrement de <i>clostridium sulfite-réducteurs</i> .	44
Figure20 : la courbe de croissance des <i>stréptococcus thermophilus</i> pendant la maturation du yaourt.	52
Figure21 : la courbe de croissance des <i>lactobacillus bulgaricus</i> pendant la maturation du yaourt.	53
Figure21 : la courbe de variation de l'acidité du yaourt pendant sa maturité.	56
Figure22 : la courbe de variation de l'acidité du yaourt pendant sa maturité.	59

La liste des tableaux :

Tableau1 : Présentation de la production et du rendement de soja dans le monde	1
Tableau2 : Classification de soja.	2
Tableau 3 : Composition chimique des graines de soja.	6
Tableau4 : répartition des constitutions protéiques de soja.	6
Tableau 5 : composition en acides aminés essentiels d'ingrédients sélectionnés du soja (mg/100gr de protéine) par rapport aux normes recommandées par FAO/OMS.	7
Tableau6 : les teneurs des acides gras essentiels en g dans le soja cru.	12
Tableau7 : La composition et la valeur nutritionnelle de lait de soja comparée à celle du lait de vache et du lait maternel.	22
Tableau8 : la composition chimique du yaourt de soja.	26
Tableau9 : formulation retenue pour la fabrication du yaourt.	30
Tableau10 : caractéristiques physico-chimique du lait de soja en poudre.	49
Tableau11 : résultats d'analyses microbiologiques de la matière première.	50
Tableau12 : résultats de dénombrement des <i>streptococcus thermophilus</i> .	51
Tableau13 : résultats de dénombrement des <i>lactobacillus bulgaricus</i> .	51
Tableau 14 : les résultats de l'acidité dornique.	56
Tableau 15 : résultats du pH	58

Le résumé :

Le soja est un oléagineux qui constitue une source principale de protéine végétale, il est utilisé dans plusieurs préparations traditionnelles tels que le tonyu (lait de soja).

Notre travail vise à préparer un yaourt en substituant le lait de vache par ce lait en proportions différents dans le but de tester l'influence de soja sur la croissance des bactéries lactiques.

Cinq préparations de yaourt ont été réalisées : 0%, 25%, 50%, 75% et 100% de lait de soja dont la texture diffère d'une préparation à une autre, la texture la plus ferme est celle de 0% soja, et plus que la quantité des protéine de soja augmente le yaourt est moins ferme, cela est expliqué par la diminution de croissance des bactéries lactique de 443×10^8 UFC/ml dans la préparation 0% lait de soja à 33×10^8 UFC/ml dans la préparation 100% lait de soja à cause de l'absence du lactose dans le lait de soja.

Ces variations diminuent l'acidité de 80°D dans le yaourt de 0% soja à 35°D dans le yaourt 100% soja et augmentent le pH de 4.4 dans le yaourt 0% soja à 4.65 dans le yaourt 100% soja.

Mots clés : protéine, soja, yaourt, croissance, bactérie lactiques.

المخلص :

تعتبر بذور الصويا من البذور الزيتية وهي مصدر رئيسي للبروتين النباتي، تستخدم في تحضيرات تقليدية عديدة مثل التونيو(حليب الصويا).

وظيقتي هي تحضير زبادي باستبدال حليب بقرة بحليب الصويا بنسب مختلفة من أجل اختبار تأثير الصويا على نمو بكتيريا حمض اللبنيك.

وقد تم تحضير خمسة انواع من الزبادي : 0 % ، 25 % ، 50 % ، 75 % و 100 % من حليب الصويا حيث يختلف الملمس من إعداد لآخر، والملمس الأكثر ثباتا هو ذو فول الصويا 0 % . وكلما زاد بروتين الصويا اصبح الزبادي أقل تصلبا، وذلك راجع للانخفاض في نمو البكتيريا اللبنية 443 كفو / مل في إعداد حليب الصويا 0 % إلى 33 كفو / مل لإعداد 100 % حليب الصويا بسبب غياب اللاكتوز في حليب الصويا.

هذه التغييرات تقلل حموضة من 80 °د في زبادي الصويا 0 % إلى 35 °د في 100 % زبادي الصويا وزيادة الحموضة من 4.4 في زبادي الصويا 0 % إلى 4،65 في زبادي الصويا بنسبة 100 %.

الكلمات الرئيسية : البروتينات ، لبن الصويا، النمو ، بكتيريا حمض اللبنيك.

The summary:

Soy is an oilseed that is a major source of vegetable protein, it is used in several traditional preparations such as tonyu (soy milk).

Our job is to prepare a yoghurt substituting cow's milk by the milk in different proportions in order to test the influence of soybean on the growth of lactic acid bacteria.

Five preparations were made yogurt: 0%, 25%, 50%, 75% and 100% soy milk whose texture varies from one preparation to another, the texture is firmer than the 0% soy and the amount of soy protein increases the yogurt is less firm, explained by the decrease in lactic bacteria growth 443 CFU / ml in the preparation of soy milk 0% to 33 CFU / ml to prepare 100% soy milk because of the absence of lactose in soy milk.

These changes reduce the acidity of 80 ° D in the 0% soy yogurt at 35 ° D in 100% soy yogurt and increase the pH of 4.4 in the 0% soy yogurt to 4.65 in 100% soy yogurt.

Keywords: protein, soy yogurt, growth, lactic acid bacteria.

Sommaire :

Partie1 : bibliographique

Introduction	1
Chapitre 1 : le soja	
I. Situation économique de la filière de soja	2
II. Présentation économique de la filière de soja	2
II.1.Taxonomie	3
II.2.Morphologie	4
III. Composition biochimique	5
IV. La valeur nutritionnelle de soja	14
Chapitre2 : transformation de soja.	
I. Transformation de soja	17
I.1.Intérêt de transformation	17
I.2.Opération préliminaire	17
I.3.Préparation de la graine de soja	19
I.4.Stockage et conservation des produits a base de soja	20
II. Lait de soja :	
II.1.Définition du lait de soja	21
II.2.Classification du lait de soja	21
II.3.La composition chimique du lait de soja	22
II.4.La fabrication du lait de soja	23
III. Yaourt de soja :	25
III.1.Définition du yaourt de soja	25
III.2.La valeur nutritionnelle du yaourt de soja	25
III.3.Technologie de fabrication du yaourt de soja	27
Partie 2 : pratique	
Chapitre1 : matériels et méthodes	29
I.Matériel :	29
I.1.Objectif du travail	29
I.2.Présentation du matériel d'étude	29
I.3.Préparation des échantillons destinés à la transformation	29
I.4.Formulation	29
I.5.Transformation et obtention du yaourt de soja	30

II. Méthode d'analyse :	32
II.1. Analyse physico-chimique du lait de soja en poudre	32
II.2. Analyse microbiologique du lait de soja en poudre	34
II.3. Dénombrement des bactéries lactiques dans le produit fini	46
III. Analyse statistique	47
Chapitre 2 : Résultats et discussions	49
I. Résultats et discussions de la matière première	49
I.1. Analyses physico-chimiques	49
I.2. Analyses microbiologiques	50
II. Résultats d'analyse du produit fini	50
II.1. Résultats de dénombrement et d'évolution des bactéries lactique	51
II.2. Evolution des Constantes physico-chimiques du yaourt de soja	56
Conclusion	60
Référence bibliographique	61
Annexe	64

Introduction :

La matière protéique végétale est utilisée comme ingrédient nutritionnel et fonctionnel dans les aliments. Cette matière provient principalement des graines de soja. On trouve actuellement sur le marché des produits préparés suivant des modèles de préparations asiatique comme le tonyu « le lait de soja ». (GODON, 1996).

A la suite du succès commercial du lait de soja, des imitations de produits laitiers ont été mises au point à partir du lait de soja ou du mélange soja lait de vache. Le lait de soja se caille quand 'on l'acidifie par fermentation lactique naturelle ou par addition d'acide. Par une acidification soigneusement contrôlée on peut obtenir des produits de types gel qui ressemblent aux produits laitiers fermentés comme le yaourt (BERK, 1993).

Le yaourt de soja à une grande importance dans l'alimentation quotidienne de l'homme par sa richesse en éléments nutritifs et en bactéries qui favorisent l'équilibre de la flore bactérienne intestinale.

Les produits à base de soja n'étaient utilisés auparavant que par les végétariens et les personnes qui présentent des intolérances au lactose, mais de nos jours le lait de soja et ces produits substituent parfaitement le lait de vache dans les pays développés, cela par sa valeur nutritive et par sa composition différente du lait de vache. Est se que cette constitution affecte la croissance des bactéries lactiques lors de la préparation du yaourt à base de soja ? C'est la question à la quelle je vais essayer de reprendre en réalisant ce travail.

I. Situation économique de la filière de soja :

I.1.dans le monde :

La production mondiale de soja a été multipliée par huit au cours du dernier demi-siècle, elle atteint aujourd’hui plus de 100 millions de tonnes par an. Les principaux pays producteurs sont les Etats unis (45%), le Brésil (20%) et la Chine (12%).

La croissance de la production est due essentiellement à l’accroissement rapide de la production des pays de l’union européen entre les années 1951 et 1970 et à l’introduction du soja dans l’agriculture brésilienne dans les années soixante. (ANONYME, 2002).

Un facteur important de ce développement est lié à l’amélioration considérable des rendements agricoles, à travers la sélection et l’utilisation de pratiques culturales modernes. Considérant les avantages économiques du soja, de nombreux pays se sont lancés dans sa production à grande échelle. Les conséquences de ces efforts commencent à se sentir, sur la scène mondiale de la production du soja. (BERK, 1993).

Tableau1 : Présentation de la production et du rendement de soja dans le monde selon les rapports de la FAO (1990, 2010).

Pays	Production (millions de tonnes)					Rendement kg/ha		
	1976*	1986*	1987*	1988*	2010**	1976*	1988*	2010**
E.U	34.4	52.8	52.3	41.9	64	1721	2270	3502
BRESIL	11.2	13.3	17.0	18.0	35	1750	1859	2051
CHINE	12.1	16.6	12.2	10.9	23	855	1443	2030
MONDE	62.1	94.4	100.2	92.3	152	1384	1909	3053

I.2.En Algérie :

Des experts algériens font savoir que des possibilités existent au sud du pays pour la production de soja pour l’alimentation humaine et animale. Le soja consommé en Algérie est actuellement importé de l’étranger. A l’exception de certains tests, effectués à titre expérimental, pour le cultiver dans le but de l’alimentation du bétail, le reste vient de l’étranger. D’où la dépendance de notre pays à 100% de la production étrangère. Par contre, les essais avaient commencé à El Ménéa (Sud) en 1997. Un essai de culture a été également réalisé à Tébessa. L’expérience a été étendue à Ghardaïa, Naama, Laghouat, Sétif, Batna, Ksar Chellala, Tiaret et M’sila.(AMARNI, 2009).

II. présentation agronomique :

II.1.Taxonomie :

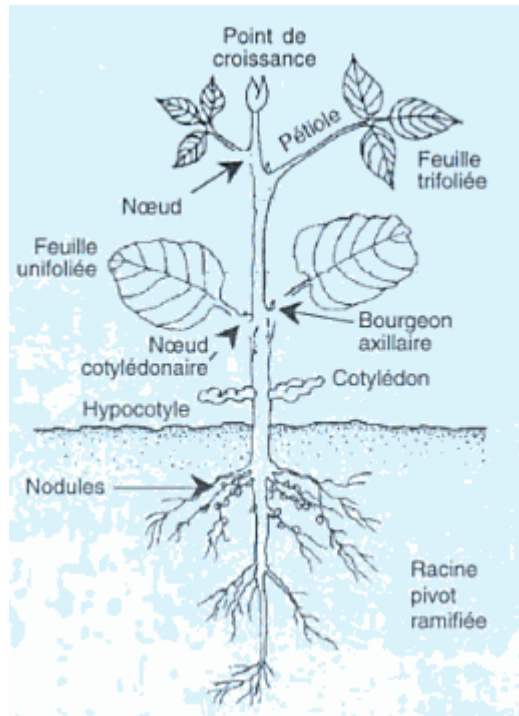
Le soja appartient à la famille des légumineuses, sous famille des papilionaceae et au genre *Glycine*. Selon Melchior (1964) cité par (ANONYME ,1995) la classification du soja est la suivante :

Tableau2 : Classification de soja.

Sous-règne	Cormobionta	famille	Leguminosae
Division	Spermmathophyta	Sous-famille	Papilionaceae, Fabaceae
Sous-division	Angiospermae	tribu	Phaseoleae
Classe	Dicotyledoneae	Sous-tribu	Phaseolinae (glycininae)
Sous-classe	Archichlamydae	genre	<i>Glycine L.</i>
Ordre	Rosales	Sous-genre	<i>Glycine sous-genre soja (moench)</i>
Sous-ordre	Leguminosinae	espèce	<i>Glycine max (L.) Merrill</i>

(Source:Melchior, 1964)

II.2. Morphologie :



(Source : HINSON, 1977)

Figure1 : Les différentes parties d'une jeune pousse de soja

➤ Les graines :

Les graines de soja sont contenues dans des gousses à raison de une à trois par gousse, sa forme va de sphérique à plate et allongée, elles ont une grosseur très variable, leur poids varie de 120 à 180 mg. Le tégument de la graine contient un embryon bien développé, formé de deux cotylédons charnus, une plumule munie de deux feuilles primaires distinctes et un axe racine-hypocotyle. Lorsque la graine parvient à maturité, l'endosperme se réduit à quelque couche de cellules aplaties, étroitement appliquées contre le tégument. Celui-ci peut-être jaune, vert, brun ou noir, d'une seule couleur ou de deux couleurs combinées. Les cotylédons sont jaunes ou vert et le hile est noir, brun, chamois ou jaune clair (ANONYME 1995).

➤ **La tige :**

Le tissu de la tige et de la feuille est formé à partir du développement de la plumule. La tige principale présente des ramifications latérales. Les types de croissances de la tige sont classés en fonction du caractère plus ou moins soudain de l'arrêt de la croissance. La plupart des variétés sont dites déterminés ou indéterminés (OBATON, 1971).

➤ **Les feuilles :**

On trouve quatre types de feuilles : les cotylédons, au nombre de deux ; les feuilles unifoliées ou simple, au nombre de deux ; les feuilles trifoliées ; et les prophylls, situés à la base des branches latérales. Dans la pratique on peut classer ces différentes formes en « larges » et « étroites ». Les feuilles comportent de 190 à 320 stomates par millimètre carré sur chaque face (TEARE et KANUMAZU, 1972).

➤ **Les gousses :**

Initialement vertes, elles renferment les graines et prennent à maturité une couleur halé, brune ou noir. L'expression « égrenage prématuré ou spontané » désigne le phénomène d'ouverture ou de déhiscence des gousses avant la récolte (ANONYME, 1995).

➤ **Les racines :**

La radicule, qui est présente dans la graine mûre commence son développement vers le bas au premier ou au deuxième jour de la germination ; elle formera le pivot, elle peut atteindre une longueur de 2 mètres. Quatre rangées de racines secondaires sortent du pivot et émettent plusieurs ramifications. Les poils d'absorption apparaissent près de l'extrémité de la racine principale environ quatre jours après la germination et se développent sur les jeunes racines (CARLSON, 1973).

III. La composition biochimique :

La composition des graines de soja peut varier selon les variétés et les conditions de cultures. Grâce à la sélection, il a été possible d'obtenir des variétés ayant des teneurs en protéine comprises entre 40 et 45 % et des teneurs en lipides entre 18 et 20% (KHALID, 1999).

Tableau 3 : Composition chimique des graines de soja.

Partie de la graine	Pourcentage des parties du poids de la graine entière	Base matière sèche (%)			
		protéine	Lipide	glucide	cendre
Cotylédon	90	43	23	43	5,0
Pellicule	8	9	1	86	4,3
Hypocotyle	2	41	11	43	4,4
Graine entière	100	40	20	36	4,9

(Source CHEFTAL et al. 1985).

III.1. La teneur en eau :

La teneur en eau des graines de soja varie selon les conditions de stockage, pour une bonne stabilité au stockage ainsi qu'une bonne vitalité des semences, les graines de soja doivent avoir une teneur d'environ 12 à 13% au delà, un risque sérieux d'attaque par les moisissures, en dessous de 12% les graines ont tendance à se fissurer et à éclater de façon importante au cours de la manutention. Une grande proportion de graines cassées est considérée comme un défaut qui peut entraîner un accroissement de la rancidité au cours du stockage (BERK, 1993).

III.2. Les Protéines :

Le soja est cultivé pour ses protéines, à l'état sec spécialement, la fève de soja contient, à poids égal, environ trois fois au tant que l'œuf ou les grains de blé et de maïs ; 13 fois autant que le lait de vache (MATAGRIN, 1989).

Les protéines de soja sont constituées par 90% de globuline et 10% d'albumine qui se répartissent comme suit :

Tableau 4 : répartition des constituants protéiques de soja.

protéine	pourcentage	Masse moléculaire(KD _A)
Inhibiteur trypsique	22	21.5
cytochrome		12
Hémagglutinine	37	110
Lipoxygénase		102
Alpha amylase		61.7
Globuline 7s		180-210
Globuline 11s	31	350
/	11	600

(Source : GODON, 1996).

III.2.1.Caractérisation :

Le critère le plus simple pour caractériser les protéines est leur solubilité dans différents solvants.

La plus grande partie des protéines sont des globulines, caractérisées par leur solubilité dans les solutions saline.

La solubilité dans l'eau des graines de soja est fortement dépendante du pH. La dépendance de la solubilité du pH est utilisée industriellement pour isoler les protéines du soja. (BERK, 1993).

Les tourteaux délipidées crus sont extraits à l'eau à pH neutre ou légèrement alcalin. Puis les protéines de l'extrait filtré sont précipitées par acidification dans le domaine isoélectrique. (ROUSSEL, 2006).

III.2.2.Qualité nutritionnelle :

Une manière d'évaluer la qualité nutritionnelle d'une protéine est sa valeur chimique qui est obtenue par la comparaison de sa composition en acide aminé avec celle d'une protéine de référence.

La composition en acide aminé des protéines de soja ne varie pas beaucoup d'une variété à une autre.

Le tableau suivant présente les différents acides aminés présents dans la graine de soja :

Tableau 5 : la quantité des acides aminés dans la graine de soja selon la commission FAO/OMS(1973).

	Acide aminé	Quantité par mg /16g d'azote
Acide aminé essentiel	Isoleucine	4.54
	Leucine	7.78
	Lysine	6.38
	Méthionine	1.26
	Cystéine	1.33
	Phénylalanine	4.94
	Tyrosine	3.14
	thréonine	3.86
	Tryptophane	1.28
	valine	4.80
Acide aminé non essentiel	Arginine	7.23
	Histidine	2.53
	Alanine	4.26
	Acide aspartique	11.7
	Acide glutamique	18.7

	Glycine	4.18
	Proline	5.49
	serine	5.12

(Source : FAO /OMS, 1973).

III.2.3.Enzyme :

Les graines de soja, comme toutes les graines, contiennent le système enzymatique nécessaire à leur germination, l'enzyme la plus importante est la lipoxygénase cette enzyme catalyse l'oxydation des acides gras poly-insaturés par l'oxygène moléculaire, aboutissant au développement d'un goût de rance et de haricot. L'enzyme uréase est fréquemment mentionnée en rapport avec les produits à base de protéine de soja, sans importance technologique par elle-même. Cette enzyme a servi d'indicateur de l'adéquation d'un traitement thermique appliqué au tourteau de soja.

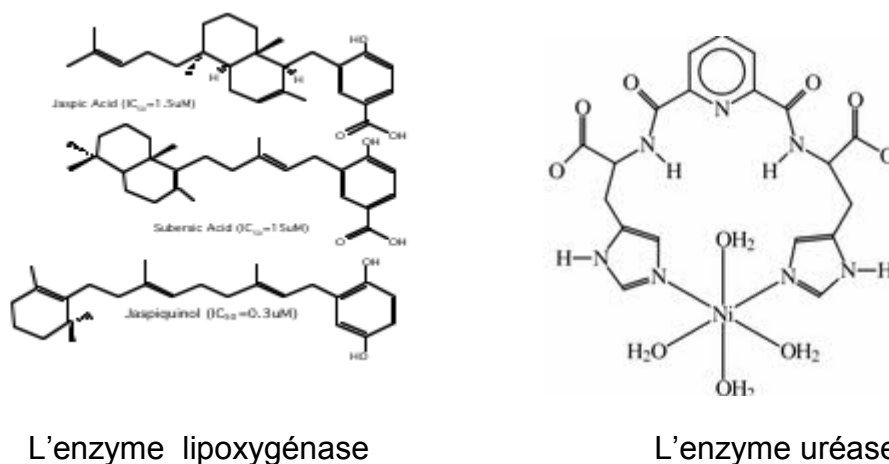


Figure 2 : La structure chimique de l'enzyme lipoxygénase et l'uréase (RUSSO, 1998).

III.2.4 Facteur antinutritionnels :

Il a été démontré que certaines protéines de soja exercent des effets physiologiques spécifiques. Ce sont les inhibiteurs de trypsine et les hémagglutinines. La graine de soja contient deux types d'inhibiteurs de trypsine, l'inhibiteur kunitz qui a un poids moléculaire de 20 000 unités, et l'inhibiteur Bowman-Birk, qui est un polypeptide plus petit de l'ordre de 8000 daltons. Les léctines, initialement connus sous le nom d'hémagglutinines, sont des protéines qui possèdent la propriété

d'agglutiner les cellules rouges du sang, la lectine présente dans la graine de soja crus n'a aucun effet nutritionnel, de plus elle est facilement inactivée par la chaleur. La valeur directe des graines de soja nécessite l'introduction de nouvelle technologie en développement continu capable de détruire ses facteurs antinutritionnel pour améliorer la digestibilité de ses constituants et de faciliter les mélanges ultérieurs. (ROUSSEL,2006).

Les facteurs antinutritionnels sont des substances indésirables présentes en faibles quantités dans les produits à base de soja et qui doivent être neutralisés par les préparations traditionnelles ou par les procédés industriels. (ROUSSEL, 2006).

Plusieurs approches ont été utilisées pour résoudre le problème des saveurs désagréable dans le lait de soja :

- ❖ Inactivation par la chaleur de la lipoxydase dans la graine entière sèche pendant la mouture.
- ❖ Utilisation de matières premières déshuilées.
- ❖ Elimination des composés de la saveur par évaporation, après leur formation dans le lait de soja.
- ❖ Masquage de l'amertume et du goût désagréable par l'emploi d'agent adoucissant et des arômes (arôme de café ou de chocolat)
- ❖ Mise au point par génie génétique de variétés de graines de soja dépourvues d'activité lipoxydasique.

Les facteurs antinutritionnels comportent à la fois des propriétés favorables et défavorables qui dépendent de la quantité ingéré, on peut citer :

- ❖ *Les inhibiteurs de protéases* : exemple des antitrypsique qui perturbent la digestion en bloquant certaines activités enzymatiques, ils sont éliminés par le chauffage (pasteurisation à 60°C pendant 10h).

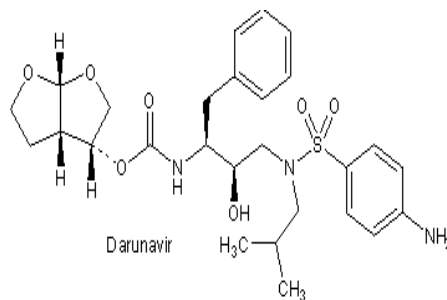


Figure 3 : La structure chimique d'un inhibiteur de protéase (ROUSSEL, 2006).

- ❖ *Les lécitine* : elles provoquent des troubles de l'absorption intestinale, elles sont éliminées par le chauffage.

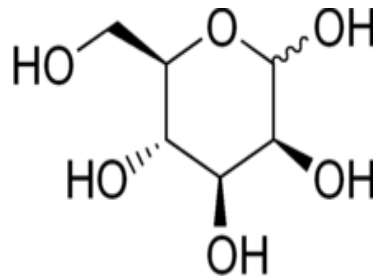


Figure 4 : la structure chimique d'une lécithine (ROBERT et al, 2004).

- ❖ *Les phytates* ; ils diminuent l'absorption de la fixation de certains minéraux comme le calcium ils sont éliminés par certains procédés de transformation

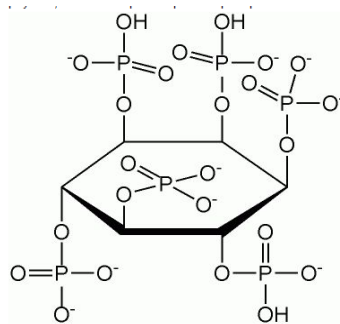


Figure 5 : la structure chimique d'un phytate. (ROUSSEL, 2006).

- ❖ *Les saponines* : elles ont un faible pouvoir d'agglutination des hématies, elles sont éliminées par le chauffage.

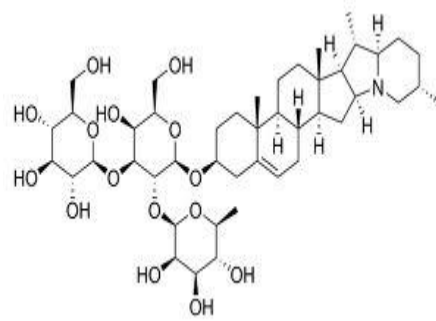
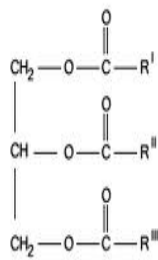


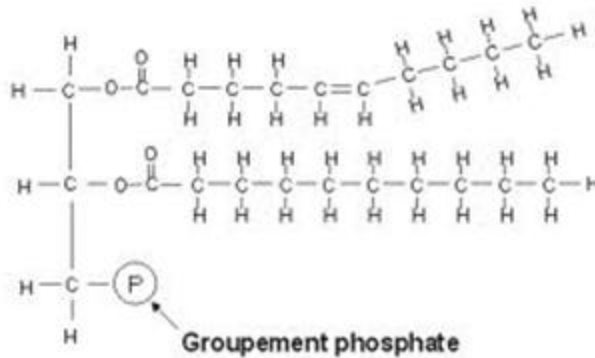
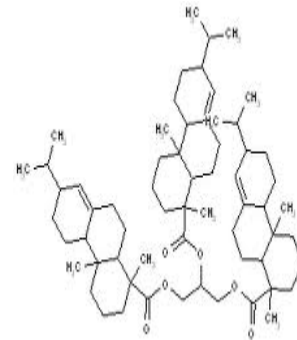
Figure 6 : la structure chimique d'une saponine. (PETSKO, 2008)

III.3.Lipide :

Les graines de soja sont constituées typiquement de 96% de triglycérides, 2% de phospholipides, 1,6% d'insaponifiable, 0,5% d'acide gras libre ainsi que d'une faible quantité de pigment caroténoïdes (BERK ,1993).

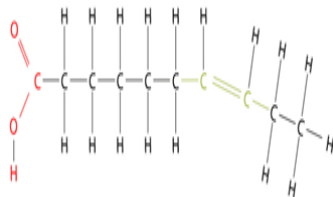


Triglycéride



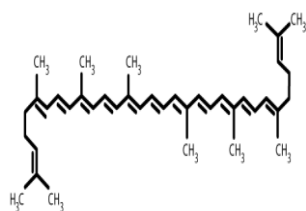
Insaponifiable

Groupement phosphate



acide gras libre

Phospholipide



Pigment caroténoïde

Figure 7 : structures des différents lipides de soja. (OKADA, 1980).

L'huile de soja est classé parmi les huiles semi-siccatives au regard de ses fortes teneurs en acide linoléique et linoléique. La présence d'acide linoléique est responsable de la forte susceptibilité des huiles de soja à une détérioration oxydative.

La composition en acide gras essentiel de soja est indiqué dans le tableau suivants :

Tableau 6 : les teneurs des acides gras essentiels en g dans le soja cru.

Acide gras essentiel	Soja (g)
AG saturé	2.884
AG mono insaturé	4.404
AG poli insaturé	11.255
Acide linoléique	5.925
Acide alpha linoléique	0.598
cholestérol	absent

(SOJAXA, 2001)

III.4. Les glucides :

Selon BERK, 1993, les graines de soja renferment environ 30% de glucide, on peut les diviser en deux groupes :

- ❖ *Les sucres solubles* : glucose 5%, stachyose 4%, raffinose 1%.

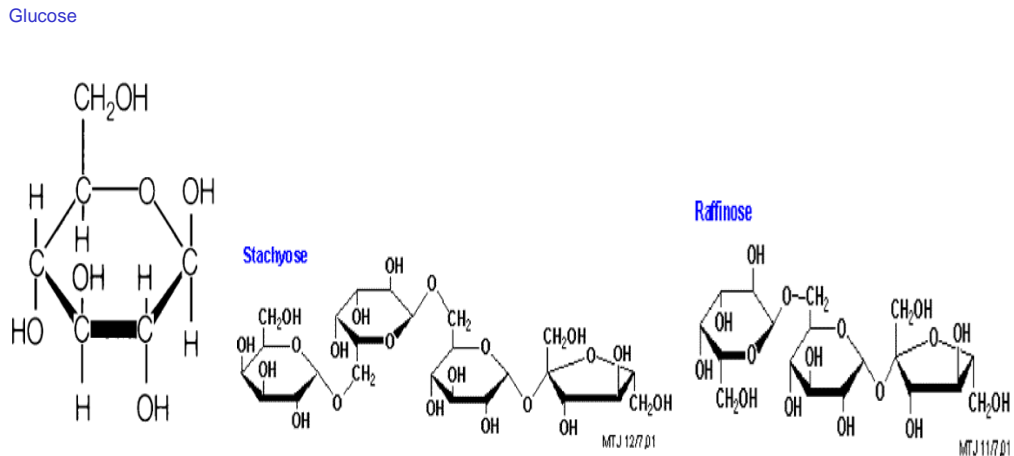


Figure 8 : structures des sucres solubles. (DAVID, 1995).

Le raffinose et le stachyose ne sont pas hydrolysés par les enzymes du tractus digestif, mais sont fermentés par les micro-organismes de l'intestin en formant des gaz intestinaux.

- ❖ *La fraction insoluble* : c'est un mélange complexe de poly-saccharides et de leurs dérivés (cellulose, hemi-cellulose, pectine). les fractions insolubles ne sont pas digérées, elles peuvent être considérer comme des fibres alimentaires.

A la différence des autres légumineuses, le soja ne contient que très peu d'amidon (moins de 1%).

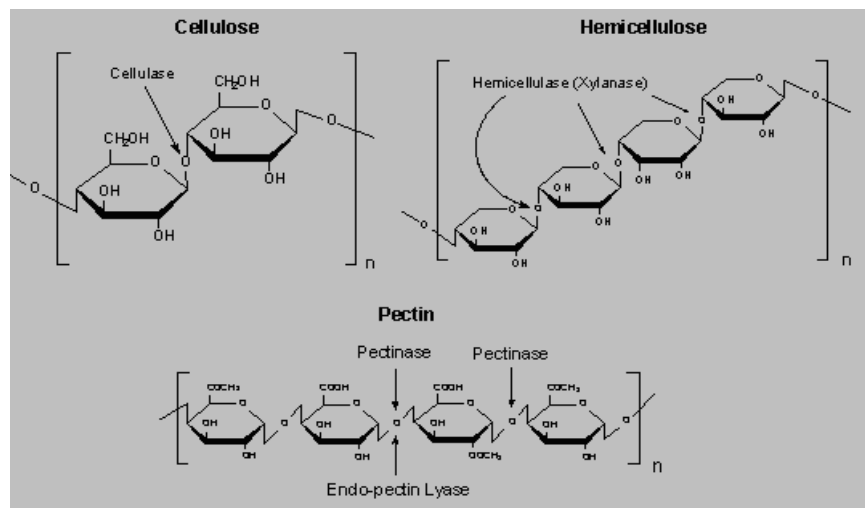


Figure 9 : structure de la fraction insoluble (OKADA, 1980).

III.5.Eléments minéraux :

La teneur en éléments minéraux des graines de soja est déterminée en tant que cendre, elle est d'environ 5%. Quand les graines de soja sont

transformées, la plupart des éléments minéraux se trouvent dans les tourteaux et très peu dans l'huile. Les principaux éléments minéraux sont le potassium, le calcium et le magnésium. On trouve parmi les constituants mineurs quelque trace d'éléments nutritionnellement importants (0,01-140 ppm), comme le fer, le zinc, le cuivre....etc. (LIU, 1999).

III.6. Les vitamines :

Le soja est une source adéquate de vitamine du groupe B, sauf en ce qui concerne la vitamine B₁₂ les graines de soja mûres contiennent peu de β – carotène (pro-vitamine A) et d'acide ascorbique (vitamine c). les graines de soja renferme aussi bien des vitamines hydrosolubles et liposolubles.

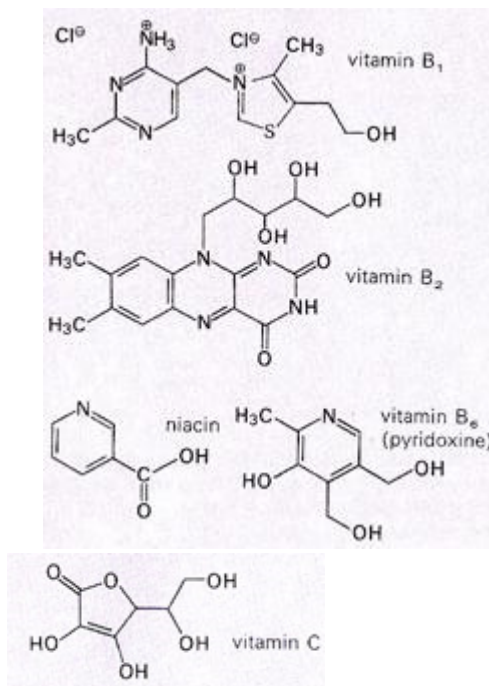
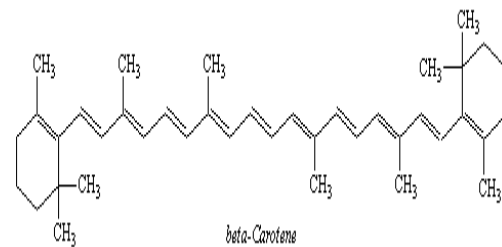


figure10 : la structure des vitamines de soja (RUSSO, 1998).

IV. La valeur nutritionnelle de soja :

Le soja qui fait ses preuves dans l'alimentation des asiatiques de puis plusieurs millénaires, trouve naturellement sa place dans l'alimentation occidentale actuelle par sa richesse en constituants nutritionnellement intéressants.

Le soja offre pour le consommateur :

❖ *Des protéines de bonne qualité :*

La « qualité », la « valeur » ou « l'équilibre » d'une protéine alimentaire dépendent de la nature et des quantités des acides aminés qu'elle contient, elle représente l'efficacité avec laquelle l'organisme peut utiliser cette protéine.

Une protéine « équilibré » ou de « haute qualité » contient les acides aminés indispensables en proportion correspondants aux besoins humains (CHEFTEL et al, 1985)

Cette définition s'applique aux protéines de soja, car elles sont exceptionnellement riches en lysine et en tryptophane (HINSON et al, 1977).

Les acides aminés limitants sont ceux contenant du soufre (méthionine et cystéine). Leur pourcentage dans la protéine de soja représente environ 70% de celui des protéines de l'œuf entier. Ainsi l'indice chimique de protéines de soja serait d'environ 70% (BERK, 1993).

La composition en acide aminés essentiels des produits dérivés du soja est donnée dans le tableau suivant :

Tableau 6 : composition en acide aminées essentiels d'ingrédients sélectionnés du soja (mg/100gr de protéine) par rapport aux normes recommandées par FAO/OMS

	Graine	farine	concentré	isolat	Lait de soja	tofu	Enfants 2-5 ans	adultes
isoleucine	35	46	8	49	46	48	28	13
leucine	79	78	79	82	79	82	66	19
lysine	62	64	64	64	60	61	58	16
Méthionine et cystéine	21	26	28	26	16	14	25	17
tryptophane	—	14	16	14	—	—	11	5
valine	37	46	50	50	48	49	35	13

(BELLAL et MEKIMEN, 2000)

D'autres indicateurs tels que la valeur biologique apparente (VB), le coefficient d'efficacité protéique (CEP) et le coefficient d'utilisation digestive des protéines (CUDP), sont de meilleurs prédicateurs de la qualité des protéines de soja.

❖ *Peu de lipide mais des acides gras essentiels :*

Les produits dérivés du soja présentent des taux de matières grasses très faible mais 85% des lipides du soja sont constitués d'acide gras polyinsaturés essentiels : 55% d'acide linoléique et 8% d'acide alphalinoléique, ce dernier étant un acide gras oméga-3. L'huile de soja contient 12-14% d'acide gras saturé, le reste étant non saturé sa fraction saturé se compose essentiellement d'acide palmitique et stéarique (HINSON, 1977).

❖ *Vitamines, minéraux, isoflavons ; des composés mineurs mais indispensables :*

Le soja est riche en vitamines notamment du groupe B et D, il est également une source de magnésium et de fer intéressante.

Certains composés mineurs de légumineuses, présents notamment dans le soja, suscitent actuellement beaucoup d'intérêt de la part des milieux scientifique, alors même qu'ils étaient considérés, il n'y a pas longtemps comme des substances indésirables c'est le cas des isoflavons ayant des propriétés anti-oxydante et pour certaines phyto-oestrogeniques. (ROUSSEL, 2006).

I. Transformation de soja :

I.1. Intérêt de transformation de soja :

La transformation du soja en agro alimentaire a pour but d'améliorer la valeur nutritive du soja car ce dernier est très riche en protéine, il comporte 37g/100g de protéine ainsi que ses dérivé le tofu (pate de soja) et tonyu (lait de soja) comportent respectivement : 11.5g/100g et 3.8g/100g de protéine.

La transformation du soja vise aussi à améliorer la qualité organoleptique en inactivant les facteurs antinutritionnels qui causent le goût désagréable appelée « goût d'haricot ».

I.2. Opérations préliminaires :

Selon GODON, 1994, La graine de soja subit plusieurs opérations avant sa transformation :

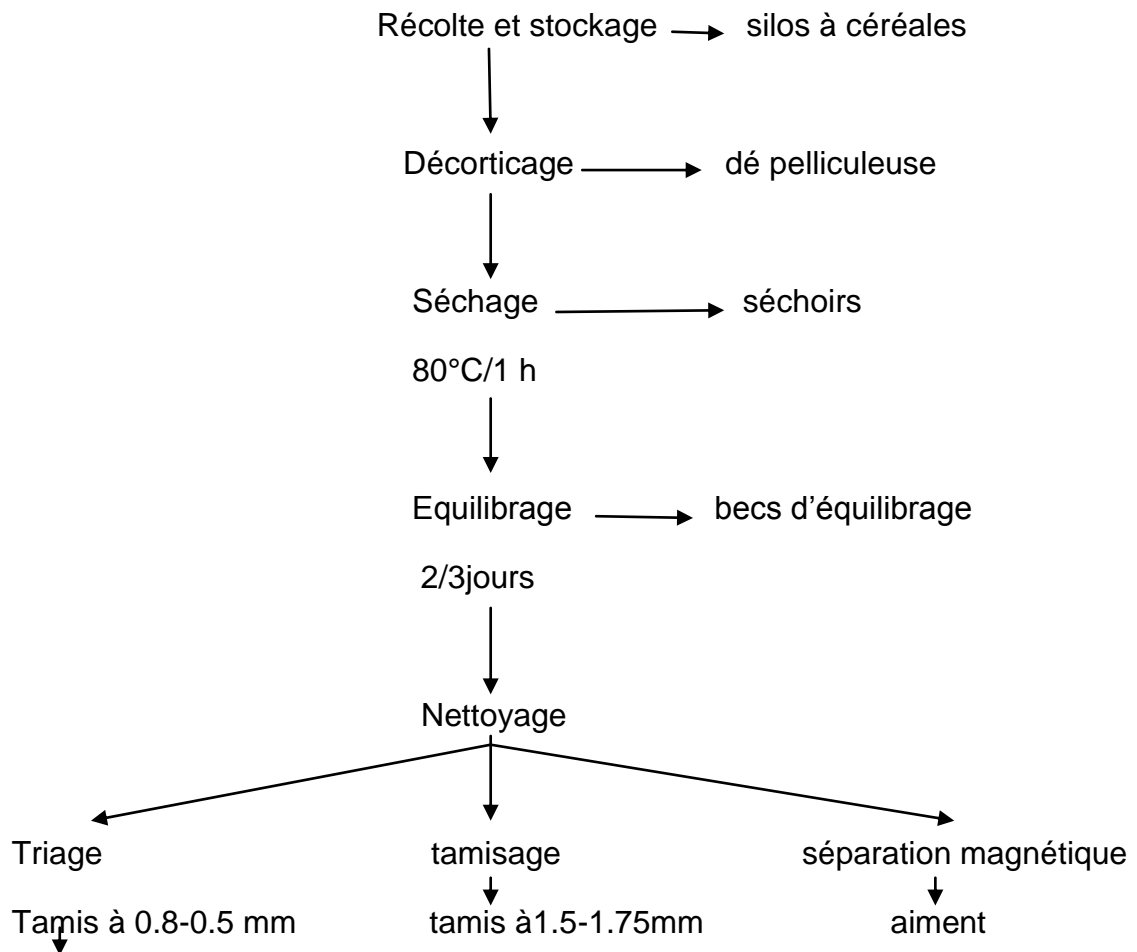


Figure10 : diagrammes des opérations préliminaires de la graine de soja.

(GODON, 1994).

➤ **Le stockage :**

Juste après la récolte, le soja est habituellement stocké dans des silos à céréale, le succès de cette opération dépend spécialement de l'humidité, de la température de stockage et de la durée de stockage.

➤ **Le décorticage :**

C'est une opération qui vise à éliminer la peau des graines pour obtenir la partie de la graine la plus riche en huile.

➤ **Le séchage :**

Les graines de soja doivent être décortiquées avant leur transformation, il faut les séchées jusqu'à une humidité inférieure à 10% de façon à faciliter la séparation des pellicules. Ceci est réalisée dans les séchoirs verticaux à circulation d'air forcé, à gaz ou à mazout.

➤ **L'équilibrage :**

Après refroidissement, les graines de soja séchées sont stockées dans des bacs pendant 2-3 jours, les bacs d'équilibrage, qui sont généralement des silos extérieurs de type vertical.

➤ **Le nettoyage :**

Les graines de soja font l'objet de nombreuses opérations de nettoyage tout au long du traitement :

- **Séparation magnétique :** elle est utilisée pour l'élimination des déchets métalliques, dans les installations de capacité moyenne il peut s'agir d'aimant positionner sur le trajet des graines et pour les installations plus importante, on utilise des aimants cylindrique ou en rotation.
 - **Tamissage :** il est utilisé pour élimination des cailloux, la poussière et d'autres matériaux, il consiste en un tamis vibrant à deux niveaux, le tamis supérieur retient les cailloux et les autres grosses particules et laisse passer les graines, et le tamis inférieurs retient les graines de soja et laisse passer les particules les plus fines tel que le sable, la poussière..... etc.
- **Le triage :** l'objet de cette opération est de séparer les graines brisées des graines entières, il est réalisé simplement par tamissage.

I.3. Préparation de la graine de soja :

I.3.1. Cuisson :

C'est un traitement simple et facile à appliqué, les graines crus sont trempés dans l'eau et cuites à 150°C pendant 30mn. Elles sont ensuite séchées de façon mécanique ou étendus sur le sol à la température ambiante pendant 48h. Ce traitement a pour effet la diminution de l'activité anti-trypsique et l'augmentation de la digestibilité des nutriments.

I.3.2. Torrification :

Il existe de nombreux modèles, notamment les systèmes conventionnels à sec et les systèmes utilisant l'application de chaleur humide, la chaleur provient d'un four, d'un bruleur à charbon ou directement d'une flamme. La température appliquée varie entre 110-170°C suivant l'appareil utilisé pendant environ 20 secondes (MATEOS et al, 2004).

I.3.3. Extrusion :

Ce traitement repose sur l'application des températures élevées entre 140 et 170°C pendant de courtes périodes (moins de 90 secondes). Il existe deux modèles d'extrusion sur le marché, à sec et par voie humide.

I.3.4.Expansion :

Le processus d'expansion consiste à conditionner et à traiter un produit donné au moyen de la pression et de la vapeur chaude à 100°C pendant 10 mn. Enfin, la température appliquée doit être d'environ 130°C pendant 20 secondes.

I.3.5.Taostage :

Ce procédé désactive l'activité enzymatique de la lipoxygénase et augmente la stabilité de la farine de soja durant le stockage (STAUFFER ,2004).

I.3.6.Le pressage :

C'est une opération utilisée pour séparer l'huile du reste du corps de la graine. On peut utiliser n'importe quel moyen de pressage, des moyens traditionnels les plus archaïques aux pressoirs les plus modernes. La qualité de l'huile obtenue est brute, c'est-à-dire qu'elle contient des impuretés et de l'eau qui peuvent être séparés par **stérilisation-purification** d'huile en la chauffons à une température élevée pour faire évaporer l'eau ; décantation pour séparer l'huile stérilisée des impuretés. L'huile ainsi obtenue est prête à la consommation et peut être conservée pendant plus de six mois. (ASIEDU, 1991)

I.3.7.Le broyage et le tamisage :

Ces deux opérations sont utilisées dans le but de produire la farine de soja on utilisant des broyeurs pour obtenir une farine très fine et des tamis qui Permettent d'enlever la peau pour éliminer le maximum de fibres et obtenir une farine digeste.

I.3.8.Le broyage et l'extraction :

Ces deux opération sont utilisées pour obtenir le lait de soja et cela par le broyage humide des graines puis leur filtration pour séparer l'OKARA du lait de soja. (ASIEDU, 1991).

I.4. Stockage et conservation des produits à base de soja :

Les conditions de conservation des produits à base de lait de soja diffèrent en fonction de la nature du produit :

- L'huile de soja doit être protégée de l'air et de la lumière , ainsi que de la chaleur pour éviter la réaction d'oxydation ou de rancissement qui se produit lorsque les acides gras insaturés fixent l'oxygène de l'air, en présence de la chaleur ou en présence d'ions métalliques comme le Fe^{2+} ou Cu^{2+} . Elle modifie le goût et des composés indésirables apparaissent, qui peuvent être dangereux pour la santé. Donc, elle doit

être conditionnée dans des bouteilles fermés hermétiquement et stocké aux températures ambiantes pendant 6 mois à des températures comprise entre 2-7°C pendant 3 ans. (ANONYME, 1995).

- Pour une meilleure conservation, le lait de soja est mis en emballage à l'aide d'une conditionneuse automatique en sachets plastiques à partir d'un film. Le conditionnement se fait d'une façon automatique à l'état aseptique. Le sachet est stérilisé par une lampe UV. Le lait emballé peut se conserver 2 à 3 jours à la température ambiante 27°C, et pendant plus de 3 mois à l'état frais 2-7°C. Cependant, il peut se conserver pendant au moins 2 ans si le lait fraîchement filtré est chauffé à la vapeur pendant une heure dans des conteneurs hermétiques. (TURATISING, 1999).
- La farine de soja est habituellement emballé dans des sacs dont la conception doit respecter les normes et spécifications alimentaires, comme par exemple des sacs à parois double (ou triple) tapissés d'une couche de matière imperméable à l'humidité et à l'air. Ils doivent également être scellés de façon à prévenir l'infestation par les insectes. (STAUFFER, 2002).

II. le lait de soja :

II.1. Définition du lait de soja :

Le lait de soja est connu en chine de puis plus de 2000 ans. Par sa valeur nutritive, il remplace parfaitement le lait de vache dans les régions confrontées aux problèmes d'élevage, il a été introduit dans l'alimentation des nourrissons dans certains pays d'extrême orient (LOO, 1978).

Le lait de soja est, au sens strict, un extrait aqueux de graines de soja. C'est une émulsion /suspension blanche, contenant des glucides et des protéines solubles, et la majeure partie de l'huile de soja (BERK, 1993).

II.2. La classification du lait de soja :

On peut classer les laits de soja et les produits dérivés d'après leur composition de la façon suivante :

- **Lait de soja entier traditionnel (tonyu):** obtenu par extraction à l'eau des graines entières, avec un ratio graine sur eau de 1 : 5. Il contient 4% de protéine.
- **Lait de soja imitation-lait :** formule établie de manière à avoir une composition semblable à celle du lait de vache. Le ratio graine sur eau est de 1 : 7, avec une teneur en protéine de 3,5%. légèrement sucré, généralement additionné d'huile et de sel, il peut contenir une imitation d'arôme de lait.
- **Boisson au soja :** boisson sucrée et aromatisée, contenant environ 1% de protéine. Le ratio graine sur eau est de 1 : 20.

- **Produit fermenté ou assimilé** : tout produit ci-dessus après fermentation lactique ou acidification par l'acide lactique.
- **Mélanges** : mélanges de lait de soja avec d'autres laits, animal ou végétal.

II.3. La composition chimique du lait de soja :

La composition de lait de soja varie selon le ratio eau : graines mises en œuvre et le taux d'extraction pratiqué. Elle varie également selon la destination du produit : tonyu nature, tofuetc.

Les avantages que présente ce lait par rapport au lait de vache sont :

- Richesse en protéine dont la teneur minimale est de 3,6%
- L'absence du cholestérol et du lactose que certains individus digèrent difficilement
- Faible teneur en matière grasse.

Le tableau suivants présente la composition chimique du lait de soja :

Tableau 7 : La composition et la valeur nutritionnelle de lait de soja comparée à celle du lait de vache et du lait maternel.

Composition pour 100 ml	Lait de soja	Lait de vache	Lait maternel
Calorie (énergie)	44	59	62
Eau (g)	90,8	88,6	88,2
Protéine	3,6	2,9	1,4
Matière grasse	2,0	3,3	3,1
glucides	2,9	0,7	0,2
Matière minérale (mg)			
Calcium	15	100	35
Phosphore	49	90	25
Sodium	2	36	15
Fer	1,2	0,1	0,2
Vitamine (mg)			
Thiamine B1	0,03	0,04	0,02
Riboflavine B2	0,02	0,15	0,03
Acide gras saturés (%)	40-48	60-70	55,3
Acide gras insaturés (%)	52-60	30-40	44,7
Cholestérol (mg)	0	9,24-9,9	9,3-18,6

Source : (LIU ,1999).

II.4. La fabrication du lait de soja :

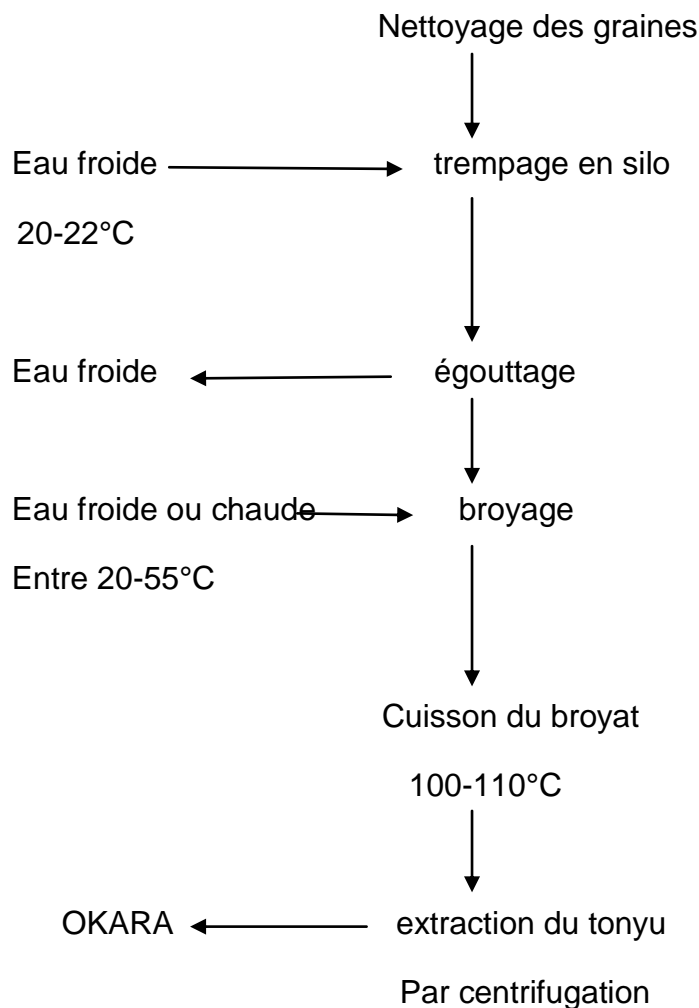


Figure11 : diagramme de production de tonyu (GODON ,1996).

Explication du schéma :

II.5.1. nettoyage à secs :

Les lots commerciaux du soja contiennent des quantités variables de matières étrangères comme la boue, la poussière, les pierres...etc. Il est essentiel d'enlever ces matières étrangères pour obtenir une production de lait de soja de haute qualité.

II.5.2. lavage :

Il consiste à rincer les grains trois fois minimum ou en continu à contre courant, à la température ambiante, puis à égoutter ou même essorer les graines.

II.5.3.trempage :

C'est une étape longue dont le but est d'attendrir la matière première pour faciliter le broyage ultérieurs. Le ratio eau : graines est généralement de 3 à 3,5.

Si le trempage est prolongé plus que nécessaire, les pertes en matière sèche et surtout en protéines solubilisés deviennent importantes entraînant la diminution du rendement en tonyu.

L'utilisation de la solution saline alcaline (bicarbonate, citrate de sodium...) permet de raccourcir le temps de trempage, d'accroître la solubilisation des oligosaccharides, de limiter la saveur d'haricot sans éliminer complètement et d'inactiver les inhibiteurs trypsiques. Par la suite, la cuisson pourra être plus courte (CHEN, 1988 cité par GODON, 1996).

II.5.4. blanchiments :

C'est un traitement supplémentaire (5 à 30 mn), effectué à haute température (eau chaude à 80°C ou vapeur) sur les graines trempées dans le but est de dénaturer les enzymes responsables du goût haricots. Dans ce cas, les eaux de blanchiment sont conservées dans le tonyu. Ce traitement thermique détruit la lipoxigénase, en partie les inhibiteurs trypsiques mais aussi insolubilise une partie des protéines, il déstructure les parois cellulaires et pasteurise le milieu. (GODON, 1996).

II.5.5. broyage humide :

Il peut se faire à froid (procédé chinois traditionnel), mais la production occidentale de tonyu nécessite un broyage à chaud à une température supérieure à 80°C, pour se prémunir de l'action de lipoxigénase et préparer la cuisson ultérieure. Ce pendant, si les graines ont été blanchies, le broyage n'est effectué qu'à 55°C maximum pour ne pas accroître l'insolubilisation des protéines (GODON, 1996).

II.5.6. cuisson du broyat :

En règle générale, la cuisson dure de 10 à 15 mn à 100°C, ou moins longtemps à température plus élevée (DACOSTA, 1990 cité par GODON, 1996). Selon le même auteur, la digestibilité des protéines s'accroît par inactivation des inhibiteurs trypsiques, pour une durée inférieure à 10 mn. Une cuisson trop prolongée provoque un abaissement du rendement d'extraction et de la digestibilité des protéines, un brunissement du tonyu et l'apparition d'odeur et de goûts désagréables.

II.5.7. extraction du lait, séparation du l'OKARA :

Cette étape consiste à filtrer le produit cuit pour obtenir un tonyu dépourvu de particules. Les solides récupérés (OKARA) sont essorés par pressurage pour récupérer le maximum de tonyu. Le bilan liquide de fabrication de tonyu dépend fortement des conditions de préparations utilisées, principalement du ratio eau : graine. A partir de 1 kg de graine, les valeurs s'échelonnent entre 5 kg de tonyu à 11% de matière sèche (ratio faible) jusqu'à 10 à 15 % de la matière sèche (ratio élevé), avec une moyenne de 9,2kg de tonyu à 6% (ratio 10 : 1). La quantité de l'OKARA récupéré est beaucoup plus constante : de 1,1 à 1,2 kg avec un taux de matière sèche de 15 – 25% (22% en moyenne) (GODON, 1996).

III. yaourt de soja

III.1. Définition du yaourt de soja :

Le yaourt de soja est fait par la fermentation du lait de soja avec des bactéries, principalement *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*. Le processus est similaire à la production de yaourt de lait de vache. Le lait de soja manque de lactose qui est la nourriture de base pour les bactéries du yaourt, Il contient moins de graisse que ses contre-parties de laiterie. Ceci s'élève environ à 2.7% (le même pourcentage que le lait de soja). (MECHNIKOV, 1900 cités par BERK, 1993).

III.2. La valeur nutritionnel du yaourt de soja :

Beaucoup de gens aiment simplement les yaourts de soja. Un, parce qu'ils sont délicieux, deux, parce qu'ils sont très nutritifs. (ANONYME, 1995)

Les bactéries, *Lactobacillus bulgaricus* et *Stréptococcus thermophilus*, présentes dans le yaourt de soja sont capables de fournir des avantages significatifs pour la santé de leurs consommateurs, Ils améliorent le processus de digestion et de promouvoir une bonne santé du côlon. Ils peuvent même prévenir et traiter le cancer du côlon. (ROUDEAU, 2005).

En dehors de cette teneur en éléments nutritifs de yaourt de soja, ce produit de soja est également connu pour son contenu riche en probiotiques. Selon la **FAO / OMS (1994)**, les probiotiques sont des microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, produisent un bénéfice pour la santé de l'hôte. Ils sont reconnus comme une aide potentielle à améliorer la santé digestive et de guérir certaines maladies comme la diarrhée, le cancer du côlon.

Les probiotiques peuvent également stimuler le système immunitaire afin d'éviter un rhumes et le virus de la grippe.

Avant, tout le monde ne pourrait profiter de ces avantages, car la plupart des aliments probiotiques renforcée provenaient de sources laitières.

Manger régulièrement le yaourt de soja peut aussi causer des effets positifs sur le corps. Elle peut améliorer la santé cardiaque, prévenir et traiter le diabète de type 2, diminuer les symptômes de la ménopause et prévenir l'ostéoporose.

C'est pourquoi beaucoup de diététiciens recommandent le yaourt de soja à leurs clients. Ce produit alimentaire à base de soja n'est pas seulement

délicieux pour les papilles, il est également bénéfique pour la santé. (ROUDEAU, 2005).

Tableau8 : la composition chimique du yaourt de soja.

composition	Teneurs en g/100g
eau	89.0 g
énergie	59 kcal 245 kJ
Protéines	4.7g
Graisses	
lipides totaux	2.7 g
Acides gras saturés	0.5 g
Acides gras mono-insaturés	0.6 g
Acides gras poly-insaturés	1.6 g
Glucides	3.2 g
Fibre	0.2 g
sodium, Na	0.0 mg
Cholestérol	0.0 mg

(Source: USDA, 1999).

III.3. Technologie de fabrication du yaourt de soja :

Selon GUIRAUD, (2003) la fabrication du yaourt se réalise comme suivants :

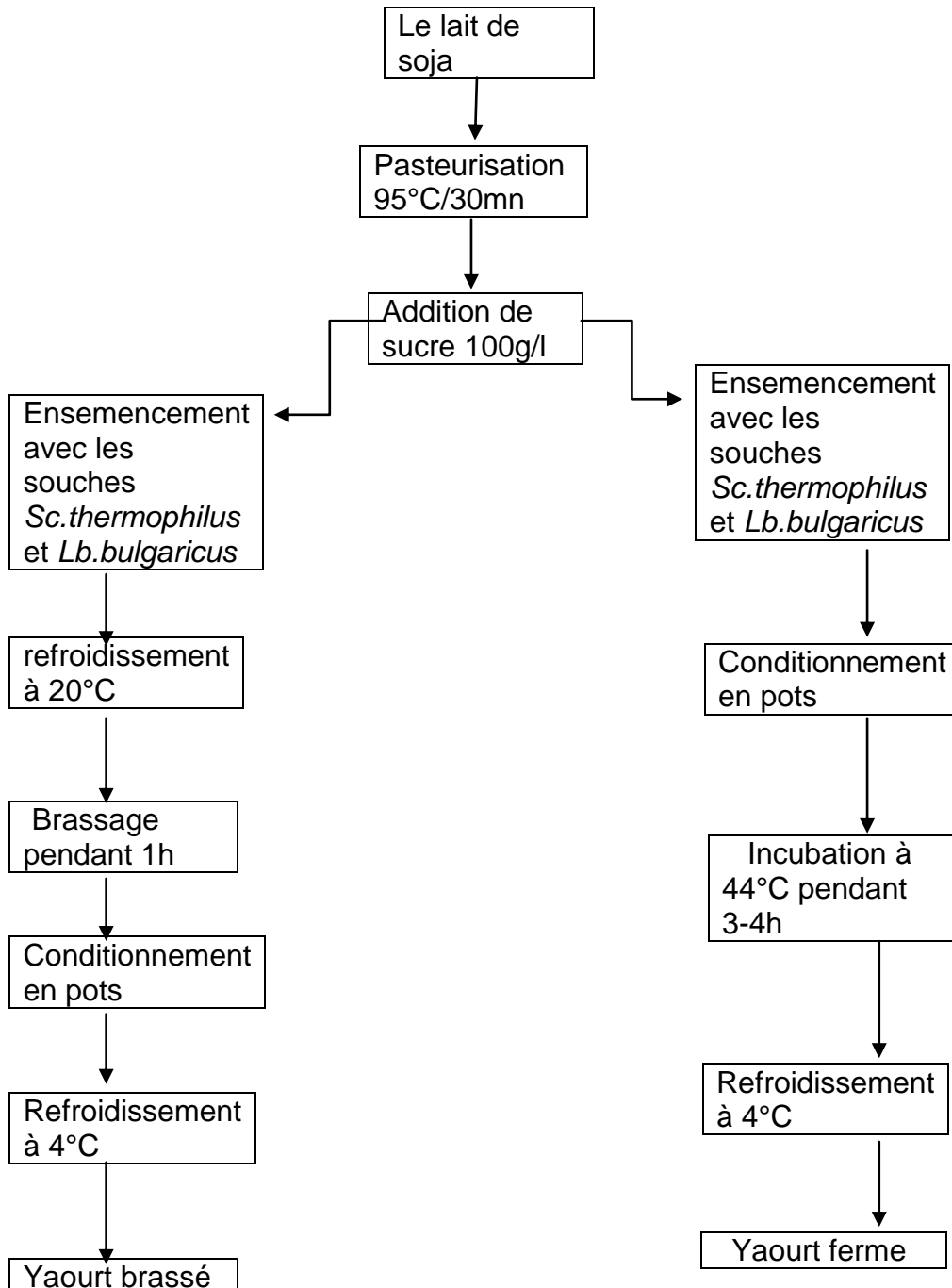


Figure 12: Diagramme de fabrication du yaourt de soja (GUIARD, 2003).

❖ **Explication du schéma :**

- Le lait de soja subit un traitement thermique, il est chauffé à 90-95°C pendant 30 mn.
- Le lait après chauffage est amené à une température 37-42°C pour les micro-organismes thermophiles et 30°C pour les mésophiles. L'ensemencement du lait s'effectue soit directement par addition des ferments congelés à -18°C, soit par un levain produit à partir de culture lyophilisées injecté dans du lait de soja.
- l'apport de glucides dans le lait de soja s'effectue par l'addition de solution stérile de sucre : 4%de glucose et 0,1% d'extrait de levure. Deux types de fabrication sont réalisés :
 - le laitensemencé est reparti dans des pots stériles et incubé à l'étuve jusqu'à l'acidité souhaitée 60°D, puis refroidi à 4°C. Des laits fermentés **fermes** sont ainsi produits.
 - Le laitensemencé est incubé dans des bocaux stériles de 1litre, après acidification le lait fermenté est refroidi puis brassé manuellement à l'aide d'un fouet et repartie en pots. Ceci correspond à la technologie des **yaourts brassés** l'acidité du lait fermenté doit être de 60°D
- L'ensemencement s'effectue par les *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* et *Bifidobacterium bifidum* à 10⁷ bactérie/ml pour chaque espèce, la fermentation dure 7h30 à 40°C. (GUIARD, 2003).

I. Matériels :

I.1. Objectif du travail :

Notre travail a été réalisé au niveau de la laiterie trèfle pendant le mois d'avril, il a porté sur deux volets :

- Le premier consistait à contrôler la qualité physico-chimique et microbiologique de la matière première.
- Le deuxième volet s'orientait vers les essais de formulation de yaourt de soja en substituant à chaque fois le lait en poudre par le lait de soja afin de voir son influence sur la croissance des bactéries lactiques.

I.2. Présentation du matériel d'étude :

Le matériel utilisé durant l'expérimentation est présenté dans l'annexe

I.3. Préparation des échantillons destinés à la transformation :

Les matières premières utilisées aux niveaux du laboratoire de microbiologie de l'unité de trèfle pour la fabrication d'un yaourt à base de soja sont : le lait en poudre, le lait de soja en poudre le sucre (saccharose), les ferments lactique (des souches de *Sc.thermophilus* et *Lb.bulgaricus* congelées à -18°C).

- le lait de soja utilisé est un lait en poudre en boites de 400g importé d'Angleterre « soymilk ».
- la poudre de lait et le sucre les ferments et les arômes proviennent de la laiterie de TREFLE.

I.4. Formulation :

Les essais de formulation du yaourt de soja sont basés sur la substitution de la poudre de lait par le lait de soja.

Cinq formules différentes ont été élaborées dans le but d'étudier l'influence du lait de soja sur la croissance des bactéries lactiques.

Le tableau suivant donne les différentes formulations du yaourt de soja :

Tableau9 : formulation retenue pour la fabrication du yaourt :

Ingrédients préparation	Lait en		Lait de		Sucre (saccharose)	ferment	L'eau
	poudre g	%	soja g	%			
P ₁ (100%lait)	70	100	0	0	50g	2g	400ml
P ₂ (25% lait de soja + 75% lait)	52.5	75	17.5	25	50g	2g	400ml
P ₃ (50% lait de soja + 50% lait)	35	50	35	50	50g	2g	400ml
P ₄ (75% lait de soja +25% lait)	17.5	25	52.5	75	50g	2g	400ml
P ₅ (100%lait de soja)	0	0	70	100	50g	2g	400ml

I.5.transformation et obtention du yaourt de soja :

Les opérations de transformation sont indiquées dans la figure suivante :

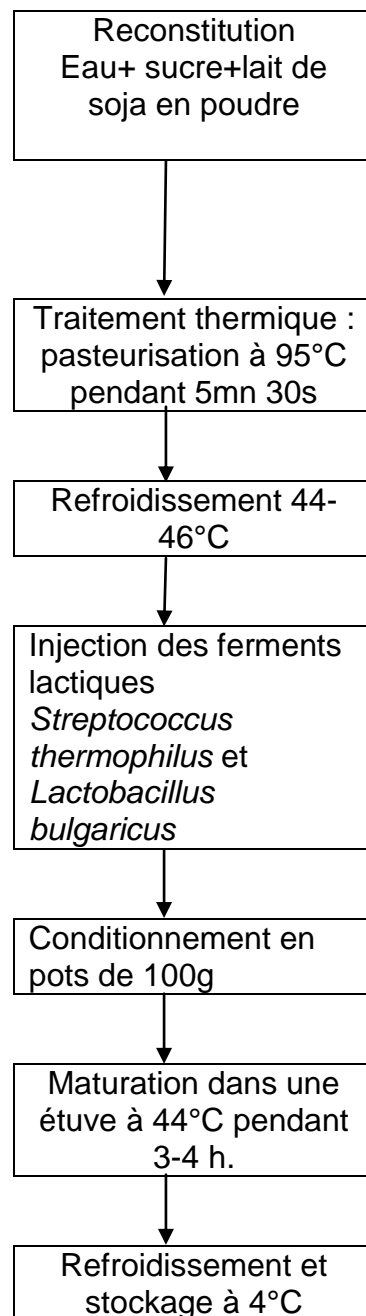


Figure19 : diagramme de fabrication du yaourt (lait-lait de soja) au niveau du laboratoire de la laiterie de trèfle.

Explication du schéma :

1. **La reconstitution** : c'est le mélange de différentes matières premières selon leur proportion donné dans le tableau 9.
 2. **Pasteurisation** : c'est un traitement thermique à 95°C pendant 5mn dans un four pasteur dans le but de prolonger la durée de conservation du lait et du produit fini (yaourt de soja).
 3. **Le refroidissement** : laisser la préparation refroidir à la température ambiante jusqu'à une température de 44-46°C pour éviter la brûlure des ferments lactiques.
 4. **Ensemencement** : c'est l'injection de 2 g des souches congelés de bactéries lactiques dans les différentes préparations.
 5. **Le conditionnement et la maturation** : verser les préparations dans des pots de 100g et laisser mûrir dans une étuve à 44°C pendant 4h 30mn puis stocker à 4°C.
- On obtient des pots de yaourt de 100g du type ferme.**

II. Méthodes d'analyses:

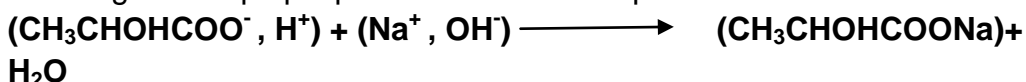
II.1. Analyses physico-chimique du lait de soja en poudre:

1) Détermination de l'acidité dornique : (AFNOR, 1986).

a) Principe :

La détermination de l'acidité repose sur le titrage de l'acide lactique par une solution NAOH (N/9) en présence de phénophtaléine

Ce titrage est expliqué par la réaction chimique suivante :



b) Mode opératoire:

- ✓ Dissoudre 2g de l'échantillon dans 20 ml d'eau distillée, et ajouter quelques gouttes de phénophtaléine.
- ✓ Titrer par la soude jusqu'à l'apparition de la couleur rose pâle.
- ✓ Soit « V » le volume de NAOH N/9 verser

c) Expression des résultats :

Les résultats sont exprimés directement en °D.

Matière sèche : (AFNOR, 1986).

a) Principe :

C'est le reste du produit après élimination de l'eau par séchage.

Les résultats sont exprimés en pourcentage massique selon la formule suivante :

$$\text{MS}\% = 100 - \text{H}\%$$

MS : matière sèche

H% : humidité

b) Mode opératoire :

- ✓ Introduire 3g de l'échantillon dans dessiccateur.
- ✓ Voir le résultat sur l'écran du dessiccateur.

c) Expression des résultats :

Les résultats sont exprimés en pourcentage massique.

2) Taux d'humidité : (AFNOR, 1986)

La détermination de taux d'humidité repose sur l'estimation de la quantité d'eau contenue dans la poudre de lait. Les résultats sont exprimés en pourcentage massique selon la formule suivante :

$$MS\% = 100 - H\%$$

MS : matière sèche

H% : humidité

3) Le pH : (AFNOR, 1986)

a) Principe :

Le **pH**, ou potentiel hydrogène, est proportionnel à la concentration des protons (H^+) dans la solution (AFNOR, 1986).

$$[H^+] = 10^{-pH}$$

b) Mode opératoire :

- ✓ Préparer une solution à 10% de l'échantillon.
- ✓ Mesurer le pH par un pH-mètre après étalonnage.

4) détermination de teneur en matière grasse : (AMARGLIO, 1986).

Cette méthode est basée sur la séparation de la matière grasse du lait en poudre par centrifugation à 1200 tours/min. dans le butyromètre Gerber, l'acide sulfurique attaque les protéines, les hydrates de carbone excepté la matière grasse. L'alcool iso amylique favorise la séparation des deux phases.

- ✓ Introduire 10 ml d'acide sulfurique dans le butyromètre à l'aide d'une pipette graduée.
- ✓ Peser 2.5 g de la poudre de lait.
- ✓ Ajouter 8 ml d'eau à l'aide d'une pipette.
- ✓ Ajouter 1 ml d'alcool iso amylique.
- ✓ Centrifuger pendant 5 mn.

- ✓ Laisser le butyromètre 7 à 8 mn dans un bain marie à 45°C, la teneur en matière grasse du lait sec exprimée en gramme pour 100 g de poudre de lait est donnée par la formule suivante :

$$N_1 - N_0$$

N_1 : représente la valeur atteinte par le niveau supérieur de la colonne grasse.

N_0 : représente la valeur atteinte par le niveau inférieur de la colonne grasse.

II.2. Analyses microbiologiques de lait de soja en poudre :

Les analyses microbiologiques de la matière première effectuées dans mon travail sont recommandées par BOURGEOIS et LEVEAU, (1991).

1) Préparation des dilutions :

- Préparation de la suspension mère : (SM)

Introduire aseptiquement, à l'aide d'une spatule stérile, 25g de la poudre de lait dans trois flacons contenant chacun 225 ml de TSE. On obtient une dilution 10^{-1} .

- Préparation des dilutions décimales :

Introduire aseptiquement à l'aide d'une pipette en verre graduée et stérile 1 ml de la SM, dans un tube stérile contenant au préalable 9 ml de diluants TSE, on obtient la dilution 10^{-2} .

Changer de pipette et prendre toujours aseptiquement 1 ml de la dilution 10^{-2} , à introduire dans un tube à vis stérile contenant 9 ml de TSE, on obtient la dilution 10^{-3} .

2) Méthode d'ensemencement :

- Sur milieu solide :

On peut ensemer, soit par surfusion, on déposant, 1ml d'échantillon au fond d'une boîte de Pétri, ensuite ajouté le milieu liquéfié, bien homogénéisé, puis laisser solidifié et l'incuber à une température adéquate pendant une durée bien précise en fonction des micro-organismes recherchés ; soit par étalement, en déposant sur la gélose 0,1 ml de l'échantillon de chaque dilution qu'on étale sur la surface à l'aide d'un rateau.

Le dénombrement est identique pour les deux techniques d'ensemencement, c'est-à-dire par la méthode classique de comptage sur boîte contenant un nombre de colonie compris entre 30 et 300, le nombre de germes est exprimé comme suit :

$$X = N_m \times 1/D \times 1/V$$

X : nombre de germe par ml ou gramme de produit.

N_m : nombre moyen de germe.

D : la dilution considérée.

V : volumeensemencé.

➤ **Sur milieu liquide :**

En introduit 1 ml des différentes dilutions utilisées dans des tubes ayant un milieu liquide et en marque le nombre des tubes positifs (trouble et dégagement de gaz) ; le dénombrement pourra être effectué par la méthode **NPP** (nombre plus probable), en utilisant la table de **Mac Grady (annexes)**, les résultats sont exprimés comme suit :

$$X = NPP \times 1/D \times 1/V$$

X : nombre de germe par ml ou gramme de produit.

NPP : nombre le plus probable.

D : la dilution considérée.

V : volumeensemencé.

3) Recherche et dénombrement des différents micro-organismes :(AFNOR, 1986).

La recherche des différents micro-organismes est très importante pour la santé du consommateur et sa sécurité hygiénique, ainsi la bonne qualité des produits alimentaires dépend de la présence de ces micro-organismes.

- **Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale (FMAT) :**

Mode opératoire :

- ✓ Introduire 1 ml de chaque dilution dans deux boites de Pétri stérile.
- ✓ Couler au dessus 15 ml de gélose PCA en surfusion.
- ✓ Agiter manuellement en faisant des mouvements circulaire afin d'homogénéiser le mélange.
- ✓ Après solidification, les boites sont incubées à 37°C pendant 24 à 48h.

Lecture :

Les boites positives présentent des colonies sous forme lenticulaire en masse de couleurs beige.

- **Dénombrement des coliformes totaux et fécaux :**

La numération des coliformes totaux et fécaux est réalisée en milieu liquide, elle fait appel à deux tests consécutifs :

- ❖ **Test de présomption :**

Ce test qui est réservé à la recherche des coliformes totaux.

- ✓ 1 ml de chaque dilution est ensemencé sur milieu VBL.
- ✓ Incuber à 37°C pendant 20 à 48h.

Lecture :

Les tubes positifs doivent présenter :

- ✓ Un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune
- ✓ Un dégagement gazeux au niveau de la cloche de Durham

Le dénombrement se fait par la méthode du NPP.

- ❖ **Test de confirmation :**

Ce test qui est réservé à la recherche des coliformes fécaux.

A partir des tubes positifs :

- ✓ Prélever 1 ml et ensemencer dans le milieu BLBVB et dans une eau peptonée exempte d'indole.
- ✓ Incuber à 44°C pendant 24h.

Lecture :

Les tubes qui sont considérés comme positifs doivent présenter à la fois :

- ✓ Un dégagement gazeux dans les tubes de BLBVB au niveau de la cloche de Durham.
- ✓ Un anneau rouge en surface, témoin de la production d'indole par ***E. coli*** après ajout de quelques gouttes du réactif de Kovacs dans le tube d'eau peptonée exempte d'indole.

Le nombre de coliformes par ml ou g du lait en poudre est calculé par la méthode de NPP.

Test de présomption

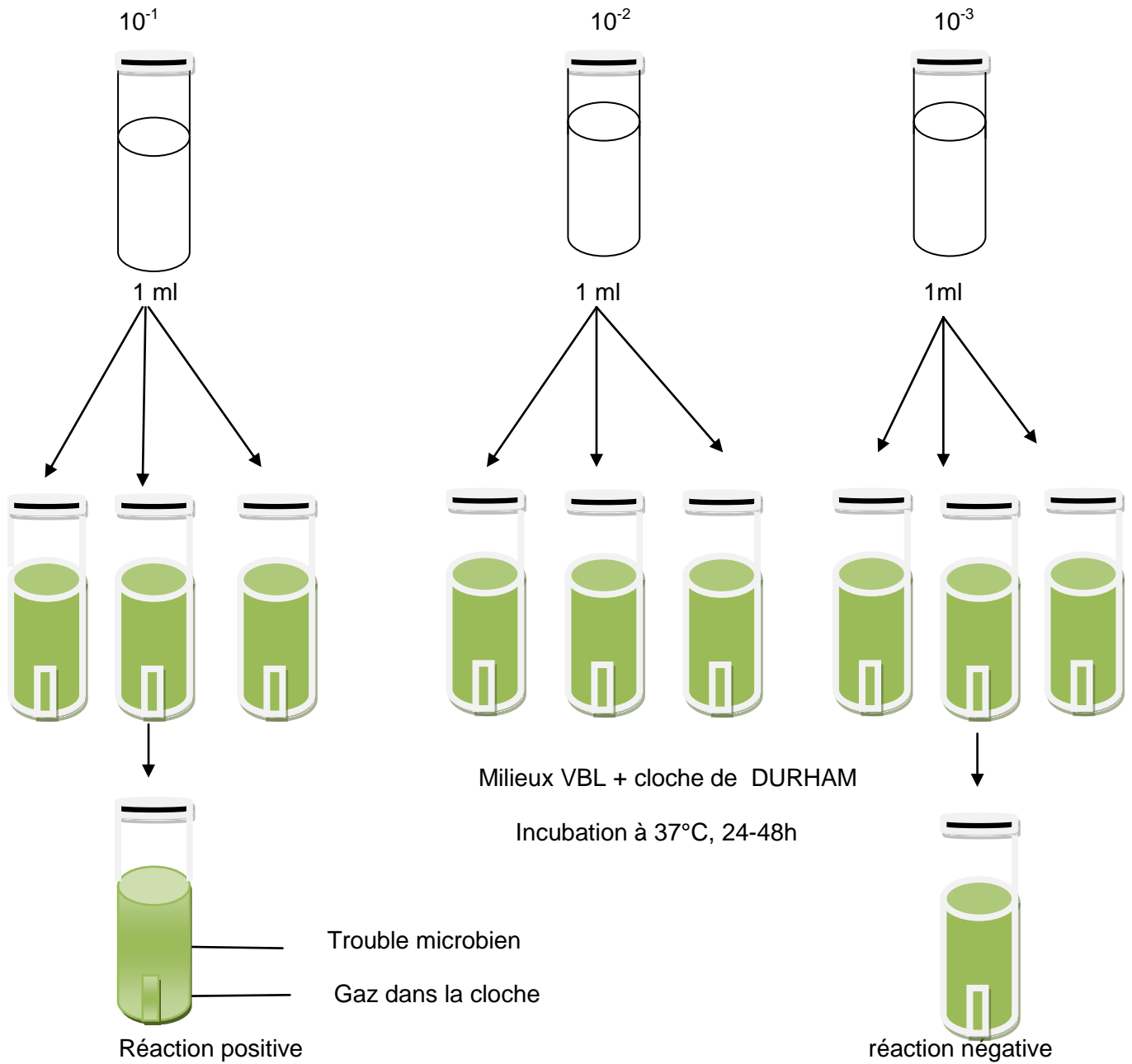


Figure14 : recherche et dénombrement des *coliformes totaux*.

Test de confirmation

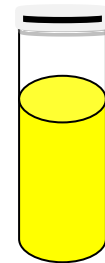


Tube positif

Un repiquage (quelques gouttes) sur VBL et EPEI



Milieu VBL + cloche de DURHAM



EPEI

Incubation à 44°C pendant 24h

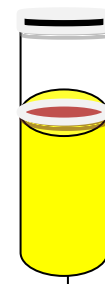


Ajout 2-3goutte du réactif

De KOVACS



Trouble microbien
Gaz



Réaction positif

Figure15 : recherche et dénombrement des *coliformes fécaux*

- **Dénombrement des Entérocoques (Streptocoques fécaux) :**

La recherche et le dénombrement de ces bactéries sont réalisés sur deux milieux liquides sélectifs :

- ✓ Le milieu de **Rothe** utilisé pour le test de présomption.
- ✓ Le milieu de **Litsky** utilisé pour le test de confirmation.

Test de présomption :

Ensemencer 1 ml de chaque dilution décimale dans trois tubes contenant le milieu **Rothe** additionné d'azide de sodium comme agent sélectif .Incuber à 37 °C pendant 24-48h.

Lecture :

les tubes positifs doivent présenter un trouble microbien.

Test de confirmation :

les tubes positifs vont subir un repiquage dans le milieu de **Litsky**. Incuber à 37°C pendant 24h.

Lecture :

Les tubes positifs doivent présenter un trouble microbien avec formation d'une pastille violette au fond des tubes.

Le calcul du nombre de germes par ml ou g de produit se fait par la méthode du NPP.

Test de présomption

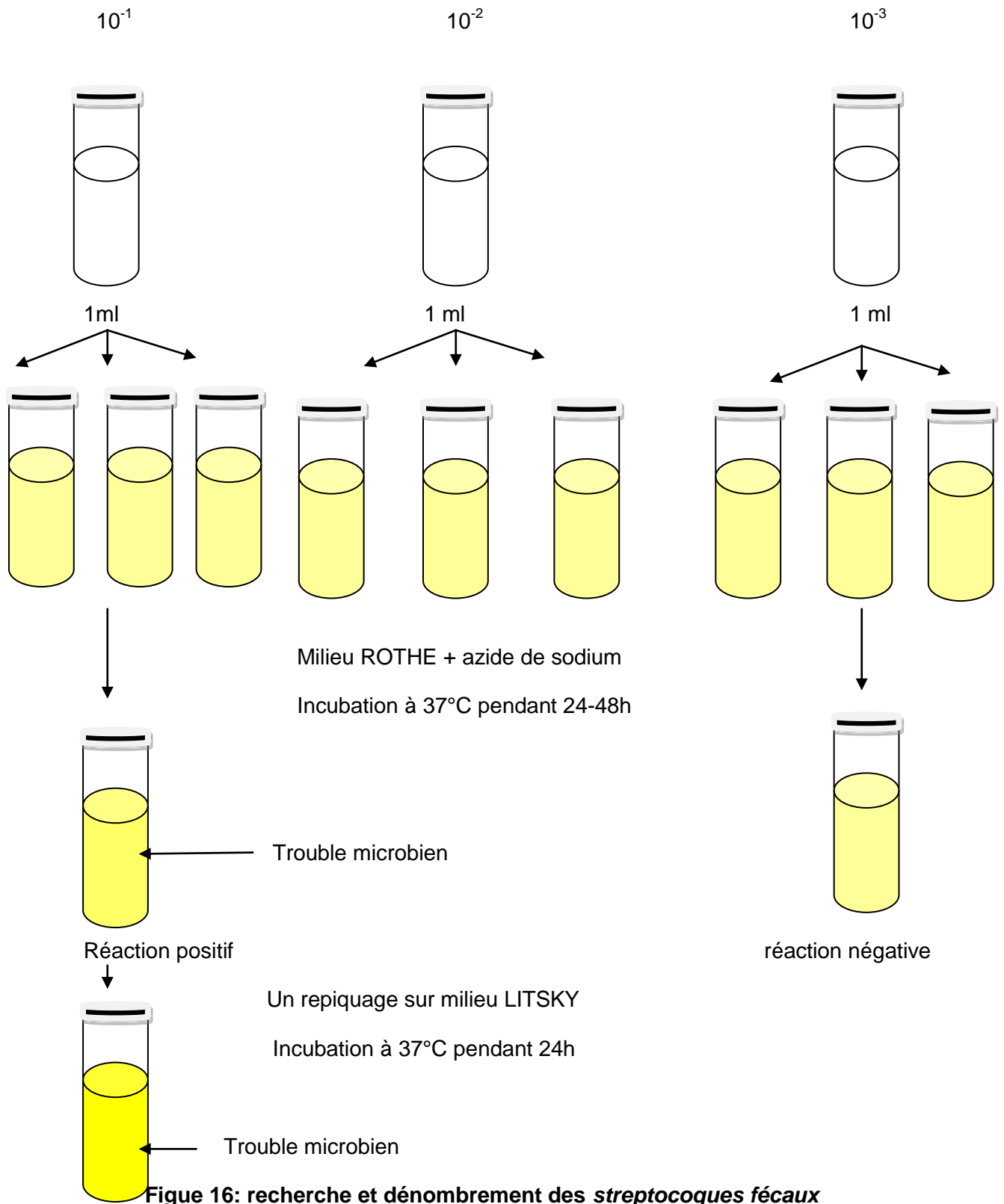


Figure 16: recherche et dénombrement des *streptocoques fécaux*

- **Dénombrement des staphylocoques pathogène (*S. aureus*) :**

Mode opératoire :

Enrichissement :

- ✓ Introduire 1 ml de chaque dilution décimale dans trois tubes stériles.
- ✓ Verser 15 ml de **Giollitti-Cantoni** additionné de tellurite de potassium.
- ✓ Incuber à 37°C pendant 24-48h.

Lecture :

La présence d'un noircissement au niveau des tubes positifs.

Isolement :

à partir des tubes positifs, l'isolement se fait sur la gélose de **CHAPMAN** coulée en boîtes de Petrie et solidifiée.

Incuber à 37°C pendant 24 à 48h.

Lecture : les colonies de taille moyenne, lisse brillante, jaune sont dénombrées et identifiées par la coloration de gram et le test de la coagulase après un isolement sur milieu de CHAPMAN.

Recherche de la staphylocoagulase :

Principe :

la production de la coagulase libéré par *S. aureus* provoque une coagulation du plasma de lapin qui se traduit par la formation d'un culot de coagulation.

Technique :

- ✓ Prélever 10 ml d'oxalate de sodium.
- ✓ Additionner stérilement ces 10 ml directement dans le flacon de plasma de lapin lyophilisé, et agiter légèrement.
- ✓ Ensemencer des colonies bien isolées sur le milieu de CHAPMAN dans un bouillon cœur cerveau.
- ✓ Incuber à 37°C pendant 18h.

Préparation de l'échantillon :

dans un tube stérile :

- ✓ Introduire 0,5 ml de plasma oxalaté et 0,5 d'une culture de 18h.
- ✓ Incuber le mélange à 37°C pendant 24h.

Lecture :

La souche de ***S. aureus*** provoque la coagulation du plasma en un temps variant d'une demi-heure à 24h, un caillot moins compact visible avant la 24^{ème} heure doit être considéré comme positif.

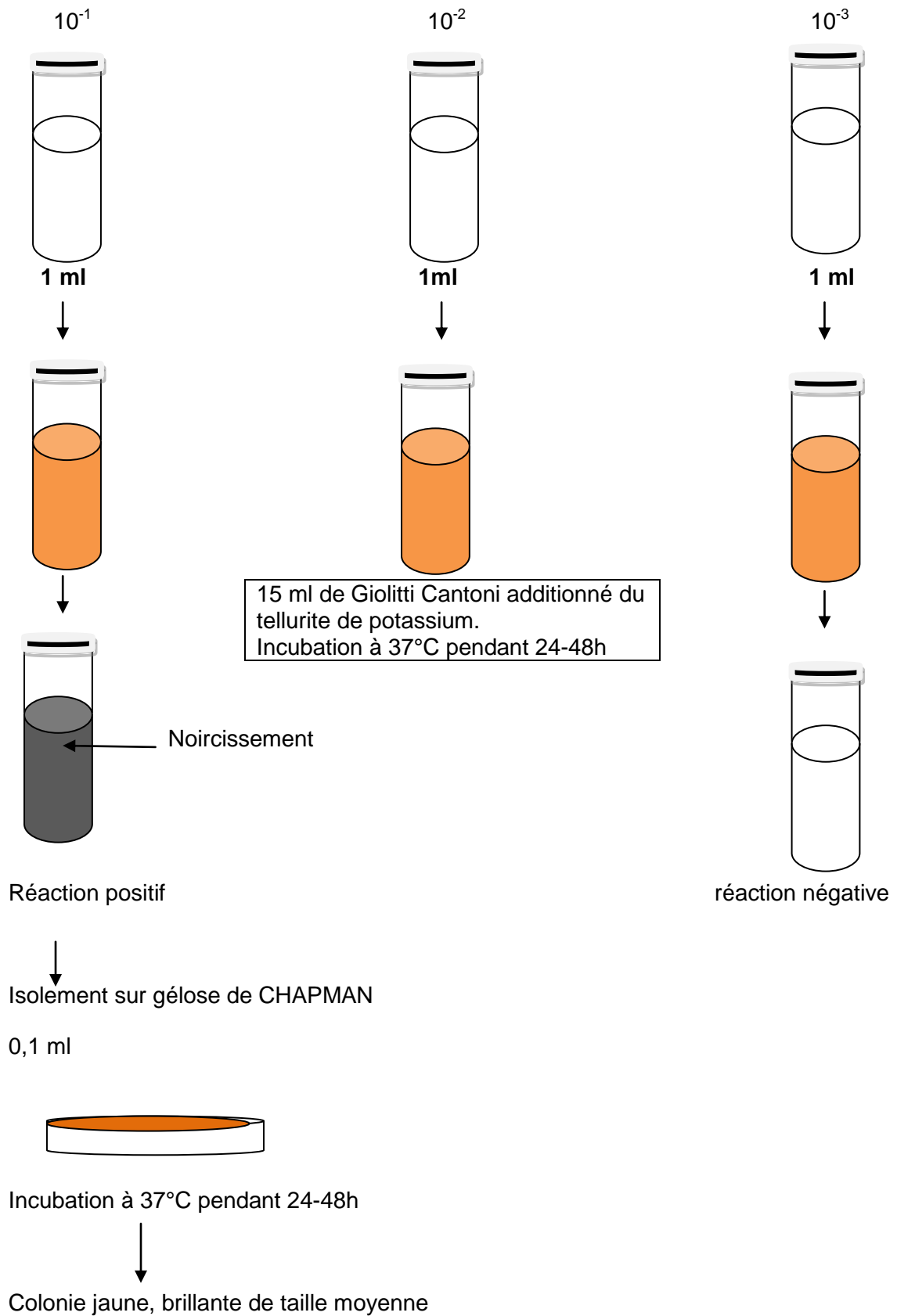


Figure 17: recherche et dénombrement des *staphylococcus aureus*

- **Dénombrement de clostridium sulfito-réducteur :**

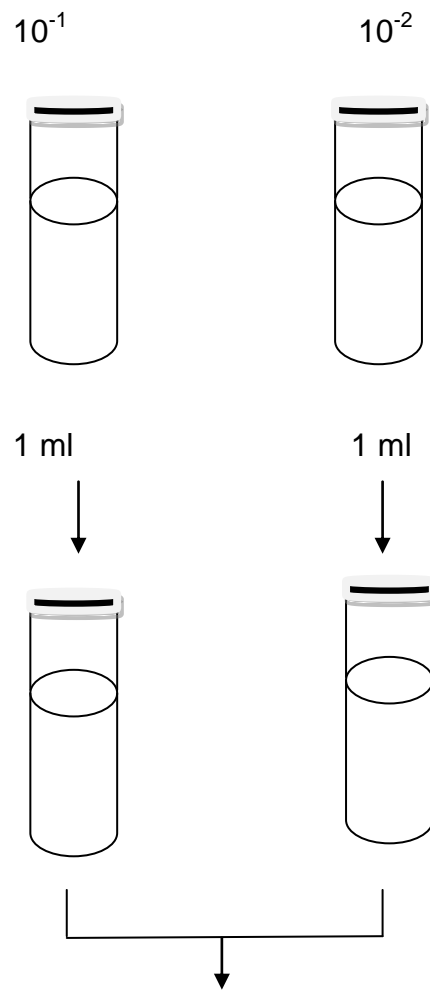
Mode opératoire :

- ✓ Introduire dans quatre tubes stériles successivement : 10ml de la dilution 10^{-1} et 1 ml des dilutions 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} .
- ✓ Incuber les tubes dans un bain marie à 80°C pendant 10 mn.
- ✓ Refroidir à l'eau du robinet.
- ✓ Couler dessus la gélose **viande-foie**, additionnée du sulfite de sodium et d'alun de fer.
- ✓ Incuber à 37°C pendant 72h.

Lecture :

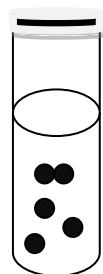
Les colonies de clostridium sulfito-réducteur apparaissent entourées d'un halo noir.

Les résultats sont exprimés en nombre de spores par ml ou g de la poudre de lait.

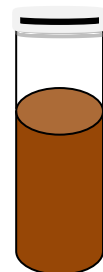


- Chauffage à 80°C, 8 à 10 mn.
- Refroidissement brutal sous l'eau du robinet.
- Ajouter environ 15 ml de gélose VF additionnée de sulfite de sodium et d'alun de fer.
- Laisser solidifier puis incuber à 37°C.

Lecture:



Réaction positive



réaction négative

Figure18: recherché et dénombrement de *clostridium sulfite-réducteurs*.

- **Dénombrement des levures et moisissures :**

Mode opératoire :

- ✓ Prélever 0,1 ml des dilutions 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , et étaler à l'aide d'un rateau à la surface des boîtes de Pétri contenant de la gélose **OGA Sabouraud**.
- ✓ Incuber les boîtes à 25°C pendant 5 jours.

Lecture :

Les colonies de levures se présentent sous forme ronde, plus ou moins bombée, brillantes et pigmentés de différentes couleurs, elles comportent des filaments.

Les moisissures sont plus grandes de couleur blanche, elles ont l'odeur de la levure de bière.

- **Recherche de salmonelle :**

Mode opératoire :

Pré enrichissement :

Introduire 25 g du lait en poudre dans un flacon de TSE, après une homogénéisation, incuber à 37°C pendant 24h.

Enrichissement :

- ✓ Ensemencer 1 ml de la solution du pré enrichissement dans 10 ml de bouillon SFB (S/C) auquel on ajoute un disque d'additif de SFB.
- ✓ Après une homogénéisation, les tubes sont incubés à 37°C pendant 24h

Isolement :

- ✓ Prélever 2 gouttes de bouillon de SFB et ensemencer par un étalement à la surface d'une boîte de Pétri contenant de la gélose **Hecktoen**.
- ✓ Incuber les boîtes à 37°C pendant 24h.

Lecture :

Les colonies de salmonelle sont gris bleues à centre noir.

II.3. dénombrement des bactéries lactiques dans le produit finis:

❖ Dénombrement de *Lactobacillus bulgaricus* sur milieu MRS:

- ✓ Prendre deux boîtes de Pétri de 90 à 100 mm de diamètre par dilution.
- ✓ Transférer dans chacune de ces boîtes, à l'aide d'une pipette stérile, 1ml de la dilution appropriée.
- ✓ Couler dans chaque boîte 14ml de milieu MRS fondu et refroidi à $48 \pm 1^\circ\text{C}$

Mélanger et laisser solidifier sur une surface froide.

- ✓ Ajouter quelques gouttes de l'huile de paraffine pour la culture anaérobie.
- ✓ Incuber trois jours à 37°C .

Dans ces conditions, *Lactobacillus bulgaricus* forme des colonies lenticulaires souvent polylobées de 1 à 3mm de diamètre suivant le nombre de colonies présentes.

❖ Dénombrement de *Streptococcus thermophilus* sur milieu M17 :

- ✓ Prendre deux boîtes de Pétri par dilution,
- ✓ Transférer dans chacune de ces boîtes, à l'aide d'une pipette stérile, 1ml de la dilution appropriée.
- ✓ Couler dans chaque boîte 14 ml de milieu complet fondu et refroidi à $48 \pm 1^\circ\text{C}$
- ✓ Mélanger et laisser solidifier sur une surface froide.
Incuber deux jours à 37°C .

Dans ces conditions *Streptococcus thermophilus* forme des colonies lenticulaires qui sont déjà visible après 18 à 24 heures d'incubation et qui atteignent en quarante huit heures, 1 à 2 mm de diamètre.

❖ La Confirmation par Examen Microscopique Des Colonies Développées

Prendre au hasard des colonies suspectes caractéristiques et distinctes de *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* qui feront l'objet d'une identification morphologique qui se déroule comme suit :

- **Etats frais** : déposer une goutte d'eau sur une lame contenant une colonie. Une lamelle est ensuite appliquée sur la goutte ; l'observation est réalisée au grossissement ($\times 40$).
Cet examen met en évidence la forme et le mode de regroupement.

- **Coloration de Gram** : pour confirmer que les bactéries lactiques ont une coloration Gram+, on a réalisé ce test comme suit :
 - Réalisé un frottis qui consiste en un étalement de la colonie sur une lame
 - Effectuer un séchage par plusieurs passages de courte durée au dessus du bec benzen.
 - Recouvrir la lame avec le violet de Gentiane pendant une minute.
 - Rincer à l'eau
 - Découler avec l'alcool pendant 30 secondes puis rincer une 2^{ème} fois à l'eau
 - Découler avec la fushine pendant une minute.
 - Rincer à l'eau puis sécher la lame.
 - Observer au microscope à l'objectif ($\times 100$), une goutte déposée entre le frottis et l'objectif donne une image plus nette. Cette coloration permet de distinguer les bactéries Gram+ des Gram-

- **Test de catalase** :
 - On dépose sur une lame quelques gouttes de suspension bactérienne puis on rajoute de l' H_2O_2 (l'eau oxygénée). L'apparition d'un dégagement gazeux témoigne de la présence de la catalase dans le métabolisme bactérien.

III. Analyse statistique :

Les essais réalisés sont bi factoriel, qui permet de connaitre l'effet du facteur étudier sur le caractère étudié. Les facteurs introduits volontairement dans le but d'examiner l'effet sont l'évolution du pH et l'acidité en fonction du temps et de la concentration lait de soja : ceci est quantitatif.

Le dispositif expérimental qui nous a permis d'étudier le facteur suit une loi de randomisation totale.

L'élaboration du plan expérimental est résumée comme suit :

- 1^{er} facteur étudié : le nombre d'UFC/ml en fonction du temps, T_0 , T_1 , T_2 , T_3 , T_4 et T_5
- 2^{ème} facteur étudié : l'évolution de l'acidité ou de pH en fonction de la concentration du lait de soja (0%, 25%, 50%, 75% et 100%).

- Nombre de variantes : deux variantes.

- Nombre de répétition : deux répétitions.

Interprétation des résultats :

Les résultats d'essai sont analysés à l'aide d'un logiciel statistique qui est le **STATITCF**.

Le premier test nous permet de déterminer les différences entre les moyennes des différents traitements est l'analyse de la variance en faisant sortir la probabilité du traitement.

L'interprétation consiste en premier lieu à examiner l'effet des facteurs étudiés par le teste de signification.

Le seuil de signification retenu est 5%.

- Si la probabilité calculée est supérieur à 0,05, on admet l'existence d'un effet global est non significatif.
- Si la probabilité calculée est inférieur à 0,05, l'effet est significatif
- Si la probabilité est de 0,00X, l'effet est hautement significatif.
- Si la probabilité est de 0,000X, l'effet est très hautement significatif.

Après le test de signification, si la probabilité est inférieur à 0,05, l'analyse sera complétée par l'étude de la plus petite différence significative (PPDS) ou (Test de NEWMAN-KEULS) qui permet de classer les moyennes des différents traitements en groupes homogènes, ainsi ressortir les meilleurs traitements.

I. Résultats et discussions de la qualité de la matière première :

I.1. résultats d'analyses physico-chimiques :

Les valeurs moyennes des paramètres physico-chimiques du lait de soja en poudre sont données dans le tableau suivant :

Tableau10 : caractéristiques physico-chimique du lait de soja en poudre.

paramètres	Composition moyenne	norme *
Humidité (%)	0.2	< 1
Extrait sec(%)	99.8	99
pH	6.6	6.5-7
Acidité °D	13	14
Matières grasse(%)	1.8	1.5-2.3

(nf v 29-001, 1996)

D'après les résultats obtenus lors des analyses physico-chimiques, on constate une certaine conformité avec les normes :

- l'acidité et le pH de la poudre de lait de soja sont respectivement de 13 et de 6.6, ce qui est parfaitement conforme aux normes.
- Les teneurs moyennes de l'extrait sec et d'humidité sont respectivement de 99.8 et de 0.2, ce qui est parfaitement conforme aux normes (99-1).
- La matière grasse est de 1.8 dans l'intervalle de la norme (1.5-2.3).

I.2. résultats des Analyses microbiologiques de la matière première :

Tableau11 : résultats d'analyses microbiologiques de la matière première.

Echantillons	Echan1	Echan2	Echan3	Norme *
Microorganismes Recherché germe/ml				
La flore anaérobie mésophile	abs	abs	abs	20
Coliforme totaux et fécaux	abs	abs	abs	<10
Streptocoque fécaux	abs	abs	abs	absence
Staphylocoques pathogènes	abs	abs	abs	10
Clostridium aérobie sulfito-réducteur	abs	abs	abs	absence
Levure et moisissure	abs	abs	abs	absence
salmonelle	abs	abs	abs	Absence/50ml

(*) Norme :J.O.R.A N35 Mai 1998

D'après le tableau relatif aux analyses microbiologiques, on note :

- Une absence totale des germes pathogène (salmonelle, staphylocoques) et absence des germes indice de contamination fécale (coliformes totaux et fécaux), et aussi absence des germes aérobies mésophiles et des clostridium aérobie sulfito-réducteurs, donc le lait utilisé est conforme aux normes (J.O.R.A).

II. Résultats des analyses du produit fini :

II.1. Résultats de dénombrement et de l'évolution des bactéries lactiques :

- **Evolution et dénombrement des *stréptococcus thermophilus* :**

Ces résultats sont indiqués dans le tableau suivant :

Tableau12 : résultats de dénombrement des *streptococcus thermophilus*.

	T ₀ 10mn	T ₁ 1h30	T ₂ 3h	T ₃ 4h30	T ₄ 6h	T ₅ 24h
0% de soja	23×10 ⁸	55×10 ⁸	135×10 ⁸	226×10 ⁸	228×10 ⁸	0
25% de soja	21×10 ⁸	48×10 ⁸	102×10 ⁸	163×10 ⁸	173×10 ⁸	0
50% de soja	20×10 ⁸	16×10 ⁸	56×10 ⁸	86×10 ⁸	96×10 ⁸	0
75% de soja	17×10 ⁸	28×10 ⁸	28×10 ⁸	58×10 ⁸	75×10 ⁸	0
100% de soja	15×10 ⁸	18×10 ⁸	20×10 ⁸	21×10 ⁸	23×10 ⁸	0

➤ **Evolution et dénombrement des *lactobacillus bulgaricus* :**

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau13 : résultats de dénombrement des *lactobacillus bulgaricus*.

	T ₀ 10mn	T ₁ 1h30	T ₂ 3h	T ₃ 4h30	T ₄ 6h	T ₅ 24h
0% de soja	10×10 ⁸	42×10 ⁸	123×10 ⁸	213×10 ⁸	215×10 ⁸	0
25% de soja	8×10 ⁸	35×10 ⁸	89×10 ⁸	150×10 ⁸	160×10 ⁸	0
50% de soja	7×10 ⁸	23×10 ⁸	43×10 ⁸	73×10 ⁸	83×10 ⁸	0
75% de soja	4×10 ⁸	15×10 ⁸	25×10 ⁸	45×10 ⁸	61×10 ⁸	0
100% de soja	2×10 ⁸	5×10 ⁸	7×10 ⁸	8×10 ⁸	10×10 ⁸	0

Les figures suivantes illustrent les résultats des deux tableaux précédents :

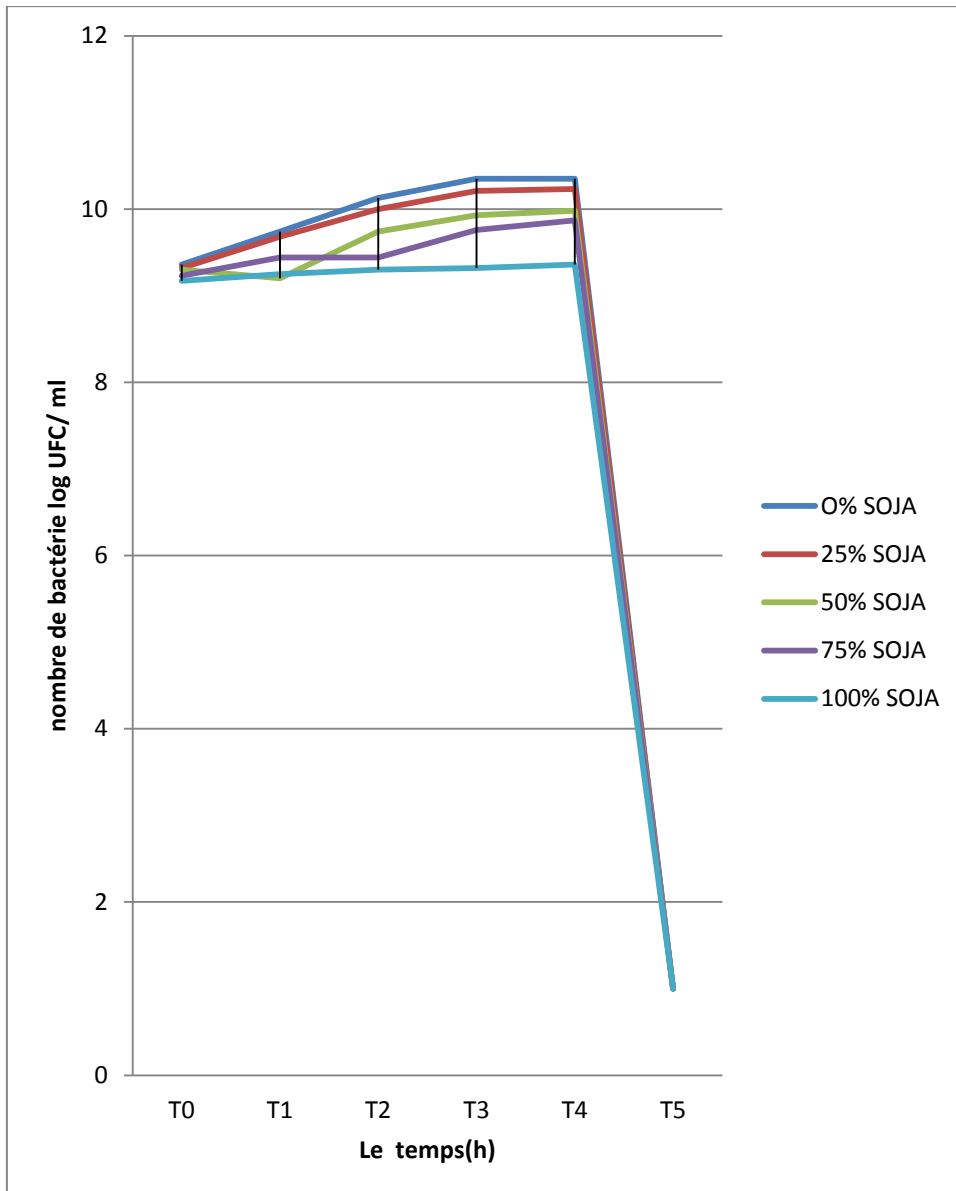
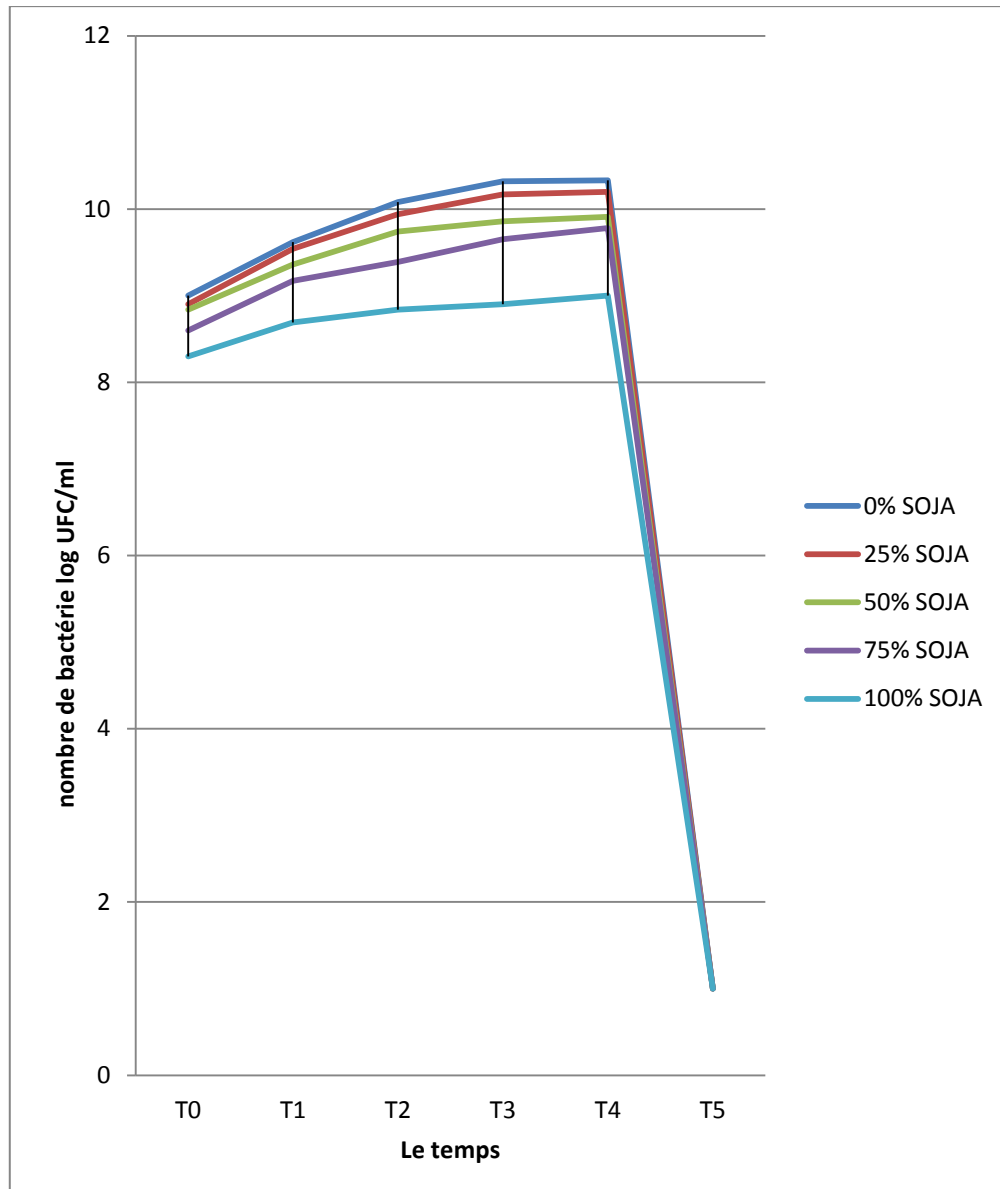


Figure 20 : la croissance des streptococcus thermophilus pendant la maturation du yaourt



Figures 21 : la croissance des lactobacillus bulgaricus pendant la maturation du yaourt

➤ ces deux figures montrent que la croissance des bactéries lactiques t suit six phases distinctes :

- T₀ : désigne la phase de latence, qui suit immédiatement l'ensemencement du milieu par les souches bactériennes (15mn après l'ensemencement) .il correspond à une période d'adaptation des cellules aux nouvelles conditions de culture.

En remarque que la quantité des UFC dans les différentes préparations est respectivement de :

Pour les *Sc. thermophilus* : 23, 21, 20, 17et 15 pour les préparations 0%, 25%, 50%, 75% et 100% de soja.

Pour les *Lb. bulgaricus* : 10, 8, 7,4 et 2 pour les préparations 0%, 25%, 50%, 75% et 100% de soja.

Ces résultats montrent que le nombre des UFC des streptococcus thermophilus est supérieur à celui des lactobacillus bulgaricus cela peut être expliqué par :

- ❖ Le pH du milieu est favorable pour les *Sc.thermophilus* qui produisent l'acide lactique à partir du lactose du lait en augmentant l'acidité du milieu et en diminuant le pH qui devient favorable à la croissance de les *Lb.bulgaricus*.
- ❖ *Sc.thermophilus* est une bactérie micro aéroophile, il lui suffit une petite quantité d'oxygène pour croître, elle utilise donc l'O₂ dissout dans le lait en favorisant ainsi, la croissance des *Lb.bulgaricus* qui sont anaérobie stricte.

- [T₀-T₁] : désigne la phase d'accélération de la croissance, pendant laquelle le métabolisme cellulaire reprend et la croissance débute.

La quantité des UFC augmente et devient respectivement :

Pour les *Sc. thermophilus* : 55, 48, 36, 28, 18 pour les préparations 0%, 25%, 50%, 75% et 100%.

Pour les *Lb. bulgaricus* : 42, 35, 23, 15 et 5 pour les préparation 0%, 25%, 50%, 75% et 100%.

- [T₁-T₃] : elle désigne la phase de développement exponentiel, au cours de laquelle les bactéries se multiplient avec un taux de croissance constant et maximal. Ce taux de croissance est fonction de la souche considérée et des conditions dans lesquelles elles sont cultivées.

La quantité des UFC augmente et devient respectivement :

Pour les *Sc. thermophilus* : 226, 163, 86, 58 et 21 pour les préparations 0%, 25%, 50%, 75% et 100%.

Pour les *Lb. bulgaricus* : 213, 150, 73,45 et 8 pour les préparations 0%, 25%, 50%, 75% et 100%.

Le pourcentage d'augmentation de chaque espèce est respectivement de :

Pour les *Sc. thermophilus* : 75%, 70%, 58%, 51%, et 14% pour les préparations 0%, 25%, 50%, 75% et 100%.

Pour les *Lb. bulgaricus* : 80%, 76%, 68%, 66%, 37% pour les préparations 0%, 25%, 50%, 75% et 100%.

- [T₃-T₄] : désigne la phase de ralentissement, qui est due soit à l'épuisement d'un ou plusieurs substrats tels que le lactose ou l'O₂ ou l'accumulation de composé inhibiteurs comme l'acide lactique qui constitue un facteur défavorable pour la croissance des bactéries lactiques.

La quantité des UFC augmente légèrement et devient :

Pour les *Sc. thermophilus* : 228, 173, 96, 75 et 23 pour les préparations 0%, 25%, 50%, 75% et 100%.

Pour les *Lb. bulgaricus* : 215, 160, 83, 61 et 10 pour les préparations 0%, 25%, 50%, 75% et 100%.

Le pourcentage d'augmentation de chaque espèce est respectivement de :

Pour les *Sc. thermophilus* : 0.8%, 5%, 10%, 22%, et 8% pour les préparations 0%, 25%, 50%, 75% et 100%.

Pour les *Lb. bulgaricus* : 0.9%, 6%, 12%, 26%, 20% pour les préparations 0%, 25%, 50%, 75% et 100%.

- T₄ : désigne la phase stationnaire, qui correspond à un arrêt de la croissance.
- [T₄-T₅] : désigne la phase de déclin, qui correspond à la mort des cellules, et éventuellement à leur lyse.

- Selon ces résultats en remarque que la croissance des bactéries lactiques diminue lorsque en augmente la teneur en lait de soja, cela est expliqué par :

Le lait de soja ne comporte pas de lactose, il ne contient qu'une petite quantité de glucides fermentescibles par les bactéries lactiques (saccharose, raffinose, stachyose) (DACOSTA, 1990).

Selon GODON, (1996) les *Lb. bulgaricus* utilise très mal le saccharose et pas du tout le raffinose et le stachyose.

II.2.l'évolution des constantes physico-chimiques des yaourts de soja.

➤ évolution d'acidité dornique :

Tableau 14 : résultats d'évolution de l'acidité dornique.

	T ₀ 10mn	T ₁ 1h30	T ₂ 3h	T ₃ 4h30	T ₄ 6h	T ₅ 24h
0% de soja	36±1,41	59±0,00	64±2,83	68±1,41	78±0,00	80±4,24
25% de soja	34±1.41	53±4,24	61±2,83	65±0,00	71±1,41	75±1,41
50% de soja	31±0,00	49±1,41	53±1,41	58±4,24	64±0,00	68±1,41
75% de soja	27±0,00	31±1,41	38±0,00	42±2,83	51±1,41	54±1,41
100% de soja	23±2,83	26±0,00	28±1,41	31±1,41	33±0,00	35±5,66

La courbe suivante permet d'apprécier l'évolution de l'acidité dornique des cinq formulations considérées :

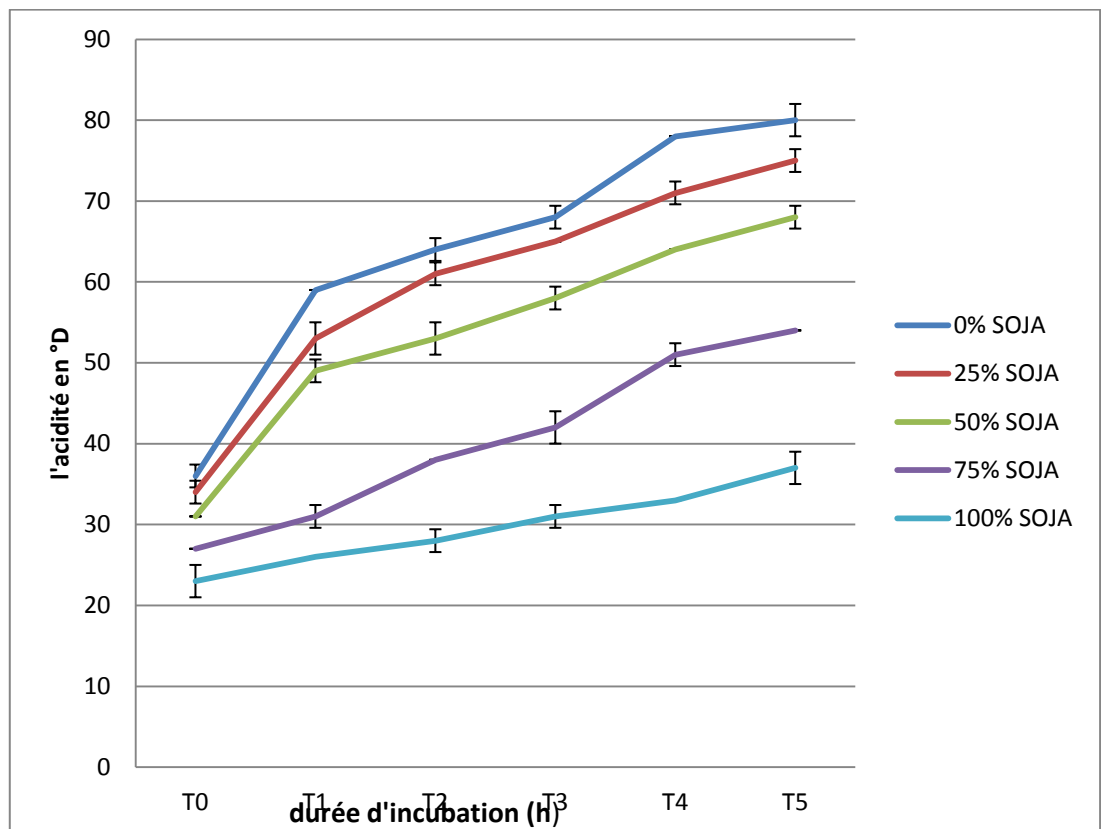
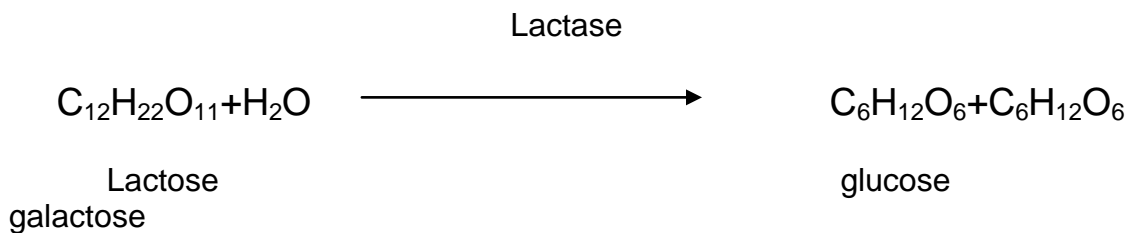


Figure 22 : évolution de l'acidité du yaourt pendant sa maturation.

- l'évolution de l'acidité dans le yaourt suit presque la même allure à la fois pour le lait en poudre et le lait de soja aux différentes concentrations.
- D'après la présentation graphique, on constate qu'il y a une augmentation de l'acidité qui varie respectivement pour les préparations 0%, 25%, 50%, 75%, 100% de (36-80), (34-75), (31-68), (27-54), (23-35).
- Dans le lait et les produits laitiers, l'acide lactique provient de la dégradation du lactose par les bactéries. La concentration en acide lactique dans un lait s'exprime en degré Dornique (°D). Un lait frais contient de 15 à 18 °D, il caille à 60–70 °D.

Le lait frais se dégrade sous l'action de multiples bactéries, certaines pathogènes, d'autres bénéfiques. Le lactose, principal sucre du lait est un substrat de fermentation pour les bactéries lactiques, qui est utilisé dans la fabrication du yaourt. En présence de **lactase (β galactosidase)**, enzyme sécrétée par les bactéries lactiques, le lactose est **hydrolysé** en glucose et galactose :



Puis, le glucose est transformé en acide pyruvique, par l'ensemble des réactions de la glycolyse dans la cellule, alors que le galactose est excrété hors de la cellule.

Enfin l'acide pyruvique est transformé en acide lactique.

- On observe une augmentation d'acidité, Cette variation est très hautement significatif selon la concentration du lait de soja additionné et le test de KEWMAN –KEULS indique la présence de plusieurs groupes homogènes.

➤ **Résultats de l'évolution du pH :**

Tableau 15 : résultats du pH

	T ₀ 10mn	T ₁ 1h30	T ₂ 3h	T ₃ 4h30	T ₄ 6h	T ₅ 24h
0% de soja	6.4±0,28	5.61±0,01	5.18±0,03	4.92±0,03	4.44±0,04	4.4±0,00
25% de soja	6.51±0,01	5.72±0,03	5.29±0,00	5.03±0,04	4.55±0,07	4.51±0,00
50% de soja	6.58±0,03	5.79±0,00	5.36±0,01	5.1±0,00	4.62±0,03	4.53±0,01
75% de soja	6.61±0,00	5.82±0,01	5.39±0,01	5.13±0,04	4.65±0,00	4.61±0,01
100% de soja	6.65±0,03	5.86±0,00	5.43±0,00	5.17±0,03	5.69±0,01	4.65±0,07

➤ A partir de ces résultats, nous pouvons tracer le graphique suivant :

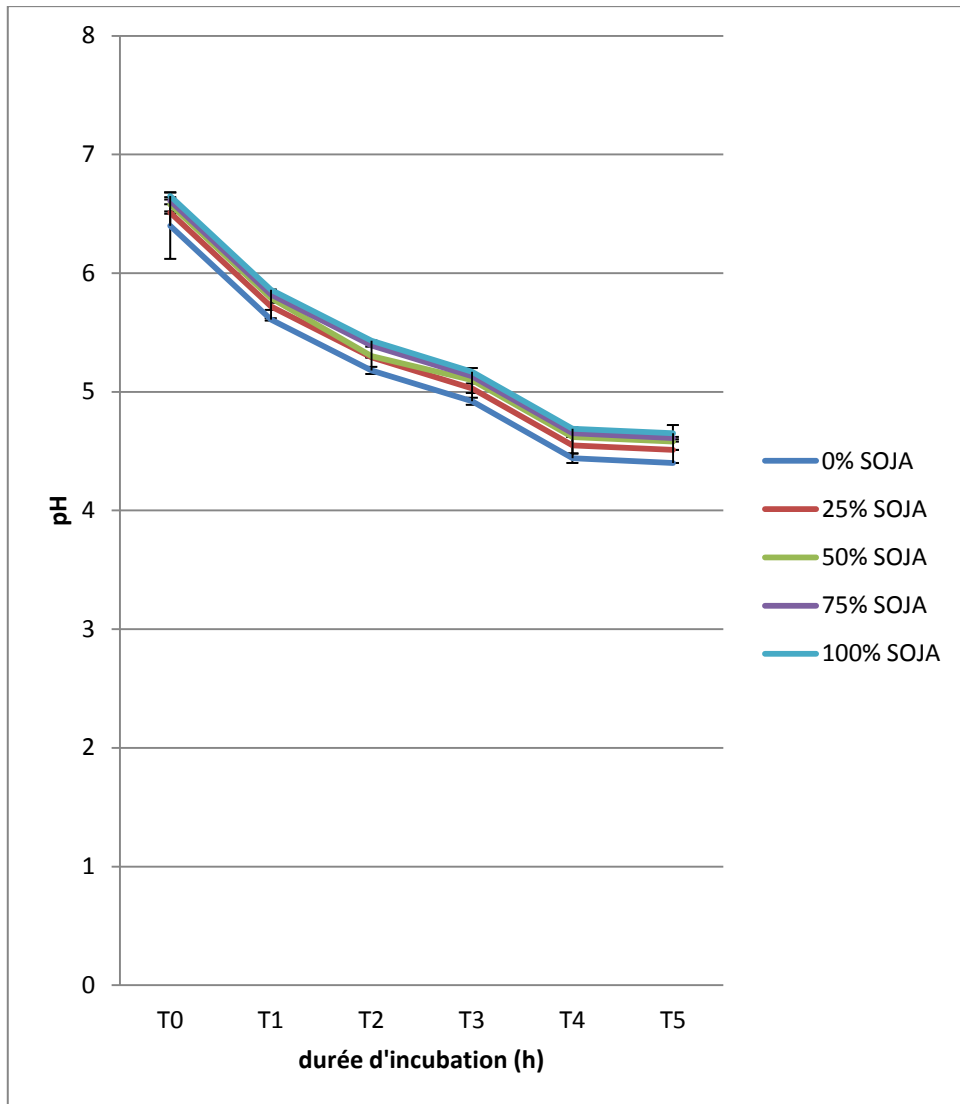


Figure 23 : évolution du pH du yaourt pendant sa maturation.

- Le pH est l'échelle de mesure qui différencie le degré d'acidité, il indique la concentration en ions hydrogène dans un liquide.
- selon la courbe on constate que le pH diminue respectivement dans les préparations 0%, 25%, 50%, 75%, 100% de (6,4-4,4), (6,51-4,51), (6,58-4,53), (6,61-4,61), (6,65-4,65) cette diminution confirme l'augmentation de l'acidité et conforme à la norme d'évolution du pH pendant la fermentation (6,4-4,4). (AFNOR, 1986).
- On observe une augmentation du pH de yaourt, Cette variation est très hautement significatif selon la concentration du lait de soja additionné et le test de KEWMAN –KEULS indique la présence de plusieurs groupes homogènes.

Conclusion :

L'objectif de mon travail est d'essayer de formuler des préparations de yaourt à base de lait de soja aux concentrations différentes, cette substitution a pour but d'apprécier l'influence de soja sur la croissance des bactéries lactiques.

D'après les résultats obtenus nous constatons une évolution plus ou moins de bactéries lactiques, ces variations augmentent l'acidité et diminuent le pH, ces résultats montrent aussi que lorsqu'on augmente la teneur en lait de soja le taux de croissance des bactéries lactiques diminue ; ce qui confirme aussi d'autre recherche précédente.

Nous pouvons déduire que la meilleure formulation est de 75% lait de soja et 25% de lait en poudre car elle offre :

- L'utilisation de peu de lait en poudre.
- Une quantité des bactéries lactique suffisante pour avoir un yaourt de bonne texture surtout dans la phase de ralentissement, cette formulation présente le meilleur pourcentage d'évolution de bactéries qui est de 22% pour les *Sc. thermophilus* et de 26% pour les *Lb. Bulgaricus*.

Pour conclure on peut dire que le yaourt de soja présente une grande importance nutritive et peut substituer parfaitement le yaourt du lait de vache pour les végétariens et les personnes qui présentent des intolérances au lactose, ainsi il peut atténuer la crise du lait en poudre que l'Algérie à reconnus ces derniers temps.

Concernant ce sujet plusieurs autres thèmes peuvent se poser tels que la qualité organoleptique du yaourt à base de soja, la stabilité du yaourt pendant la conservation et enfin les conditions de stockage de ce yaourt.

Références bibliographiques :

ANONYME. (1995) :

Le soja dans les tropiques : amélioration et production par FAO, page 274.

AMARGLIO S. (1986) :

Contrôle de la qualité des produits laitiers. « Analyses physico-chimique ». Troisième édition. AFNOR, 3^{ème} édition. PARIS, page 271.

BELLAL M.M., MEKIMENE L. (2000) :

Les protéines de soja source potentielles pour l'alimentation humaine, communiqué édité par ASA Europe, page 16-47.

BERK ZAKI. (1993) :

Technologie de production des farines alimentaires et de produits protéiques issus du soja. ED.TEC & DOC, Lavoisier, Paris, page 192.

BOUELDIEU J. (1991) :

Les grains oléagineux et protéagineux .Ed. Lavoisier. Paris, page115-120.

BOURGEOIS C.M. et LEVEAU J-Y. (1991) :

Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaire.3- Le contrôle microbiologique. Lavoisier, PARIS, page 454

CARLSON J.B. (1973) :

Morphology.In B.E.Caldwell, Ed Soybeans: improvement, production and use, page 26.

Agronomy Mono.16.Madison, WI, ETATS-UNIS, American society of agronomy.

CHEFTAL J.C et CHEFTAL H. (1980) :

The effect of soybean moisture during storage.ed.world soybean, united states, page35.

CHEFTEL J .C, CUQJ.L., LORIENT D. (1985) : Les protéines alimentaires : biochimie, propriétés fonctionnelles et leurs valeurs. ED. TEC & DOC, Lavoisier, page 309.

F-M.LUQUET, G. CORRIEU, COORD. (2005) :

Bactéries lactiques et probiotiques. TEC & DOC, Lavoisier, paris, volume4, page5.

F-M.LUQUET, G. CORRIEU, COORD. (2008) :

Bactéries lactiques de la génétique aux ferments. TEC & DOC, Lavoisier, paris, volume 8, page22.

GODON B. (1994) :

Biotransformation de soja. TEC & DOC, Lavoisier, paris, page 7.

GODON B. (1996) :

Protéine végétale. ED. TEC & DOC. Lavoisier, paris, page 26.

HINSON K., HART WIGE. E. (1977):

La culture du soja sous les tropiques. ED. FAO, ROME, page 90.

JOSEPH. PIERRE GUIARD. (2003) :

Microbiologie alimentaire. ED.DUNOD, PARIS, page 160.

KHALID B. (1999) :

Le soja graine entière. Ed. ASA, page 60.

KANEMASU, E.T. & TEARE, I.D.(1972):

Stomata diffusion. Resistance and water potential of soy bean and sorghum

leaves. ED .New. Phytol. Page 82.

LIU K. (1999):

SOY BEANS: chemistry, technology and utilization. ED. Aspen publication, INC Gaithersburg, Maryland, page 523.

MICHEL ROUSSEL. (2006) :

Les miracles de soja .ED. Gauthier –villans, Paris, page17.

MATAGRINA A. (1939) :

Le soja et les industries de soja. ED. Gauthier –villans, Paris., page 390.

MATEOS G.G., LATRRE M.A., LAZAROR. (2003):

Traitement de la graine de soja .ED.ASA et USB, page 52.

OBATON. (1971) :

Quelques aspects techniques des possibilités de culture de soja dans le midi (France). Séminaire du 13 au 17 septembre. GEMBLoux.13/ WP.

OKADA, G. (1980) :

Methods enzymol.ED. research foundation. Univ. page 160

GEORGY A.PETSKO. (2008) :

Structure et fonction des protéines. ED. boeck université, Bruxelles. page161.

STAUFFER.C.E. (2004) :

Les protéines de soja en boulangerie. ED. ASA : Europe et Maghreb, page 32

SOJAXA. (2001) :

Codex alimentaire

SERGE DAVID. (1995) :

Chimie moléculaire des sucres.CNRS.ED.Paris.page300.

D.ROBERT. (2004) :

Éléments de biologie cellulaire,3^{eme} edition.Paris. Page 72.

F.RUSSO. (1998) :

Inflammation. ED.john libbey, Montrouge, France. page 310.

JUVENAL, TURATIZINZ. (1999) :

Fabrication du lait de soja et du tofu.ED.liaison. page42.

Annexe1 :

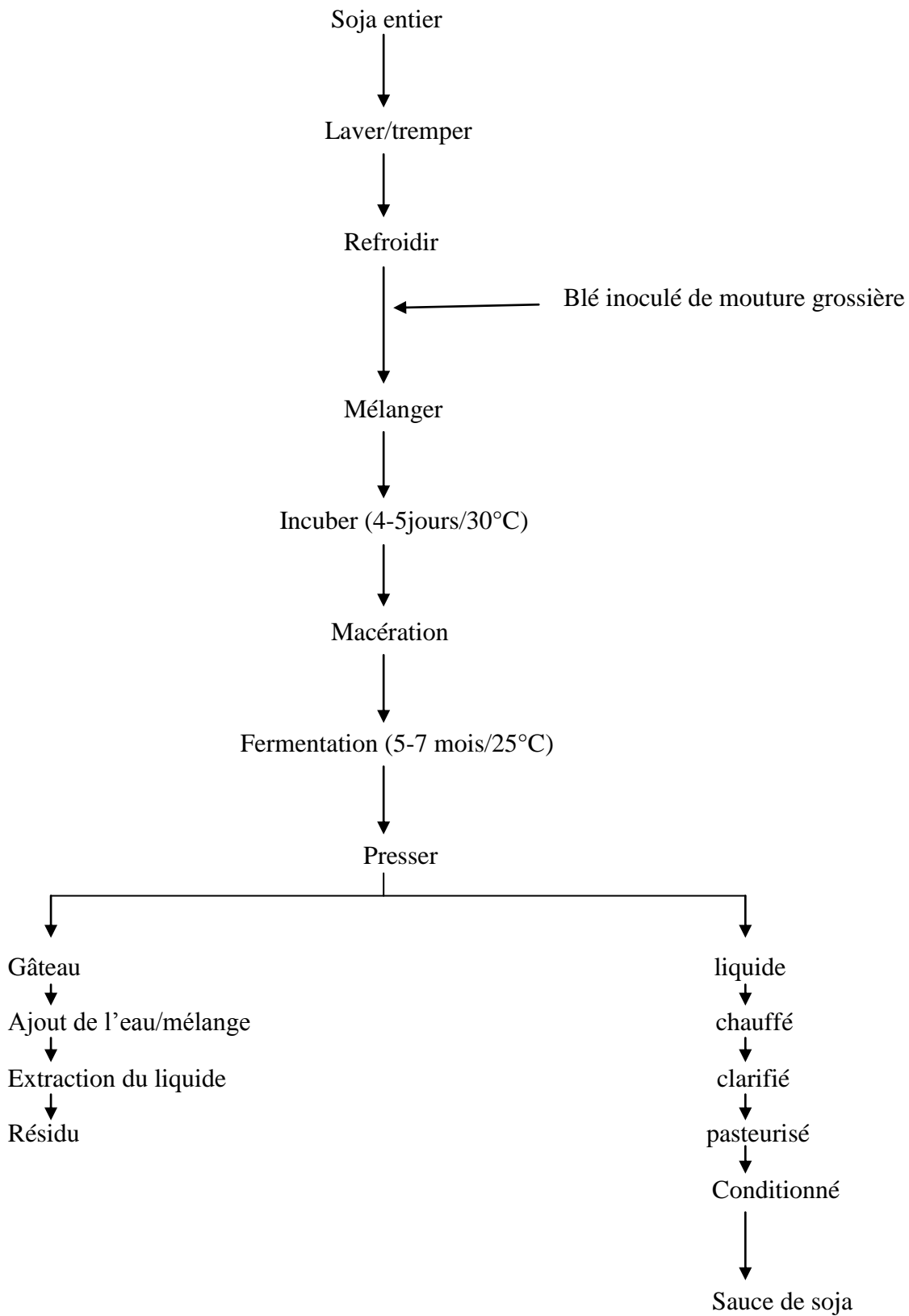


Figure : fabrication de sauce de soja (Anonyme, 1995).

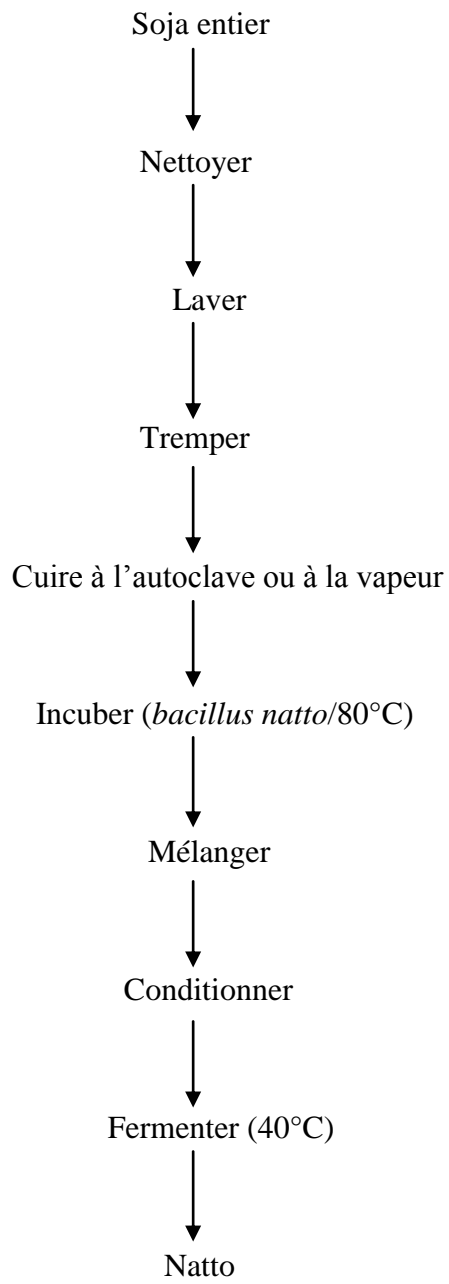


Figure : fabrication du natto (Anonyme, 1995)

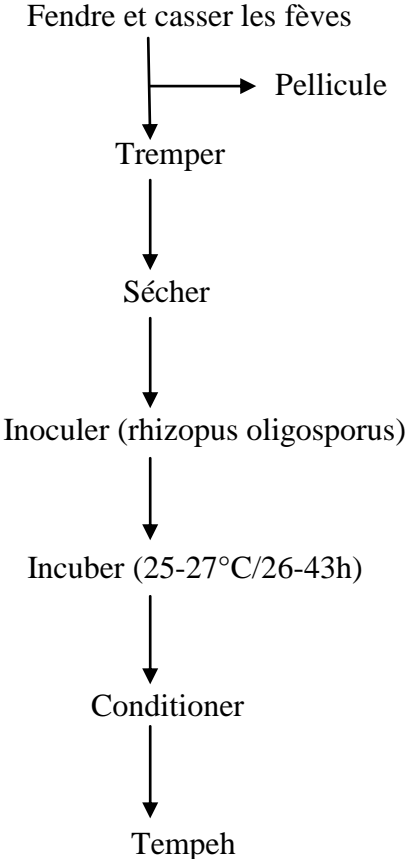


Figure: fabrication du tempeh. (Anonyme, 1995)

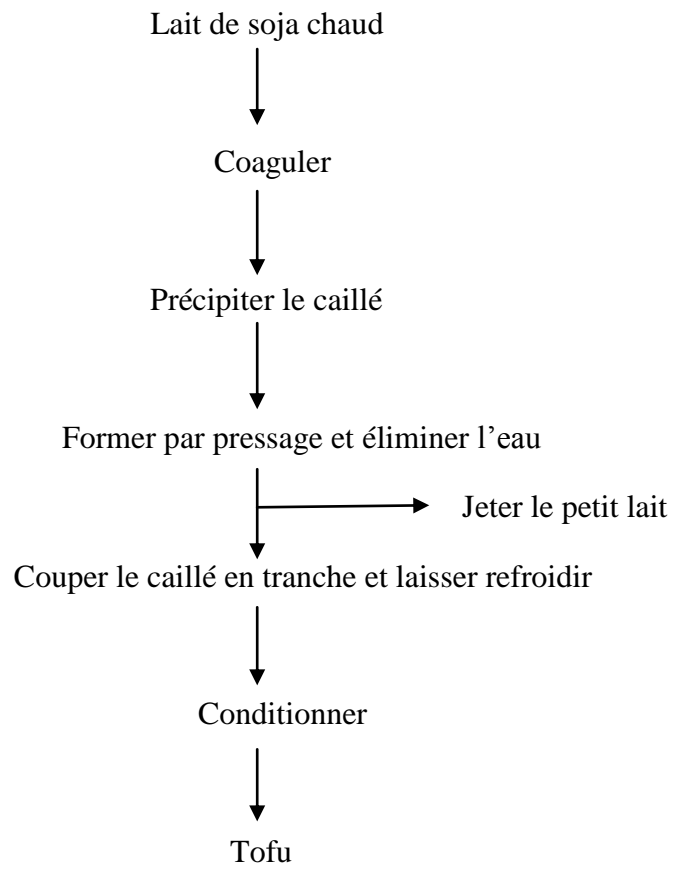


Figure : fabrication du tofu (Anonyme, 1995).

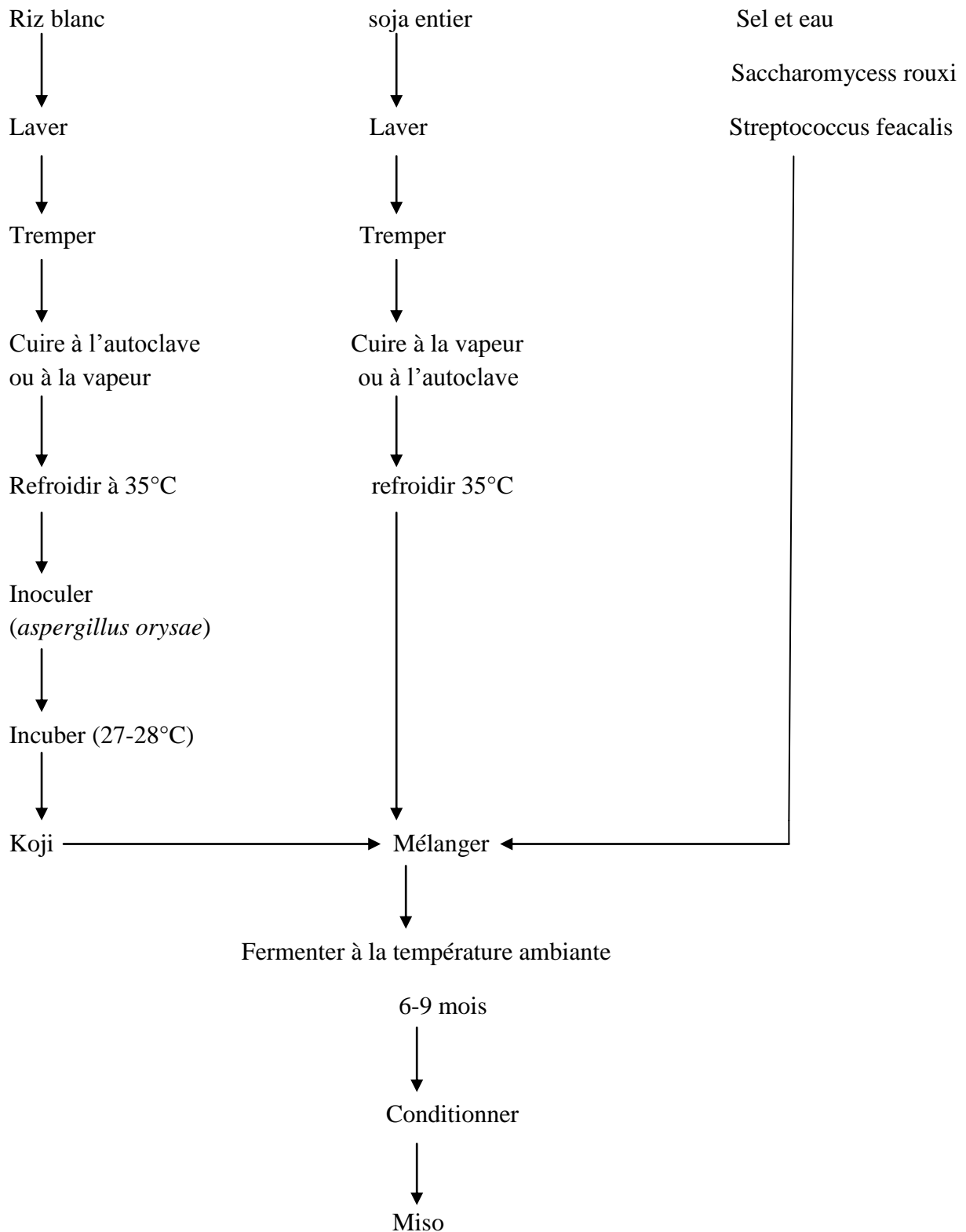


Figure : fabrication du miso (Anonymes, 1995)

Les différentes machines utilisées dans la production du lait de soja :



Silo de trempage



passoire d'égoutage



Broyeur



four de cuisson du broyat



Décanteur centrifuge

Annexe 2 :

Matériel utilisé durant l'expérimentation :

1. Analyse physico-chimique :

➤ Réactifs, solution et indicateur :

- a. Hydroxyde de sodium à 0.11N.
- b. Phénolphtaléine.
- c. Acides sulfurique concentré 98%.
- d. L'eau distillée
- e. L'alcool iso amylique

➤ Appareillage et verrerie :

- a. agitateur
- b. Etuve
- c. Dessiccateur
- d. Butyromètre
- e. Balance à précision
- f. pH mètre
- g. centrifugeuse
- h. agitateur
- i. pipette gradué de 10 ml

2. analyse microbiologique :

➤ réactifs, colorant et produit chimique :

- a. réactif de KOVACS :

paraméthylamine benzaldéhyde	3-5g
Alcool isoamylique	751g
- b. solution de sulfite de sodium
- c. solution de tellurite de potassium :

trioxotellurate	1g
eau	100 ml
- d. fushine pour la coloration gram.
- e. Violet de gentiane pour la coloration gram
- f. Lugol
- g. huile de vaseline
- h. TSE :

Tryptone	1g
Chlorure de sodium	8.5g
Eau distillé	1000 ml
- i. Eau peptonée lamponnée :

Peptone	20g
Chlorure de sodium	5g
Phosphate disodrique	9g

Phosphate mono potassique 1.5g

➤ Milieux de culture :

a. Gélose PCA plate count agar :

Tryptone 5g
Extrait de levure déshydraté 2,5g
Glucose 1g
Agar-agar 12-18g
Eau 1000 ml

b. Milieu de Rothe :

Peptone 20g
Glucose 5g
Chlorure de sodium 5g
Phosphate dipotassique 2.7g
Acide de sodium 0.2g
Eau distillé 1000 ml

c. Milieu litsky :

Peptone 20g
Glucose 5g
Chlorure de sodium 5g
Phosphate dipotassique 2.7g
Phosphate mono potassique 2.7g
Acide e sodium 0.3g
Ethyle violet 0.0005g
Eau destillé 1000 ml

d. Milieu viande foie glucosé VFG :

Base viande foie 30g
Glucose 2g
Amidon 2g
Agar 11g
Eau distillé 1000 ml

e. Milieu OGA :

Extrait de levure 5g
Glucose 20g
Agar 16g
Eau distille 1000 ml

f. Milieu Giolitti cantonii GC :

Peptone de caséine 10g
Extrait de levure 5g
Extrait de viande 5g
Chlorure de lithium 5g
Mannitol 20g
Chlorure de sodium 5g
Glycine 1.2g

Pyruvate de sodium	3g
g. Gélose CHAPMAN :	
Peptone	10g
Extrait de viande	1g
Chlorure de sodium	75g
Rouge de phénol	25g
Mannitol	10g
Gélose	15g
h. Milieu HEKTOEN:	
Peptone	12g
Extrait de levure	3g
Lactose	12g
Saccharose	12g
Salicine	2g
Citrate de fer ammoniacal	1.5g
Desoxycholate	9g
Fushine	40g
NaCl	5g
Agar	13.5g
Eau	1000 ml
i. Bouillon lactosé au vert brillant VBL :	
Peptone	10g
Lactose	10g
Vert brillant	0.013g
Eau	1000 ml

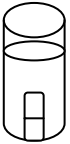
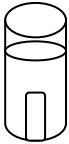

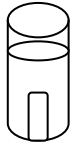





- Appareillage et verrerie :
- Bec-benzène
 - Balance analytique
 - Bain-marie
 - Réfrigérateur
 - Etuve réglée à 37 et 44°C
 - Boîte de pétrie
 - Pipette pasteur
 - Portoir
 - Anse de platine
 - Lames
 - Microscope photonique.

Annexe 3

Technique du NPP

- Notation de chaque dilution du chiffre égale au nombre de tubes positifs.
- Groupement de trois chiffres obtenus en commençant par la plus faible dilution 10^{-1}
- Le nombre obtenu est conduit à la table de Mac Grady afin de déterminer la valeur qui lui correspond.

Exemple

dilution	10^{-1}			10^{-2}			10^{-3}		
Dénombrement des coliformes fécaux									
Groupement des résultats	+	-	+	-	-	+	-	-	-
Nombre correspondant	2			1			0		

$$\text{Nombre de bactéries} = \frac{n=1.5 \text{ (tire de la table de mac grady)}}{\text{valeur de la plus faible dilution } (10^{-1})}$$

Table de Mac Grady

Nombre caracteristique	Nombre de micro-organismes
000	0,0
001	0,3
010	0,3
011	0,6
020	0,6
100	0,4
101	0,7
102	1,1
110	0,7
111	1,1
120	1,1
121	1,5
130	1,6
200	0,9
201	1,4
202	2,0
210	1,5
211	2,0
212	3,0
220	2,0
221	3,0
222	3,5
223	4,0
230	3,0
231	3,5
232	4,0
300	2,5
301	4,0
302	6,5
310	4,5
311	7,5
312	11,5
313	16,5
320	9,5
321	15,0
322	20,0
323	30,0
330	25,0
331	45,0
332	110,0
333	140,0

Annexe 4 :

Résultats statistique de l'évolution du pH :

	S.C.E	DDL	Carres moyens	Test F	proba	E.T	C.V
Var.totale	31,35	59	0,53				
Var.facteur1	1,4	4	0,35	104,21	0,0000		
Var.facteur2	25,36	5	5,07	1509,66	0,0000		
Var.inter F1.2	4,67	20	0,23	69,48	0,0000		
Var.residuelle1	0,10	30	0,00			0,06	1,1%

Résultats statistique de l'évolution d'acidité :

	S.C.E	DDL	Carres moyens	Test F	proba	E.T	C.V
Var.totale	17921,93	59	303,61				
Var.facteur1	9940,27	4	2485,05	525,01	0,0000		
Var.facteur2	6830,93	5	1366,19	288,63	0,0000		
Var.inter F1.2	999,73	20	49,99	10,56	0,0000		
Var.residuelle1	142,00	30	4,73			2,18	4,4%

Résultats d'évolution de *stréptococcus thermophilus* (log UFC/ml) :

	0% SOJA	25% SOJA	50% SOJA	75% SOJA	100% SOJA
T0	9	8,9	8,84	8,6	8,3
T1	9,62	9,54	9,36	9,17	8,69
T2	10,08	9,94	9,74	9,39	8,84
T3	10,32	10,17	9,86	9,65	8,9
T4	10,33	10,2	9,91	9,78	9
T5	1	1	1	1	1

Résultats d'évolution de *lactobacillus bulgaricus* (log UFC/ml) :

	0% SOJA	25% SOJA	50% SOJA	75% SOJA	100% SOJA
T0	9,36	9,32	9,3	9,23	9,17
T1	9,74	9,68	9,2	9,44	9,25
T2	10,13	10	9,74	9,44	9,3
T3	10,35	10,21	9,93	9,76	9,32
T4	10,35	10,23	9,98	9,87	9,36
T5	1	1	1	1	1