

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Saâd DAHLAB -Blida-

Faculté des sciences Agro-Vétérinaires

Département de Sciences Agronomiques



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme d'un

Master Académique

Domaine: Science de la Nature et de la Vie « SNV»

Filière : Sciences Alimentaires

Option : Sciences Alimentaires

**Suivi de la stabilité physico-chimique et microbiologique d'un yaourt à boire
fruité « Trèfle et Hodna » au cours de son stockage à différentes
températures**

Présenté par :

M^{elle} AMROUCH Saida

Devant le jury composé de :

M^r HADJ SADOK T.	Maitre de conférences B	USDB	Président
M^{me} BOUTEKRABT L.	Maitre de conférences A	USDB	Promotrice
M^{me} KACI Z.	Maitre assistante A	USDB	Examinatrice
M^r BENDALI A.	Maitre assistant A	USDB	Examineur

Année universitaire: 2011/2012

Résumé :

Deux marques d'un yaourt à boire fruité fraise " Trèfle et Hodna" ont fait l'objet d'analyses physico-chimiques et microbiologiques, afin d'évaluer leur stabilité en cas d'une rupture au niveau de la chaîne du froid. Trois températures de stockage à savoir 6°C, 20°C et 37°C ont été considérées.

Pour les deux marques, les résultats des analyses microbiologiques indiquent une absence totale des germes pathogènes, germes de contamination ainsi que les germes responsables d'altérations. Le nombre des bactéries lactiques *S.thermophilus* et *L.bulgaricus* est resté conforme aux normes pour les produits réfrigérés et baisse à 20°C et à 37°C.

De même, les résultats des analyses physicochimiques montrent une augmentation progressive de l'acidité qui devient plus accentuée à températures 20°C et 37°C , et par conséquent une diminution du pH. En ce qui concerne l'extrait sec total et le taux de la matière grasse, nous avons remarqué une légère variation mais non significative pour les deux produits. Une décoloration est également remarquée pour le yaourt " Trèfle" lors du stockage à 20°C et à 37°C.

Nous avons ainsi conclu, que la qualité des deux produits est stable à la température normale de stockage (6°C), cependant à partir de 20°C le yaourt devient fragile et plus particulièrement le produit "Trèfle".

Mots clés : yaourt, chaîne du froid, stockage, stabilité, physico-chimique, microbiologique

Summary:

Two brands of fruity strawberry yoghurt drink "Hodna and Trèfle" were analyzed physico-chemically and microbiologically, to assess their stability in case of a break in the chain of cold. Three storage temperatures 6°C, 20°C and 37°C were considered.

For both brands, the results of the microbiological analyses indicate a total absence of pathogens germs, germs of contamination and germs responsible of alterations. The number of lactic acid bacteria *L.bulgaricus* and *S.thermophilus* remains in compliance with the standards for refrigerated products and decreases at 20°C and at 37°C.

Similarly, the results of physicochemical analyses show a progressive increase in the acidity that becomes more accentuated during the rupture of the cold chain, and therefore a decrease in pH. Concerning the total solids and the rate of fat, we noticed a slight variation which is not significant for both products. Also a discoloration is noticed for the "Trèfle" yoghurt during storage at 20°C and at 37°C.

We thus concluded that quality of both products is stable at normal storage temperature (6°C), but from 20°C yogurt becomes brittle and more particularly for the "Trèfle" brand.

Keywords: yogurt, cold chain, storage, stability, physico-chemical, microbiological

ملخص:

تطرقتنا في دراستنا الى منتوجين من الزبادي الممزوج بالفواكه " ترافل " و "حضنة" حيث تعرضا لتحاليل فيزيوكيميائية و ميكروبيولوجية ، وذلك لتقييم مدى استقرارهما في حالة انقطاع في سلسلة التبريد. و لهذا فقد تم تخزينهما في درجات الحرارة التالية: 6°C، 20°C و 37°C.

أشارت النتائج الميكروبيولوجية للمنتوجين غياب تام للجراثيم المرضية و الجرثومات الملوثة و الجرثومات المسؤولة عن إفساد الزبادي ، بينما يبقى عدد بكتريات الحليب *S.thermophilus* و *L. bulgaricus* موافق للمعايير بالنسبة للمواد المبردة و تناقص بالنسبة للمواد المخزنة بدرجة 20°C و 37°C.

ايضا أظهرت التحاليل الفيزيوكيميائية تزايد في الحموضة و خاصة بدرجاتي 20°C و 37°C. و بالتالي تناقص في pH. فيما يخص مقدار المادة الجافة و قيمة المادة الدهنية فقد لاحظنا إختلال طفيف غير مؤثر لكلا المنتوجين. كما لاحظنا اختفاء اللون بالنسبة لزبادي " ترافل " و ذلك عند تخزينه بدرجاتي 20°C و 37°C.

و بذلك استنتجنا ان نوعية المنتوجين مستقرة في درجة الحرارة العادية للتخزين (6°C) في حين يصبح الزبادي هشاً ابتداء من درجة حرارة 20°C و على الأخص المنتوج "ترافل".

كلمات البحث: الزبادي، سلسلة التبريد، التخزين، الاستقرار، الفيزيوكيميائية ، الميكروبيولوجية

SOMMAIRE

Résumé	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des annexes	
Liste des abréviations	
Introduction	01
<u>Chapitre I : Lait fermenté</u>	
I.1. Lait fermenté.....	04
I.1.1. Définition des lait fermenté.....	04
I.1.2. Différents types des lait fermenté.....	04
I.2. Le yaourt.....	07
I.2.1. Historique.....	07
I.2.2. Définition.....	08
I.2.3. Composition du yaourt	08
I.2.4. Classification des yaourts	10
I.2.5. Intérêts nutritionnels et thérapeutiques du yaourt	11
I.3. Bactéries lactiques	14
I.3.1. Définition	14
I.3.2. Origine	14
I.3.3. Classification	15
I.3.4. Intérêts et fonctions des bactéries lactiques	16
I.3.4.1. Production d'acide lactique	16
I.3.4.2. Activité aromatisante	16
I.3.4.3. Activité protéolytique	17
I.3.4.4. Activité texturante	17
I.3.5. Les bactéries lactiques spécifiques au yaourt	18
I.3.5.1. Caractères généraux de <i>Streptococcus thermophilus</i> et <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	18
I.3.5.2. La synergie des ferments du yaourt	20
I.4. Technologie de fabrication du yaourt	22
I.4.1. Principe de fabrication	22
I.4.2. Matière première	22
I.4.3. Procès de fabrication du yaourt	24
I.4.3.1. Standardisation de la composition du lait	24
I.4.3.2. Homogénéisation	24
I.4.3.3. Traitement thermique	24

I.4.3.4. La fermentation	25
I.4.3. 5. Brassage	26
I.4.3.6. Refroidissement	26
I.4.3.7. Conditionnement et entreposage	26
I.4.3.8. Stockage	26

Chapitre II : Qualité et conservation du yaourt

II.1. Qualité du yaourt	29
II.1.1. Définition de la qualité	29
II.1.2. L'hygiène au sein de la laiterie	29
II.1.3. Le contrôle qualité en production	30
II.1.3.1. Objectifs	30
II.1.3.2. Les contrôles des matières premières	30
II.1.3.3. Les contrôles au cours de fabrication	31
II.2. Conservation du yaourt	33
II.2.1. Objectif de la conservation par froid	33
II.2.2. Notion et rôle de la chaîne du froid	33
II.2.3. Principe de la chaîne du froid	34
II.2.4. Stabilité microbiologique et physicochimique du yaourt lors de conservation	34
II.2.5. La viabilité des bactéries lactiques au cours de la chaîne du froid	35

Chapitre III : Matériel et Méthodes

III.1. Matériel	37
III.1.1. Matériel utilisé	37
III.1.2 Mode de prélèvement	37
III.1.2.1. La matière première	37
III.1.2.2. Le produit fini	38
III.2. Méthodes d'analyses	39
III.2.1. Analyses physicochimiques	39
III.2.1.1. L'eau de procès	42
III.2.1.2. La poudre de lait	45
III.2.1.3. Le sucre	46
III.2.1.4. la préparation de fruits	46
III.2.1.5. Poudre de lactosérum	47
III.2.1.6. Produit fini	47
III.2.2. Analyses microbiologiques	49
III.2.2.1. L'eau de procès	50
III.2.2.2. La poudre de lait, la poudre du lactosérum, préparation de fruits, le sucre et produit fini.....	54

Chapitre IV : Résultats et Discussions

IV.1. Analyses physicochimiques	63
IV.1.1. Matière première	63
- Eau de process	63
- Poudre de lait	64
-Poudre de lactosérum	65
-Sucre	66
-Préparation de fruits	66
IV.1.2. Produit fini	67
IV.2. Analyses microbiologiques	68
IV.2.1. Matière première	68
IV.2.2. Produit fini	73
IV.3. Suivi des deux produits au cours du stockage à différentes températures.....	74
IV.3.1. Résultats d'analyses physicochimiques.....	74
IV.3.2. Résultats d'analyses microbiologiques.....	81
IV.3.3.Suivi de l'évolution des ferments lactiques : <i>Lactobacillus bulgaricus</i> et <i>Streptococcus thermophilus</i> des produits (A, B) au cours du stockage à différentes températures	84
Conclusion	91

Références bibliographiques**Annexes**

Remerciement

En premier lieu je remercie Allah le tout puissant pour toute la volonté et le courage qu'il m'a donné pour l'achèvement de ce travail.

*Je tiens à exprimer ma très grande gratitude et mes profonds respects à ma généreuse promotrice **M^{me} BOUTEKRABT Lynda**. Maître de conférences A à l'université de Blida, pour sa gentillesse et simplicité, pour ses orientations et conseils. Qu'elle trouve ici l'expression de mes sincères remerciements.*

Je remercie vivement les membres de jury qui m'ont honoré en acceptant d'examiner ce travail:

***M^r HADJ SADOK**, maître de conférences B à l'université de Blida, pour l'honneur qu'il nous fait d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.*

*Mes remerciements vont également à **M^{me} KACI** et **M^r BENDALI**, qui ont accepté de juger ce travail.*

*J'adresse mes sincères remerciements à **M^r BENAMARA chrif**, responsable du laboratoire d'analyses physicochimiques et microbiologiques de la confiserie MOKA (Ouled yaich), pour ses précieuses aides, sa vivacité, sa considération.*

*J'exprime mes profonds respects et chaleureux remerciements à tout le personnel de l'unité trèfle et plus particulièrement à **M^{lle} Karima** pour sa rigueur dans les manipulations et pour la grande aide qu'elle m'a porté, pour sa grande générosité et sa gentillesse.*

Aucun travail n'est possible dans l'isolement. Les rencontres, les conseils et les encouragements constituent des aides précieuses souvent décisives. C'est pourquoi je tiens à remercier ici tous ceux qui ont contribué à ce travail parfois sans le savoir ou du moins sans mesurer la portée de leurs influences.

Dédicace

Je dedie ce travail :

A mes très chers parents , pour leurs sacrifices et patience ; leur encouragement et soutien, je vous remercie infiniment. Merci d'être là à mes cotés

A mes sœurs

A mes frères

A ma grande famille ;

A ma très chère amie « Leila » , aucune dédicace ne saurait exprimer mon grand amour, ma reconnaissance et ma profonde affection. Je te remercie pour tout ce que tu as fait pour moi

A mes chères amies « Asma et Zahra », pour notre amitié et tous les bons moments passés

A mes nièces : Kawthare et Ichrek

A mon neveu : Mohamed Anes

Table des illustrations

Liste des figures

Figure	Titre	Page
01	Microphotographie représentant <i>Streptococcus thermophilus</i> en chaînettes	18
02	Microphotographie représentant <i>Lactobacillus bulgaricus</i> en bâtonnets	19
03	Microphotographie réalisé à partir du yaourt mettant en évidence la présence des deux bactéries : <i>Lactobacillus bulgaricus</i> et <i>streptococcus thermophilus</i>	21
04	Schéma des interactions métaboliques de <i>S. thermophilus</i> et <i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> en culture mixte dans le lait	21
05	Diagramme général de fabrication des yaourts	27
06	Schéma représentant la méthode de mesure du degré Brix	47
07	La variation du pH des deux produits (A et B) au cours du stockage à différentes températures	74
08	La variation de l'acidité des deux produits (A et B) au cours du stockage à différentes températures	76
09	La variation de la MG des yaourts (A et B) au cours du stockage à différentes températures	78
10	La variation de l'EST des yaourts (A et B) au cours du stockage à différentes températures	80
11	Evolution des <i>Lactobacillus bulgaricus</i> (Lb.) et <i>Streptococcus thermophilus</i> (Str.) des produits (A, B) au cours du stockage à 6°C	85
12	Evolution des <i>Lactobacillus bulgaricus</i> (Lb.) et <i>Streptococcus thermophilus</i> (Str.) des produits (A, B) au cours du stockage à 20°C	86
13	Evolution des <i>Lactobacillus bulgaricus</i> (Lb.) et <i>Streptococcus thermophilus</i> (Str.) des produits (A, B) au cours du stockage à 37°C	87

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
I	Quelques exemples de laits fermentés	6
II	Energie, nutriments et composition minérale du yaourt	9
III	Les paramètres étudiés dans l'analyse physicochimique	41
IV	Les germes recherchés dans la matière première, les ingrédients et le produit fini	50
V	Résultats des analyses physicochimiques de l'eau de process	63
VI	Résultats des analyses physicochimiques de la poudre de lait	64
VII	Résultats des analyses physicochimiques de la poudre de lactosérum	65
VIII	Résultats des analyses physicochimiques de sucre	66
IX	Résultats des analyses physicochimiques de préparation de fruits	66
X	Résultats des analyses physicochimiques des deux produits (A, B) lors de réception	67
XI	Résultats des analyses microbiologiques de l'eau de process	68
XII	Résultats des analyses microbiologiques de la poudre de lait	69
XIII	Résultats des analyses microbiologiques de la poudre de lactosérum	71
XIV	Résultats des analyses microbiologiques de sucre	71
XV	Résultats des analyses microbiologiques de la préparation de fruits	72
XVI	Résultats des analyses microbiologiques des deux produits (A, B) lors de réception	73
XVII	Résultats des analyses microbiologiques des produits (A, B) au cours du stockage à 6°C	81
XVIII	Résultats des analyses microbiologiques des produits (A, B) au cours du stockage à 20°C	82
XIX	Résultats des analyses microbiologiques des produits (A, B) au cours du stockage à 37°C	82

Liste des annexes

Annexe	Titre
1	Diagramme de fabrication du yaourt à boire fruité (bouteille) marque « Trèfle »
2	l'appareillage, la verrerie, les solutions, les réactifs, les additifs et les milieux de culture
3	Technique de recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux dans l'eau de procès
4	Technique de recherche et dénombrement des <i>Streptocoques fécaux</i> en milieu liquide dans l'eau de procès
5	Technique de recherche et dénombrement des <i>coliformes totaux et fécaux</i> en milieu liquide dans l'eau de procès
6	Technique de recherche et dénombrement des <i>Clostridium Sulfitoréducteur</i> dans l'eau de procès
7	Technique de préparation des dilutions décimales
8	Technique de recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux (matière première, yaourt)
9	Technique de recherche et dénombrement des <i>coliformes totaux et fécaux</i> en milieu solide (matière première, yaourt)
10	Technique de recherche et dénombrement des Spores <i>Clostridium Sulfitoréducteurs</i> (matière première, yaourt)
11	Technique de recherche et dénombrement des <i>Staphylococcus aureus</i> (matière première, yaourt)
12	Technique de recherche et dénombrement des <i>Salmonelles</i> (matière première, yaourt)
13	Technique de recherche et dénombrement des levures et moisissures (matière première, yaourt)
14	Technique de recherche et dénombrement de <i>Lactobacillus bulgaricus</i> dans le yaourt
15	Technique de recherche et dénombrement de <i>Streptococcus thermophilus</i> dans le yaourt
16	Résultats des analyses physicochimiques des produits (A, B) au cours du stockage à différentes températures
17	Résultats de dénombrement des deux bactéries lactiques <i>Lactobacillus bulgaricus</i> et <i>Streptococcus thermophilus</i> des produits (A, B) lors du stockage à différentes températures
18	Photographies représentant la stabilité de la couleur des deux produits (Trèfle et Hodna) au cour du stockage à différentes températures
19	Présentation des Tables de NPP et de MAC-GRADY

Liste des abréviations

Abréviations	Signification
Abs	Absence
ASR	Anaérobies sulfito-réducteurs
BL	Bactérie lactique
°C	degré Celsius
D/C	Double concentration
DLC	Date limite de consommation
DLUO	Date limite d'utilisation optimale
EST	Extrait sec total
°F	Degré français
FAM	Flore aérobie mésophile
JORA	Journal Officiel de la République Algérienne
MG	Matière grasse
NPP	Nombre le plus probable
PDL	Poudre de lait
pH	Potentiel d'Hydrogène
S/C	Simple concentration
UFC	Unité formant colonie

Chapitre I :
Laits fermentés

Chapitre II :
Qualité et conservation du yaourt

Chapitre III :
Matériel et méthodes

Chapitre IV :
Résultats et discussions

Références

Bibliographiques

Annexes

Introduction

Le lait est un produit vivant, un aliment complet et exclusif pour l'homme à sa naissance : c'est une matière hors du commun. Riche en protéines, en calcium, en vitamines et oligo-éléments, le lait a une place dans notre alimentation ; plus que justifiée (Lortal et Boudier, 2011 ; Noblet, 2012).

Non seulement il se consomme à l'état nature, il peut également subir différentes biotransformations qui contribuent à élargir considérablement ses qualités sensorielles et nutritionnelles. L'un des dérivés de ces transformations est le yaourt, qui est le plus consommé des produits laitiers fermentés, il est obtenu par la fermentation lactique acide due à deux ferments spécifiques : *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*.

Traditionnellement, c'est le yaourt dit nature ou ferme qui constituait l'essentiel des productions de laits fermentés. Dans les années 1960 -1970, sont apparus les produits sucrés puis aromatisés et aux fruits. Actuellement, ils sont majoritaires sur le marché (60%) (Brulé, 2003). D'après les analyses de la situation alimentaire de la population Algérienne effectué en 2010, la consommation moyenne de l'algérien en yaourt oscille 5et 6Kg/an (Boubchir-Ladj, 2010).

Le yaourt est un produit laitier fermenté frais de grande consommation dans le monde et se trouve sur le marché sous plusieurs formes et types en attirant toujours le consommateur, ce qui exige une assurance de sa qualité au niveau de toutes ses étapes de fabrication ainsi de son stockage.

Le froid, et plus particulièrement la réfrigération, constitue l'un des moyens pour limiter la croissance bactérienne dans les produits laitiers et ainsi prolonger leur délai de consommation. Pour être pleinement efficace, le froid est à appliquer, à températures convenables (le plus possible voisine de 4°C), de manière précoce et continue sur le yaourt, depuis sa production jusqu'à sa consommation finale. Cette nécessité de continuité détermine le concept de chaîne du froid.

Et comme le yaourt est un produit distribué à différentes régions, allant de petites distances jusqu'aux centaines de kilomètres, il est nécessaire de garantir un transport adéquat pour conserver sa qualité, mais malheureusement, en Algérie cette condition n'est pas toujours respectée où il peut être stocké à des températures dépassant les normes. En cas de rupture de

la chaîne du froid, les conséquences peuvent être graves, allant jusqu'aux intoxications alimentaires mortelles pour les personnes les plus fragiles. Un produit alimentaire sain peut donc devenir un poison.

C'est dans cette problématique que s'insère cette présente contribution ; qui consiste à suivre la stabilité du yaourt en cas d'une rupture au niveau de la chaîne du froid. Nous avons considéré deux marques du yaourt réputées à l'échelle nationale « Trèfle et Hodna ». Pour cela, nous avons effectué des analyses physicochimiques et microbiologiques sur les deux produits stockés à différentes températures (6°C, 20°C et 37°C) et nous avons comparé leur comportement jusqu'à leur DLC.

I.1. Laits fermentés

Les laits fermentés sont consommés depuis la plus haute antiquité, en particulier par certaines populations orientales (Asie, Europe centrale). Se sont des produits laitiers transformés par une fermentation essentiellement lactique qui aboutit à l'acidification et à la gélification du lait (Beal et Sodini, 2003 ; Jeantet et *al.*, 2008).

I.1.1. Définition des laits fermentés

Selon la réglementation française Afnor (2001), un lait fermenté est un produit laitier composé exclusivement de matières premières d'origine laitière (lait et constituants du lait), ayant subi une pasteurisation et une fermentation par des microorganismes spécifiques et caractérisé par une teneur en acide lactique minimale (0,6 %). Il peut être additionné de certains ingrédients lui conférant une saveur spécifique (sucre, arômes, préparations de fruits) à condition que cette addition n'excède pas 30 % du poids du produit fini (Beal et Sodini, 2003).

Une autre définition a été établie en 2008 par Jeantet et *al.*, qui voient que la dénomination lait fermenté est réservée aux produits laitiers préparés avec les laits écrémés ou non, ou des laits concentrés ou en poudre écrémé ou non, enrichis ou non de constituant du lait, ayant subi un traitement thermique au moins équivalent à la pasteurisation,ensemencés avec des microorganismes appartenant à l'espèce ou aux espèces caractéristiques de chaque produit. La coagulation du lait fermenté ne doit pas être obtenue par d'autres moyens bactériens, composé de probiotiques (des organismes vivants qui, après ingestion en certaines quantités, exercent des effets bénéfiques pour la santé allant au-delà des vertus nutritives inhérentes de base (Danone world newsletter N°15,1997).) qui peuvent générer des prébiotiques (substances non digestibles bénéfiques pour la santé de l'hôte en stimulant spécifiquement la croissance et / ou l'activité du bactérie dans le colon) d'origine métabolique ou d'origine laitière par dégradation des constituants.

I.1.2. Différents types des laits fermentés

Il existe dans le monde une très grande variété de laits fermentés, qui différent par leurs matières premières, flore microbienne, technologie, qualité organoleptique (goût, texture), acidité qui est très variable ainsi que leur durée de conservation (Lupien, 1998; Luquet et Corrieu , 2005).

Cependant le Codex Stan 243-2003 a divisé les laits fermentés en quelques types, sont :

- Les laits fermentés acides dont le yaourt.
- Les laits fermentés acides et légèrement alcoolisés comme le kéfir et le koumis.
- Les laits fermentés concentrés : ce sont des laits fermentés dont la teneur en protéines a été augmentée avant ou après fermentation à un minimum de 5,6%.
- Les laits fermentés aromatisés : ce sont des produits laitiers contenant un maximum de 50% d'ingrédients non laitiers (édulcorants nutritifs, non nutritifs, fruits et légumes, ainsi que des jus, purées, pulpes, préparations et conserves dérivés de ces derniers, céréales, miel, chocolat, noix, café, épices et autres denrées alimentaires aromatisantes naturelles et inoffensives .

Le tableau suivant représente quelques exemples de laits fermentés :

Tableau I : Quelques exemples de laits fermentés

Nom	Pays d'origine présumé	description	Ferments
Yoghourt	Asie, Balkans	Produit ferme ou brassé, acide, arôme caractéristique	<i>S. thermophilus</i> , <i>Lb. Bulgaricus</i> (+ <i>Lb. acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium ssp.</i>)
Laits à l'acidophiles	Etats-Unis	Produit ferme, brassé ou liquide, faible arôme	<i>Lb. acidophilus</i>
Kéfir	Caucase	Boisson brassée, consistance crémeuse, arôme et goût caractéristique (CO ₂)	<i>Lc. Lactis</i> , <i>Lc. cremoris</i> , <i>Lb.kefir</i> , <i>Lb.casei</i> , <i>Lb. acidophilus</i> , <i>Leuconostoc spp</i> , levures
koumis	Mongolie	Boisson pétillante, acide, goût rafraîchissant et arôme caractéristique	<i>Lb. Bulgaricus</i> , <i>Lb. acidophilus</i> , levures
Lassi	Inde	Boisson laitière aigre diluée avec de l'eau, consommée salée, épicée ou sucrée	<i>Lactococcus spp</i> , <i>lactobacillus spp</i> , <i>leuconostoc spp</i> , (levures)
Dahi	Inde	Produit ferme ou brassé, ou boisson liquide; flaveur agréable, acide ou faiblement acide	<i>S. thermophilus</i> , <i>Lb. bulgaricus</i> , <i>Lc. diacetylactis</i> , <i>leuconostoc spp</i>
Leben	Moyen Orient	Produit ferme ou brassé, goût et arôme agréable	<i>S. thermophilus</i> , <i>Lb. bulgaricus</i> , <i>Lb. acidophilus</i> , <i>Lc. lactis</i> , levures
Filmjölk	Suède	Boisson brassée visqueuse, saveur acidulée	<i>Lc. lactics</i> , <i>Lc.cremoris</i> , <i>Lc.diacetylactis</i> , <i>Ln.cremoris</i>
Villi	Finlande	Produit brassé visqueux, acidulée et goût agréable	<i>Lc. lactics</i> , <i>Lc.cremoris</i> , <i>Lc.diacetylactis</i> , <i>Lc. dextranicum</i> , moisissure (<i>Geotrichum candidum</i>)

(Anonyme, 2009a)

Non seulement le lait se consomme à l'état nature, il peut également subir différentes biotransformations qui contribuent à élargir considérablement ses qualités sensorielles et nutritionnelles. L'un des dérivés de ces transformations est le yaourt, qui est le plus consommé des produits laitiers fermentés (Romain et *al.*,2008 ; Vignola ,2002).

I.2. Le yaourt

I.2.1. Historique

Les laits fermentés ont représenté depuis toujours, un aliment indispensable à la vie. Même si les produits obtenus étaient très différents selon la région dont ils étaient issus, le but recherché de la fermentation a certainement toujours été le même: la conservation du lait grâce à la transformation du lactose en acide lactique par des bactéries lactiques, diminuant fortement le pH du lait et assurant une protection contre le développement de nombreux germes pathogènes. L'usage des laits fermentés a commencé en Eurasie, chez les Tartares, les Kirghizes et les Kalmoucks (anciennes appellations relatives à des peuples turcs et mongols). Le premier nom turc, apparu au VIII^e siècle, fut "yogurut" pour être changé au XI^e siècle par le nom "yoghourt" utilisé actuellement (Rasic et Kurmann, 1978).

L'origine du mot reste mystérieuse. Le mot yoghurt proviendrait probablement de la langue bulgare (yoghurt), "yog" qui voulait dire "épais" et "urt" qui signifiait "lait". L'usage de cet aliment s'est étendu progressivement dans les Balkans au rythme de la progression des invasions mongoles. Le yoghurt devient ainsi l'un des produits clés de l'aire turco-mongole. Cependant, sa consommation généralisée en occident reste relativement tardive. Il faudra attendre la fin du XIX^e siècle pour que le savant ukrainien Metchnikoff, prix Nobel en 1908, attribue au yoghurt dont il a isolé le *Bacillus bulgare* nommé de nos jours *Lactobacillus bulgaricus*, la longévité des montagnards du Caucase et des Balkans (Helferich, et Westhoff , 1980).

Bien que le yaourt fût découvert il y a longtemps, l'industrialisation de la production n'a démarré qu'au XX^e siècle. En effet, c'est en 1917 qu'Issac Carasso commence à produire du yoghurt à Barcelone selon des procédés industriels. Pendant les années 1950, la consommation de yoghurts augmenta considérablement. Sa réputation en tant qu'aliment aux bienfaits exceptionnels se développa. Cette tendance continua à s'accroître pendant les années 1960. Les industriels en profitèrent pour élargir leur marché par de nouvelles gammes : yoghurts fermes, brassés ou à boire ; au lait entier, écrémé ou allégé ; naturels, sucrés, aromatisés ou aux fruits (Luquet et Corrieu ,2005).

I.2.2. Définition

Le yaourt ou yoghourt est un produit fermenté d'origine animale à base de lait (Righi, 2006). Selon la définition de 1977 établie par la FAO et l'OMS, le yaourt est un lait coagulé obtenu par la fermentation lactique acide due à deux ferments spécifiques : *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* (anciennement appelé *Lactobacillus bulgaricus*) et *Streptococcus salivarius*, ssp. *thermophilus* (anciennement appelé *Streptococcus thermophilus*) (Fredot, 2005).

Il existe une synergie entre les deux souches qui élaborent des composés utiles l'un pour l'autre. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ; agent d'acidification et *Streptococcus thermophilus* ; agent d'aromatisation (Guiraud et Galzy, 1998).

Selon Mahaut et al. (2000), ces bactéries lactiques thermophiles spécifiques doivent êtreensemencées simultanément et se trouver vivantes dans le produit fini à raison d'au moins 10 millions de bactéries par gramme rapportées à la partie lactée. Lors de sa mise à la consommation, la quantité d'acide lactique libre contenue dans le yaourt ne doit pas être inférieure à 0,7 gramme pour 100 grammes de produit (Anonyme, 2009_b). Cette opération dure 3heures et se fait à 45°C, température optimale de développement des bactéries. Après la fermentation, le yaourt est refroidi à une température comprise entre 1-10°C. Il est alors prêt à être consommé (Roux ,1994 ; Leclero et al.,1976).

I.2.3. Composition du yaourt

Au cours de la fermentation ; la composition du lait subit un certain nombre de modifications, certains de ces modifications en font un produit de meilleure valeur nutritionnelle que le lait. Ce produit qui est le yaourt, est composé de divers nutriments tels que les protéines, lipides, glucides ainsi que les vitamines et les minéraux (Mahaut et al., 2000).

Un pot de yaourt possède la même valeur nutritive qu'un verre de lait :

- Protéine : 4 à 5 g /100g.
- Glucides : 5 à 20 g /100g, selon qu'il est nature ou sucré
- Lipides à un taux variable.

Le tableau suivant résume les quantités des principaux nutriments présentes dans les différentes catégories du yaourt :

Tableau II : Energie, nutriments et composition minérale du yaourt

Type de yaourt	Teneur moyenne pour 100 grammes de produit							Valeur énergétique
	Protéines (g)	Lipides (g)	Glucides (g)	Calcium (mg)	Sodium (mg)	Potassium (mg)	Phosphore (mg)	KJ
Yaourt nature	4,15	1,2	5,2	174	57	210	114	201
Yaourt au lait entier	3,8	3,5	5,3	171	56	206	112	284
Yaourt nature 0%	4,2	traces	5,4	164	55	180	100	163
Yaourt nature sucré	3,8	1,1	14,5	160	52	195	105	347
Yaourt aromatisé au lait entier	3,2	3,2	12	140	50	190	106	372
Yaourt brassé nature	4,3	1,8	5,2	165	40	205	115	230
Yaourt brassé aux fruits	3,75	1,65	14,5	140	50	190	110	368
Yaourt au lait entier aux fruits	3,1	2,7	16,5	140	45	180	100	431
Yaourt maigre aux fruits	3,6	traces	17,2	140	45	180	100	351

(Jeantet , 2002)

I.2.4. Classification des yaourts

De nos jours, le yaourt a beaucoup changé sa présentation. Durant ces dernières décennies, il y en a de différents pourcentages de matière grasse, de différentes textures (brassés de type suisse, ferme ou en boisson) avec des fruits, des confitures, des céréales, des essences naturelles ou nature. En effet, Il existe une très grande variété de yaourts qui diffèrent par leur composition chimique, leur technologie de fabrication et par leur saveur, en fait ; il existe plusieurs types de classification :

A- Selon le mode de présentation (texture) : il existe trois types de yaourt (ferme, brassé, liquide) (FAO, 1995) :

1. Yaourts fermes (étuvés ou traditionnels) :

Selon Assche et Rathe (1996), se sont des produits dont la fermentation est effectuée après conditionnement en pots. Les yaourts étuvés (naturels, sucrés ou aromatisés) ont une texture ferme à surface lisse. L'incubation dure environ de 2 à 3 heures. Les pots sont maintenus dans l'étuve jusqu'à l'obtention d'une acidité de 0,75 (au minimum) à 1% environ d'acide lactique, soit 75 à 100 °D. A ce moment, le caillé doit être ferme, lisse et sans exsudation de sérum (Beerens, 1987 ; Anonyme, 1995).

2. Yaourts brassés :

A la différence du précédent, leur fermentation ne s'effectue pas en pots, mais en vrac dans des cuves. Lorsque l'acidité atteint 100°D, le caillé est brassé puis refroidi avant conditionnement en pots, qui seront stockés en chambre froide, c'est le cas des yaourts veloutés naturels ou à la pulpe de fruit, ou yaourts avec des morceaux de fruit (Assche et Rath, 1996).

-Yaourt fruité : C'est un yaourt brassé dans le quel ont été ajouté des aliments aromatisants ou d'autres ingrédients tels que les fruits (frais, en conserve, et en poudre), purée de fruits, pulpe de fruits, jus de fruits et d'autres ingrédients naturels ou artificiels autorisés. Dans le cas de ce yaourt, les fruits sont mélangés après brassage et lissage (Bourgeois et Larpent, 1989 ; Emilio et al., 2003).

3. Yaourts à boire (liquide) :

Se sont des laits fermentés brassés de faible viscosité, ils sont normalement aromatisés à l'aide de jus ou de purées de fruits, ils sont plutôt consommés comme des boissons rafraichissantes que comme aliment, ces yaourts sont battus dans les cuves avant d'être conditionnés (Anonyme, 2012_a).

B- Selon la teneur en matière grasse : selon Soualhi (2010), on distingue trois types de yaourt :

- Les yaourts maigres: inférieurs à 1% de matières grasses ;
- Les yaourts ordinaires naturels: 1% minimum de matières grasses ;
- Les yaourts au lait entier : 3,5 % de matières grasses.

C - Selon leur goût : on distingue quatre types de yaourt :

- Les yaourts naturels: ils ne subissent aucune addition ;
- Les yaourts sucrés: ils sont additionnés de sucre ;
- Les yaourts "aux fruits", "au miel", "à la confiture": ils subissent une addition inférieure à 30% de ces différents produits ;
- Les yaourts aromatisés: ils contiennent des arômes naturels renforcés par un produit de synthèse (Anonyme, 1995).

I.2.5. Intérêts nutritionnels et thérapeutiques du yaourt

Au cours de la fermentation, la composition du lait subit un certain nombre de modifications. Certains de ces modifications en font un produit de meilleures valeurs nutritionnelles et thérapeutiques (Mahaut *et al.*, 2000).

Les produits laitiers fermentés sont reconnus comme une source importante de protéines digestibles, vitamines, calcium,...

Des avantages nutritionnels concernant l'amélioration de la digestibilité des protéines et de la matière grasse, suite à libération des acides aminés et des acides gras par les bactéries lactiques. En fait, le yaourt contribue à :

◆ Amélioration de la digestibilité des protéines

Le yaourt est deux fois plus digestif que le lait, il renferme des acides aminés libres indispensables à l'organisme. Ceci résulte du traitement thermique et de l'activité protéolytique des bactéries lactiques (Mahaut *et al.*, 2000).

◆ Amélioration de la digestibilité de la matière grasse

La matière grasse du yaourt a la même composition que celle du lait d'origine, même si une légère activité lipolytique attribuée aux ferments lactiques a pu parfois être mise en évidence. Par contre sa structure est différente du fait de l'homogénéisation sous pression qui conduit à des globules gras néoformés plus petits que les globules gras natifs, participant à la réticulation du gel protéique. Cette configuration de la matière grasse n'est pas tout à fait la

même dans les autres produits laitiers frais et ces différences structurelles sont susceptibles d'avoir un léger impact sur la digestibilité des produits correspondants (Paquet et *al.*, 2010).

◆ Action sur les vitamines

Selon Alakali et *al.*, (2008), le yaourt est considéré comme une source importante de vitamine (B) . Au même temps, certaines vitamines sont consommées par les bactéries lactiques (B12) d'autres sont produites (acide folique B9) (Accolas, 1979).

Les yaourts et de nombreux laits fermentés sont dotés de fonctionnalités bénéfiques pour la santé, liées aux souches bactériennes spécifiques qu'ils contiennent. Ainsi, le yaourt favorise la digestion du lactose et certains laits fermentés améliorent les troubles fonctionnels intestinaux et d'autres peuvent agir sur le système immunitaire (Bourlioux et *al.*, 2011) . En outre, le yaourt exerce un rôle important dans :

◆ Digestibilité du lait

Selon Heyman (2000), de nombreux individus sont incapables de digérer le lactose, un sucre retrouvé naturellement dans le lait. Sur le plan nutritionnel, le lactose peut entraîner des troubles intestinaux chez les individus souffrant d'insuffisance lactasique. Ainsi, l'ingestion de lactose provoque chez ces personnes des troubles digestifs importants : diarrhées, vomissements, douleurs abdominales (Larreta-Garde, 1997).

Compte tenu de toutes les recherches conduites à ce jour sur les laits fermentés, l'effet bénéfique du yoghourt le mieux reconnu est une meilleure digestion du lactose par les individus déficients en lactase (Suarez et Savaiano ,1997) . Le lactose des produits laitiers est digéré au niveau de l'intestin grêle par une enzyme membranaire, cette enzyme appelée B galactosidase (Burgain et *al.*, 2012. ; Koïche et Dilmi-Bouras,2010). En effet, l'ingestion de yoghourt, plutôt que de lait traite la maldigestion du lactose et atténue les symptômes de l'intolérance au lactose (Marteau et *al.*,1990 ;Kolars et *al.*,1984 ; Saloff-coste, 1995) .Cet effet est assuré principalement par la présence des ferments vivants dans le yaourt (Renard , 2012 ; Dilmi-Bouras et Sadoun, 2002).

◆ Guérison des diarrhées

Un yaourt peut être un traitement efficace pour les enfants souffrant de diarrhées persistants ou chroniques, comme il diminue la durée de certains types d'elles(Boudraa et *al.*, 1990 ; Marteau,1996). En outre, l'Organisation Mondiale de la Santé « OMS » (1995), recommande de remplacer le lait par le yoghourt, dans la mesure du possible, au cours du

traitement de la diarrhée car il est mieux toléré que le lait et peut contribuer à la prévention de la malnutrition ou à rétablir une nutrition suffisante.

◆ Stimulation du système immunitaire

Il a été prouvé que le yoghourt améliore différents paramètres du système immunitaire ; selon Cross et *al.* (2001), des études *in vitro* et chez l'animal ont démontré que la consommation de yaourt stimulerait la fonction immunitaire.

Les bactéries lactiques présentent une action stimulante sur le système immunitaire de l'hôte en agissant sur les cellules impliquées dans l'immunité spécifique ou non spécifique (Marteau et *al.*, 1994). Aussi, elles favoriseraient la production d'anticorps et de cytokines, qui protègent contre les agents pathogènes présents dans le tube digestif (Adolfsson et *al.*, 2004). D'autre part, des concentrations très élevées en bactéries du yoghourt ont conduit à l'augmentation des taux des lymphocytes B et cellules K naturelles (De Simone et *al.*, 1993).

◆ Diminution du risque de cancer

De nombreuses études ont mis en évidence l'existence d'une relation entre la consommation de laits fermentés et le risque réduit du cancer. Les bactéries lactiques ont un effet inhibiteur sur la prolifération des cellules tumorales (Shahani et Chandan, 1979), Aussi, une étude épidémiologique récente conduite en France a montré que les personnes consommant du yoghourt présentent un risque plus faible de développer des adénomes colorectaux importants (Boutron et *al.*, 1996).

Les nitrites utilisés en technologie alimentaire peuvent être convertis en nitrosamines qui seraient impliquées par conséquent dans la cancérogenèse colique (Fernandes et Shahani, 1990). Une diminution du taux de nitrites et de leur conversion en nitrosamines a été démontrée chez *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* par l'action du nitrate réductase (Absolonne, 1989).

◆ Action hypocholestérolémiant

Un certain nombre d'études ont montré que la consommation de yaourt a un effet hypocholestérolémiant. Cet effet, bien que non totalement élucidé, serait dû à une synergie entre des composés du lait (acides orotique et urique) et un produit issu du métabolisme bactérien (acide 3-hydroxy-3-méthylglutarique) (Jeantet, 2002).

Il est néanmoins clair que la consommation régulière de yoghourt n'augmente pas la concentration plasmatique en cholestérol (Pearce, 1996). Donc, le yoghourt peut faire partie de l'alimentation quotidienne des personnes présentant des risques cardiaques.

♦ Activité antimicrobienne

Les bactéries du yaourt produisent aussi des substances antimicrobiennes et des prébiotiques (bactériocines, CO₂, H₂O₂, acides organiques, acétaldéhyde... etc.) (Dacosta, 2000).

L'effet antimicrobien principal exercé par ces bactéries résulte de la production d'acides organiques principalement l'acide lactique, qui conduit à la diminution du pH. Cette baisse de pH inhibe le développement de microorganismes pathogènes et contribue à la conservation des produits laitiers fermentés (Herrerosa et *al.*, 2005).

I.3. Bactéries lactiques**I.3.1. Définition**

Les bactéries lactiques (BL) sont regroupées dans un ensemble dont le nom lui-même est évocateur de leur caractéristique métabolique principale: la production d'acide lactique. Cette capacité est associée à la production majeure d'énergie par fermentation des sucres mais elle confère aussi à ces espèces leur intérêt principal pour la transformation et la conservation des aliments. Les BL peuvent avoir un métabolisme homofermentaire (plus de 90% des produits de fermentation est de l'acide lactique), hétérofermentaire facultatif (production d'acide lactique ou d'acide lactique et d'acide acétique) ou hétérofermentaire strict (production d'acide lactique, d'acide acétique ou d'éthanol et de CO₂) (Vandamme et *al.*, 1996).

On appelle bactéries lactiques des bactéries Gram positif. Ces bactéries, en formes de bâtonnets ou de coques, sont immobiles, asporulées et dépourvues de catalase, de nitrate réductase et de cytochrome oxydase. Elles synthétisent leur ATP grâce à la fermentation lactique des glucides (Guiraud et Rosec, 2004 ; Bourgeois et Larpent, 1996 ; Dellaglio et *al.*, 1994).

Selon Mahaut et *al.* (2000) et Ikene (1997) , les bactéries lactiques interviennent dans l'industrie laitière et dans la fermentation de nombreux autres produits alimentaires : saumurage des légumes, boulangerie, production des produits carnés fermentés.

I.3.2. Origine

Le lait, à moins qu'il ait été stérilisé, contient toujours en grand nombre des bactéries lactiques ; celles-ci se trouvent en abondance dans de nombreux produits. Grâce à leur souplesse d'adaptation physiologique, elles sont présentes dans les milieux riches en

principaux nutriments à savoir : produits laitiers, carnés, de pêche et végétaux (Cheftel et Cheftel, 1977, ;Desmazeaud, 1992. ; Luquet et Corrieu, 2008).

Ces bactéries lactiques ont été isolées de nombreux milieux naturels végétaux (plantes et fruits), animaux et humains (cavité buccale et vaginale, fèces, lait,...). Certaines espèces semblent adaptées à un environnement spécifique et ne sont guère trouvées ailleurs que dans leur habitat naturel (Luquet, 1986).

En ce qui concerne les espèces du genre *Streptococcus* ; selon Luquet (1986), elles se rencontrent surtout chez l'Homme, les animaux et les oiseaux, toutefois, certaines espèces ont été isolées sur des plantes. Elles sont pour la plupart saprophytes mais certaines ont un caractère pathogène. Néanmoins, les espèces du genre *Lactobacillus* se rencontrent plus couramment dans la nature où elles sont associées aux plantes, aux animaux et aux hommes. Peu d'espèces ont un caractère pathogène.

I.3.3. Classification

Traditionnellement, les bactéries lactiques ont été classées sur la base des propriétés phénotypiques : la morphologie, le mode de fermentation du glucose, la croissance à différentes températures, l'isomère de l'acide lactique produit et la fermentation des différents hydrates de carbone (de Roissart et Luquet, 1994; Holzappel et al., 2001). Cependant, les études basées sur la comparaison des séquences de l'ARN ribosomal 16S ont montré que certains taxons générés sur la base de la caractérisation phénotypique ne concordent pas avec les relations phylogénétiques suggérées. Ainsi, certaines espèces ne sont pas faciles à distinguer par des caractéristiques phénotypiques. Par conséquent, Les méthodes de typage moléculaire telles que l'électrophorèse en champ pulsé (PFGE), la réaction de polymérisation en chaîne utilisant des éléments répétés (rep-PCR), ainsi que les Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) sont extrêmement précieux pour la caractérisation et la détection des bactéries lactiques (Ouahghiri, 2009).

Or, le groupe des bactéries lactiques renferme les genres suivants: *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* et *Weissella*. Le genre *Bifidobacterium* est considéré comme appartenant aux bactéries lactiques du fait de son effet probiotique sur l'organisme et son utilisation dans les aliments (Gevers, 2002 ; Patrignani et al., 2006).

I.3.4. Intérêts et fonctions des bactéries lactiques

Dans la transformation des produits alimentaires, les micro-organismes pourront avoir les effets suivants ; aromatisation, modification de la texture, influence sur l'aspect extérieur ; amélioration des caractéristiques nutritionnelles ; stabilisation et conservation (Branger, 2004).

I.3.4.1. Production d'acide lactique :

La production de l'acide lactique est l'une des principales fonctions des bactéries lactiques en technologie laitière, car cet acide organique permet de conserver et de concentrer la matière sèche du lait, en intervenant comme coagulant et antimicrobien (Schmidt *et al.*, 1994).

Le métabolisme est du type homofermentaire (production exclusif de l'acide lactique), l'acidité du yaourt est communément exprimée en degré Dornic ($1^{\circ}D=0,1g/l$ d'acide lactique), elle se situe entre 100 et 130°D (Loones, 1994).

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

L'augmentation de la quantité de l'acide lactique provoque une diminution de pH ce qui lui donne le rôle d'inhibiteur vis-à-vis des micro-organismes indésirables (Leory *et al.*, 2002), responsables de la putréfaction, ainsi que les germes pathogènes généralement sensibles à l'acidité (Terre, 1986) ;

La diminution du pH entraîne la solubilisation des minéraux tels que le calcium et le phosphore, liés aux micelles de caséine (Vanassche, 1994) ;

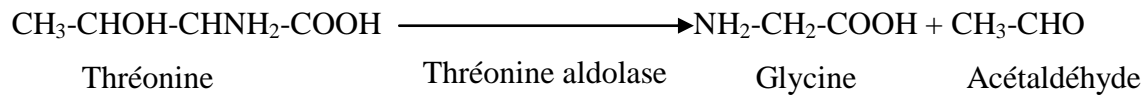
L'acide lactique aide à déstabiliser les micelles de caséines, ce qui conduit à la formation du gel ;

Il donne au yaourt son gout distinct et caractéristique, comme il contribue à la saveur et l'aromatisation du yaourt (Tamime et Robinson, 1999 ; Singh *et al.*, 2006).

I.3.4.2. Activité aromatisante

Selon Henry (2011), les bactéries lactiques interviennent dans la formation de composants aromatiques qui assurent aux produits laitiers les qualités organoleptiques recherchées, en effet, l'acide lactique n'est pas le seul produit de la fermentation lactique, Il y a aussi la formation des produits secondaires comme l'acide formique, l'éthanol, l'acide acétique, le diacétyle, l'acétoïne, le gaz carbonique et certains de ces composés qui participent au développement de la saveur et de l'arôme des produits laitiers (Izquierdo Lôpez, 2010).

L'acétaldéhyde est principalement produit par *Lb. delbrueckii* ssp *bulgaricus* à partir de la thréonine, réaction catalysé par la thréonine aldolase (Zourari et Desmazeaud ,1991).



I.3.4.3. Activité protéolytique

Pour satisfaire leurs besoins en acides aminés, les bactéries du yaourt doivent dégrader la fraction protéique du lait constituée de caséine et de protéines sériques (Boubchir- Ladj, 2010).

Le système protéolytique des bactéries lactiques joue un rôle important dans l'industrie laitière, car il participe à la modification de la texture et au développement de la saveur (Bouton *et al.*, 1993 ; Fira *et al.*, 2001). La protéolyse libère des acides aminés précurseurs de nombreux produits d'arôme. En effet, la méthionine peut conduire à des composés soufrés caractéristiques, la phénylalanine et la tyrosine à des composés volatils à noyau aromatique,...etc. (Rajagopal et Sandine, 1990).

Les enzymes protéolytiques des bactéries lactiques génèrent également des fragments peptidiques biologiquement actifs par hydrolyse des protéines du lait ; ces peptides exercent un large spectre d'effets: anti-hypertensif, hypocholestérolémiant, immuno-modulateur, antimicrobien,...etc. (Gerdes *et al.*, 2001).

I.3.4.4. Activité texturante

La texture et l'onctuosité constituent ; pour le consommateur, d'importants éléments d'appréciation de la qualité du yaourt. Certaines souches, dites épaississantes, produisent des exopolysaccharides (EPS) à partir du glucose, qui en formant des filaments, limitent l'altération du gel par les traitements mécaniques et augmentent la viscosité du lait au cours de la croissance de ces germes, en améliorant ainsi la texture du yaourt (Zourari et Desmazeaud,1991 ; Boubchir- Ladj , 2010)

L'augmentation de la viscosité du yaourt est en général attribuée à la production d'exopolysaccharides (EPS) qui selon une étude portant sur plusieurs souches serait essentiellement composé de rhamnose, arabinose, et mannose. Il est couramment admis que dans les laits fermentés cette fonction est exercée par *Streptococcus thermophilus* (Schmidt *et al.*,1994).

I.3.5. Les bactéries lactiques spécifiques au yaourt

I.3.5.1. Caractères généraux de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*

A / *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*

Selon Accolas et al. (1982), *Streptococcus thermophilus* se présente sous forme de cellules sphériques ou ovoïde de 0.7 à 0.9 microns de diamètre en paires ou en longue chaîne (figure n°1). Il est un streptocoque thermophile, son optimum de croissance se situe entre 37-46°C. Il est thermorésistant et survit au chauffage à 65 °C pendant 30 min (Leveau et Bouix, 1993 ; Jeantet et al., 2008), mais présente une forte sensibilité au NaCl (Hardie, 1986). Son activité protéolytique est encore plus réduite que celle du *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* (Zourari et Desmazeaud, 1991).

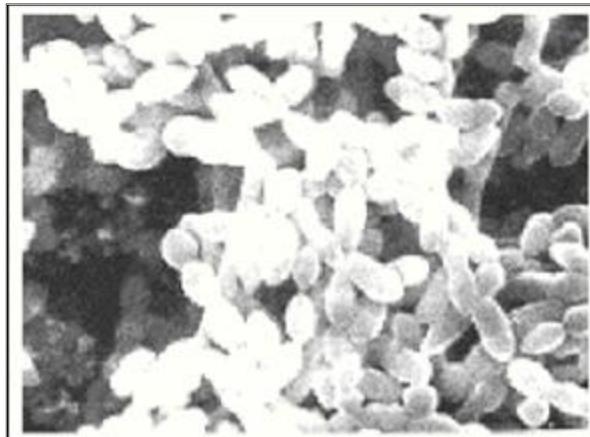


Figure n°1: Microphotographie représentant *Streptococcus thermophilus* en chaînettes (Larpent, 1991)

Streptococcus thermophilus a une activité fermentaire le plus souvent réduite à quelques sucres autres que le lactose et le glucose (Accolas, 1979). C'est un homofermentaire qui produit exclusivement de l'acide lactique (L) de façon rapide mais limitée. Son activité acidifiante se situe entre 25 et 50 °C avec un optimum vers 40 °C. Outre l'acide lactique ; il produit à partir du lactose de l'acide formique utilisé par *Lactobacillus bulgaricus* (FAO, 2002).

A partir du glucose, d'autres composés aromatiques peuvent être métabolisés par *Streptococcus thermophilus* tel que l'acétoïne et le diacétyl, Il fournit généralement un caillé très lisse (Cerning et *al.*, 1988 ; FAO, 2002).

B / *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*

Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus (figure n°2) est une bactérie lactique largement utilisée en industrie alimentaire (Gouesbet et *al.*, 2001). C'est un lactobacille très polymorphe, sa forme diffère en fonction de l'âge de la culture du milieu utilisé (Accolas et *al.*, 1982). Il est un thermo- bacterium qui ne se développe pas à 15 °C mais croît à 45°C. Sa température optimale de croissance se situe entre 42°C-50°C. Cette bactérie n'est pas thermorésistante mais peut résister à la température de pasteurisation, et ne se développe pas sur un milieu contenant 2 % de NaCl (Jeantet et *al.*, 2008 ; Terre, 1986).

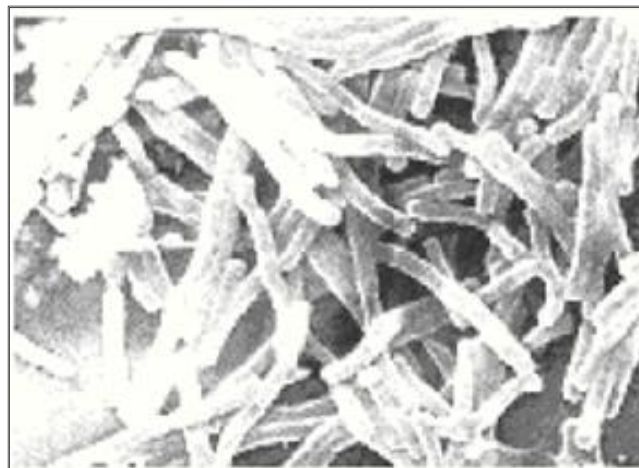


Figure n°2: Microphotographie représentant *Lactobacillus bulgaricus* en bâtonnets (Larpent, 1991).

Selon FAO (2002), *Lactobacillus bulgaricus* peut dégrader le lactose, le glucose et le galactose mais n'attaque ni les pentoses, ni le saccharose, il est dépendant du lait. C'est une bactérie homofermentaire, elle produit exclusivement de l'isomère (D) de l'acide lactique, ne produit pas de gaz à partir du glucose (Steele, 1997). L'activité acidifiante se situe entre 30 et 55°C avec un optimum vers 45 °C, l'acidification est importante jusqu'à 300 ° Dornic mais d'une manière lente. La production de l'acide est plus tardive que celle de streptocoque mais à un maximum plus élevé, généralement Il fournit un caillé très cassant (Accolas et *al.*, 1982 ; FAO, 2002).

I.3.5.2. La synergie des ferments du yaourt

Lactobacillus delbrueckii ssp. *bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* sont traditionnellement utilisés pour la fabrication du yogourt. On dit qu'une relation symbiotique existe entre eux (figure n°2), ce qui diminue le temps de fermentation (Horiuchi et Sasaki, 2012). L'interaction entre ces deux bactéries dans un levain lactique est décrite par le terme écologique de proto-coopération. La proto-coopération est la base pour la création de la relation symbiotique entre les deux espèces (*S. thermophilus* et *Lb. bulgaricus*) et un métabolisme combiné avec des effets positifs sur le produit fermenté (Angelov et al. 2009).

Dans une protocoopération, chaque espèce produit une ou plusieurs substances, absentes initialement du milieu de culture, qui stimulent la croissance de l'autre espèce. Au cours de la symbiose observée dans le yoghourt, les phases de croissance des deux espèces sont décalées dans le temps. En effet, on assiste, dans une première phase, principalement à la croissance de *Streptococcus thermophilus*. Dans un deuxième temps, celle-ci est ralentie du fait de l'effet inhibiteur de l'acide lactique produit, alors que le taux de croissance de *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* augmente (Rasic et Kurmann, 1978).

L'interaction indirecte positive observée, s'explique en grande partie par des exigences nutritionnelles des deux bactéries. Les lactobacilles présentent une activité protéolytique plus importante que les streptocoques (Rajagopal et Sandine., 1990). Ils libèrent ainsi dans les milieux des petits peptides, des acides aminés et, à un moindre degré, des vitamines solubles et des bases puriques et pyrimidiques (Abu-tarboush, 1996), qui sont alors utilisés par *Streptococcus thermophilus* (Radke-Mitchell et Sandine, 1984). En retour, *Streptococcus thermophilus* fournit de l'acide formique ((Bottazzi et al., 1971 ; Perez et al., 1991 ; Veringa et al., 1968) nécessaire à la synthèse des bases puriques (xanthine, adénine et guanine), et donc des acides nucléique de *Lactobacillus bulgaricus* (Letord ,2001 ; Suzuki et al., 1986). Selon Ascon-Reyes et Drissen , le streptocoque produit également du dioxyde de carbone qui stimule la croissance des lactobacilles (Ascon-Reyes et al. ; 1995, Drissen et al., 1982) . Ce CO₂ est issu de la décarboxylation de l'urée, sous l'action d'une uréase présente chez la majorité des souches de *Streptococcus thermophilus* (Juillard et al. ,1988). En effet, chacune des deux espèces produit de l'acide lactique qui va inhiber la croissance de l'autre espèce. Toutefois, en 1995 Benthin et al. ont montré que l'isomère L de l'acide lactique, produit par *Streptococcus thermophilus* serait plus fortement inhibiteur que l'isomère D, pour le développement de *Lactobacillus bulgaricus*.

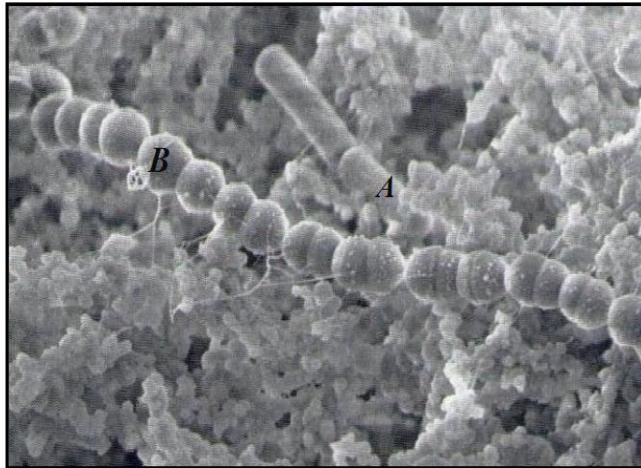


Figure n°3: Microphotographie réalisée à partir du yaourt mettant en évidence la présence des deux bactéries : *Lactobacillus bulgaricus* (A) et *streptococcus thermophilus*(B) (Luquet et Currieu, 2008)

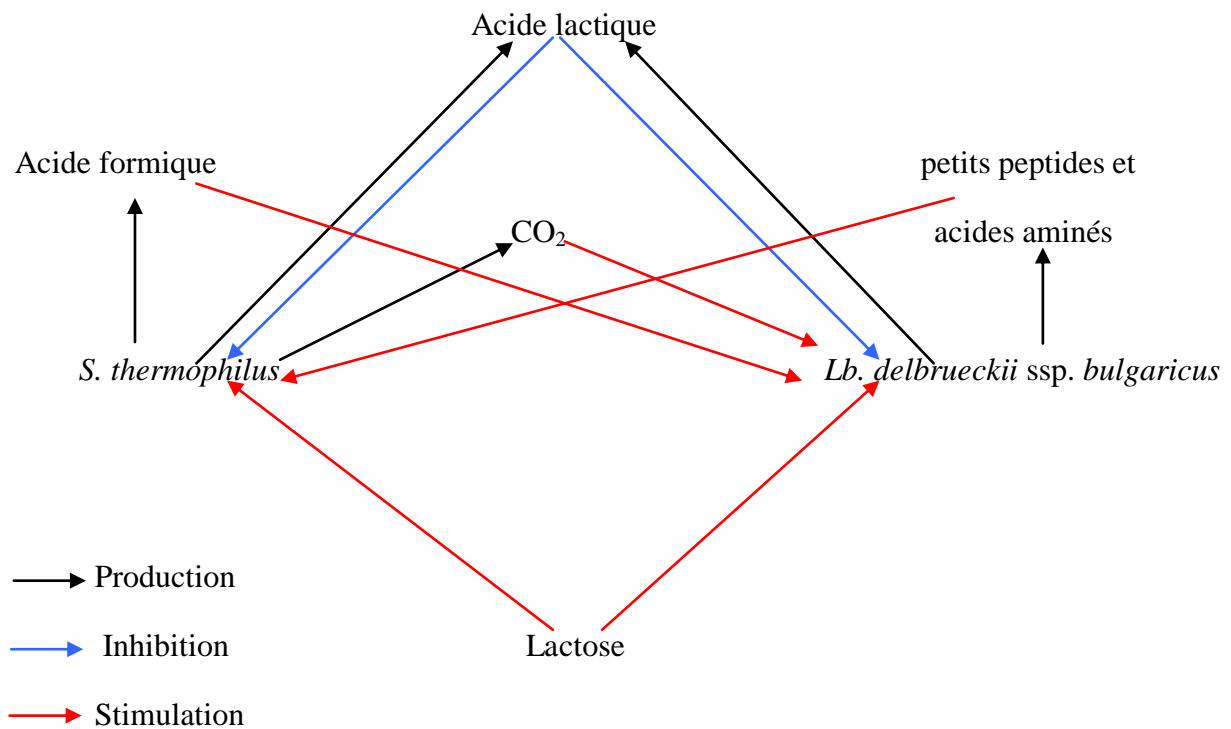


Figure n°4: Schéma des interactions métaboliques de *S. thermophilus* et *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus* en culture mixte dans le lait (Jeantet et al. ,2008)

I.4. Technologie de fabrication du yaourt :

I.4.1. Principe de fabrication

La fabrication du yogourt comporte plusieurs étapes (Figure n°5). La production débute par la standardisation du mélange laitier suivie de l'homogénéisation et du traitement thermique, le mélange laitier est ensuite refroidi à la température d'inoculation puis les ferments lactiques sont ajoutés, la mise en pot est effectuée pour les yogourts fermes. La fermentation lactique se déroule entre 3 à 6 heures à 42-43 °C et elle est arrêtée lorsque le pH atteint 4.6. Les yogourts fermes sont refroidis à 4 °C tandis que les yogourts brassés sont conditionnés. Cette dernière étape comprend le refroidissement, le brassage, le lissage et la mise en pot. Le diagramme de fabrication du yaourt à boire fruité appliquée au niveau de la laiterie trèfle lieu de notre expérimentation est détaillé en annexe 1.

I.4.2. Matière première

◆ Lait frais

En 1909, le congrès international de la répression des fraudes a défini le lait destiné à l'alimentation humaine comme suit : « Le lait est le produit intégrale de la traite totale ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum » (Luquet, 1985).

Selon Yakhlef et *al.* (2010), le lait est considéré comme un produit de base dans le modèle de consommation algérien, il occupe une place importante dans la ration alimentaire de la population. La production nationale, estimée à 1,6 milliard de litres par an, ne couvre que 40% des besoins, le reste est importé sous forme de poudre de lait et de matière grasse laitière anhydre (MGLA) auxquels il faut rajouter d'autres ingrédients de fabrication (levains, enzymes coagulantes, arômes,...etc.). Ce déficit fait en sorte que les structures des unités de transformation étatiques et privées fonctionnent en majeure partie grâce au traitement du lait reconstitué à partir de poudre de lait et de MGLA importées (Boubchir-Ladj, 2011).

La matière première utilisée pour la plupart des laiteries algériennes est présentée par l'eau, la poudre de lait, sucre (saccharose), arôme, ferments lactiques, poudre de lactosérum et préparations de fruits.

◆ Eau de reconstitution

L'eau est la matière première de tous les types de produits laitiers reconstitués et reconstitués, elle doit être une eau potable de bonne qualité, dépourvue de microorganismes pathogènes et d'un niveau de dureté acceptable.

◆ Poudre de lait

La poudre de lait est un lait pratiquement privé d'eau (moins de 4%) qui ne peut donc plus être le siège du développement microbien. Elle est commercialisée sous la forme de poudre de lait entier (26 % de matière grasse), de poudre de lait partiellement écrémée (17 % de matière grasse) et de poudre de lait écrémée (moins de 1,5% de matière grasse). (Trémolières et *al.*, 1984 ; Paci- Kora, 2004).

◆ Sucre (saccharose)

Le principal sucre autorisé par la législation est le saccharose, c'est un sucre naturel, en cristaux de couleur blanche, très répandu dans les végétaux, en particulier dans la betterave. Il bénéficie des propriétés de texturation, de lubrification et de corps (rôle de la viscosité), et d'homogénéisation des arômes ; il permet les goûts acides et amers, de fixer l'eau et contribue à accroître la durée de vie des produits (Lindin et Lorient, 1994).

◆ L'arôme

L'arôme désigne tout produit ou substance destiné à être dans des denrées alimentaires pour leur donner une odeur, un goût ou les deux en même temps (Craizet, 1998).

◆ Poudre de lactosérum

C'est un sous produit de la fromagerie et de la caséinerie, c'est un liquide surnageant jaune verdâtre, son pH compris entre 5 et 6,5. Il représente près de 90% du lait mis en œuvre (Boudjema, 2008 ; Kosikowski, 1979). La poudre de lactosérum constitue une matière première pour l'industrie alimentaire (Delaguereviere,1981).

◆ Préparations de fruits

Les préparations de fruits sont des produits alimentaires intermédiaires utilisés en tant que supports d'arômes. Initialement utilisées dans l'industrie laitière, créées en 1952 à Reinach en Suisse (Etievant et Delolme, 2011).

Les morceaux de fruits frais incorporés au yaourt doivent provenir de fruits murs, sains et convenablement lavés. Ils doivent être dépourvus de fragment d'écorces, des graines et d'autres substances grasses et dures ; manipulées hygiéniquement juste avant leur incorporation au yaourt (Emilio et *al.*, 2003). Cependant, les fruits en conserve ou en poudre (élaboré) comme les jus, les nectars, les pulpes, les gelées, et les marmelades ou autres fruits élaborés sous d'autres formes incorporées au yaourt doivent être pasteurisés juste avant incorporation (Emilio et *al.*, 2003).

◆ Les ferments lactiques

Selon Lee et Lucey (2010), les yaourts sont préparés par la fermentation du lait avec des cultures lactiques qui consiste à un mix de *Streptococcus ssp. thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*. En effet, la sélection de ferments lactiques de qualité est une préoccupation constante des industriels laitiers (Maguin, 1996).

I.4.3. Procès de fabrication du yaourt :

I.4.3.1. Standardisation de la composition du lait

La reconstitution du lait s'effectue dans un tank où l'eau arrive en premier chauffée à une T°C de 44 à 45°C et à laquelle est incluse la poudre de lait, le mélange (poudre de lait, sucre, l'eau) s'effectue en un circuit fermé par voie d'un agitateur qui permet la dissolution de toutes les particules, après une filtration et un dégazage pour éliminer les substances volatiles (FAO, 1995).

I.4.3.2. Homogénéisation

Selon Amiot et *al.* (2002), l'homogénéisation a pour but de fractionner la taille des globules de gras de 4-5 µm à 1 µm par cisaillement. De plus, elle confère une couleur plus blanchâtre au mélange laitier, cette diminution de diamètre facilite l'insertion des globules de gras dans les pores du réseau caséique du yaourt. Cette étape permet également de mélanger de façon homogène les divers ingrédients laitiers ajoutés lors de l'étape de la standardisation (Lucey et *al.*, 1998).

L'homogénéisation évite la remontée de la matière grasse pendant la coagulation, améliore la fermeté du produit fini et la rétention d'eau, diminuant ainsi les risques de synérèse durant la conservation du yaourt (Alias et Linden, 1997 ; Vignola, 2002).

I.4.3.3. Traitement thermique

L'homogénéisation est généralement combinée avec un traitement thermique (Pasteurisation) (Lemoinier, 1989). En général, il oscille entre 80 et 98°C pour une durée variable de 20 secondes à 30 minutes. Cependant, des très hautes températures à des temps courts (100 -130°C en 4 à 16 s) ou ultra haute température (UHT) (140°C en 4 à 16 s) sont parfois utilisées (Lucey, 2004).

Le but premier du traitement thermique est d'assurer l'innocuité du produit suite à la destruction des microorganismes pathogènes et indésirables ainsi qu'à l'inactivation des enzymes telles que la lipase responsable de l'oxydation des lipides (Walstra et *al.*, 2006). Aussi ce traitement assure selon de Roissart et Luquet (1994), la stimulation de la croissance

ultérieure des bactéries lactiques par la formation de facteurs de croissance tels que l'acide formique ainsi que, l'amélioration de la texture du yaourt par la dénaturation de plus de 85% des protéines solubles qui se fixent ainsi sur les molécules de caséines.

En outre, Mahaut et *al.* (2000) ; voient que le traitement thermique favorise le développement de la flore lactique spécifique (*streptocoque thermophile*) pour la formation d'acide formique qui est un facteur de croissance et améliore la texture du yaourt et sa stabilité.

I.4.3.4. La fermentation

Suite au traitement thermique du lait, la température du mélange est abaissée entre 40-45°C en vue d'y ensemer les bactéries lactiques thermophiles. On inocule alors la préparation de lait avec les deux souches bactériennes (Tamime et Robinson 1999; Hui et *al.*, 2004).

Le lactose est principalement métabolisé en acide lactique par les bactéries *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. Ces bactéries agissent en synergie ; les streptocoques amorcent la fermentation en procurant aux lactobacilles les composantes requises à leur activité fermentaire telles que l'acide formique et le gaz carbonique. Quant aux lactobacilles, ceux-ci hydrolysent partiellement les caséines libérant ainsi de courts peptides et des acides aminés favorisant la croissance des streptocoques (Gentès ,2011).

La fermentation du lactose du lait par les bactéries lactiques engendre la production d'acide lactique qui diminue ainsi le pH du milieu. Initialement, le pH du lait se trouve entre 6,6 à 6,8 et il y a un équilibre entre les forces de répulsion et d'attraction entre micelles de caséines. Ces forces doivent leur existence en partie à la charge négative des caséines, et empêchent leur agrégation et les maintient en suspension. Pendant la fermentation, le pH du lait diminue jusqu'à atteindre le pH isoélectrique des micelles de caséines (pH isoélectrique = 4,6), qui vont s'agréger entre elles en emprisonnant de l'eau. Le réseau protéique du yaourt est alors formé (Merabtine, 2010).

En général, le temps de fermentation se situe entre 3 et 7h jusqu'à l'obtention d'un pH de 4.6 et d'une acidité finale de 0.9 à 1.2 % en équivalent d'acide lactique (Clark et Plotka, 2004 ; Saint-Eve, 2006).

I.4.3. 5. Brassage

Le brassage du coagulum, qui intervient uniquement en production des yaourts brassés, est réalisé avant le refroidissement. Le brassage va conférer au produit son onctuosité. Cette étape

est réalisée ; soit par la technique de lamellation où on fait passer le gel à travers un filtre ou tamis ; soit par homogénéisation à basse pression surtout dans le cas du yaourt à boire. Le produit étant plus liquide, il en résulte une baisse de 50% de la viscosité par rapport à l'agitation mécanique (Luquet, 1990).

I.4.3.6. Refroidissement

Puisque la croissance des bactéries thermophiles est ralentie à moins de 10°C, on conseille généralement une réfrigération voisinant 4°C, afin de stopper l'acidification du yaourt (Veiseyre, 1979 ; Tamine et Robinson, 1999 ; Vignola, 2002).

I.4.3.7. Conditionnement et entreposage

Dans le cas des yogourts fermes, la fermentation lactique se déroule directement dans les pots et conservé entre 2 à 4°C. L'addition éventuelle d'arômes, de pulpes de fruits... etc., se fait au moment du remplissage des pots (Yildiz, 2010 ; Boubchir-Ladj, 2010). L'étape du conditionnement se résume donc au refroidissement du yogourt ferme à la température d'entreposage, les technologies de refroidissement utilisées sont: le transfert immédiat des pots dans une chambre réfrigérée ou par le passage dans un tunnel de refroidissement (Lucey, 2004).

Pour les yogourts brassés, le conditionnement englobe les étapes de refroidissement, de lissage, d'ajout de saveurs/fruits et de mise en pot.

Notons que le yaourt à boire ne se différencie du brassé que par son état liquide qui l'assimile à une boisson. Sa fluidité est obtenue par une diminution de la teneur en matière sèche. Le brassage ; effectué par passage à l'homogénéisateur sous pression inférieure à 50 atmosphères, donne une viscosité inférieure d'environ 50% à celle obtenue par brassage mécanique (Boubchir-Ladj, 2010).

I.4.3.8. Stockage

Le yaourt doit être conservé au frais, sa consommation doit intervenir avant la date limite de consommation (DLC) figurant sur l'emballage (28 jours après la fabrication). Lorsqu'un récipient est ouvert, il convient de consommer son contenu rapidement pour éviter l'installation des moisissures favorisées par l'acidité (Tremolière et *al.*, 1984).

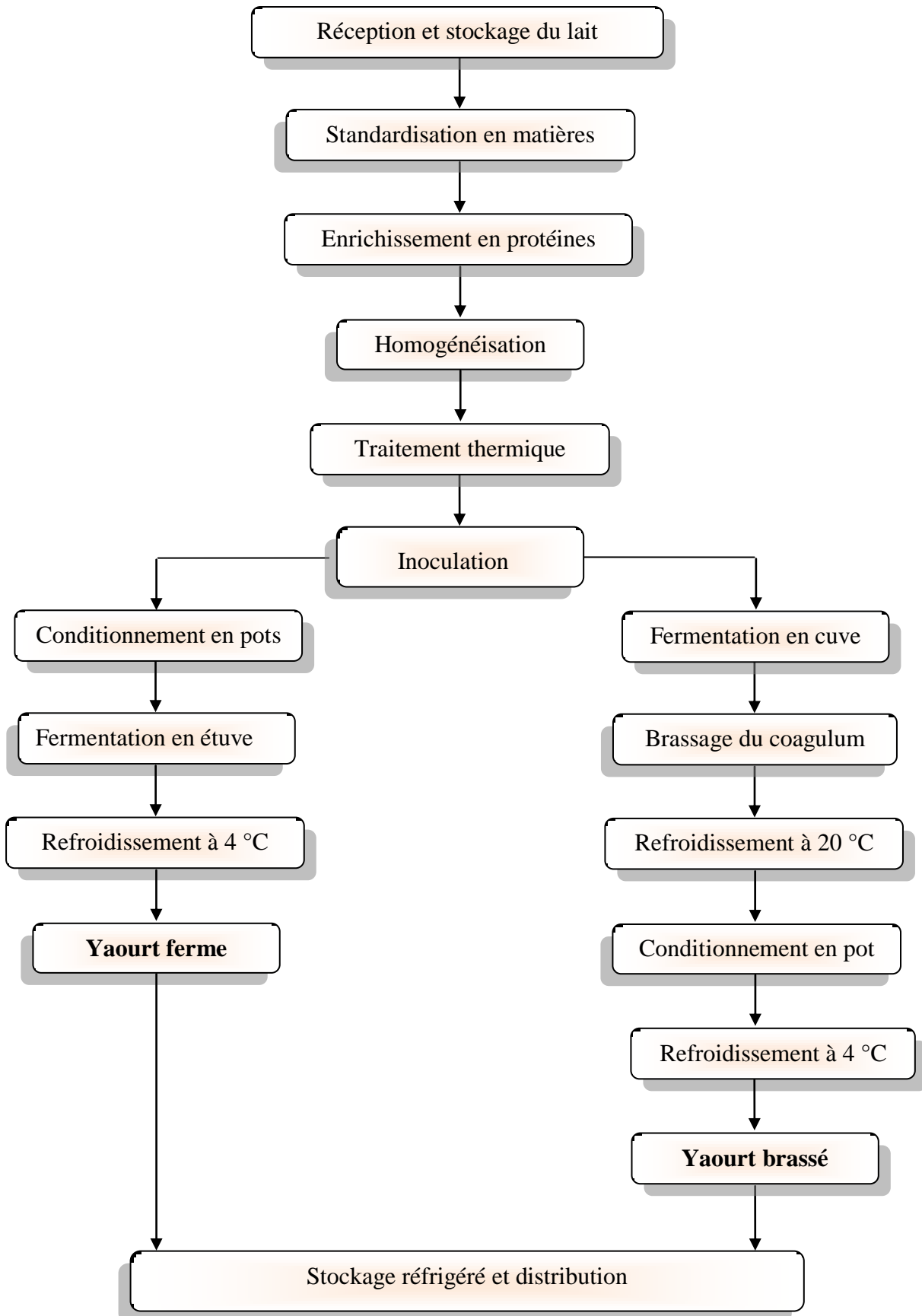


Figure n°5 : Diagramme général de fabrication des yaourts (Beal et Sodini ,2003)

II. Qualité et conservation du yaourt

Les consommateurs aiment les produits frais (lait cru ou produits fermentés) ; qu'ils considèrent comme garants d'authenticité, d'innocuité et de qualité nutritionnelle et organoleptique. Ils recherchent en même temps des produits de longue conservation car ils souhaitent s'affranchir des contraintes de gestion des produits périssables. Un produit frais est en effet un produit dans lequel on a préservé l'essentiel du potentiel biologique, enzymatique et microbien et des valeurs nutritionnelles (vitamines et acides aminés indispensables), sans stabilisant ni conservateur, il est instable et subit des évolutions microbiologiques, enzymatiques et physicochimiques : c'est donc un produit altérable (Jeantet et *al.*, 2006).

II.1. Qualité du yaourt :

II.1.1. Définition de la qualité

La notion de qualité d'un aliment intègre communément quatre critères 4S : Sécurité, Santé, Saveur et Services. Chacun de ces mots clés renvoie aux notions de sécurité sanitaire des produits, à leur valeur nutritionnelle et santé, aux critères organoleptiques de goût, d'odeur et d'arôme et à l'ensemble des services associés au produit alimentaire notamment issu de l'industrie agro-alimentaire (Merabtine, 2010).

II.1.2. L'hygiène au sein de la laiterie :

Sans maîtrise des règles d'hygiène applicables en agroalimentaire et sans maîtrise du nettoyage et de la désinfection, il semble bien difficile d'assurer la sécurité sanitaire d'un produit alimentaire. En effet, les micro-organismes sont partout dans l'environnement de la fabrication ; dans les matières premières, sur les emballages, dans l'environnement (eau, air, sol ...etc.), sur l'Homme, sur les matériels, dans les machines, ...etc. Les conditions de fabrication (humidité, présence de protéines et température) favorisent leur développement ; les opérateurs de fabrication, les emballages favorisent leur apport ou la recontamination du produit. Un combat permanent doit alors être engagé pour éliminer ces « individus » invisibles à l'œil nu (Hornych, 2006).

Selon Multon (1994), une surveillance hygiénique de différents points d'installation doit être assurée au cours du processus de fabrication et du conditionnement. A savoir l'hygiène du personnel, du matériel et de l'air ambiant. En effet, toute personne affectée au travail et à la manipulation des produits est soumise à un examen médical et assure cette opération au moins une fois par an (Cheftel et Cheftel, 1977). D'un autre part, Leder (1985), exige la propreté du personnel par des vêtements de travail appropriés et propres, une coiffe propre,

nettoyage et désinfection des mains avant chaque manipulation d'aliments, interdiction de fumer ; de cracher ; de boire et de manger dans les locaux de travail ...etc., et ceci doit être réalisé à tous les niveaux de fabrication et d'élaboration des produits alimentaires. Le matériel lui aussi doit être adapté à la technologie employée et à l'objectif final recherché ; un matériel mal utilisé est le siège de contaminations d'ordre hygiénique et d'ordre sanitaire.

À chaque étape de la fabrication des yaourts, différents contrôles sont nécessaires afin de vérifier le bon respect des règles d'hygiène et de nettoyage, mais aussi afin d'assurer la qualité sanitaire du produit et donc la sécurité du consommateur.

II.1.3. Le contrôle qualité en production

Les contaminations microbiologiques représentent les risques majeurs sur le plan sanitaire ; et leur évaluation est très difficile (Moll et Moll, 2000). En fait, le développement d'un microorganisme peut avoir une activité sur le développement d'autres microorganismes. En résultant une production de nouveaux ingrédients et une variation des caractéristiques physico-chimiques (Danone World Newsletter,2000) . Par conséquent et pour notre cas, il est nécessaire de réaliser des contrôles assurant la qualité du yaourt, afin de satisfaire le consommateur et de lui affirmer l'existence de toutes notions de sécurité et de santé. Ces contrôles ont comme objectifs :

II.1.3.1. Objectifs

Les contrôles qualité sont effectués sur les matières premières et les produits finis, mais aussi pendant la fabrication (autocontrôles) et sur les équipements (maintenance préventive). Ils visent à assurer la mise sur le marché de produits sains (exempts de risques microbiologique, chimique ou physique) et conformes à la réglementation en vigueur. Ils permettent également de s'assurer que les laits fermentés présentent les qualités organoleptiques requises et attendues par le consommateur (flaveur, texture, couleur) et qu'ils seront stables pendant toute la durée de commercialisation, en vérifiant la non-contamination par des micro-organismes d'altération (Beal et Sodini 2003).

II.1.3.2. Les contrôles des matières premières

Les principaux ingrédients en fabrication des laits fermentés sont le lait cru (mais dans notre cas puisqu'il s'agit d'un lait reconstitué, c'est l'eau de reconstitution et les poudre de lait qui seront nos ingrédients) ainsi que les ferments et les préparations de fruits. Leur qualité sanitaire et leurs propriétés technologiques sont contrôlées à réception, pour chaque réception de matières premières, il est nécessaire de réaliser :

➤ **Un contrôle visuel**

Pour s'assurer du bon respect des procédures de transport des marchandises alimentaires, notamment en matière de propreté des camions de livraison. Ces contrôles permettront de vérifier l'intégrité des emballages et la cohérence entre les quantités commandées et les quantités livrées, de contrôler l'étiquetage des marchandises (présence d'une DLC ou d'une DLUO, d'un numéro de lot, de la désignation du produit, d'une température de conservation, etc.).

➤ **Un contrôle de température**

Cas des matières premières réfrigérées ; lait et préparations de fruits ; pour s'assurer du bon respect de la chaîne du froid au cours du transport, en vérifiant le bon fonctionnement des systèmes de réfrigération et en contrôlant la température du produit réceptionné.

➤ **Un contrôle microbiologique**

Sur les produits à risques comme le lait et en cas de lait reconstitué ; c'est l'eau de reconstitution et la poudre de lait ainsi que la préparation de fruit ; seront contrôlés par la recherche de la flore mésophile aérobie revivifiable, de la flore de contamination et de la flore pathogène (Hornych, 2006).

➤ **Un contrôle physico-chimique**

Selon Hornych (2006), le contrôle physico-chimique peut être réalisé par la mesure du pH, taux de matière grasse, extrait sec, viscosité. D'autre part Sodini (2003), ajoute que les propriétés physico-chimiques des préparations (Brix, pH, viscosité) et la distribution de la taille des fruits peuvent également être contrôlées.

II.1.3.3. Les contrôles au cours de fabrication

1. Déconditionnement de la matière première

D'après Hornych (2006), la matière première doit être Contrôlée visuellement, en basant sur la présence de corps étrangers, l'aspect et la couleur .En fait, un changement de cette dernière signifie que la matière première a subi de nombreuses variations peut être due à une altération.

Ainsi, un Contrôle organoleptique de goût de texture et de saveur doit être réalisé. Par conséquent et si une non-conformité est détectée lors de ces contrôles, la matière première sera systématiquement déclassée ou détruite.

2. Préparation du mix

Selon Boutonnier (2001), cette opération consiste à mélanger les différents ingrédients en respectant l'ordre d'incorporation préétabli. En effet, Cette étape nécessite une grande rigueur dans le dosage des ingrédients qui peut se faire automatiquement ou manuellement. En fait, une modification de quantité, un non-respect de l'ordre et des températures d'incorporation entraîneront une modification du goût, de la texture du produit fini (Hornych, 2006).

Pendant la fabrication du yaourt, certains points critiques comme la pasteurisation ou la cinétique d'acidification doivent être contrôlés. Le respect du barème de pasteurisation est vérifié. L'acidification est ; le plus souvent, contrôlée en effectuant des prélèvements et des mesures de l'acidité Dornic ou du pH (Beal et Sodini 2003).

3. Contrôles des produits finis

Les caractéristiques microbiologiques, physico-chimiques et sensorielles des laits fermentés, sont contrôlées à la fin de leur fabrication.

a) Caractéristiques microbiologiques :

La filière laitière a mis en place un système de protection rapproché dans ses processus de fabrication pour lutter contre les micro-organismes qui présentent un risque pour la santé du consommateur.

Les contrôles de la qualité microbiologiques des produits finis portent sur leur qualité hygiénique et leur qualité marchande, et sont plus ou moins importants suivant la nature des produits et leurs destinations. En effet, le contrôle est ramené à une recherche de quelques microorganismes dangereux pour le produit (Scriban, 1999).

En fait, un dénombrement des flores spécifiques des laits fermentés est effectué afin de vérifier qu'ils répondent aux normes réglementaires. Une recherche des bactéries pathogènes est également réalisée : les seuls critères impératifs sont l'absence de *Salmonella* dans 25 g et de *Listeria monocytogenes* dans 1 g de produit (Beal et Sodini 2003).

b) Caractéristiques physico-chimiques et sensorielles :

La teneur en protéines et en matières grasses est systématiquement contrôlée sur les produits finis. Le pH et/ou l'acidité titrable sont aussi mesurés (Beal et Sodini 2003). Les contrôles organoleptiques conditionnent l'appétence et le plaisir que procure la consommation du produit, elles intègrent la couleur, la texture, l'odeur, la saveur et l'arôme (Jeantet et *al.*, 2006).

II.2. Conservation du yaourt

Les produits laitiers fermentés contenant des bactéries vivantes doivent être conservés au froid afin de garantir la présence des ferments vivants, et les bénéfiques associés, tout au long de leur durée de vie commerciale. Les bactéries lactiques mises en sommeil par la chaîne du froid montrent néanmoins une activité résiduelle : l'acidification et la protéolyse se poursuivent, même faiblement. Les caractéristiques du produit évoluent et ne peuvent être garanties au-delà d'une durée de vie en général assez courte (Danone World Newsletter, 2000).

Les laits fermentés en général, et le yoghourt en particulier, ont la caractéristique de contenir des microorganismes vivants. Cela leur confère des propriétés organoleptiques et nutritionnelles, et des effets bénéfiques sur la santé. Mais, cela implique également certaines contraintes de conservation et de délai de consommation : pour garantir aux consommateurs tous ces avantages, les produits fermentés doivent être soumis à la chaîne du froid pendant leur durée de vie.

II.2.1. Objectif de la conservation par froid

Le recours au froid constitue une pratique courante pour assurer une conservation prolongée des aliments, de quelques jours à quelques semaines (Rosset et *al.*, 2002).

A l'égard des aliments, le froid agit essentiellement en retardant l'apparition des phénomènes d'altération et en ralentissant la multiplication microbienne, notamment pour les microorganismes pathogènes. De ce fait, le recours au froid permet d'allonger la durée de vie des denrées alimentaires et d'accroître la sécurité sanitaire. Cela correspond à des effets bénéfiques pour tous les acteurs, du fabricant au consommateur final, en leur permettant, entre autres, une plus grande souplesse dans la gestion des produits. Ainsi, aujourd'hui, la grande majorité des denrées alimentaires passent, avant leur consommation, par au moins une étape de réfrigération ou de congélation (Commere, 1998).

II.2.2. Notion et rôle de la chaîne du froid

Selon l'INRA (2006), la réfrigération consiste à entreposer les aliments à une température basse, proche du point de congélation, mais toujours positive par rapport à celui-ci. Généralement, la température de réfrigération se situe aux alentours de 0°C à +4°C. A ces températures, des règles fondamentales doivent être respectées dans l'application du froid : la réfrigération doit s'appliquer à des aliments initialement sains et être continue tout au long de la filière de distribution. En fait, le froid est une technique de conservation des aliments qui arrête ou ralentit l'activité cellulaire, les réactions enzymatiques et le développement des

microorganismes. Il prolonge ainsi la durée de vie des produits frais, végétaux et animaux en limitant leur altération.

Le froid ne détruit ni les toxines ni les microorganismes éventuellement contenus dans les aliments. La majorité des microorganismes présents peuvent donc reprendre leur activité dès le retour à une température favorable (Mercy, 2011).

II.2.3. Principe de la chaîne du froid

A la fin du temps de fermentation, le yoghourt a acquis l'essentiel de ses caractéristiques nutritionnelles et organoleptiques, notamment une population bactérienne d'au moins 10^7 bactéries lactiques/g, et une concentration en acide lactique de 7 à 12 g/L. C'est à ce moment que débute la chaîne du froid : la température est abaissée rapidement à 5°C afin de stopper la fermentation et éviter une suracidification du produit, puis elle doit être maintenue à ce niveau jusqu'à la date limite de consommation, afin de conserver toutes les caractéristiques du produit. En effet, à cette température, l'activité des bactéries lactiques est fortement réduite.

Elles sont maintenues dans un état de vie au ralenti, leur population reste stable. Toute interruption de la chaîne du froid risque d'entraîner une reprise de leur activité, avec pour conséquence une évolution du goût des yoghourts (acidité, amertume) ou de leur consistance (décantation, apparition de sérum) (Rasic et Kurmann, 1978).

II.2.4. Stabilité microbiologique et physicochimique du yaourt lors de conservation

Selon Multon (1992), la stabilité est l'aptitude du produit à ne pas s'altérer trop rapidement dans les conditions d'entreposage. Cependant, Il existe deux types de stabilité ; une stabilité biologique et une stabilité physicochimique qui doivent être maîtrisées pendant toute la période de conservation (Romain et *al*, 2006).

Préparés selon une technologie rigoureuse et dans des conditions hygiéniques strictes. Ces produits (yaourts) ; peuvent se conserver environ quatre semaines sous réserve d'être maintenus à une réfrigération dans une température comprise entre (0°C) et (+4°C) (Leyral et Vierling, 2001). En effet, toute élévation sensible de la température du produit au-dessus de cette valeur provoque une accélération de la multiplication microbienne et des phénomènes de dégradation. Donc, la température de conservation du yaourt doit rester aussi constante que possible en dessous de cette limite.

La cinétique de croissance microbienne est très dépendante de pH du milieu. Il est possible de ralentir les phénomènes biologiques en s'écartant du pH optimal de la réaction, on

peut aussi limiter la croissance microbienne par acidification du milieu, c'est à dire par une fermentation lactique (Romain et *al.*, 2006). La diminution du pH entraîne la stabilité des minéraux tels que le calcium et le phosphore liés aux micelles de caséines (Accolas, 1979). Ainsi un pH bas empêche la croissance des germes pathogènes généralement sensibles à l'acidité (Veringa, 1973).

II.2.5. La viabilité des bactéries lactiques au cours de la chaîne du froid

Les deux bactéries lactiques du yaourt, *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* doivent se trouver vivantes dans le produit à raison d'au moins 10^7 bactéries.g⁻¹ (Jeantet et *al.* 2008). Pour garder ces bactéries vivantes dans les yoghourts, comme la réglementation l'exige dans la plupart des pays, une norme sur le couple température / durée de conservation est imposée pour la chaîne du froid. Au terme desquels correspond la date limite de consommation (DLC). En effet, pour une température comprise entre 1°C et 8°C, la DLC garantit au consommateur que le produit est propre à consommer des points de vue nutritionnel, organoleptique, sanitaire et bénéfiques santé. En raison de l'activité résiduelle des bactéries lactiques à 4°C, l'acidité du produit augmente lentement, affectant progressivement la viabilité des bactéries. Cette activité est d'autant plus forte que la température de conservation est supérieure à 4°C (Danone World Newsletter, 2000).

La viabilité des ferments lactiques en milieu acide à basses températures dépend des espèces bactériennes, et pour une espèce considérée, varie selon les souches.

Généralement, les souches utilisées ont été sélectionnées pour leur capacité à survivre dans ces conditions au moins jusqu'à la DLC. Les ferments spécifiques du yoghourt, *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*, présentent de bonnes aptitudes à survivre dans ces conditions. La population de *S. thermophilus* ne décroît pas de façon significative au cours d'une conservation à 4°C (Dave et Shah, 1997 ; Micanel et *al.*,1997 ; Roberts et Maust,1995) tandis que, la population de *L. bulgaricus* décroît de façon variable selon les souches : elle peut commencer à partir du 5ème jour à 4°C (Dave et Shah, 1997), ou à partir du 14ème jour (Micanel et *al.* 1997).

Dans l'état actuel des connaissances, il est difficile d'établir une règle générale sur la survie des différentes espèces de bactéries lactiques, car il existe une forte variabilité entre souches.

Enfin, et pour mieux cerner la survie de ces fameuses bactéries dans le yaourt, on a essayé de réaliser un dénombrement à différentes températures de stockage allant de 6°C, 20°C jusqu'au 37°C. Les résultats sont détaillés dans le chapitre des résultats et discussions.

III. Matériel et méthode

Notre stage a été réalisé au niveau de laboratoire du contrôle de qualité la de laiterie Trèfle situé à Blida , et cela durant les mois Avril-Mai de l'année 2012 , afin d'effectuer des analyses en suivant la stabilité du yaourt à boire fuité fraise 'bouteilles' dans le but d'évaluer les effets de la variation de la température (6°C , 20°C et 37°C) sur ses paramètres physicochimiques et microbiologiques pendant sa conservation jusqu'au sa date limite de consommation (DLC), les températures ont été choisis selon les conditions de conservation dont 6°C est la température légale de stockage, 20°C est la température ambiante en cas d'une coupure d'électricité, tandis que 37°C est considérée comme la température atteinte lors du stockage dans des conditions de la chaleur . Ainsi, notre travail consiste à suivre l'évolution des bactéries lactiques au cours du stockage en effectuant leur dénombrement au niveau de laboratoire de contrôle des produits pâtisseries MOKA (établissement Belkacemi-Blida).

III.1. Matériel

III.1.1. Matériel utilisé

Le matériel utilisé dans notre étude est constitué par :

A /Matériel biologique : les échantillons utilisés dans l'expérimentation sont 13 bouteilles d'un yaourt à boire fuité 'fraise' de marque « Trèfle », ainsi que sa matière première (la poudre de lait 26%, poudre de lactosérum, l'eau de procès, le sucre et la préparation de fruit 'fraise'). Et à titre de comparaison, 13 bouteilles de marque « Hodna » qui est de même, un yaourt à boire fuité 'fraise' ont été utilisées.

B / Matériel non biologique : à savoir l'appareillage, la verrerie, les solutions, les réactifs, les additifs et les milieux de culture sont illustrés dans l'annexe 2.

III.1.2 Mode de prélèvement :

Pour nos prélèvements on a suit la technique cité par Bourgeois et Leveau (1991).

III.1.2.1. La matière première

▪ La poudre de lait

La poudre de lait est entreposée dans un hangar à température ambiante, protégée sur des plaques en bois pour éviter tout contact avec le sol et donc éviter son altération. Cette poudre est conditionnée dans des sacs en polyéthylène de 25 kg. Les analyses ont porté sur 4 sacs du même lot. Les sacs sont ouverts à l'aide d'un cutteur, ce dernier est bien nettoyé à l'alcool et flambé, après avoir ouvert les sacs, la couche superficielle de la poudre est coulée au moyen

d'une spatule stérilisée par flambage ; en se servant d'un piston métallique stérile, et donc les échantillons de la poudre de lait à analyser sont prélevés en se rapprochant le plus possible du centre de la masse. Les échantillons sont recueillis dans des boîtes de pétri, et l'analyse s'effectue sur un échantillon résultant du mélange des quatre échantillons prélevés.

L'analyse microbiologique s'effectue juste après le prélèvement des échantillons et l'examen physicochimique se fait après quelques heures (pas plus de 24h). La boîte de pétri qui contient l'échantillon est enveloppée par un papier aluminium pour protéger le contenu de la lumière.

▪ **L'eau de procès**

La première étape du prélèvement de l'eau de procès consiste évidemment à nettoyer le robinet, le désinfecter de préférence à la flamme, et laisser couler une certaine quantité de liquide avant de faire le prélèvement, ce dernier s'effectue en soutirant une quantité suffisante de liquide dans un flacon stérile.

▪ **La poudre de lactosérum**

Le prélèvement des échantillons du lactosérum est réalisé de la même manière que la poudre de lait.

▪ **Le sucre**

Les prélèvements du sucre ont été effectués selon la même méthode que celle utilisée dans le cas de la poudre de lait. La prise d'essai est prélevée aseptiquement à partir de deux sacs de 50 kg pris au hasard.

▪ **Préparation de fruits**

Un bidon à robinet contenant la préparation de fruits de fraise est choisi aléatoirement. Le robinet est ouvert et à l'aide d'une cuillère stérile les bordures sont bien nettoyées, ensuite les échantillons sont recueillis dans une boîte de pétri, à l'aide d'une spatule le reste du fruit est raclé dans le robinet et rincé avec de l'eau.

L'analyse microbiologique des fruits s'effectue juste après le prélèvement, tandis que l'analyse physicochimique se fait après quelques heures.

Le prélèvement de la matière première s'effectue toujours près d'une flamme pour la stérilisation.

III.1.2.2. Le produit fini

Pour la marque Trèfle, les prélèvements du produit fini se font au hasard directement à la sortie de la chaîne de fabrication et avant d'être acheminés vers la chambre froide.

En ce qui concerne la marque Hodna, qui est produite au niveau de la wilaya de M'sila et distribuée dans la wilaya de Blida après 2 jours de sa fabrication, nous avons acheté 13 bouteilles d'une même date de fabrication qui ont été transportées dans une glacière au laboratoire où nos analyses ont été effectuées.

Avant de commencer l'analyse, la surface des bouchons des bouteilles est nettoyée à l'alcool, l'ouverture des bouteilles se fait près d'une flamme.

- Conservation des échantillons de produit fini :

Pour les deux marques Trèfle et Hodna, les analyses ont été réalisées chaque semaine, après leur conservation dans trois températures : quatre bouteilles sont laissées à une température ambiante, cinq conservées à une température de 6°C et d'autres quatre bouteilles sont conservées à une température de 37°C durant toute la période d'analyse (environ 28 jours jusqu'à sa DLC).

III.2. Méthodes d'analyses

III.2.1. Analyses physicochimiques

Les analyses physicochimiques ont pour but de déterminer la stabilité et la consistance d'un produit afin de conserver ses caractéristiques nutritionnelles, vitaminiques et organoleptiques, il présente l'avantage de signaler les erreurs de fabrication puis renseigne les remèdes possibles à appliquer.

Les analyses physicochimiques qu'on a réalisé au niveau de laboratoire de l'unité de Trèfle ont porté sur la matière première et le produit fini de la marque Trèfle, ainsi que le produit fini Hodna.

Les principales analyses et mesures physicochimiques effectuées se basent sur les mêmes principes, que se soit pour le produit fini ou pour la matière première donc, afin d'éviter la répétition de la description de ces principes dans chaque analyse on a préféré de les présenter ici, une fois pour toute. Les paramètres sont les suivants :

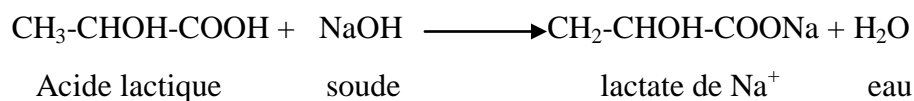
1. Mesure du pH

C'est le potentiel chimique des ions H^+ dans une solution. Il est mesuré à l'aide pH-mètre : qui est équipé d'une sonde de température et une sonde de pH ; il doit être toujours étalonné chaque matin avant toute utilisation.

2. L'acidité titrable

Le Principe consiste à titrer l'acidité par l'hydroxyde de sodium en présence de phénolphaléine comme indicateur limitant la neutralisation par changement de couleur.

La méthode est basée sur la réaction chimique suivante :



(Guiraud ,1998)

3. La matière grasse

La détermination du taux de la matière grasse se fait selon la méthode de Gerber basée sur l'utilisation de l'acide sulfurique pour la dissolution des protéines et l'addition d'alcool iso-amylique pour la séparation de la matière grasse.

4. L'extrait sec total:

La matière sèche est la fraction massique des substances restantes après la dessiccation complète de l'échantillon, elle est exprimée en pourcentage. Le principe repose sur la dessiccation par évaporation de l'eau que contient l'échantillon à analyser sous l'effet d'une source de chaleur qui est la lumière de l'infrarouge.

5. Les analyses effectuées ont portées aussi sur l'eau de procès à savoir la mesure du pH, la détermination du (TA, TAC, TH) ainsi que dosage de chlorure (Cl⁻) et de chlore libre (Cl₂).

Les paramètres étudiés dans l'analyse physicochimique sur les différents produits sont indiquées dans le tableau suivant :

Tableau III : Les paramètres étudiés dans l'analyse physicochimique

Produit	Les paramètres étudiés	Appareil et réactif utilisé
Poudre de lait	pH	pH-mètre électronique
	Acidité	Acidimètre
	Teneur en matière grasse	butyromètre
	Extrait sec total	Dessiccateur
	Humidité	100% - EST
Poudre de lactosérum	pH	pH-mètre électronique
	Extrait sec total	Dessiccateur
	Humidité	100% - EST
Eau de procès	Température	-Thermomètre électronique
	pH	-pH-mètre électronique
	Titre Alcalimétrique(TA) Titre Alcalimétrique Complet(TAC)	-Phénolphtaléine -Acide fort (H ₂ SO ₄ ,Hcl) , -Méthylorange
	Titre Hydrométrique (TH)	-Solution de sel disodique d'acide EDTA de 0,01N , Noir D'Eriochrome T (NET), Solution tampon pH=10
	Dosage de chlorure	-Acide nitrique pure
	Dosage de chlorure libre	-Solution de nitrate d'argent de 0 ,1N
Sucre	Extrait sec total	Dessiccateur
	Teneur en eau	100%-EST
	Degré Brix	Réfractomètre
Produit fini	Température	Thermomètre électronique
	pH	pH-mètre électronique
	Acidité titrable	Acidimètre
	Matière grasse	Butyromètre
	Extrait sec total	Dessiccateur

III.2.1.1. L'eau de procès

1. Détermination du pH (Norme AFNOR : NF T01-013,1974)

On fait plonger les deux sondes du pH-mètre dans notre produit, et lire directement la valeur indiquée sur l'appareil du pH-mètre.

NB : La détermination des paramètres physicochimiques de l'eau de process a été réalisée par des méthodes recommandées par l'unité de trèfle, dans leur manuel établi en 2005.

2. Détermination de l'alcalinité (TA, TAC)

Le titre alcalin ou TA mesure la teneur de l'eau en ions hydroxydes et de la demi-concentration en ions carbonates (Hakmi, 1994).

Le titre alcalimétrique complet ou TAC correspond à la teneur de l'eau en alcalis libres, la demi-concentration en ions carbonates et le bicarbonate (Hakmi, 1994).

$$\text{TAC} = [\text{OH}^-] + 1/2 [\text{CO}_3^{2-}] + [\text{HCO}_3^-]$$

La détermination de ces deux paramètres est basée sur la neutralisation d'un certain volume de l'eau par un acide minéral dilué, en présence d'un indicateur coloré.

Le mode opératoire et l'expression des résultats se font de la manière suivante :

▪ Détermination du TA (Titre Alcalimétrique)

Dans un bécher, 100 ml de l'eau à analyser sont prélevés, ensuite 2 gouttes de phénol phtaléine (indicateur coloré) sont ajoutées.

Une coloration rose doit se développer ; dans le cas contraire (pas de coloration) la valeur de TA=0, en cas de coloration rose ; l'acide sulfurique est versé doucement à l'aide d'une burette, en agitant constamment et ceci jusqu'à décoloration complète de la solution.

S'il n'y a pas de coloration, la valeur de TA=0, sinon V est le volume de l'acide sulfurique nécessaire pour la décoloration de la solution qui est exprimée en degré français (F°), où V/5 exprime le titre alcalimétrique en milliéquivalent gramme par litre.

$$\text{TA} = V$$

TA : Le titre alcalimétrique exprime en degré français (F°).

V : le volume d'acide sulfurique en ml pour obtenir le virage.

▪ Détermination du TAC (Titre Alcalimétrique Complet)

L'échantillon traité précédemment est utilisé pour cette analyse, on ajoute 2 gouttes de méthyle orange, ensuite l'échantillon est titré de nouveau avec l'acide sulfurique à 0,002 N jusqu'au virage du jaune au jaune orangé (pH = 4,3), soit V^{\wedge} le volume l'acide sulfurique à 0,002 N versé depuis le début du dosage.

$$\text{TAC} = V^{\wedge}$$

TAC : titre alcalimétrique complet en (°F).

V^{\wedge} : volume de l'acide sulfurique en ml versé depuis le début du dosage.

Le résultat du TAC est donné par lecture directe sur la burette du volume de l'acide sulfurique utilisé pour titrage

3. Détermination de la dureté de l'eau TH (Titre Hydrométrique) (NA-1655,1994)

Le titre hydrométrique (TH) indique la teneur totale de l'eau en sel de calcium et magnésium, la dureté d'une eau est proportionnelle au nombre total d'atomes de calcium et de magnésium qu'elle renferme (Lauze, 2002).

$$\text{TH} = [\text{Ca}^{+2}] + [\text{Mg}^{+2}]$$

Le principe consiste à doser un échantillon d'eau avec l'acide éthylène-diamine-tétracétique (EDTA) en présence de noir ériochrome comme indicateur coloré dans un milieu tampon.

Le mode opératoire ainsi que l'expression des résultats sont expliqués ci-dessous :

On introduit 100 ml d'eau à analyser et on les transfère dans un erlenmeyer de 250ml. Puis, on ajoute 10 ml de la solution tampon ammoniacal « pH= 10 ». Ensuite on additionne 2 gouttes de noir ériochrome .

- Si la coloration vire au bleu, TH= 0.

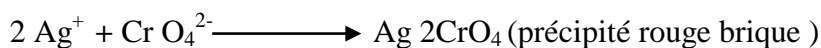
-Si la coloration vire vers le violet, on titre avec la solution EDTA (0,02N) jusqu'à coloration bleue.

Le volume de l'EDTA correspond au titre hydrométrique (TH) exprimé en degré français « °F ».

$$\text{TH (}^{\circ}\text{F)} = V$$

4. Dosage de chlorures (Cl⁻)

Entendre par les chlorures l'ensemble du chlore sous forme Cl⁻ ou NaCl en solution, les chlorures sont dosés en milieu neutre par une solution titrée de nitrate d'argent en présence de chromate de potassium. La fin de réaction est indiquée par l'apparition d'une couleur rouge brique caractéristique du chromate d'argent.



Le mode opératoire et l'expression des résultats sont détaillés ci-après:

Dans un bécher, 100 ml de l'eau sont introduites. Ensuite, 4 à 5 gouttes de chromate de potassium (K₂CrO₄) sont ajoutées, et par suivant la solution est titrée avec nitrate d'argent à (0,1N) jusqu'au virage du jaune au rouge brique.

La concentration en ions chlorés est donnée par la formule suivante :

$$\text{Cl}^- \text{ (mg / l)} = (\text{V} - 0,9) \times 35,5$$

V : volume de AgNO₃ (0,1N) qui servi au titrage.

0,9 : volume d'AgNO₃ (0,1N) nécessaire pour l'obtention de la même teinte rouge dans un essai à blanc avec 100 ml d'eau distillée.

35,5 : masse moléculaire du chlore.

5. Dosage de chlore libre (Cl₂)

Cette méthode décrit la mesure de la concentration du chlore libre dans l'eau, le principe consiste à utiliser un comparateur Palintest qui fonctionne avec des disques colorés interchangeables, il sert à comparer la couleur obtenue dans le test avec des cellules (couleurs) du disque coloré.

Le mode opératoire ainsi que l'expression des résultats sont décrit ci-dessous :

On remplit l'échantillon dans un tube de 10 ml et on ajoute après, une pastille DPD, ensuite on place le tube traité sur le coté droit du compartiment au dos du comparateur. Après, on place un deuxième tube ne contenant que l'échantillon à analyser sur le coté gauche afin de tenir compte de la couleur éventuelle de l'échantillon. On doit positionner face à une source de lumière blanche en faisant tourner le disque jusqu'à l'obtention de deux couleurs identiques. Le résultat apparait directement dans le trou sur le devant du boîtier.

III.2.1.2. La poudre de lait

1. Mesure du pH (Norme AFNOR : NF T01-013,1974)

Deux grammes de poudre de lait sont mis dans un bécher de 100 ml, ensuite 20ml de l'eau distillée sont ajoutée, bien mélanger. La valeur du pH est déterminée directement en lisant la valeur indiquée par le pH-mètre électronique, après avoir plongé les deux sondes dans la solution préparée.

2. Détermination de la l'acidité titrable (Norme Internationale : ISO 11869, 1997)

Après avoir dilué 2g de poudre dans 20 ml d'eau distillée dans un bécher, deux gouttes de phénolphtaléine son ajoutées. Ensuite, une titration est réalisée par une solution sodique (0,1N) jusqu' au virage de l'incolore au rose qui persiste environ 10 secondes.

Le résultat égale le volume de l'acide utilisé pour la titration, donc 1ml de NaOH correspond à 10°D et 1°D correspond à 0,1g/l d'acide lactique.

3. Détermination de la matière grasse (Norme Internationale : ISO 1736, 1994)

Dans le butyromètre de Teichert et à l'aide d'un doseur on introduit 10 ml de l'acide sulfurique, ensuite on ajoute 10 ml d'eau distillée à l'aide d'une pipette en laissant se vider très lentement afin d'éviter un mélange avec l'acide, après on introduit 2,5g de la poudre de lait et 1ml d'alcool iso-amylque. Le butyromètre est ensuite bouché avec un bouchon propre et sec. En position verticale, le butyromètre est retourné et secoué à plusieurs reprises afin de rendre le mélange homogène, ensuite il est maintenu de façon que le bouchon vers le haut ; en attendant que l'ampoule terminale est entièrement remplie par le mélange. Enfin, il est centrifugé à 1200 tours/mn pendant 5 mn à température de 55°C.

Le butyromètre est ensuite retiré de la centrifugeuse, en ajustant le bouchon si nécessaire afin de ramener la colonne de matière grasse dans la partie graduée.

La teneur en matière grasse du produit exprimé en pourcentage massique est déterminée par l'expression suivante :

$$MG \% = n_1 - n_2$$

MG : Matière grasse en %.

n_1 : Valeur atteinte par le niveau supérieur de la colonne grasse en %.

n_2 : Valeur atteinte par le niveau inférieur de la colonne grasse en %.

4. Détermination de l'extrait sec total (Norme Internationale : ISO 13580, 2005)

La teneur en extrait sec total est déterminée par une méthode simple, rapide donnant des valeurs approximatives et répondant aux exigences de l'unité par la remise des résultats en espace de quelques minutes, elle répond au mode opératoire suivant :

On place une coupelle en aluminium sur la balance qui se trouve à l'intérieur de la chambre chaude du dessiccateur électronique, on tare, on dépose 2g d'échantillon à analyser à la surface de la coupelle puis on démarre l'analyse en appuyant sur la touche START de l'appareil qui s'arrêtera automatiquement à la fin de l'analyse.

Le résultat s'affiche directement sur l'écran de l'appareil en pourcentage massique de la matière sèche par rapport au totale.

5. Détermination du taux d'humidité (Norme Internationale : ISO 13580, 2005)

Elle se fait suite au calcul de l'EST dans un dessiccateur, suivant le mode opératoire précédemment décrit et est exprimée en pourcentage de masse ou bien elle est donnée par la formule suivante :

$$H\% = 100\% - EST$$

H% : teneur en eau en%.

EST : extrait sec total.

III.2.1.3. Le sucre

La détermination de l'extrait sec total ainsi que le taux d'humidité se fait de la même façon que la poudre de lait.

III.2.1.4. la préparation de fruits

Les analyses physicochimiques concernant les fruits nécessitent une dilution comme suit :

Cinq grammes de préparation de fruit sont pesés dans un bécher et sont complétés avec 20ml de l'eau distillée. Le mélange est ensuite bien agité afin d'assurer une bonne homogénéisation.

1. Mesure du pH

Elle se fait par la même méthode que celle de l'eau.

2. Détermination du degré Brix (Norme Internationale, ISO 2173,2003)

Le degré Brix mesure le taux de matières sèches solubles (pas nécessairement le saccharose uniquement) contenues dans une solution sucrée, exprimé en degré Brix ou en pourcentage de masse (g/100g), ou alors un pourcentage de volume (ml/100ml)

Le principe consiste à placer le jus de fruits dans un réfractomètre à main, en suivant le mode opératoire suivant (figure n°6):

Une petite quantité de solution de jus de fruits est placée dans le réfractomètre, le résultat est trouvé directement sur l'appareil en plaçant ce dernier face à une source de lumière.

Le résultat est la limite entre la phase claire et la phase sombre du réfractomètre.

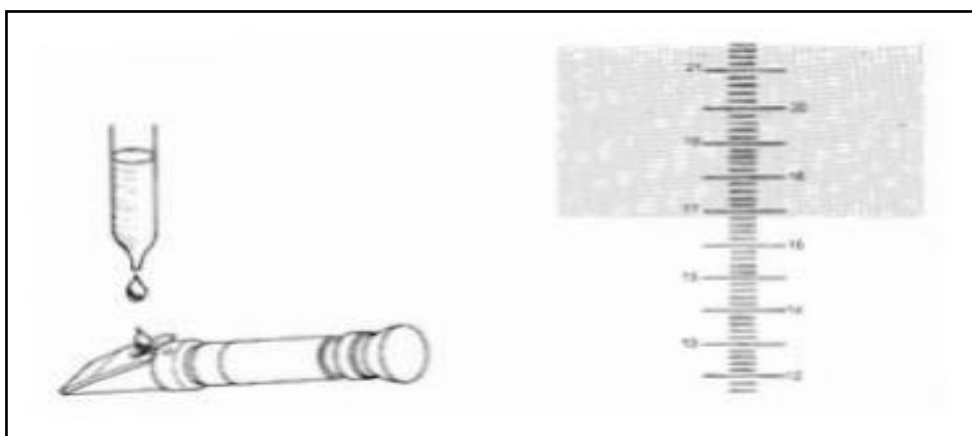


Figure n°6 : Schéma représentant la méthode de la mesure du degré Brix

III.2.1.5. Poudre de lactosérum

La détermination de la matière grasse, l'extrait sec total ainsi que le taux d'humidité est réalisée par la même méthode que celle de la poudre de lait.

III.2.1.6. Produit fini

1. Mesure du pH (Norme AFNOR : NF T01-013,1974)

Elle consiste à une mesure directe du pH du yaourt à l'aide d'un pH-mètre électronique ceci est réalisé en plongeant les deux sondes dans l'échantillon à analyser et en attendant jusqu'à la stabilité du pH, enfin on lit directement sur l'appareil la valeur du pH trouvée.

2. Détermination de la l'acidité titrable (Norme Internationale : ISO 11869, 1997)

A l'aide d'une pipette de 10 ml on prélève 10 ml d'échantillon à analyser, ensuite on ajoute

deux gouttes de phénolphthaléine. Puis, on titre avec la soude (N /9) jusqu'au virage au rose qui persiste environ 10 secondes.

L'acidité (A) est exprimée en degré Dornic et est donnée par la relation suivante :

$$A = 10 \cdot V$$

V : volume en ml de la solution sodique utilisé pour le titrage.

10 ml: la prise d'essai.

3. Détermination de la matière grasse (Norme Internationale : ISO 1736, 1994)

Dans le butyromètre Gerber, 10ml d'acide sulfurique (H_2SO_4) et 11ml de l'échantillon sont introduites en évitant un mélange prématuré de l'échantillon avec l'acide sulfurique, puis 1ml d'alcool isoamylique est versé à la surface du yaourt et enfin le butyromètre est bouché avec soin et mélangé par agitation latérale jusqu'à dissolution complète de la matière lipidique ensuite, on procède à la centrifugation, aussitôt après l'agitation précédente, sans laisser refroidir le butyromètre. La durée effective de cette centrifugation doit être de 5 minutes. Après avoir retiré de la centrifugeuse, le butyromètre est placé verticalement, bouchon en bas, afin de procéder à la lecture.

La teneur en matière grasse du yaourt exprimé en pourcentage massique est déterminée par l'expression suivante :

$$MG \% = n_1 - n_2$$

MG : Matière grasse en %.

n_1 : Valeur atteinte par le niveau supérieur de la colonne grasse en %.

n_2 : Valeur atteinte par le niveau inférieur de la colonne grasse en %.

4. Détermination de l'extrait sec total et le taux d'humidité : (Norme Internationale : ISO 13580, 2005)

Ils ont déterminés de la même méthode que celle de la poudre de lait.

III.2.2. Analyses microbiologiques

Les analyses microbiologiques visent à la recherche et le dénombrement de la microflore à incidence sanitaire et technologique, c'est-à-dire les germes responsables des accidents de fabrication et /ou ceux impliqués dans des altérations de la qualité organoleptique et marchande du produit.

Ils permettent également de s'assurer que les laits fermentés seront stables pendant toute la durée de commercialisation.

Une recherche et un dénombrement des microorganismes contaminants la matière première ainsi que le produit fini, ont été effectués afin de vérifier que notre yaourt répond aux normes réglementaires.

L'analyse microbiologique a porté sur la recherche des germes indicateurs de la contamination fécale tels que les *coliformes fécaux et totaux*, des germes *aérobies mésophiles* et des *Streptocoques fécaux*, des *Staphylococcus aureus*, des *Clostridium sulfitoréducteur* et des *salmonelles*. Et aussi la recherche des levures et des moisissures.

Ainsi un dénombrement de la flore lactique spécifique du yaourt à savoir *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* a été effectué afin de suivre leur évolution à différentes températures.

L'ensemble des analyses microbiologiques effectuées sur la matière première et le produit fini sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau IV: Les germes recherchés dans la matière première, les ingrédients et le produit fini

Produit	Germes recherchés	Milieu de culture utilisé	Incubation
<ul style="list-style-type: none"> • Poudre de lait • Poudre de lactosérum • Sucre • Préparation de fruits 	<i>Germes aérobies mésophiles totaux</i>	PCA	30°C / 72h
	<i>Coliformes totaux</i>	VRBL	37°C / 24h à 48h
	<i>Coliformes fécaux</i>	VRBL	44°C / 24h à 48h
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Giolitti Cantoni(GC), Chapman	37°C / 24h à 48h
	<i>Clostridium sulfitoréducteur</i>	VF	37°C / 24h à 48h
	<i>Salmonelles</i>	SFB (Enrichissement)- Hektoène	37°C / 24h à 48h
	Levures et moisissures	Sabouraud ou OGA	20°C / 5j
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Produit fini 	Les mêmes germes sont recherchés que pour les ingrédients précédant	les mêmes milieux de cultures	Les mêmes conditions d'incubations
	<i>Streptococcus thermophilus</i>	M17	37° C / 72 h
	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	MRS	37° C / 72 h
<ul style="list-style-type: none"> ▪ L'eau de procès 	<i>Germes aérobies mésophiles totaux</i>	PCA	37°C / 72h
	<i>Coliformes totaux</i>	BCPL	37°C / 24h à 48h
	<i>Coliformes fécaux</i>	BCPL + Schubert	44°C / 24h à 48h
	<i>Clostridium sulfitoréducteur</i>	VF	37°C / 24h à 48h
	<i>Streptocoques fécaux</i>	Rothe + milieu Eva-Litsky	37°C / 24h

III.2.2.1. L'eau de procès

1. Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux à 22°C et à 37°C (Norme Internationale : ISO 6222, 1999)

Appelés aussi « Flore totale » ou nombre très approximatif des germes qui se trouvent dans les produits alimentaires. Cette technique permet le dénombrement de la flore mésophile totale susceptible de donner des colonies visibles en se développant en anaérobiose et dont la propriété est d'avoir un optimal de croissance.

Le mode opératoire (annexe 3) ainsi que la lecture se font comme suit :

A partir de l'eau du procès à analyser, 1 ml est porté aseptiquement 2 fois dans deux boîtes de Pétri vides. Après, chacune des boîtes est complétée avec environ 20 ml de gélose PCA (Plate Count Agar) préalablement fondue et refroidie. Ensuite des mouvements circulaires en forme de « 8 » et de va-et-vient sont faites pour permettre le mélange de l'inoculum à la gélose. Enfin, les boîtes sont laissées solidifier sur paillasse.

La première boîte sera incubée à 22°C, pendant 72 heures, tandis que la seconde sera incubée à 37°C, pendant 72 heures.

Les germes aérobies mésophiles se présentent dans les deux cas sous forme de colonies lenticulaires poussant en masse.

Pour le dénombrement, il s'agit de dénombrer toutes les colonies, en tenant compte de deux remarques suivantes :

- 1- seules les boîtes contenant entre 30 et 300 colonies qui seront dénombrées.
- 2- Le résultat sera exprimé en UFC par millilitre d'eau analysée à 22° et à 37°C.

2. Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux (Norme Internationale : ISO 7899-1, 1998)

La technique de numération des *Streptocoques* est basée sur la succession d'un milieu sélectif présomptif (milieu Rothe) et d'un milieu sélectif de confirmation (milieu liquide d'Eva Litsky).

Cette recherche est réalisée en deux tests (annexe 4) :

test de présomption

L'ensemencement se fait par une série de tubes ; à partir de l'eau du procès à analyser, on porte aseptiquement 50ml d'échantillon dans un flacon contenant 50ml de Rothe D/C. Ensuite, 10 ml de l'eau à analyser sont versés dans chacun des 5 tubes contenant chacun 10 ml de milieu Rothe D/C. Après, 1ml d'échantillon est ajoutée pour chacun des 5 tubes contenant

chacun 10 ml du milieu Rothe S/C. Enfin, les tubes et le flacon seront incubés dans une étuve à 37°C pendant 24 à 48h.

Sont considérés comme positifs les tubes présentant un trouble microbien.

test de confirmation

Le test de confirmation est basé sur la confirmation des *Streptocoques fécaux* éventuellement présent dans le test de présomption, quelques gouttes sont prélevées à partir de chaque tube positif et ensemencées sur milieu Eva-Litsky, ensuite le milieu et l'inoculum sont bien mélangés. L'incubation se fait 37°C pendant 24h. Sont considérés comme positifs les tubes présentant à la fois un trouble microbien, et un anneau de couleur légèrement violette (blanchâtre) au fond des tubes.

La lecture finale s'effectue également selon ses prescriptions de la table du NPP (annexe 19), et les résultats sont exprimés en grammes /100 ml d'eau à analyser.

3. Recherche et dénombrement des Coliformes totaux et fécaux (Norme Internationale : ISO 9308-2, 1990)

La recherche et le dénombrement des *Coliformes* dans l'eau, se font en milieu liquide sur BCPL (Bouillon lactosé au pourpre de promocrésol) de couleur violet par la technique du NPP (Nombre le Plus Probable), La technique en milieu liquide fait appel à deux tests consécutifs :

Un test de présomption qui est réservé à la recherche des *coliformes totaux*. Un deuxième test de confirmation, appelé encore test de Mackenzie est réservé pour la recherche des *coliformes fécaux* à partir des tubes positifs du test de présomption.

Selon Guiraud (1998), la technique de recherche et dénombrement des *coliformes totaux* et fécaux dans l'eau est la suivante (annexe 5) :

test de présomption

A partir de l'eau du procès à analyser, on porte aseptiquement 50 ml d'échantillon dans un flacon contenant 50 ml de BCPL (D/C) + la cloche de Durham. Ensuite, 10 ml de l'eau à analyser sont versés dans chacun des 5 tubes contenant chacun 9 ml de BCPL (D/C) + la cloche de Durham. Après, 1 ml d'échantillon est ajoutée pour chacun des 5 tubes contenant chacun 9 ml de BCPL (S/C) + la cloche de Durham.

Enfin, les tubes et le flacon seront homogénéisés et incubés dans une étuve à 37°C pendant 24 à 48h.

Les tubes présentant à la fois un trouble microbien accompagné d'un virage de la couleur du milieu du violet au jaune, avec un dégagement gazeux (supérieur au 1/10^{ème} du volume de la cloche), sont considérés comme résultats positifs confirmant la présence des coliformes totaux.

La lecture finale se fait selon les prescriptions de la table du NPP qui figure en annexe 19, et les résultats sont exprimés en nombre de coliformes totaux /100 ml.

test de confirmation (test de Mackenzie)

Le test de confirmation ou test de Mackenzie est basé sur la recherche des *coliformes* thermotolérants parmi lesquels on redoute surtout la présence d'*Escherichia coli*.

Escherichia coli est un coliforme thermotolérant qui entre autre produit de l'indole à partir du tryptophane à 44°C.

Les tubes de BCPL trouvés positif lors du dénombrement des *coliformes totaux* feront l'objet d'un repiquage à l'aide d'une anse bouclée dans un tube contenant le milieu de Schubert muni d'une cloche de Durham. Les tubes seront homogénéisés et incubés dans une étuve à 44°C pendant 24 à 48h.

Sont considérés comme positifs les tubes présentant à la fois ; un dégagement gazeux et un anneau rouge en surface, témoin de la production d'indole par *Escherichia coli* après adjonction de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs.

La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table du NPP .

4. Recherche et dénombrement des *Clostridium sulfitoréducteur* (Norme Française : NF T90-415, 1985)

Les anaérobies sulfitoréducteur (ASR) se présentent sous forme de bactéries Gram positif, se développant en 24 à 48 heures sur une gélose viande foie (VF) en donnant des colonies typiques réduisant le sulfite de sodium (Na₂SO₃) qui se trouve dans le milieu, en sulfure qui en présence de Fe²⁺ donne FeS (sulfure de fer) de couleur noire.

La méthode de recherche des *Clostridium sulfitoréducteur* est réalisée comme suit (annexe 6):

A partir de l'eau du procès à analyser 25 ml sont mis dans un tube stérile, qui sera par la suite soumis à un chauffage à 80 °C pendant 8 à 10 minutes, dans le but de détruire toutes les formes végétatives des ASR éventuellement présentes. Après chauffage, le tube en question est refroidi immédiatement, sous l'eau de robinet. Ensuite, le contenu de ce tube est réparti

dans 4 tubes différents, à raison de 5ml par tube. Après, environ 18 à 20 ml de gélose VF, fondue puis refroidie à 45°C sont ajoutés.

Le milieu et l'inoculum sont mélangés doucement en évitant les bulles d'air et en évitant l'introduction d'oxygène. Enfin, ces tubes sont laissés solidifier sur paille pendant 30 minutes environ, puis incubés à 37°C, pendant 24 à 48 heures.

Une première lecture doit absolument être faite à 16 heures car très souvent les colonies des ASR sont envahissantes auquel cas on se trouverait en face d'un tube complètement noir rendant ainsi l'interprétation difficile voire impossible. Et une deuxième lecture se fera à 24 heures et la dernière et la troisième et dernière à 48 heures.

Les colonies caractéristiques de couleur noire et de 5 mm de diamètre qui seront dénombrées. Le résultat est exprimé en nombre de spores / 20 ml d'eau à analyser.

III.2.2.2. La poudre de lait, la poudre du lactosérum, préparation de fruits, le sucre et produit fini :

- Préparation de la solution mère et des dilutions décimales (Norme Internationale : ISO 7218, 2001)

On introduit aseptiquement 25g de produit à analyser dans un flacon stérile contenant au préalable 225 ml de TSE (Tryptone, Sel, Eau). Ensuite, on homogénéise par des mouvements de va-et-vient pendant 3 à 5 minutes, pour obtenir une suspension homogène. Cette suspension correspond à la dilution 10^{-1} .

A partir de la solution mère (10^{-1}) un volume de 1ml est prélevé aseptiquement à l'aide d'une pipette graduée et introduit dans un tube stérile contenant 9 ml de TSE. Le mélange est bien homogénéisé pour obtenir la dilution 10^{-2} . Ensuite 1ml de la dilution précédente (10^{-2}) est prélevé aseptiquement et introduit dans un autre tube stérile contenant 9 ml de TSE. Le mélange est homogénéisé pour obtenir la dilution 10^{-3} . Et ainsi de suite pour les dilutions (10^{-4}) (10^{-5}) (10^{-6}) (10^{-7}) ... (10^{-n}) (voir annexe 7).

1. Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux (Norme Internationale : ISO 4833, 2003)

La microflore aérobique mésophile est l'ensemble des micro-organismes aptes à se multiplier à l'air et aux températures moyennes, plus précisément ceux dont la température optimale de croissance est située entre 25° et 40°C. On peut dire que le dénombrement de la flore totale

reste la meilleure méthode d'appréciation de la qualité microbiologique générale des aliments.

Un aliment dont la flore totale est trop élevée montrera les mauvaises conditions de conservation et sera considéré comme impropre à la consommation (Bengharbia et Saâdat, 2010)

Le principe de la méthode, le mode opératoire (annexe 8) ainsi que la lecture et le dénombrement sont détaillés ci-dessous :

Le dénombrement des germes aérobies mésophiles est réalisé sur gélose PCA (Plan Acount Agar) par un ensemencement en profondeur ou en masse, et comptage des colonies lenticulaires obtenues.

On porte aseptiquement 1 ml à partir des dilutions décimales allant de 10^{-3} à 10^{-1} dans chacune des boîtes de Pétri vides préparées à cet usage et numérotées, puis on complète avec environ 15 ml de gélose PCA. Ensuite, on réalise des mouvements circulaires de va-et-vient en forme de « 8 » afin de permettre le mélange de l'inoculum et la gélose, à la fin on laisse solidifier sur paillasse, puis on rajoute une deuxième couche d'environ 5 ml de la même gélose, cette double couche a un rôle protecteur contre les contaminations diverses. Les boîtes sont incubées couvercle en bas à 30°C pendant 24, 48 à 72 heures.

Le dénombrement est effectué en prenant compte le nombre des colonies lenticulaires en masse (blanchâtres) compris entre 30 à 300 colonies. Les résultats exprimés représentent les moyennes des colonies qu'on multiplie par l'inverse de la dilution et le résultat final est exprimé en UFC /g de produit analysé.

2. Recherche et dénombrement des *Coliformes totaux et fécaux* (Norme Internationale : ISO 4832 , 2006)

La présence des *coliformes totaux* dans les aliments indique un traitement thermique inefficace ou une contamination subséquente au traitement. Ils peuvent aussi démontrer un mauvais nettoyage et une mauvaise désinfection des matériels de transformation. Ils se distinguent des autres entérobactéries par leur aptitude à fermenter le lactose (Benaouda et Bergaoui, 2012).

Sur la gélose VRBL (Gélose Lactosée Biliée au Cristal Violet et au Rouge neutre), le développement de plupart des bactéries n'appartenant plus à la famille des entérobactéries est inhibé par le cristal violet et les sels biliaires. La fermentation du lactose est mise en évidence par le virage de l'indicateur au rouge (Guiraud, 1998).

Dans le but de dénombrer les coliformes totaux dans nos échantillons, nous avons suivi la méthode suivante (annexe 9) :

A partir des dilutions décimales 10^{-3} à 10^{-1} , 1ml de chaque dilution est porté aseptiquement deux fois dans deux boites de Pétri vide préparée à cet usage (une pour les coliformes totaux et l'autre pour les coliformes fécaux). Après, chaque boite sera complétée avec 15 ml de gélose VRBL préalablement fondue et refroidie. Puis, des mouvements circulaires en forme de « 8 » et de va-et- vient seront faites pour bien mélanger la gélose à l'inoculum, les boites seront ensuite laissées solidifier sur la paillasse.

L'incubation se fait pendant 24 à 48 h à 37°C pour les *coliformes* totaux et à 44°C pour la deuxième série qui servira à la recherche des *coliformes* fécaux.

On va dénombrer les boites contenant entre 30 et 300 colonies de couleur rouge foncé, brillantes de 0,5mm de diamètre. Enfin, le nombre trouvé est multiplié par l'inverse de la dilution.

3. Recherche et dénombrement des *Clostridium sulfitoréducteur* (Norme Internationale : ISO 7218, 2001)

Ce sont des bacilles Gram positif appartenant à la famille *Bacilliaceae*, sporulées anaérobies strictes et généralement mobiles. Leur présence est un indicateur de contamination fécale, il est à noter que certaines espèces de *Clostridium* sont responsables d'intoxication chez l'homme, il s'agit entre autre de *Clostridium perfringens*.

Les anaérobies sulfito-réducteurs (ASR) se présentent sous forme de bactéries Gram positif et se développent pendant 24h à 48h sur une gélose viande foie (VF), en donnant des colonies typiques réduisant le sulfite de sodium (Na_2SO_3) qui se trouve dans le milieu, en sulfure qui en présence de Fe^{2+} donne FeS sulfure de fer de couleur noir.

Afin de dénombrer les *Clostridium sulfitoréducteur* dans nos échantillons, on s'est guidé par la méthode suivante (annexe 10) :

Au moment de l'emploi, on fait fondre un flacon de gélose VF, le refroidir dans un bain d'eau à 45°C puis, on ajoute une ampoule d'Alun de Fer et une ampoule de sulfite de sodium. Par la suite, 1ml de l'échantillon à analyser (dilution 10^{-1} à 10^{-3}) estensemencé dans des tubes à essais contenant 9ml d'eau physiologique, ces derniers sont soumis par la suite à un chauffage au bain marie à 80°C pendant 10 minutes suivi d'un refroidissement sous l'eau de robinet, afin d'éliminer les formes végétatives et de garder uniquement les formes sporulées.

Ensuite, 15 ml de gélose VF préparée précédemment sont ajoutés dans chaque tube. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 h.

Les colonies dans la profondeur de la gélose, donc en anaérobiose, entourées d'un halo noir (réduction des sulfites en sulfure et précipitation du sulfure de fer) sont des colonies correspondant aux spores thermorésistantes d'ASR. Les résultats sont exprimés par le nombre de spores par ml ou par gramme de produit.

4. Recherche et dénombrement des *Staphylococcus aureus* (Norme Internationale : ISO 6888-1, 1999)

Les *Staphylococcus aureus* appartiennent à la famille des *Micrococcaceae*. Ce sont des cocci à Gram positif, non sporulés, aéro-anaérobies facultatifs, immobiles, halophiles, se divisent en plusieurs plans en formant des amas irréguliers, coagulase, protéase et catalase positives (Bourgois et al., 1996). Se sont des germes pathogènes, toxinogènes que l'on trouve particulièrement dans le pus, le germe n'est pas thermostable, mais sa toxine est thermostable.

L'enrichissement sur milieu Giolitti Cantonii (GC) permet une revivification idéale des souches stressées par la réduction de téllurite de potassium en tellure responsable de la coloration noire. Tandis que, le milieu d'isolement Chapman, grâce à son taux élevé en NaCl (7.5%) permet à la fois le développement des *staphylocoques* et l'inhibition des autres germes. La fermentation du mannitol est mise en évidence par le virage du rouge de phénol au jaune.

A partir des dilutions décimales 10^{-3} à 10^{-1} , 1 ml par dilution est porté aseptiquement dans un tube à vis stérile. Par la suite, environ 15 ml du milieu d'enrichissement GC additionné du tellurite de potassium sont Ajoutés, le milieu et l'inoculum doivent être bien mélangés. Les tubes sont incubés à 37°C pendant 24 à 48 h.

Seront considérés positif, les tubes ayant virés au noir. Pour s'assurer qu'il s'agit bien d'un développement de *Staphylococcus aureus*, ces tubes feront l'objet d'une confirmation par l'isolement sur gélose Chapman préalablement fondue. Les boîtes de Chapman ainsiensemencées seront incubées à leur tour à 37°C pendant 24 à 48 h.

Après ce délai, on va repérer les colonies suspectes à savoir les colonies de taille moyenne, lisses, brillantes, pigmentées en jaune (annexe 11).

5. Recherche et dénombrement de *Salmonella* (Norme Internationale: ISO 6785, 2001)

Appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*, bâtonnet, anaérobie facultatif, Gram (-). Cette famille de bactéries se développe entre 5 et 47°C, à pH 4-9,6. Cette bactérie pathogène se rencontre le plus fréquemment dans les aliments (ex : produits laitiers) et provoque la salmonellose (Moll et Moll, 2000). Elles sont présentes dans l'intestin de l'homme et des animaux et présentent des variations importantes de pathogénicité. Elles sont susceptibles de contaminer les aliments et provoquer des toxi-infections (Gledel, 1996).

La recherche des salmonelles nécessite le passage par les étapes suivantes (annexe 12) :

- Pré enrichissement :

Consiste à mélanger 25g de l'échantillon avec 225ml d'eau peptonée suivi d'une incubation à 37°C/ 18 à 24h.

- Enrichissement :

Consiste à prendre 10ml de la solution précédente, (milieu de pré enrichissement) et l'introduire dans 100ml de bouillon SFB + sélénite-cystéine. Ensuite, incuber à 37°C° pendant 48 heures.

Les tubes présentant une couleur rouge brique feront l'objet d'un isolement sur Hektoén

- Isolement :

On Prélève à l'aide d'une anse de platine stérile bouclé une goûte de milieu enrichi, puis on ensemence par stries la boîte de Pétri contenant le milieu Hektoén. Enfin, les boîtes seront incubées dans une étuve réglée à 37°C°, et cela pendant 48 heures.

Les colonies de salmonella se présentent sous forme de colonies de couleur grise bleue, grise verte, bleue verte, avec ou sans centre noir.

6. Recherche et dénombrement des levures et moisissures (Norme Internationale : ISO 6611, 2004)

Les levures sont des champignons microscopiques qui par leur développement dans les produits alimentaires finis, peuvent produire des altérations de leur qualité marchande par formation de troubles, d'odeurs ou de goûts ou par gonflement des produits ou/et de leur emballage (CO₂) (Leveau et Bouix ,1993). La plupart des denrées alimentaires, au cours de leur préparation mais surtout de leur entreposage, sont susceptibles, d'être détériorées par les moisissures. Les pertes qui leur incombent sont considérables. Parfois, l'altération des denrées

aboutit à une modification de la valeur nutritionnelle du produit, et à l'apparition de saveurs indésirables.

Les levures et moisissures sont des micro-organismes qui, après ensemencement en surface sur le milieu inhibiteur pour les bactéries (gélose Sabouraud au chloramphénicol) forment des colonies après une incubation à 20 - 25°C pendant 5 jours (Guiraud, 1998).

La recherche des levures et moisissures se fait comme suit (annexe 13) :

A partir des dilutions décimales allant de 10^{-3} à 10^{-1} , on porte aseptiquement 4 gouttes dans chacune des 3 boîtes de Pétri contenant la gélose Sabouraud (ou bien gélose OGA) puis, on étale les gouttes à l'aide d'une pipette râteau stérile et on incube les boîtes couvercle en haut à 22°C pendant 5 jours. Dans le souci de ne pas se trouver en face de boîtes envahies soit les levures soit par les moisissures, une lecture et un dénombrement doivent être effectués chaque jour, levures à part et les moisissures à part.

Les colonies des levures ressemblent aux colonies bactériennes, elles sont de consistance crémeuse, ronde ou ovale et souvent opaque. Tandis que, les moisissures apparaissent pigmentées à aspect velouté et duveteuses.

Etant donné d'une part qu'on a pris 4 gouttes de la dilution décimale, et qu'on considère que 1 ml est l'équivalent à 20 gouttes, pour revenir donc à 1 ml, il faut multiplier par l'inverse de la dilution, puis faire la moyenne arithmétique des différentes boîtes et exprimer le résultat final par ml de produit analysé.

7. Recherche et dénombrement des ferments lactiques du yaourt (JORA, 2004)

-*Lactobacillus bulgaricus* : micro-organisme thermophile formant des colonies lenticulaires souvent en forme d'étoile, de 1 à 3 mm de diamètre, sur milieu MRS (de Man, Rogosa et Sharpe) acidifié. Aspect microscopique : bâtonnets généralement courts, mais quelquefois de forme allongée. Ils sont non sporulés, gram positif, non mobiles, catalase négative.

-*Streptococcus thermophilus* : micro-organisme thermophile formant des colonies lenticulaires de 1 à 2mm de diamètre sur M17. Aspect microscopique : cellule sphérique ou ovoïde (Cocci) (0,7 - 0,9µm de diamètre), par paire ou en chaînes longues. Elles sont grampositive, catalase négative.

Le principe consiste à un ensemencement des dilutions décimales de l'échantillon dans milieu MRS acidifié, suivi d'une incubation en anaérobiose pendant 72 h à 37° C, pour le

dénombrement de *L. bulgaricus*. Et l'utilisation du milieu M 17, suivi d'une incubation en aérobiose pendant 48 h à 37° C, pour le dénombrement de *S. thermophilus*.

Pour les ferments lactiques c'est les dilutions 10^{-5} , 10^{-6} et 10^{-7} qui seront l'objet de l'ensemencement :

En opérant en double (pour *L. bulgaricus* et *S. thermophilus*), transférer à l'aide d'une pipette stérile 1 ml de chaque dilution dans les boîtes de Pétri. Pour *L. bulgaricus*, verser 12 ml du milieu MRS acidifié fondu et maintenu à $45 \pm 1^{\circ}\text{C}$ dans un bain-marie, dans chaque boîte de Pétri (annexe 14). Pour *S. thermophilus*, faire couler 12-15 ml du milieu M17, fondu et maintenu à 45°C dans chaque boîte de Pétri (annexe 15). Immédiatement après l'avoir versé dans les boîtes, mélanger soigneusement l'inoculum avec le milieu par rotation des boîtes. Laisser le mélange se solidifier.

Après solidification du milieu, ajouter une deuxième couche du milieu MRS ou de gélose blanche pour les boîtes servant au dénombrement des *L. bulgaricus*, afin de créer l'anaérobiose.

Pour le dénombrement de *L. bulgaricus*, l'incubation des boîtes se fait pendant 72 h à 37°C , tandis que les boîtes de *S. thermophilus* seront incubées pendant 48 h à 37°C .

- Le comptage des colonies ainsi que la méthode de calcul se fait de la manière suivante :

L. bulgaricus se présente sous forme de colonies lenticulaires blanchâtres souvent en forme d'étoile. Idem pour *S. thermophilus* qui présente des colonies lenticulaires blanchâtres mais de 1 à 2mm de diamètre.

Pour chaque micro-organisme caractéristique, le nombre de micro-organismes par gramme d'échantillon est égal à :

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

N : nombre de germes recherchés ;

ΣC : est la somme des colonies comptées sur les boîtes ;

n_1 : le nombre de boîtes comptées à la dilution la plus faible ;

n_2 : le nombre de boîtes comptées à la dilution la plus élevée ;

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

Exemple de calcul :

Pour un échantillon donné de yaourt, les numérations de *L. bulgaricus* donnent le résultat suivant (2 boîtes de Pétri par dilution, ont été incubées).

Dilution 10^5 : 295 et 245 colonies ; 10^{-6} : 33 et 40 colonies ;

$$\frac{\sum C}{(n_1 + 0.1n_2)d} = \frac{295 + 245 + 33 + 40}{(2 + 0.1 \times 2) 10^{-5}}$$

$$= \frac{613}{2.2 \times 10^{-5}} = 278.6 \times 10^5$$

Cela correspondant à 280×10^5 germes

-Le nombre estimé de *L.bulgaricus* dans l'échantillon de yaourt est donc $2,8 \times 10^7/g$.

-De même pour *S.thermophilus*, le nombre estimé est de $4,9 \times 10^8/g$ de yaourt.

Ainsi le nombre total de micro-organismes caractéristiques par gramme de yaourt est égal à :

$(2,80 \times 10^7) + (4,90 \times 10^8) = 5,18 \times 10^8$ ce qui donne : $5,20 \times 10^8 /g$ de yaourt.

IV. Résultats et discussions :

IV.1. Analyses physicochimiques

IV.1.1. Matière première

- Eau de process

Les résultats des analyses physicochimiques de l'eau de process sont illustrés dans le tableau ci-dessous :

Tableau V: Résultats des analyses physicochimiques de l'eau de process :

Paramètres	T°C (°C)	pH	TH (°F)	TA (°F)	TAC (°F)	Cl ⁻ (mg/l)	Cl ₂ (ppm)
Echantillon	21	7,2	13,6	0	24,9	37	0
Normes JORA(1998)	20	7à 8,5	12 à 15	0	< 26	< 39	0

A partir des résultats du tableau V, nous remarquons que l'eau analysée est caractérisée par un pH neutre qui est de 7.2 et une température de 21°C, ces résultats sont conformes aux normes établies par JORA (1998), ce qui va donner une bonne neutralité à l'eau de process à une température ambiante. En effet, l'acidité de l'eau provoque une corrosion des tuyauteries métalliques conduisant à une augmentation des concentrations de certaines substances métalliques, et la basicité de l'eau entraîne un dépôt de calcaire dans les canalisations et aussi une diminution de l'efficacité du processus de désinfection au chlore (Claisse et *al.*, 2006).

Le TA et le TAC sont de 0°F et 24,9°F respectivement, donc ils sont conformes aux valeurs exigées par JORA, cela est expliqué par le fait que cette eau est une eau naturelle qui n'a subi aucun traitement.

Pour le TH, la valeur trouvée est de 13,6°F, qui est conforme aux normes, cela s'explique par l'efficacité de l'adoucissement. Selon Potelon et Zysmank (1998), la composition des eaux de sources en sels minéraux dépend de la nature du matériel géologique par lequel les eaux souterraines se déplacent à travers les roches (roches calcaires, magnésium), et les sols sédimentaires qui peuvent absorber un éventail de composés tel que les ions Mg⁺² et Ca⁺².

L'inconvénient des chlorures est la saveur désagréable qu'elles communiquent à l'eau ; aussi, ils sont susceptibles de causer une corrosion dans les canalisations. En fait, la réglementation recommande une teneur en Cl⁻ de l'eau de process ne dépassant pas 39 mg/l

ce qui est vérifié pour cette eau qu'on observe que ses taux de Cl^- et Cl_2 sont conformes aux normes, ce qui témoigne l'efficacité du traitement de la chloration.

Les résultats obtenus de l'analyse physico-chimique de l'eau destinée pour la reconstitution du lait sont compris dans les intervalles fixés par les normes de JORA, ce qui permet une bonne reconstitution du lait. Ainsi, ces résultats témoignent le degré de la maîtrise des pratiques d'hygiène et de sécurité, qui permet de garantir la qualité du produit par l'utilisation d'une eau de bonne qualité bactériologique, ainsi pour éviter toute contamination qui met en danger la santé du consommateur.

- **Poudre de lait 26%**

Les résultats des analyses physicochimiques de la poudre de lait sont illustrés dans le tableau ci-dessous :

Tableau VI : Résultats des analyses physicochimiques de la poudre de lait :

Paramètres	MG%	Acidité (D°)	EST%	Humidité %	pH
Echantillon	26	12	95,85	4,15	6,41
Normes JORA(1998)	26 à 27	12 à 14	95 à 97	3 à 5	6,7

Les résultats concernant les analyses physicochimiques effectuées sur la poudre de lait montrent que :

Le pourcentage de la matière grasse est de 26%, la méthode de Gerber utilisée a permis d'obtenir des résultats conformes aux normes du JORA, cela indique que la standardisation de la matière grasse a été bien menée et s'explique par un bon écrémage du lait lors de sa fabrication et de bonnes conditions de son stockage. Ce paramètre a pour but de masquer l'acidité.

L'acidité nous renseigne sur le degré de fraîcheur du lait avant le séchage et sur sa richesse en diverses substances (protéines, phosphore, glucides...), on sait en effet, que le lait ne commence à coaguler que lorsque l'acidité dépasse 21°D ; à 28°D , le lait se prend en masse (Guiraud, 1998). Le résultat obtenu est de 12°D donc il est conforme aux normes.

Le taux de l'extrait sec total (EST) est de 95.85%, donc il est conforme aux normes du JORA, cela indique que le lait est riche en éléments nutritifs (protéine, lactose et matière grasse) ce qui va donner une bonne consistance et une bonne texture au yaourt.

Les résultats montrent que le taux d'humidité est inférieur à 5%, ce qui est conforme aux normes exigées par JORA, cette conformité est due à une bonne dessiccation du lait, en fait une humidité avec un taux élevé pourrait être à l'origine de développement des microorganismes pathogènes qui provoquerait par conséquence certaines réactions engendrant des transformations rapides accompagnant les cristallisations du lactose (prise en masse, acidification, brunissement, diminution de la solubilité, l'oxydation des lipides, et la formation des composés volatiles à odeur désagréables) (Cheftel et Cheftel, 1977 ; Trémolière et *al.*, 1984).

Les résultats obtenus pour la poudre de lait suggèrent que les conditions de production (séchage, stockage et emballage) et de transport ont été respectées. Ce qui est confirmé par Hempen (2003), qui voit que les bonnes conditions de fabrication ; de transport et de stockage ainsi que l'hygiène, peuvent avoir un effet positif sur la qualité de la poudre de lait.

- **Poudre de lactosérum :**

Les résultats des analyses physicochimiques de la poudre de lactosérum sont illustrés dans le tableau ci-dessous :

Tableau VII : Résultats des analyses physicochimiques de la poudre de lactosérum :

Paramètres	EST%	Humidité %	pH
Echantillon	98,94	1,06	6,11
Normes JORA(1998)	95 à 97	3 à 5	6,3

Les résultats montrent que le taux d'humidité est inférieur à 5%, donc conforme aux normes exigées par JORA, cette conformité est due à une bonne dessiccation du petit lait « lactosérum », en fait une humidité avec un taux élevé pourrait être à l'origine de développement des microorganismes pathogènes. Il est à noter aussi que : La valeur moyenne du pH du lactosérum est de 6.11, ce qui explique le caractère doux du lactosérum utilisé.

Donc, on peut déduire que la poudre du lactosérum utilisé dans notre yaourt est de bonne qualité physico-chimique.

- **Sucre**

Les résultats des analyses physicochimiques de sucre sont illustrés dans le tableau ci-dessous :

Tableau VIII : Résultats des analyses physicochimiques de sucre

paramètres	T°C	EST%	Humidité%
Echantillon	21	99,4	0,6
Normes JORA(1998)	20	99	<1

Les résultats des analyses physicochimiques du sucre montrent que la température est de 21°C, ce qui est conforme aux conditions tolérées, cela indique que le sucre est bien conservé, ce qui évitera sa détérioration par les microorganismes (levures et moisissures).

Pour l'humidité, la valeur trouvée est de 0.6%, donc elle est conforme aux normes, ce qui révèle un bon stockage de cette matière, permettant ainsi d'éviter l'activité enzymatique des germes.

D'après ces résultats, on constate que le sucre présente une bonne qualité physicochimique, ce qui facilitera son mélange avec les autres ingrédients.

- **Préparation de fruits**

Les résultats des analyses physicochimiques de la préparation de fruits sont illustrés dans le tableau suivant:

Tableau IX : Résultats des analyses physicochimiques de préparation de fruits

Paramètres	T°C (°C)	pH	Degré Brix (°B)
Echantillon	5	3,61	47
Normes JORA(1998)	5 ±1	3.6-3.8	45 ±2

D'après les résultats obtenus, la température est de 5°C, qui est la température idéale pour la conservation de la préparation de fruits.

Concernant le pH, la valeur trouvée est de 3.61, dans ce cas le pH est acide, car les fruits de fraise à l'origine présentent une certaine acidité, ce qui va inhiber la croissance des germes indésirables. Pour le degré Brix, il est de 45 ; donc conforme aux normes du JORA, cela s'explique par le fait que les fruits sont riches en sucre de saccharose et donc destinés à la préparation d'un produit alimentaire (yaourt à boire fruité) riche en sucre.

D'après ces résultats, on conclue que la préparation de fruits présente une bonne qualité physicochimique, ce qui confirme le respect des conditions de sa conservation.

IV.1.2. Produit fini

Les résultats d'analyses physicochimiques des deux produits finis avant leur stockage sont consignés dans le tableau suivant :

Tableau X : Résultats des analyses physicochimiques des deux produits (A, B) lors de réception

Paramètres	pH	Acidité (D°)	EST(%)	MG(%)
Produit (A)	4,4	78	21,64	1 ,8
Produit (B)	4,12	84	19,24	1,6
Normes JORA(1998)	3,8 - 4,7	75 – 105	19- 21	1,6– 2,2

Produit (A) : yaourt à boire fruité de marque « **Trèfle** »

Produit (B) : yaourt à boire fruité de marque « **Hodna** »

NB : Il faut signaler que les résultats sont obtenus suite à des analyses effectuées le jour de la production pour le produit (A), mais concernant le produit (B) vu sa non disponibilité, ses analyses ont été tardées jusqu'au 2^{ème} jour qui suit sa production (donc nous avons considéré le 2^{ème} jour après la production comme étant J₀)

Les analyses physicochimiques des échantillons des deux produits, à leur réception et avant

d'être acheminé vers la conservation, montrent qu'il s'agit d'un produit dont les paramètres physicochimiques sont conformes aux normes, ce qui pourrait s'expliquer par :

- ✓ La qualité de la matière première (poudre de lait, ferments...);
- ✓ Les traitements du lait, les procédés utilisés et la conduite des différentes phases de préparation ;
- ✓ La sélection des cultures et la technique de fermentation ;
- ✓ Le respect du cahier de charges.

Ainsi, on observe que les résultats d'analyses physicochimiques du produit (B) après sa commercialisation de la wilaya de Msila vers la wilaya de Blida ; sont conformes aux normes signalées par le JORA donc le produit est consommable.

Cela peut s'expliquer par les bonnes conditions du transport ,du stockage et du vente. Selon Biatcho Nko Sadi (2006) : « Le yaourt au moment de la vente au consommateur ne doit pas contenir moins de 0,8 g d'acide lactique pour 100 g de lait».

IV.2. Analyses microbiologiques

IV.2.1. Matière première

- **Eau de process**

Les résultats de l'analyse microbiologiques de l'eau de process sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau XI : Résultats des analyses microbiologiques de l'eau de process

Germes recherchés	Echantillon	Normes (JORA, 1998)
<i>Germes totaux</i>	0	<10 ² UFC/ ml
<i>Coliformes totaux</i>	Abs	Abs / 100 ml
<i>Coliformes fécaux</i>	Abs	Abs / 100 ml
<i>Clostridium sulfitoréducteur</i>	0	< 5spores / 20 ml
<i>Streptocoques fécaux</i>	Abs	Abs / 100 ml

Abs : absence

Les résultats des analyses microbiologiques de l'eau de process indiquent une absence totale des germes d'indice de contamination fécale (*Coliforme totaux et fécaux* et *Streptocoque fécaux*), des germes pathogènes (*anaérobies Sulfitoréducteurs*) et saprophytes (*germes aérobies mésophiles totaux*).

Ces résultats sont dus au fait que cette eau ; avant son arrivée au niveau du robinet a subi des traitements tels que la pré-chloration, la filtration sur charbon actif, l'adoucissement, la désinfection par UV, ainsi le contrôle quotidien de l'eau pour détecter toute défaillance et la rectifier.

Selon Larpent (1991), l'eau de reconstitution présente une grande proportion dans la composition du lait donc elle doit être de bonne qualité bactériologique, dépourvue de pesticides, et débarrassée de sels de chaux et de magnésium afin d'éviter l'entartage des appareils et des conduites, avec une pureté chimique satisfaisante, dépourvue d'ions métalliques.

Les résultats du dénombrement de la flore totale, coliformes totaux et coliformes fécaux sont conformes aux normes. Donc, du point de vue microbiologique, l'eau de process utilisée pour la production du yaourt Tréfle est de bonne qualité bactériologique.

- **Poudre de lait**

Le tableau suivant illustre les résultats d'analyse microbiologiques de la poudre de lait

Tableau XII : Résultats des analyses microbiologiques de la poudre de lait.

Germes recherchés	Echantillon	Normes (JORA, 1998)
<i>Germes totaux</i>	160	2. 10 ⁵ UFC / g
<i>Coliformes totaux</i>	0	1 UFC / g
<i>Coliformes fécaux</i>	Abs	Abs / g
<i>Clostridium sulfitoréducteur</i>	Abs	Abs / g
<i>Salmonelles</i>	Abs	Abs / 25 g
<i>Staphylococcus aureus</i>	Abs	Abs / g
Levures	0	< 10 UFC / g
Moisissures	0	< 10 UFC / g

Abs : absence

Les résultats des analyses microbiologiques sur la poudre de lait au niveau de l'unité de Trèfle montrent que les échantillons examinés, répondent aux normes fixés par la législation nationale du Journal Officiel de la République Algérienne.

Seulement pour la FAM, on note une faible présence de germes près de 160 germes/g de produit, qui est négligeable et reste conforme en comparaison avec les normes, leur apparition est peut être due à une contamination au moment du prélèvement des échantillons.

Même si la présence de cette charge est vraiment existante dans la poudre de lait, cela n'aura aucune conséquence sur le produit fini car il subira un traitement thermique lors de processus de fabrication, ce qui éliminera toute forme végétative des germes présents (Renzo, 1988).

Concernant les autres germes, on constate une absence totale, ce qui indique que notre poudre de lait est de bonne qualité microbiologique et que les conditions de transport (du pays d'origine, au port et jusqu'à l'usine), de conservation et de stockage sont satisfaisantes.

Effectivement, le contrôle de cette matière à son arrivée du pays d'origine est très importante, sachant qu'il existe des germes pathogènes pouvant être conservé et qui nuirait à la santé du consommateur.

Selon François et *al.* (1986), la poudre de lait doit avoir un goût agréable, une bonne salubrité, une bonne qualité hygiénique et une bonne conservation de la valeur nutritionnelle.

- **Poudre de lactosérum**

Les résultats d'analyse microbiologiques de la poudre de lactosérum sont mentionnés dans le tableau ci-dessous :

Tableau XIII : Résultats des analyses microbiologiques de la poudre de lactosérum

Germes recherchés	Echantillon	Normes (JORA, 1998)
<i>Germes totaux</i>	0	2. 10 ⁵ UFC / g
<i>Coliformes totaux</i>	0	1 UFC / g
<i>Coliformes fécaux</i>	Abs	Abs / g
<i>Clostridium sulfitoréducteur</i>	Abs	Abs / g
<i>Salmonelles</i>	Abs	Abs / 25 g
<i>Staphylococcus aureus</i>	Abs	Abs / g
Levures	0	< 10 UFC / g
Moisissures	0	< 10 UFC / g

Abs : absence

Les résultats obtenus montrent que la poudre de lactosérum est de bonne qualité microbiologique. Cela est dû à son conditionnement dans des sacs de 25 kg, qui est constitué d'une partie en polyéthylène et d'une partie externe faite d'un doublet en papier. Ainsi, leur stockage à une température ambiante pour éviter un taux d'humidité élevé.

- **Sucre**

Les résultats des analyses microbiologiques du sucre sont illustrés dans le tableau suivant :

Tableau XIV : Résultats des analyses microbiologiques de sucre

Germes recherchés	Echantillon	Normes (JORA, 1998)
<i>Germes totaux</i>	0	20 germes / g
<i>Coliformes totaux</i>	0	5 germes / g
<i>Coliformes fécaux</i>	Abs	Abs / g
<i>Clostridium sulfitoréducteur</i>	Abs	Abs / g
<i>Salmonelles</i>	Abs	Abs / g
<i>Staphylococcus aureus</i>	Abs	Abs / g
Levures	0	1 germe / g
Moisissures	0	1 germe / g

Abs : absence

Les résultats microbiologiques représentés dans le tableau XIV montrent que le sucre entrant dans la fabrication du yaourt répond aux normes indiquées dans le JORA par l'absence totale des germes saprophytes ou pathogènes, cela s'explique par le bon traitement de ses ingrédients lors de la fabrication, les bonnes conditions de stockage telle que la température, l'aération, l'humidité, et une bonne manipulation lors de l'analyse microbiologiques.

Auclair et Richard (1986), confirment que l'humidité élevée dans un lieu de stockage favorise d'une part l'activité métabolique surtout dans les milieux riches en sucre ou en lactose ce qui va déclencher la réaction de Maillard et d'autre part la prolifération des germes saprophytes surtout les levures et les moisissures pouvant détériorer le produit.

- **Préparation de fruits**

Les résultats des analyses microbiologiques de la préparation de fruits sont illustrés dans le tableau suivant :

Tableau XV : Résultats des analyses microbiologiques de la préparation de fruits

Germes recherchés	Echantillon	Normes (JORA, 1998)
<i>Germes totaux</i>	0	105 UFC/ 100 ml
<i>Coliformes totaux</i>	Abs	Abs / 100ml
<i>Coliformes fécaux</i>	Abs	Abs / 100ml
<i>Clostridium sulfitoréducteur</i>	Abs	Abs /20ml
<i>Salmonelles</i>	Abs	Abs / 100ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	Abs	Abs / 100ml
Levures	Abs	Abs / 100ml
Moisissures	Abs	Abs / 100ml

Abs : absence

Les tests microbiologiques qui ont été effectués sur les préparations de fruits de fraise en morceaux révèlent une absence totale des germes pathogènes, des *coliformes totaux* et *fécaux*, et la *flore aérobie mésophile*. Ceci peut être expliqué par les bonnes conditions hygiéniques opératoires lors de la production de ces préparations des fruits, du bon conditionnement et de

bonne conservation à 6°C par le respect de la chaîne de froid et aussi peut être due à la présence de l'acide sorbique, de potassium et de l'acide citrique qui inhibent certains germes qui ne résistent pas à l'acidité (Multon, 1992).

IV.2.2. Produit fini

Les résultats des analyses microbiologiques des deux produits (A, B) avant leur stockage sont illustrés dans le tableau suivant :

Tableau XVI : Résultats des analyses microbiologiques des deux produits (A, B) lors de réception

Germes recherchés	<i>Coliformes totaux</i>	<i>Coliformes fécaux</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>salmonella</i>	<i>Clostridium Sulfitoréducteur</i>	Levures	Moisissures
Produit (A)	0	0	0	Abs	0	0	Abs
Produit (B)	0	0	0	Abs	0	0	Abs
(germes/ml) Normes (JORA, 1998)	10	1	10	Abs	50	<100	Abs

Abs : absence

Les résultats des analyses microbiologiques des deux produits montrent :

Une absence totale des germes pathogènes (*coliformes totaux et fécaux, salmonella, Staphylococcus aureus*), d'après Hermier (1992), la présence dans les produits laitiers de ces germes, causerait des nocivités au consommateur. Ainsi, *Staphylococcus aureus* peut produire des entéro-toxines dont l'ingestion provoque des vomissements, souvent accompagnés de diarrhée. *Salmonella* peut provoquer les mêmes symptômes caractéristiques d'une toxoinfection alimentaire.

Une absence des germes témoignant la contamination fécale (*coliformes fécaux*), selon Beerens et Luquet (1987), la présence des *coliformes totaux et fécaux* dans le produit fini, indiquerait une faute hygiénique révélant soit la mauvaise qualité des matières premières ou l'insalubrité des matériels utilisés pour la fabrication. Ainsi, une absence des levures et moisissures, selon Joffin (2000), la présence de ces germes provoque une pollution

microbienne du produit qui se traduit par un défaut d'aspect des yaourts, et par l'apparition de mauvais goûts.

Aussi, l'absence totale de tous les germes recherchés chez le produit (B) ; atteste qu'il n'y avait pas une coupure au niveau de la chaîne de froid dans le camion frigorifique, donc la commercialisation de yaourt Hodna de Msila vers Blida a gardé sa conformité aux normes exigées par le JORA avec un respect de la chaîne de froid, enfin nous pouvons dire que le produit est consommable et sa qualité est satisfaisante.

Tous ces résultats témoignent que les deux producteurs (Hodna et Trèfle) ont respecté les conditions hygiéniques des locaux et du matériel. En plus, cela confirme la bonne qualité de matière première utilisée, et le bon déroulement de la chaîne de fabrication, surtout la pasteurisation qui a pour but de la destruction de tous les germes pathogènes.

IV.3. Suivi des deux produits pendant leur stockage à différentes températures :

IV.3.1. Résultats d'analyses physicochimiques :

Les résultats d'analyses physicochimiques des deux produits finis (PA : produit Trèfle, PB : produit Hodna), pendant leur stockage sont consignés dans l'annexe 16.

❖ Variation du pH

Les résultats de la variation de pH des deux produits stockés à 6°C, 20°C et 37°C sont illustrés dans la figure suivante :

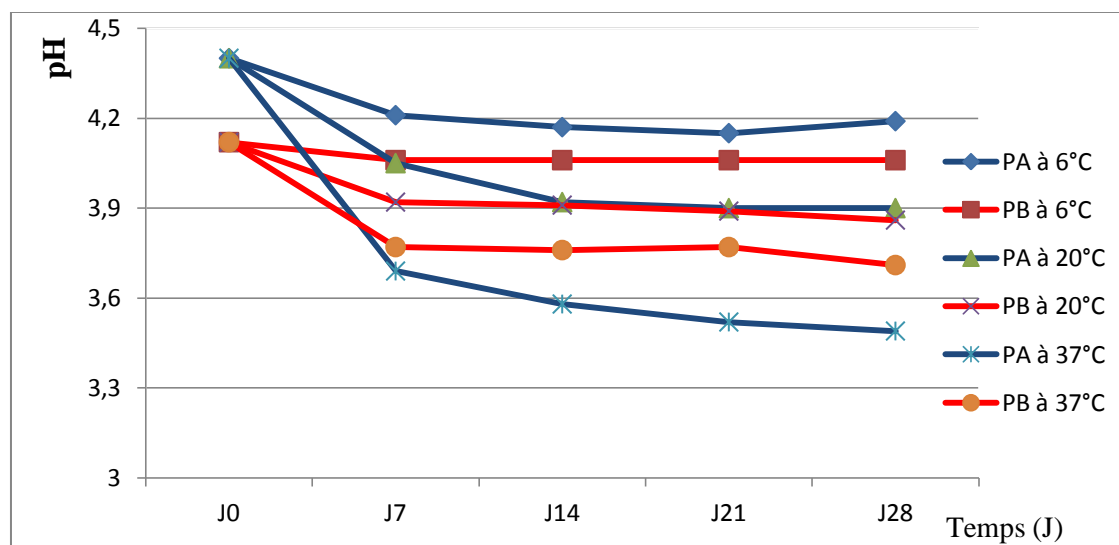


Figure n°7 : La variation du pH des deux produits (A et B) au cours du stockage à différentes températures

Les résultats figurés précédemment indiquent une diminution du pH au fur et à mesure des jours de stockage. L'évolution du pH des produits conservés à 6°C ; varie de 4.4 à 4.19 pour le produit (A), alors que pour le produit (B) il est diminué à partir du 7^{ème} jour ; de 4,12 à 4,06 puis, il est resté stable à cette valeur pendant toute la période du stockage jusqu'au 28^{ème} jour. Toutes ces valeurs trouvées restent dans les normes du JORA (1998).

Pour le produit (A) cette diminution du pH est due à l'action conjuguée des deux bactéries lactiques *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* qui dégradent l'acide lactique qui se trouve dans le yaourt comme source carbonique ; pour assurer leur développement. Cela est confirmé par Brulé (2003), qui voit que l'activité microbienne n'est pas inhibée totalement ainsi que l'acide lactique qui est encore produit à partir de lactose abaisse légèrement le pH.

D'après les résultats d'analyses effectuées sur le produit (B) durant toute sa durée de stockage, deux phases se distinguent : 1^{ère} phase d'abaissement du pH suivit par une 2^{ème} phase de stabilité qui commence dès le 7^{ème} jour. La diminution s'explique selon Brûlé (2003) et Larpent (1991), par le fait que le yaourt conservé au froid à une température ne devant pas dépasser 8°C, les bactéries du yaourt ne se multiplient pas mais conservent néanmoins une activité métabolique, c'est ainsi l'acide lactique qui est encore produit à partir du lactose, ce qui abaisse le pH. Alors que, la stabilité est peut être due par le fait que les bactéries lactiques entrent dans la phase stationnaire ; selon la courbe de croissance microbienne.

Ou alors : comme Federighi (2005) ; signale que le métabolisme principal des bactéries lactique a pour effet une production importante d'acide lactique conduisant à une acidification rapide et durable, le pH final dépend de la matière première fermentée et des souches utilisées (plus au moins acidifiante). Luquet et Corrieu (2005), ajoutent que la poste-acidification dépend de la souche bactérienne utilisée, cela traduit la stabilité de pH du produit (B), ce dernier qui peut présenter une activité post-acidifiante nulle et cela à partir du 7^{ème} jour du stockage.

A température de 20°C, dès la première semaine de la conservation ; une diminution du pH est remarquable pour les deux yaourts. Chez le produit (A) ; il est chuté de la valeur 4,4 jusqu'à 4,05 alors qu'au niveau du produit (B) ; il tombe de la valeur 4,12 à une valeur de 3,92. Ensuite, le pH des deux produits a tendance à diminuer mais légèrement ; jusqu'au 28^{ème} jour. Cette diminution observée du pH s'explique par l'activité microbienne favorisée par la température ambiante.

A température de 37°C, nous remarquons aussi une chute du pH à partir du 7^{ème} jour du stockage et cela pour les deux yaourts. Pour le produit (A) ; il est tombé de la valeur 4,4 jusqu'à 3,69 alors qu'au niveau du produit (B) il chute de 4,12 à 3,77. La diminution du pH continue à diminuer, des valeurs minimales du pH sont observées dans le 28^{ème} jour pour les deux produits (A) et (B) et sont successivement de 3,49 et 3,71.

Le pH des deux produits (A) et (B) a tendance à baisser, d'autant plus rapidement que la température de conservation est élevée. Ceci s'explique par le fait qu'à basse température, l'activité acidifiante des levains est ralentie. Plus la température augmente et plus elle se rapproche de leur température de croissance, plus ils produisent de l'acide lactique.

Donc en général, le pH dépasse les valeurs de la norme pour les deux produits, selon Béal et Sodini (2003), cela est probablement dû au dépassement de la date limite de consommation qui provoque la production d'acide lactique qui se traduit par l'abaissement du pH d'un part et d'autre part par l'augmentation de T°C de conservation donc le non respect de la chaîne du froid.

Ce paramètre reste insuffisant pour se rendre compte du processus d'acidification, pour mieux expliquer ce phénomène on passe pour étudier l'acidité titrable.

❖ Variation de l'acidité

Les résultats de la variation de l'acidité des deux produits stockés à 6°C, 20°C et à 37°C sont présentés dans la figure suivante :

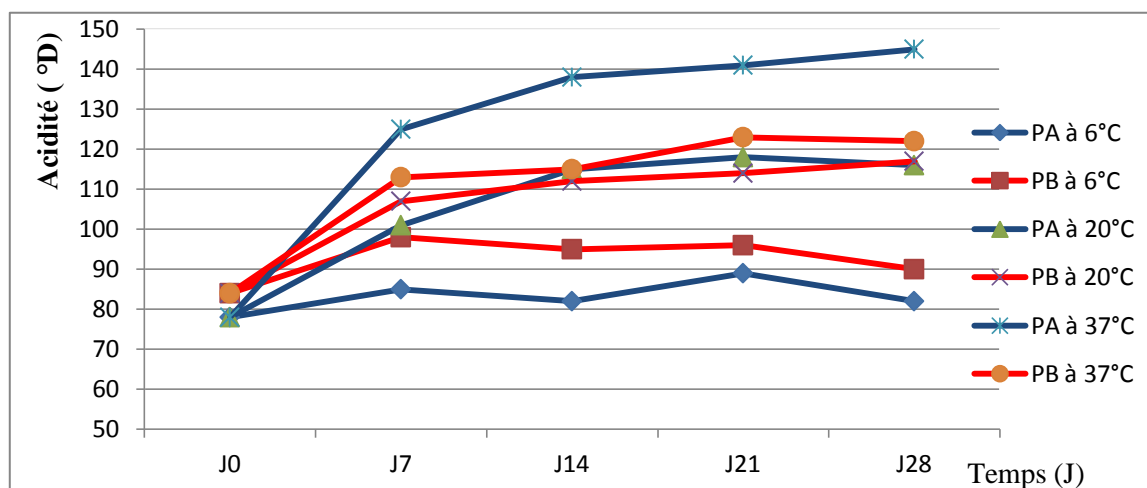


Figure n°8 : La variation de l'acidité des deux produits (A et B) au cours du stockage à différentes températures

Parallèlement au pH, une variation de l'acidité est révélée après le stockage des deux produits à des températures différentes. Suite aux résultats figurés précédemment, nous remarquons une augmentation progressive de l'acidité titrable pour les différents échantillons analysés. Donc nous pouvons dire que les courbes de l'acidité représentées dans la figure précédente ont une tendance croissante durant toute la période d'analyse.

On rappelle que l'acidité titrable = acidité naturelle + acidité développée.

Les constituants du lait qui contribuent à l'acidité naturel sont les phosphates (0,09%), les caséines (0,05- 0,08%), les autres protéines (0,01%), les citrates (0,01%) et le bioxyde de carbone (0,01%). À cette acidité naturelle s'ajoute l'acidité développée qui est la résultante d'un développement des bactéries lactiques qui forment de l'acide lactique par fermentation du lactose (Ghaoues, 2011).

Sur une première série de yaourts, conservés tous à température de réfrigération (6°C), on constate que l'acidité augmente légèrement et ne s'éloigne pas trop de sa valeur initiale, elle atteint au 28^{ème} jour 82°D pour le yaourt (A) et 90°D pour le yaourt (B), mais reste toujours conforme aux normes du JORA. Selon Vierling (2008) « la teneur en acide lactique doit être au moins 0,7 g/L à la vente du yaourt ».

Cette augmentation est probablement due à la transformation du lactose par les bactéries lactiques, qui aboutissent principalement à la production d'acide lactique responsable de cette acidité du yaourt, bien que ce dernier soit conservé à basse température. Selon la FAO(2000), le maintien des yaourts au froid n'arrête pas complètement l'activité métabolique bactérienne, bien que lente la production d'acide lactique.

Mahaut et *al.* (2000), confirment que l'acidification résulte de la dégradation du lactose en acide lactique et aussi de l'activité protéolytique et lipolytique des ferments lactiques qui libèrent des acides aminés et des acides gras, aboutissant à la diminution du pH. Ainsi selon Beal et Sodini (2001), l'évolution du pH est inversement proportionnelle à la concentration en acide lactique.

Pour les échantillons stockés à 20°C, on note qu'au bout de 7^{ème} jour l'acidité atteint successivement 101°D et 107 °D pour les yaourts (A) et (B), ce qui témoigne leur conformité aux normes. A partir du 14^{ème} jour, les valeurs d'acidité deviennent non conformes. Cette augmentation est plus importante que celle de la précédente. Cela est dû à l'activité bactérienne (bactéries lactiques) qui s'accélère en présence de la température de 20°C qui est

favorable à leur développement comme indique Luquet et Corrieu (2005), après fermentation, au cours de la conservation du produit à basse température, l'activité acidifiante des ferments se poursuit. Elle est d'autant plus intense quand la température est élevée.

Ainsi, à température de 37°C ; on remarque que dès la première semaine de conservation l'acidité dépasse les normes par une valeur de 125°D pour le yaourt (A) et 113°D pour le yaourt (B) et cela se poursuit tout au long du stockage jusqu'au 28^{ème} jour, en notant toujours ; une augmentation bien que lente de l'acidité qui atteint un maximum de 145°D pour le produit (A) et 122°D pour le produit (B). Cela s'explique selon Loones (1994), par le fait que l'acidité trop forte, est la conséquence d'une conservation à température trop élevée. Aussi, Beal et Sodini (2003) ; ajoutent que la diminution de pH a favorisé l'activité des ferments lactiques qui se traduit par la production en masse d'acide lactique. En fait, toute interruption de la chaîne du froid risque d'entraîner une reprise de leur activité, avec pour conséquence une évolution du goût des yoghourts (acidité, amertume) ou de leur consistance (décantation, apparition de sérum) (Rasic et Kurmann, 1978).

❖ Variation de la MG

Les résultats de la variation de la matière grasse des deux produits stockés à 6°C, 20°C et à 37°C sont exposés dans la figure suivante :

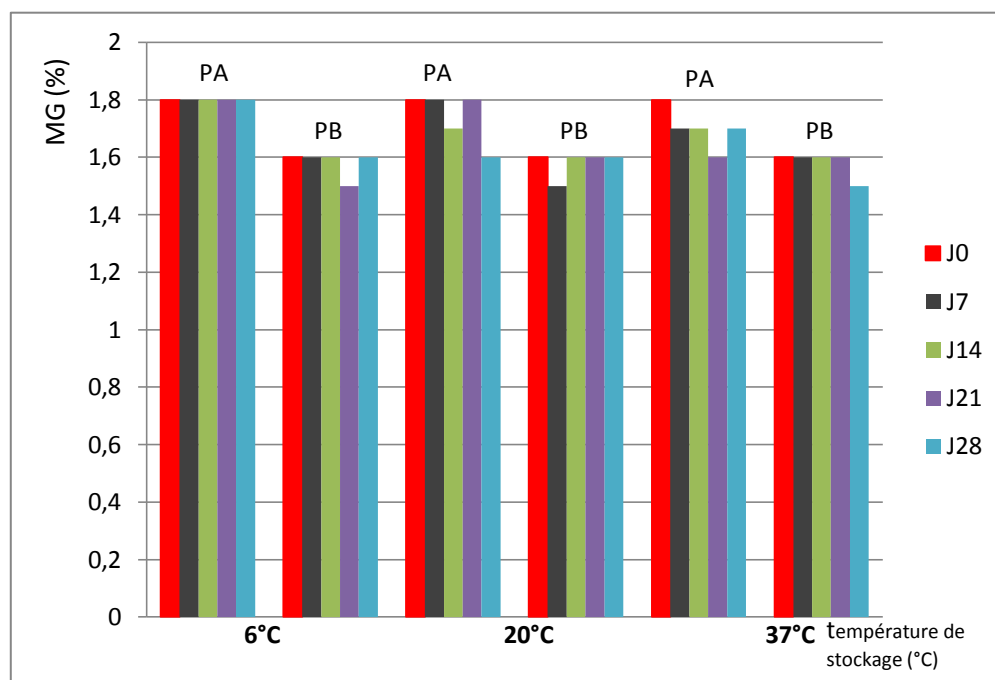


Figure n°9: La variation de la MG des yaourts (A et B) au cours du stockage à différentes températures

D'après les résultats précédents on observe que le taux de la matière grasse se situe dans l'intervalle 1,6-1,8 pour le yaourt (A) et 1,5-1,6 pour le produit (B), on peut dire qu'il est resté stable tout au long du stockage pour toutes les températures (6°C, 20°C et 37°C) et pour les deux produits (Trèfle et Hodna) , avec l'enregistrement d'une légère variation non significative qu'on peut la rendre à la fiabilité et la précision de la méthode utilisée. Selon (Vignola ,2002), un yaourt peut avoir un contenu en gras situant entre 0,1 et 10%.

Les deux yaourts sont classés parmi les yaourts partiellement écrémés par le fait qu'ils contiennent moins de 3,5 % de matières grasses. Ce qui est confirmé par Luquet et Corrieu (2005), qui disent que le taux de la matière grasse est compris entre 0,5 et 3% dans le cas des yaourts partiellement écrémés.

Au cours du stockage des deux yaourts à différentes températures, le taux de matière grasse reste conforme aux normes JORA(1998) tout au long de la période de conservation, bien qu'il diminue légèrement par le fait de l'activité lipolytique des deux espèces lactiques *S.thermophilus* et *L.bulgaricus*. D'après Leyral et Vierling (2001), les ferments lactiques du yaourt possèdent une activité lipolytique modérée.

Ainsi, cette stabilité est peut être due selon Bonnefoy et *al.* (2002), à la non contamination par la flore lipolytique, y compris les levures et les moisissures. Keilling et Dewilde (1986), ajoutent que la présence de la MG accroît les risques d'oxydation et de rancissement très légèrement au cours de la conservation et surtout lorsque les bouteilles sont ouvertes.

❖ Variation de l'EST

Les résultats de l'EST des deux marques de yaourt lors de leur stockage à différentes températures sont présentés sur la figure suivante :

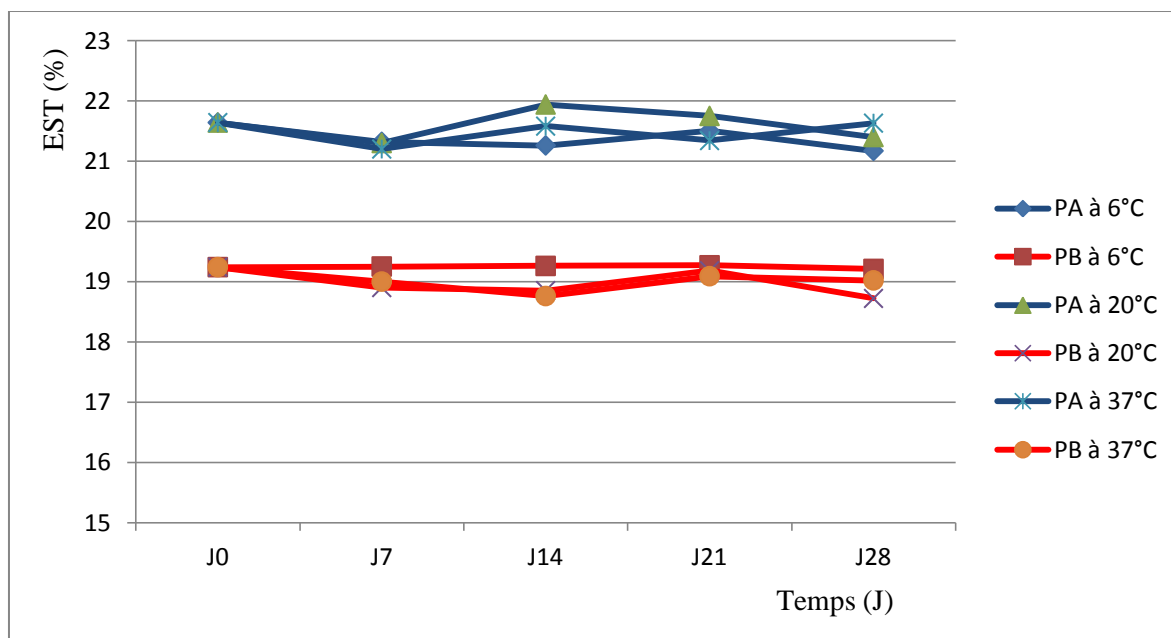


Figure n° 10 : La variation de l'EST des yaourts (A et B) au cours du stockage à différentes températures

D'après les résultats figurés précédemment, on remarque que l'EST du produit de marque « Trèfle » porte une valeur supérieure à celle du produit de marque « Hodna » ce qui lui rend le plus ferme. En fait, La fermeté est essentiellement liée au taux de matière protéique du lait, plus l'extrait sec du lait est élevé plus le yaourt sera ferme (anonyme 2012_b).

Lors du stockage, on remarque une légère variation des valeurs de l'EST pour les deux produits réfrigérés ainsi que pour ceux stockés à 20°C et 37°C ; l'extrait sec total note une valeur de 21,17 % à 21,94 % pour le yaourt (A) , et 18,76 % à 19,27 % pour le yaourt (B), ceci est observé jusqu'à la 4^{ème} semaine de conservation.

Cette faible variation observée ne présente pas une grande influence sur la qualité des deux produits, car ils restent conformes aux normes la réglementation en vigueur concernant un produit fini type yaourt à boire fruité. Notons que le yaourt à boire se différencie du brassé par son état liquide qui l'assimile à une boisson. Sa fluidité est obtenue par une diminution de la teneur en matière sèche (Boubchir-Ladj, 2010).

Selon Lorient et Philippe (1998), la baisse de ces valeurs serait probablement due à la protéolyse par les enzymes protéases qui hydrolysent les caséines en constituant plus petits (polypeptides, peptides et acides aminés) impliquant ainsi la diminution de la matière sèche totale. Cependant, Loones (1989) ; rajoute que cette protéolyse, déjà modérée au cours de la

fermentation, se poursuit faiblement, en particulier à des températures supérieures à 6°C. Le taux de peptides augmente ainsi faiblement jusqu'à la DLC, ce qui néanmoins améliore la digestibilité et la valeur nutritionnelle du contenu protéique du yoghourt.

Aussi, Cette faible variation s'explique notamment par l'hydrolyse des sucres et des protéines par les complexes enzymatiques des bactéries lactiques comme indique Leveau et Bouix, 1993, l'activité protéolytique globale des bactéries lactiques est considéré comme faible, comparée à celle des autres genres bactériens.

Donc l'exposition des échantillons à des températures de 20°C et 37°C n'influe que légèrement sur ce paramètre

IV.3.2. Résultats d'analyses microbiologiques :

Les résultats des analyses microbiologiques des deux produits (A, B) pendant leur stockage à différentes températures, sont illustrés dans les tableaux suivants :

Tableau XVII : Résultats des analyses microbiologiques des produits (A, B) au cours du stockage à 6°C

Jours/ Germes	J ₀		J ₇		J ₁₄		J ₂₁		J ₂₈		Normes JORA (1998)
	P _(A)	P _(B)	P _(A)	P _(B)	P _(A)	P _(B)	P _(A)	P _(B)	P _(A)	P _(B)	
<i>Coliformes totaux</i> (germes/ml)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
<i>Coliformes fécaux</i> (germes/ml)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Clostridium Sulfitoréducteur</i> (germes/ml)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50
<i>Salmonelles</i> (germes/25g)	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence
<i>Staphylococcus aureus</i> (germes/ml)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
Levures (germes/ml)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
Moisissures (germes/ml)	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence

Abs : absence

A partir du tableau précédant on remarque que pour les produits stockés à une température de 6°C, les résultats obtenus montrent une absence totale des germes pathogènes ou d'altération recherchés (coliformes, *Staphylococcus aureus*, salmonelles, levures et moisissures) et cela durant toute la période de stockage.

Tableau XVIII : Résultats des analyses des produits (A, B) au cours du stockage à 20°C

Jours/ Germes	J ₀		J ₇		J ₁₄		J ₂₁		J ₂₈		Normes JORA (1998)
	P _(A)	P _(B)	P _(A)	P _(B)	P _(A)	P _(B)	P _(A)	P _(B)	P _(A)	P _(B)	
<i>Coliformes totaux</i> (germes/ml)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
<i>Coliformes fécaux</i> (germes/ml)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Clostridium Sulfitoréducteur</i> (germes/ml)	0		0	0	0	0	0	0	0	0	50
<i>Salmonelles</i> (germes/25g)	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence
<i>Staphylococcus aureus</i> (germes/ml)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
Levures (germes/ml)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<100
Moisissures (germes/ml)	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence

Abs : absence

Tableau XIX : Résultats des analyses des produits (A, B) au cours du stockage à 37°C

Jours/ Germes	J ₀		J ₇		J ₁₄		J ₂₁		J ₂₈		Normes JORA (1998)
	P _(A)	P _(B)	P _(A)	P _(B)	P _(A)	P _(B)	P _(A)	P _(B)	P _(A)	P _(B)	
<i>Coliformes totaux</i> (germes/ml)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
<i>Coliformes fécaux</i> (germes/ml)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
<i>Clostridium Sulfitoréducteur</i> (germes/ml)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50
<i>Salmonelles</i> (germes/25g)	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence
<i>Staphylococcus aureus</i> (germes/ml)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
Levures (germes/ml)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<100
Moisissures (germes/ml)	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence

Abs : absence

Les mêmes résultats sont obtenus pour les produits stockés à 20°C (Tableau XVIII) et 37°C (Tableau XIX), en remarquant une absence totale des germes pathogènes (*coliformes totaux et fécaux*, *salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *anaérobies sulfitoréducteurs*). Nous observons également une absence des germes témoignant la contamination fécale (*Coliformes fécaux*), ainsi qu'une absence totale de levures et moisissures est vérifiée. Ce qui rend les deux produits sont conformes aux normes microbiologiques impliquées par JORA (1998).

On remarque que cette bonne qualité microbiologique a été conservée du jour de la production jusqu'au 28^{ème} jours, et même dans le cas de stockage à des températures de 20°C et 37°C, car les produits sont de départ ; microbiologiquement sains et exemptes de toutes germes pathogènes et d'autres microorganismes responsables de la détérioration de la qualité microbiologique vue le traitement thermique qu'avaient subit les deux produits lors de leur fabrication. Ainsi, au fur et à mesure des jours de stockage l'accumulation d'acide lactique ralentit, voire inhibe la croissance bactérienne (Salaün et al., 2005).

Nous avons observé de même l'absence des microorganismes responsables de l'augmentation de l'acidité dans le yaourt tel que : les moisissures, les levures. Cela s'explique par le fait que les matériaux d'emballages utilisés résistent à l'acidité et sont imperméables à l'oxygène, ce qui empêche la croissance des levures et des moisissures pendant la conservation (Beal et Sodini, 2003).

D'après Biatcho Nko Sadi (2006), pour les produits très acides, les levures et moisissures pourront s'installer : sur le yaourt par exemple, les levures peuvent aussi être néfastes. Certaines sont responsables de fermentations gazeuses dans les crèmes fermières et les caillés frais. La présence de levures à la surface des yaourts, fromages à pâte fraîche, crème et beurre sont l'indice d'une pollution qui déprécie l'aspect et le goût des produits.

La présence des levures dans le yaourt au cours du stockage est favorisée par la variation de la température et surtout son augmentation, car au cours de conservation et à l'approche de la DLC, le pH diminue ce qui rend le milieu défavorable aux germes à l'exception de levures qui le tolèrent. (Joffin, 2000)

En fait, la présence des levures dans le yaourt diminue la qualité marchande par la formation de troubles, d'odeurs, ou de gout amer (Brûlé, 2003).

Les résultats précédents confirment :

- ✓ La bonne qualité microbiologique et hygiénique de la matière première et des ingrédients (eau de procès, poudre de lait, poudre de lactosérum, préparation de fruits de fraise, sucre), et de l'emballage (bouteilles de yaourt) ;
- ✓ Le traitement thermique efficace ;
- ✓ La technologie rigoureuse de la préparation et de conditionnement ;
- ✓ Les bonnes conditions de stockage. En fait le stockage du yaourt dans des chambres froides à une température adéquate de +4°C à +6°C a pour effet de ralentir les réactions enzymatiques et chimiques, et par conséquent de ralentir aussi la multiplication et le métabolisme des micro-organismes. (Guiraud, 1998 ; Spinnler, 2004) ;
- ✓ L'efficacité du nettoyage du matériel (circuits et tanks) à chaque fin de production par un système automatique qui permet le passage des solutions acides et alcalines pendant un temps et à une température, adéquates.

A tout ces facteurs s'ajoute un élément essentiel qui le pH bas. D'après Figarella et *al.* (2001), les yaourts ont une conservation relativement longue par rapport à d'autres produits frais car le pH acide inhibe la croissance des autres bactéries.

Enfin, on peut dire que la combinaison d'un traitement thermique efficace, d'une bonne qualité microbiologique de matière première et d'une préparation dans des bonnes conditions opératoires et hygiéniques offre une meilleure qualité microbiologique à ces deux produits dans les trois cas de stockage, et leur permet de conserver leur qualité microbiologique jusqu'à leur DLC.

IV.3.3. Suivi de l'évolution des ferments lactiques : *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* des produits (A, B) au cours du stockage à différentes températures :

Les résultats de la recherche et le dénombrement des ferments lactiques dans les deux marques de yaourt Trèfle(PA) et Hodna (PB) lors de leur stockage à différentes températures sont mentionnés dans le tableau de l'annexe 17 et présentés graphiquement sur les figures suivantes :

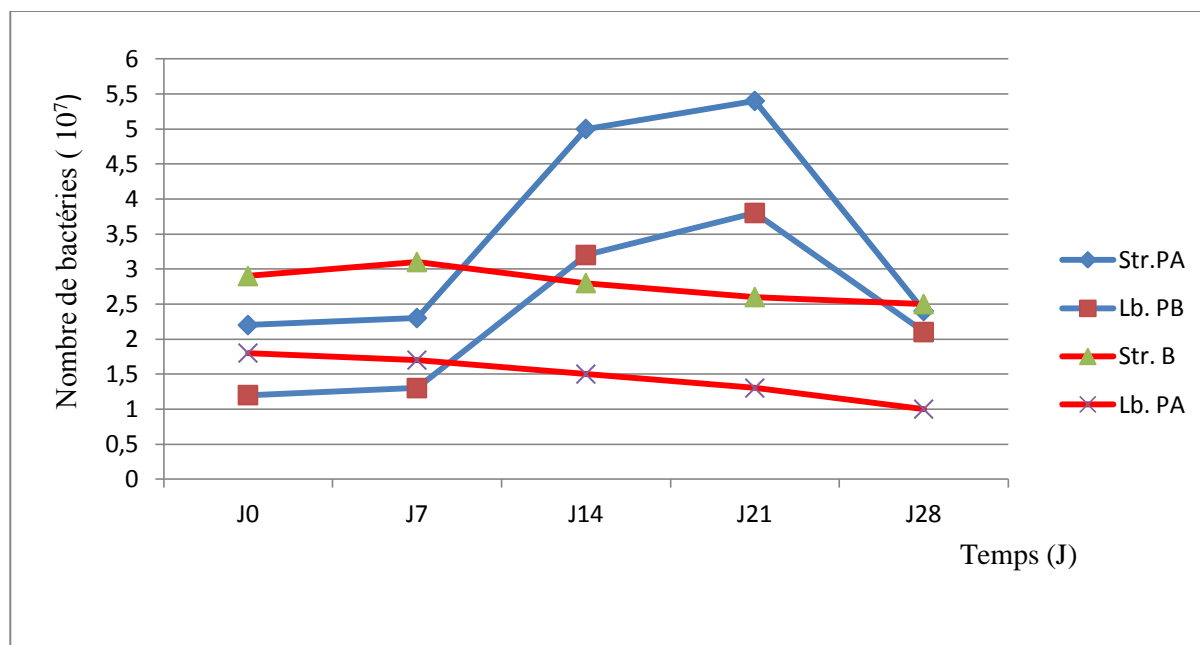


Figure n°11 : Evolution des *Lactobacillus bulgaricus* (Lb.) et *Streptococcus thermophilus* (Str.) des produits (A, B) au cours du stockage à 6°C

A partir de la courbe traduisant l'évolution des bactéries lactiques des produits (A, B) stockés à 6°C, on observe que les populations de Streptocoques évoluent de la même manière que celles de Lactobacilles pour les deux produits.

Cette courbe présente une allure faiblement décroissante pendant toute la période de stockage du produit (B), donc une diminution progressive du nombre de bactéries.

Selon la FAO (1995), le maintien des yaourts au froid empêche la multiplication bactérienne, ce qui confirme nos résultats, et d'après Beal et Sodini (2001) ; ces bactéries peuvent se développer à 37-45°C "bactéries thermophiles", mais pas à 15°C et au cours de la commercialisation à une température qui ne doit pas excéder 8°C, d'où le risque dans ce cas là d'une suracidification. En ce qui concerne nos résultats, la diminution du nombre de bactéries est la résultante de nombreux facteurs à savoir ; la température défavorable à la croissance, épuisement du milieu vis-à-vis des substrats de croissance, l'auto-inhibition des ferments par le pH voir même la mort de certaines bactéries.

Cependant, on remarque que la courbe traduisant la variation du nombre des bactéries lactiques du yaourt (A) avait une allure croissante pendant les trois premières semaines du

stockage où le nombre des deux bactéries *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* arrive jusqu'au $9,2 \cdot 10^7$, puis le nombre décroît dès le 21^{ème}. Bien qu'on observe que le nombre initial des bactéries chez les deux produits (A) et (B) était voisin ($3,4 \cdot 10^7$ pour le produit (A) et 4,7 pour le produit (B)) alors qu'il augment de façon remarquable chez le produit (A), cela peut être expliqué par le fait que ce dernier a subi un brassage plus énergétique qui rend le milieu homogène et permet une bonne dispersion des nutriments qui seront plus accessibles.

Enfin, bien qu'il y ait une diminution du nombre de bactéries pour les deux yaourts qui atteint $4,5 \cdot 10^7$ germes/g pour le yaourt (A) et $3,5 \cdot 10^7$ germes/g pour le yaourt (B), ce nombre reste dans les normes (au minimum 10^7 germes/g) (d'après Mahaut et al., 2000).

Ces résultats sont importants dans la mesure que ces bactéries présentent un rôle important dans les deux yaourts en améliorant leurs propriétés thérapeutiques et nutritionnelles.

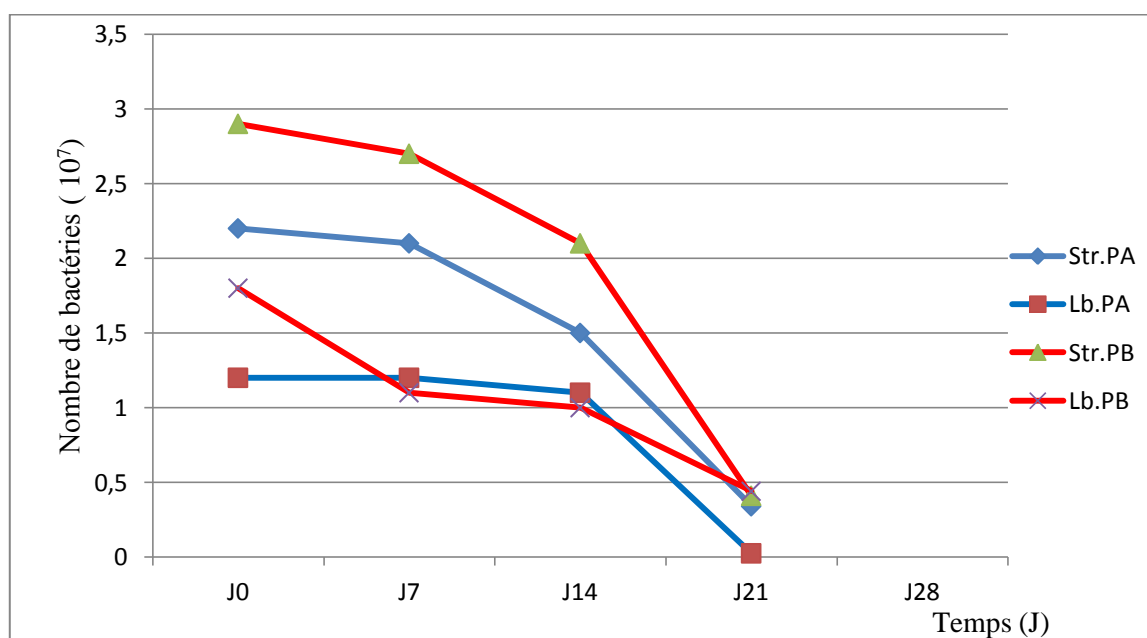


Figure n°12 : Evolution des *Lactobacillus bulgaricus* (Lb.) et *Streptococcus thermophilus* (Str.) des produits (A, B) au cours du stockage à 20°C

A partir de la courbe traduisant l'évolution des bactéries lactiques des produits (A, B) stockés à 20°C, on observe que les populations de *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* évoluent de la même manière pour les deux produits. En fait, cette courbe présente une allure décroissante pendant toute la période du stockage du produit (B), donc une

diminution progressive du nombre de bactéries. Cela est également observé pour le nombre des *Lactobacilles* du produit (B) qui diminue d'une façon remarquable dès la première semaine.

A 20°C, le nombre de bactéries lactiques décroît brutalement dès le départ du stockage des deux produits (A) et (B), et reste dans la fourchette admise du Codex Stan 243-2003 (minimum 10^7) ; pendant les deux premières semaines de stockage, puis devient insignifiant vers le 21^{ème} jour.

Cette chute s'explique par l'augmentation plus rapide du degré de l'acidité à 20°C. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par des auteurs italiens (Ottogalli G. et al., 1972) ; en effet, le nombre de bactéries lactiques des yaourts augmente régulièrement jusqu'au 15^{ème} jour, puis diminue brutalement et finit par s'annuler au 30^{ème} jour ; à 20°C par contre, ce nombre chute dès le départ.

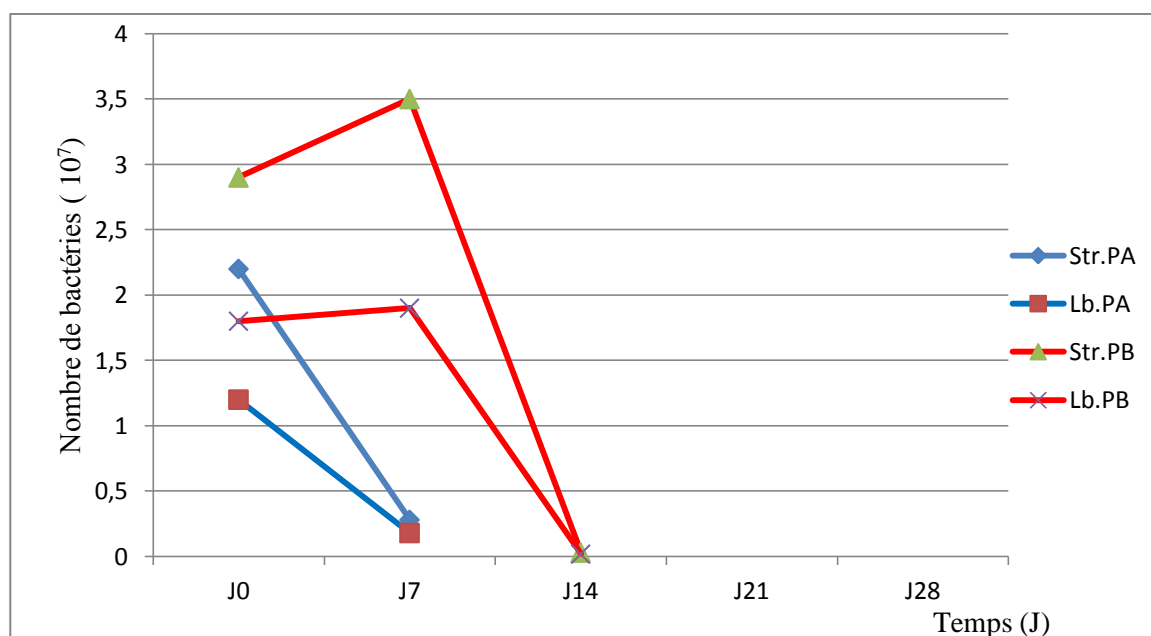


Figure n°13 : Evolution des *Lactobacillus bulgaricus* (Lb.) et *Streptococcus thermophilus* (Str.) des produits (A, B) au cours du stockage à 37°C

La courbe traduisant l'évolution des bactéries lactiques des deux produits (A, B) stockés à 37°C, montre une augmentation du nombre des deux espèces lactiques chez le produit (B) pendant la première semaine de stockage, ce dernier reste conforme aux normes du Codex Stan 243-2003 (min 10^7), puis le nombre chute et arrive à $(4,8 \cdot 10^5)$ qui devient inférieur aux

normes dès la 2^{ème} semaine. Alors que, pour le produit (A) le nombre de bactéries lactiques décroît brutalement ($4,6 \cdot 10^6$) dès le 7^{ème} jour de stockage et devient non conforme aux normes.

La diminution brutale des deux espèces lactiques chez les deux produits (A, B) ; peut être expliquée par le fait que ces bactéries entrent dans la phase stationnaire puis la phase de déclin selon la courbe de croissance microbienne. Et cela, suite à l'épuisement du milieu en nutriments, par le fait de la température favorable à la croissance et l'auto-inhibition des ferments par le pH très acide voir même la mort de certaines bactéries.

Beal et Sodini (2001), affirment que les bactéries du yaourt peuvent se développer à 37 - 45°C "bactéries thermophiles". Toutefois, Euzéby (2007) ; ajoute que dans une population bactérienne, toutes les cellules ne se divisent pas de manière synchrone et la croissance s'effectue de façon continue. Dans un milieu non renouvelé, la croissance des bactéries est limitée par l'épuisement du milieu en nutriments. La phase stationnaire peut durer de quelques heures à quelques jours. Les bactéries peuvent continuer à se diviser mais le taux de division est alors égal au taux de mortalité. Cette phase résulte d'un épuisement du milieu et de l'accumulation de déchets toxiques. Cependant, au cours de la phase de déclin, les bactéries ne se divisent plus, beaucoup d'entre elles meurent et sont détruites par des autolysines.

Bien que les modifications les plus importantes aient lieu au cours de la fermentation, les bactéries vivantes vont pendant toute la durée de vie du yoghourt, de par leur activité réduite, amplifier certaines de ces modifications. La température et la durée du stockage du yoghourt influencent l'intensité de l'activité des bactéries (Rasic et Kurmann, 1978).

A partir de tout ces résultats, nous arrivons à conclure qu'à 4°C et à 20°C, le nombre des Streptocoques augmente pendant les premières semaines de stockage puis diminue régulièrement (diminution moins accentuée à 4°C qu'à 20°C), à 37°C au contraire, le nombre de Streptocoques diminue assez brutalement dès le début de la conservation. Les populations de Lactobacilles évoluent de la même manière que celles de Streptocoques pour les trois températures, mais les courbes sont dans l'ensemble accentuées.

Donc, au cours de sa conservation, le yaourt évolue ; devient plus acide et sa flore microbienne se modifie, l'acidité du produit augmente lentement, affectant progressivement la viabilité des bactéries. Cette activité est d'autant plus forte que la température de conservation est supérieure à 6°C (20°C, 37°C).

Discussion:

Au cours de notre réalisation des différentes analyses microbiologiques et physicochimiques et pendant la conservation des deux yaourts à boire fruités « Hodna et Trèfle » à différentes températures ; il est à noter que nous ne remarquons aucun signe d'altération tel que le gonflement des bouteilles ainsi que l'apparition d'odeur désagréable, cela s'explique par le conditionnement hygiénique assuré par les unités de production (le bon sertissage des bouteilles) et par l'absence des germes d'altération malgré que la température été trop élevée . Cela peut être dû à l'acidité élevée dans les deux yaourts qui aboutit à un milieu défavorable à ces germes.

Seulement, ce qui attire l'attention ; un changement de la couleur rose du yaourt fruité fraise de marque « Trèfle » voir même une décoloration complète, tout au long de sa conservation à des deux températures de 20°C et 37°C. Tandis que, le produit « Hodna » qui porte une couleur plus claire (voir annexe18) à celle du produit Trèfle a gardé sa couleur pendant toute la période de stockage et cela pour toutes les températures.

La décoloration du yaourt Trèfle a été remarquée dès le 7^{ème} jour pour les produits conservés à 37°C, alors que pour le yaourt conservé à 20°C, un changement de couleur a commencé dès le 7^{ème} jour et la décoloration complète a été tardé jusqu'au 10^{ème} jour (voir annexe18).

Nous avons cherché le pourquoi de ce changement et on s'est posé la question ; quel est le composant responsable de la couleur rose de ce yaourt ? Alors on s'est tombé sur le colorant introduit dans la préparation de fruits (fraise) qui est un additif alimentaire ; le colorant E124.

Les additifs alimentaires sont des substances ajoutés intentionnellement aux denrées alimentaires de base dans le but d'en améliorer la conservation, la couleur, le goût ou l'aspect.

Un colorant alimentaire est un additif permettant d'ajouter ou de redonner de la couleur aux aliments qui est un élément essentiel de notre perception. Comme d'autres, elle entre dans nos critères d'évaluation de la qualité organoleptique des aliments. Dans l'alimentation, l'ajout de colorant est bien souvent destiné à être associé à une saveur, à donner une apparence plus attrayante aux denrées ou bien de restituer la couleur initiale des aliments qui se serait estompée pendant la transformation, le stockage... (Anonyme ,2011).

Le **E124 (Ponceau 4R** ou Rouge de cochenille A) est un colorant azoïque rouge de synthèse artificielle répondant au nom de sel trisodique de l'acide hydroxy-2(sulfo-4 naphtylazo-1) -1-naphtalène disulfonique-6,8. Couramment employé dans l'industrie alimentaire pour la coloration uniforme des denrées (Multon, 1998 ; Anonyme, 1996). C'est un produit chimique très dangereux, utilisé dans de nombreux bonbons, yaourts, boissons, gelées de fruits,... etc. (Gouget, 2008).

Après avoir défini l'additif E124 qui est d'origine synthétique, nous pouvons rendre le changement de la couleur de notre yaourt à la modification de la structure de ce colorant par l'effet de la chaleur. En fait, le E124 est devenu instable devant une température de 37°C qui a accéléré la décoloration complète du yaourt dès le 7^{ème} jour du stockage ; alors que, pour les produits stockés à 20°C le changement de la couleur a pris son temps pour arriver à une décoloration complète à partir du 10^{ème} jour.

Dangers : ce fameux colorant peut présenter plusieurs dangers ; réactions allergiques spécialement en cas d'intolérance à l'aspirine, hyperactivité, asthme, urticaire, insomnies, cancer chez des animaux, et pourrait être cancérigène pour l'Homme, affecte la croissance du cerveau des jeunes enfants (Gouget, 2008 ; Verherbruggen ,2006) .Cependant et suite à une nouvelle étude faite en 2007 à l'université Englaise de Southampton au sujet des effets de certains colorants alimentaires (E102 Tartrazine, E104 Jaune de quinoléine, E110 Jaune orangé S, E122 Azorubine/carmoisine, E124 Rouge ponceau 4R et E129 Rouge Allura A) avec le E211 (ou Benzoate de Sodium qui est un agent conservateur largement utilisé dans les denrées alimentaires) sur le comportement des enfants.

Après avoir examiné toutes les données disponibles, l'EFSA a décidé de réduire les DJA (Dose Journalière Admissible) qui s'est diminuée de 4 à 0,7 mg/kg. Ainsi, le Parlement Européen a décidé que tout aliment contenant l'un des colorants concernés, doit mentionner sur l'emballage la phrase suivante :

« Peut causer des troubles de l'attention et du comportement chez les enfants »

(Gouget, 2008 ; Anonyme, 2011).

Conclusion

Sur le territoire national, se propagent différentes marques de yaourts ; ces dernières doivent répondre à des critères de qualité, afin de satisfaire le consommateur et d'assurer une absence absolue de tout risque sur sa santé. Dans cette étude, nous avons choisi le marché du nord Algérien, où nous avons évalué la qualité physico-chimique et microbiologique de deux marques de yaourt 'Trèfle et Hodna' en suivant leur stabilité lors d'une rupture au niveau de la chaîne du froid, cela à été réalisé en les stockant à des températures de 6°C, 20°C et 37°C sur une période d'un mois.

D'après les résultats obtenus, nous avons constaté que :

La matière première du yaourt 'Trèfle' présente une conformité microbiologique qui s'explique par l'absence des germes pathogènes et les indices de contamination fécale, à l'exception de la flore aérobie mésophile totale dans la poudre du lait qui avait une valeur faible comparée aux normes du JORA. Ainsi qu'une conformité physicochimique aux normes exigées est vérifiée.

Les résultats d'analyses physicochimiques effectuées sur le produit 'Hodna' après sa commercialisation de la wilaya de M'sila vers la wilaya de Blida, montrent sa conformité aux normes avec un pH de 4,12 ; une acidité de 84°D ; un taux de MG de 1,6% et un EST de 19,24%. Ainsi, les résultats d'analyses microbiologiques attestent une absence totale de tous les germes recherchés. Cela pourrait être expliqué par les bonnes conditions du transport ,du stockage et du vente, et ça confirme qu'il n'y a pas eu une coupure au niveau de la chaîne du froid dans le camion frigorifique lors de la commercialisation. Donc, nous pouvons dire que ce produit est consommable et sa qualité est satisfaisante.

Concernant les yaourts stockés à différentes températures, les analyses physicochimiques des produits 'Trèfle et Hodna' nous a permis d'établir les résultats suivants :

Pour les produits conservés à 6°C, les résultats obtenus pendant toute la période du stockage montrent une conformité aux normes physicochimiques ; et cela pour les deux marques de yaourt, en notant une faible baisse du pH accompagné d'une augmentation de l'acidité. Concernant l'EST et le taux de MG, on a remarqué une faible variation qui est due à l'activité modérée des bactéries lactiques.

Par contre l'évolution du pH et l'acidité des produits stockés à une température ambiante et à 37°C étaient plus élevée, car cette dernière est favorable à l'activité des bactéries lactiques et par conséquent l'acidification, pour les produits stockés à 20°C, les deux marques restent conforme aux normes jusqu'à la première semaine de stockage. Tandis que, ceux stockés à 37°C perdent leur qualité dès le septième jour de stockage et deviennent inconsommables. Par ailleurs, la teneur en extrait sec et le taux de matière grasse ne sont que légèrement, voire pas influencés par l'effet de l'élévation de la température.

Les propriétés microbiologiques des yaourts 'Trèfle et Hodna' stockés à différentes températures sont tous conformes aux normes en vigueur et montrent une absence totale des germes pathogènes (*coliformes totaux et fécaux*, *salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *anaérobies sulfitoréducteurs*). Nous remarquons également une absence des germes témoignant la contamination fécale (*Coliformes fécaux*), ainsi qu'une absence totale de levures et moisissures est vérifiée.

Lors du stockage, le nombre de bactéries lactiques diminue chez les deux produits, mais reste pour l'essentiel, pendant toute la période de la réfrigération, conforme à la définition d'un yaourt. Pour les produits stockés à 20°C, les deux yaourts deviennent non conformes aux normes à partir de la troisième semaine de stockage. Alors que, pour les produits stockés à 37°C on a noté une diminution brutale des deux espèces lactiques, tout en devenant non conformes aux normes, cela a été remarqué dès la première semaine de stockage du produit 'Hodna' et à partir de la deuxième semaine pour le produit 'Trèfle'.

Une attention particulière doit être portée chez le produit 'Trèfle' ; concernant l'utilisation d'un colorant synthétique instable lors d'une rupture au niveau de la chaîne du froid. Les discussions précédentes montrent que le colorant rouge E124 non seulement présente une instabilité vis-à-vis la chaleur mais aussi dévoile un danger pour la santé du consommateur.

Ces résultats microbiologiques, physicochimiques chez les deux marques traduisent la bonne qualité des matières premières et des ingrédients, réunis aux bonnes conditions de fabrication (hygiène du personnel et ambiance, avec l'emploi des matériels en bon état), ainsi que les bonnes conditions du traitement thermique qui a pour effet sur l'amélioration de la qualité microbiologique du yaourt, sur les propriétés physicochimiques d'une manière conséquente.

Ce travail s'il met en évidence la bonne stabilité des deux marques de yaourt 'Trèfle et Hodna' stockés à 6°C, il confirme qu'une température supérieure (qui est dans notre cas la température ambiante et 37°C) accélère les phénomènes physicochimiques, microbiologiques responsables de la dégradation de la qualité, ce qui rend ces produits assez rapidement inconsommables.

D'un point de vue prospectif, il est important de contrôler la qualité de ces produits par les pouvoirs publics en appliquant des textes réglementaires, car c'est une nécessité fondamentale. Il est aussi nécessaire de minimiser l'utilisation des additifs et des colorants alimentaires afin d'arriver à produire des yaourts de qualité irréprochable.

1. **Absolonne J., 1989.** Les yaourts : adaptation aux objectifs nutritionnels. Les laits fermentés-actualité la recherche.135-159 pp.
2. **Abu-tarboush, H.M., 1996.** Comparison of associative growth and proteolytic activity of yogurt starters in whole milk from camels and cows. *Journal of Dairy Science*, 79: 366-371.
3. **Accolas J.P. ,1979.** Les levains lactiques thermophiles propriétés et comportement en technologie laitière. Edition : APRIA microbiologie en industrie alimentaire, Tome III.
4. **Accolas J.P., Hemme D., Mazeaud M.J., Vassal A., Bouillane C., et Veau M., 1982.** Les levains lactiques thermophiles : propriétés et comportement en technologie laitière. *Le lait*, 49 : 346-352.
5. **Accolas J.P., 1979.** Les levains lactiques thermophiles, propriétés et comportement en technologie du lait ; tome 4 . 487- 524 pp.
6. **Adolfsson O., Meyadani S.N., Russell R.M.,2004 .**Yogurt and gut function . p80.
7. **Alakali, J. S., Okonkwo, T. M et Umoru, S. A., 2008.** Effect of thermization on shelf stability of yoghurt. *EJEAFChe.Electronic journal of Environemental,Agricultural and Food Chemistry* .7 (13) : 2647-2654.
8. **Alias et Linden, 1997.** Biochimie alimentaire. 4éme édition. Masson. Paris. p284.
9. **Amiot J., Fournier S., Lebeuf Y., Paquin P., Simpson R., 2002,** Composition, propriétés physico-chimiques, valeur nutritive, qualité technologiques et techniques d'analyses du lait, Dans *Sciences et technologie du lait*, Éditrice : C.L. Vignola, Presses internationales Polytechnique, Montréal, Canada, 1-73 pp.
10. **Angelov M., Kostov G., Simova E., Beshkova D. , Koprinkova Hristova P.,2009.**Proto-cooperation factors in yogurt starter cultures ; *Revue de génie industriel*, 3 : 4-12.
11. **Anonyme, 1995.** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Organisation des nations unis de l'alimentation et de l'agriculture. Ed FAO.153- 175 pp.
12. **Anonyme, 1996.** Syndicat National des Producteurs d'Additifs Alimentaires. Les additifs autorisés dans les produits alimentaires Edition Janvier 1996, Alimentation humaine.
13. **Anonyme, 2009_a.** Les produits laitiers : Question sur les bactéries lactiques. Maison du lait. Danone World newsletter n°5.In :
http://www.cniel.com/publicat/Questions_sur/pdf/QS_30.pdf
14. **Anonyme, 2009_b.** Spécification technique de l'achat public: laits et produits laitiers. Groupe d'étude des marches de restauration collective et de nutrition (GEM RCN).France P14.In :

http://www.economie.gouv.fr/files/directions_services/daj/marches_publics/oeap/gem/pr_ouduits_laitiers/produits_laitiers.pdf

15. **Anonyme, 2011.** La lettre d'information de l'INRACQ n°56 : Comment remplacer certains Colorants par d'autres d'origine naturelle dans les denrées alimentaires?. Institut de Recherches Appliquées au Contrôle de Qualité. Chambre de Métiers et de l'Artisanat de Région Nord - Pas de Calais Lille cedex. France. In : <http://www.cfa62.fr/inracq/images/pdf/lettre56>
16. **Anonyme, 2012_a.** Le yaourt. In : <http://membres.multimania.fr/tpetek/le%20yaourt.htm>
17. **Anonyme, 2012_b.** Yaourts: fermeté et onctuosité du yaourt. In : <http://78.155.145.72/html/paoorqual/spip.php?article16>
18. **Ascon-Reyes, D.B., Ascon- Cabrera, M.A., Cochet, N., Lebeault, J.M., 1995.** Indirect conductance for measurements of carbon dioxide produced by *Streptococcus salivarius* spp. *thermophilus* TJ 160 in pure and mixed cultures. Journal of Dairy Science. 78: 8-16.
19. **Assche P., Rathe I, 1996.** La fabrication des yaourts. Ed Tec et Doc- Lavoisier, 452 p: 18-34.
20. **Beal C. et Sodini I., 2003.** Fabrication des yaourts et des laits fermentés in technique d'ingénieur. Traité groalimentaire .Paris .f6315.17p.
21. **Beerens H. et Luquet, 1987.** Guide pratique d'analyse microbiologique des laits et produits laitiers. Technique et Documentation ; Lavoisier ; APRIA . 144 p.
22. **Benaouda L., Bergaoui I.M., 2012.** Etude préliminaire de développement d'une technologie innovatrice de pasteurisation du lait : champs électrique pulsé (CEP). Mémoire d'ingénieur. Spécialité de Technologie Alimentaire. Option ; Nutrition humaine. Ecole Nationale Supérieure Agronomique, El Harrach –Alger.
23. **Bengharbia N. et Saadat N., 2010.** Contrôle physicochimique et microbiologique et organoleptique de deux types de yaourts (fruité et aromatisé) conservé à deux températures (6°C et ambiante). Mémoire d'ingénieur. Contrôle de qualité. faculté d'agro-vétérinaire et biologie. Univ. Blida.
24. **Benthin, S., Villadsen, J. 1995.** Different inhibition of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* by D-and L-lactic acid: effects on lag phase, growth rate and cell yield. Journal of Applied Bacteriology. 78: 647-654.
25. **Biatcho Nko Sadi D., 2006.** Appréciation de la mise en œuvre de l'hygiène dans une laiterie artisanale de Dakar, Le Dirfel : de la récolte du lait à sa transformation en lait caillé dit « SOW PUR » .Université Cheikh Anta Diop de Dakar .Ecole inter-état des

sciences et médecine vétérinaires (E.I.S.M.V.) . Thèse de doctorat ; [consulté en juin 2012] .In :

<http://www.beep.ird.fr/collect/eismv2/index/assoc/HASH0116.dir/TD06-11.pdf>

26. **Blandino A., Al-Aseeri M.E., Pandiella S.S., Cantero D. and Webb C. ,2003.** Cereal-based fermented foods and beverages. *Food Res. Int.* 36: 527–543.
27. **Bottazzi, V., Battistotti, B., Vescovo, M. 1971,** Continuous production of yoghurt cultures and stimulation of *Lactobacillus bulgaricus* by formic acid . *Milchwiss.* 26: 214-219.
28. **Boubchir- Ladj K. 2010.** Effets de l'enrichissement (avec des concentrés de protéines laitières) et des paramètres technologiques sur la qualité du yaourt fabriqué à la laiterie Soummam d'Akhou. Mémoire de magister Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou Faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques. Algérie.
29. **Boudraa G, Touhami M, Pochart P, Soltana R, Mary JY et Desjeux J-F, 1990.** Effect of feeding yogurt versus milk In children with persistent diarrhea. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 11 :509-512.
30. **Bourgeois CM., Mexele NP. et Zucca J., 1996.** Microbiologie alimentaire : aspect microbiologique de la sécurité et la qualité des aliments .Tome 1 ; édition Lavoisier ,Paris. 272 – 292pp.
31. **Bourgeois CM. et Larpent JP., 1996 .**Microbiologie alimentaire 2 : les fermentations alimentaires. 2^{ème} édition. Tec et Doc- Lavoisier. Paris.
32. **Bourgeois C-M., Larpent J-P, 1989.** Microbiologie alimentaire Tome 2. Les fermentations alimentaires. Tec et Doc- Lavoisier.
33. **Bourlioux P , Braesco V , Mater D .D.G., 2011 .** Yoghurts and other fermented milks. *Cahiers de Nutrition et de Diététique.* 46: 305–314.
34. **Bouton Y., Guyot P., Dansen A. et Grappin R. ,1993.** Activité protéolytique de souches de lactobacilles thermophiles isolées de levains et de Comté. I- Validation sur minifromages des techniques da laboratoire. *Lait.* 73: 265-278 .
35. **Boutonnier J.L. ,2001.** Crèmes, glaces et sorbets : formulation et fabrication. *Techniques de l'Ingénieur [F 8 010]*.
36. **Boutron M-C., Faivre J., Marteau P., Couillault C., Senesse P. et Quipourt V.,1996.** Calcium, phosphorus, vitamin D, dairy products and colorectal carcinogenesis : a French case-controlled study. *Brit. J. Cancer.* 74 : 145- 151.

37. **Branger A.,2004.** Fabrication de produits alimentaires par fermentation : les ferments, in technique d'ingénieur. Référence [F3500].
38. **Brulé G., 2003.** Impact de l'évolution des technologies de production et de transformation sur la qualité des produits laitiers. Annexe au rapport commun de l'Académie des technologies et de l'academie d'agriculture de France. Version du 25 Août 2003 ; p47. In : http://www.museum.agropolis.fr/pages/savoirs/techno_lait/annexe.pdf
39. **Burgain J. , Gaiani C. , Jeandel C. , Cailliez-Grimal C. , Revol A., Scher J. , 2012.** Maldigestion du lactose : formes cliniques et solutions thérapeutiques. Cahiers de Nutrition et de Diététique .45 :201-209
40. **Cerning C., Bouillane C., Desmazeaud M.J. ,1988.** Exocellular polysaccharide production by *Streptococcus thermophilus*. Biotechnology letters.10: 255-260.
41. **Chammas G.I., Saliba R. and Béal C., 2006.** Characterization of the fermented milk « Laban » with sensory analysis and instrumental measurements. J. Food Sci.71:156–162.
42. **Cheftel J. C et Cheftel H.,1977.** Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments. Edition Technique et Documentation-Lavoisier. Vol : 1. p53.
43. **Clark S., Plotka V.C., 2004.** Yogurt and sour cream: operational procedures and processing equipment, In Handbook of Food and Beverage Fermentation Technology, Éditeurs: Hui Hui Y.H. et al., Taylor and Francis (CRC Press), New York, USA.159-182pp.
44. **Claisse JR., Brémaud C., Leulier F., 2006.** Alimentation, santé, qualité de l'environnement et du cadre de vie en milieu rural. 222p.
45. **Codex Stan 243-2003.** Le Codex Alimentarius : Lait et produits laitiers.2^{ème} Ed (2011). OMS et FAO. Rome. In : ftp://ftp.fao.org/codex/Publications/Booklets/Milk/Milk_2011_FR.pdf
46. **Commere B., 1998.** Sécurité alimentaire et normes. Problématique de la chaîne du froid. Rev. Gén. Froid. 988 : 23-27.
47. **Cross M.L., Stevenson L.M., Gill H.S., 2001.** Anti-allergy properties of fermented foods an important immunoregulatory mechanism of lactic acid bacteria.p1.
48. **Dacosta Y., 2000.** La bio-protection des aliments, Technique et documentation.1-30pp.
49. **izquierdo lôpez D.,2010 .** Lyophilisation par moussage du *bifidobacteurium longum* ro 175 : viabilité après déshydratation et stabilité pendant l'entreposage. mémoire présenté pour l'obtention du grade de maître en sciences (m.sc.), département des sciences des aliments et de nutrition faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation université Laval, Québec.p 83.

50. **Danone world newsletter, 1997.** Le point sur les bienfaits santé des laits fermentés et des probiotiques. Danone,n°15 . In : <http://www.Danonevitapole.com/nutr-views/newsletter/Fr/news-15/into.html>.
51. **Danone World newsletter, 2000.** Les traitements thermiques: Leurs effets sur les laits fermentés.Ed.française,n°20.1-11pp. http://www.danonevitapole.com/nutri_views/newsletter/fr/news_20/sum.html
52. **Dave R.I. et Shah N.P.,1997** . Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. Int. Dairy J. 7 : 31-41.
53. **Delaguereviere J.F., 1981.**Utilisation de lactosérum dans l'alimentation humaine traditionnelle. Technique laitière.
54. **Dellaglio F., de Roissart H., Torriani S., Curk M. C. et Janssens D. ,1994.** Caractéristiques des bactéries lactiques. In : Bactéries lactique. Ed: Lorica. Volume 1. 25-60 pp.
55. **De Roissart, H. et Luquet, F.M. ,1994.** Les bactéries lactiques. Uriage, Lorica, France, vol. 1. 1-286pp.
56. **De Simone C., Vesely R., Bianchi Salvadori B. et Jirillo E.,1993** .The role of probiotics in the modulation of the immune system in man and in animals. Int. J. Immunother. 9 : 23-28.
57. **Desmazeaud M. ,1989.** Influence des traitements technologiques sur les bactéries lactiques. Implications technologiques. In : Les laits fermentés, Actualité de la Recherche. Ed.John Libbey Eurotext Ltd. Paris. 119-26 pp.
58. **Desmazeaud M.,1992.** Activité protéolytique de *Streptococcus lactique* mésophile au cours de l'affinage des fromages. Le lait, 72 : 267-289.
59. **Dilmi-Bouras A. , Sadoun D. ,2002.** Survie des ferments du yaourt dans le tube digestif du lapin. Lait 82 :247–253
60. **Drissen, F.M., Kingma, F., Stadhouders, J., 1982** .Evidence that *Lactobacillus bulgaricus* in yogurt is stimulated by *Streptococcus thermophilus*. Netherlands Milk and Dairy Journal.36: 135-144.
61. **Duboc P. et Mollet B., 2001.** Applications of exopolysaccharides in the dairy industry. Int. Dairy J. 11: 759–768.
62. **Emilio A., Guillermo R- P, 2003.** Produits laitiers,spécification du yaourt. San Salvador.
63. **Etievant A., Delolme X., 2011.** Formulation des préparations de fruits. In : technique de l'ingénieur.référence [F6290].

64. **Euzéby J.P., 2007.** Nutrition et croissance des bactéries (procaryotes). Abrégé de Bactériologie Générale et Médicale à l'usage des étudiants de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. [consulté en juillet 2012]. In: <http://bacteriologie.net/generale/nutritioncroissance.html>
65. **FAO., 2002.** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Chapitre 5 : Laits fermentés. Collection FAO/ Alimentation et Nutrition. 7-28pp.
66. **FAO ,1995.** Le lait et les produits laitiers dans nutrition humaine .p16.
67. **Federighi M.,2005.** Bactériologie Alimentaire : Compendium d'hygiène des aliments.Ed. Economica. 2^{ème} éd. 220-235pp.
68. **Fira D., Kojic M. , Banina A. , Spasojevic C. I., Strahinic I. et Topisorivic C.L.,2001.** Characterization of cell envelope-associated proteinases of thermophilic lactobacilli. J. Appl. Microbiol. 90:123.
69. **Fox G. E., Wisotzkey J.D. and Jurtshuk Jr. P.,1992.** How close is close: 16S rRNA sequence identity may not be sufficient to guarantee species identity. Int. J. Syst. Bacteriol. 42:166-170.
70. **Fredot É., 2005.** Connaissance des aliments, bases alimentaires et nutritionnelles de ladiététique, Lavoisier, 31-70pp.
71. **Gentès M.C ., 2011.** Compréhension du rôle structural d'exopolysaccharides de bactéries lactiques dans des systèmes laitiers fermentés enrichis en amidon modifié. Thèse doctorat en sciences et technologie des aliments pour l'obtention du grade de philosophiae doctor (ph.d.) . Univ. Laval, québec.p195.
72. **Gerdes S. K , Harper W. J. et Miller G. ,2001.** Bioactive compounds of whey and cardiovascular health. Application monograph cardiovascular health. 1-8 pp.
73. **Gevers, D. ,2002.** Tetracycline resistance in lactic acid bacteria isolated from fermented dry sausages. Thèse Doc. Univ. Gent. Fac. Sci. Gent. Belgium.
74. **Ghaoues S., 2011.** Evaluation de la qualité physico-chimique et organoleptique de cinq marques de laits reconstitués partiellement écrémés commercialisés dans l'est Algérien. Mémoire de magister en technologie alimentaire. I.N.A.T.A.A. Doc. Univ. Mentouri. Constantine.p130.
75. **Gledel J., 1996.** Microbiologie alimentaire : aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Ed .Tec&Doc. Paris.62-78pp.
76. **Gouget C., 2008.** Additifs alimentaires ; Danger : Le guide indispensable pour ne plus vous empoisonner. Éd. Chariot d'Or – 8e édition. Paris.

77. Gouesbet G., Jan G. , Boyaval P.,2001. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus* thermotolerance , Lait ,81 :301-309.
78. Guiraud JP., 1998. Microbiologie alimentaire .Tome II .Edi. Dunod, Paris,p652.
79. Guiraud J.P et Rosec J.P., 2004. pratique des normes en microbiologie alimentaire .AFNOR. Paris. p450.
80. Hardie J.M.,1986. Other Streptococci. In “ Bergy’s manuel systematic bacteriology”. Vol. 2: 1068-1071.
81. Helferich, W., Westhoff, D., 1980. History of yogurt, In: All About Yogurt, Helferich W et Westhoff D. Prentice-hall Inc., Englewood Cliffs, New Jersey. 1-10pp.
82. Hempen M., Unger F., Seck MT., Munstermann S., Zessin KH., 2003 .Quelques caractéristiques de la filière laitière informelle et l’hygiène du lait produit. 156 -161pp.
83. Henry R., 2011. Caractérisation des régulateurs transcriptionnels Rgg et étude du rôle de la protéine Rgg0182 de *Streptococcus thermophilus* .Thèse Doc.Univ.Henri Poincare .P188 .
84. Herrerosa M. A., Sandovalb H.,Gonzaleza L. et Castrob J. M.,2005. Antimicrobial ctivity and antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from armada cheese (a spanish goat’s milk cheese). Food microbiol. 455-459 pp.
85. Hervé-Jiménez L ., 2008. Une nouvelle vision de la proto-coopération entre *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* par des approches post génomiques . Doctorat Biologie , BiochimieBactérienne ,Agroparistech. 229p. In : http://bib.rilk.com/4080/01/Thèse_Hervé-Jiménez.pdf
86. Heyman M., 2000. Effect of lactic acid bacteria on diarrheal diseases. P19.
87. Holzapfel, W.H., Haberer, P., Geisen, R., Björkroth, J. et Schillinger U.,2001. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. Am. J. Clin. Nutr. 73: 365–73.
88. Horiuchi H. et Sasaki Y., 2012. Effect of oxygen on symbiosis between *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* .Journal of Dairy Science . 95 : 2904-2909.
89. Hornych S.,2006 .Maitrise de la qualité des crèmes glacées et des glaces. In : technique d’ingénieur. Référence [F 9 015]
90. Hui Y.H., Meunier-Goddick L., Hansen A., S., Josephsen J., Nip W. K., Stanfield P.S., Toldrà F. ,2004. Yogourt and sour cream: Operational procedures and processing equipments. Handbook of food and beverage fermentation technology. Éditions Marcel Dekker Inc., NY, USA. P 873. 159-182pp.

91. **Ikene C ., 1997.** Influence des facteurs stimulant l'acidification du lait sur les souches thermophiles et mésophiles , mémoire d'ingénieur en agronomie option : nutrition .Spécialité, technologie alimentaire et nutrition humaine .L'INRA.
92. **INRA, 2006.** La conservation des aliments : les techniques. Institut National de la Recherche Agronomique. France. In :
http://www.inra.fr/la_sciences_et_vous/apprendre_experimenter/attention_microorganismes/la_conservation_des_aliments_les_techniques
93. **Jeantet R., Croguennec T., Schuck P., Brulé G., 2006** .Sciences des aliments : biochimie, microbiologie, procédés, produits .volume 1 : stabilisation biologique et physico-chimique . Édition Tec et Doc- Lavoisier. Paris. P383.
94. **Jeantet R., Croguennec T., Schuck P., Brulé G., 2007.** Sciences des aliments : biochimie, microbiologie, procédés, produits .volume 2 : technologie des produits alimentaire stabilisation biologique et physico-chimique . Édition Tec et Doc-Lavoisier. Paris. 30-33pp.
95. **Jeantet, R., Croguennec T., Michel M. ,Schuck P., Brulé G., 2008.** Les produits laitiers.Ed. Tec & Doc Lavoisier. 23-35pp.
96. **Juillard, V., Desmazeaud, M., Spinnler, H.E., 1988** .Mise en évidence d'une activité uréasique chez *Streptococcus thermophilus*, Journal of Microbiology .34 : 818-822.
97. **Koïche, M. et Dilmi Bouras A., 2010** . Selection of local extremophile lactic acid bacteria with high capacity to degrade lactose :Potential use to reduce intolerance to lactose *in vitro* . African Journal of Biotechnology. 9 : 1635-1640.
98. **Kolars J.C., Levitt M.D., Aouji M. et Savaiano D.A., 1984.** Yogurt - an autodigesting source of lactose. N. Engl. J. Med. 310 :1-3.
99. **Kosikowski F.V., 1979** .Utilisation du lactosérum et produit à base de lactosérum,Paris .revue laitière française n°372 .
- 100.**Larpent J.P., 1991.**Les ferments microbiens dans les industries agroalimentaires : produits laitiers et canés. Ed. Apria .Paris. P 298.
101. **Larreta-Garde.V.,1997.**Enzymes en agroalimentaires. Ed. Technique et documentation. 63-70pp.
102. **Leclero H .,buttiaux R., Guillaumi J . , Wattri P. 1976** microbiologie appliquée. Doin éditeurs , Paris .P216.
103. **Leder ,1985.** Encyclopédie moderne de l'hygiène alimentaire In : évaluation de la qualité physicochimique , microbiologique et organoleptique d'un yaourt brassé aux fruits et aux chocolat 'crakolat' au cours de son stockage. Mémoire de fin d'étude en vue de

- l'obtention d'un diplôme d'ingénieure d'état en Biologie . belghali Y.et meliani A .
Promotion 2009 – 2010 .Département de Biologie . Univ. Saad DAHLAB. Blida.
- 104. Lee W. J. , Lucey J. A., 2010.** Formation and Physical Properties of Yogurt. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 23 :1127 – 1136.
- 105. Lemoinier, 1989 .** Microbiologie alimentaire . Tome II ; la formation alimentaire .Tec et Doc . Ed. Apria.
- 106. Leory F.,Degeest B., De Vuyst L.,2002.**A novel area of predictive modeling: describing the functionality of beneficial micro-organisms in foods .International Journal of Food Microbiology, 73 : 251-259.
- 107. Letord, C., 2001.** Relation entre croissance azotée de deux bactéries lactiques thermophiles:*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*. In : Faculté des Sciences Fondamentales et Appliquées. Université de Poitiers. P148.
- 108. Leveau J.Y., Bouix M., 1993.** Microbiologie industrielle : les microorganismes d'intérêt industriel . édition technique et documentation, Lavoisier. P175.
- 109. Leyral G., Vierling E., 2001.** Microbiologie et toxicologie des aliments : hygiène et sécurité alimentaire , chapitre VI : Conservation des aliments , chapitre VII : Eviter les apports microbiens. Ed. CNDP d'aquitaine 3^{ème} édition .P572.
- 110. Loones A. ,1989.** Transformation of milk components during yogurt fermentation. In Yogurt : nutritional and health properties.Ed. R.C. Chandran McLean, Virginia, USA : National Yogurt Association.95-114pp.
- 111. Loones A. ,1994.** Laits fermentés par les bactéries lactiques. In. <<bactéries lactiques>>. Vol 2 . De Roissart H . et Luquet F-M .Ed. loriga. Paris.37-152 pp.
- 112. Lortal S., Boudier J.F., 2011.** La valorisation de la matière première lait, évolution passée et perspectives. Innovations Agronomiques. Ed. INRA.13 :1-12.
- 113. Lucey J.A., 2004.** Cultured dairy products: an overview of their gelation and texture properties, International Journal of Dairy Technology. 57: 77-84.
- 114. Lucey J.A., Singh H., 1998.** Formation and physical properties of acid milk gels. Food Research International. 30: 529-542.
- 115. Lupien J. 1998.** Lait et produits laitiers dans la nutrition humain. Collection FAO : alimentation et nutrition N° 28.
- 116. Luquet F. M.,1985.** Lait et produits laitiers. Vache. Brebis .Chèvre : les produits laitiers . transformation et technologie. Tome2. Ed. Lavoisier. 42- 49pp.
- 117. Luquet F. M. , 1986.** Lait et produits laitiers. Vache. Brebis. Chèvre : qualité –énergie et table de composition. Tome3. Ed. Lavoisier. 344- 345pp.

118. **Luquet F.M., Corrieu G., 2008.** Bactéries lactiques de la génétique aux ferments . Ed. Lavoisier.Paris. P378.
119. **Luquet F .M. Corrieu G., 2005.** Bactéries lactiques et probiotiques. Lavoisier .p 1-69
120. **Maguin E., Prévost H., Gruss A., 1996 .** Construction of food-grade mutants of lactic acid bacteria. Elsevier/INRA . Lait :76 : 139-146.
121. **Mahaut M., Romain J., Brûlé G et Schuck P, 2000.** Les produits industriels laitiers. Ed Tec et Doc - Lavoisier.
122. **Marteau P., Flourié B., Pochart P., Chastang C., Desjeux J.F. & Rambaud J.C., 1990.** Effect of the microbial lactase(EC 3.2.1.23) activity in yoghurt on the intestinal absorption of lactose: an in vivo study in lactase-deficient humans. Brit. J. Nutr :64,71-79.
123. **Marteau P. ,1996.** Calcium, phosphore, vitamine D, produits laitiers et la carcinogènes. Journal of Cancer : 74 :145-151.
124. **Marty D. S., Kummar K. A., 1995.** Traditional uses of sorghum and millets. In D. A. V. Dendy (Ed.), Sorghum and Millet: Chemistry and Technology. St. Paul Minnesota: AACC: 185–221pp.
125. **Micanel M., Haynes I.N. et Playne M.J.,1997.** Viability of probiotic cultures in commercial australian yogurts. Austral. J. Dairy Technol. **52** : 24-7.
126. **Merabtine Y., 2010.** Etude des relations entre la structure de molécules odorantes et leurs équilibres rétention-libération entre phase vapeur et gels laitiers. Thèse doctorat en sciences des aliments. Univ.Bourgogne. P14.
127. **Mercy J.F. ,2011.**Techniques de conservation des aliments : 6p. In : http://www.rechercher.me/fichiers/conservation-des-aliments_pdf_471604.html
128. **Mereo J., 1980 .**Les utilisations industrielles du sérum, fromagerie. Paris, revue française n°365. 401p.
129. **Moll M. et Moll N. ,2000.** Précis des risques alimentaires.2^{ème} tirage.Ed.Tech.et Doc. Lavoisier. 10-349 pp.
130. **Multon J.L., 1994.** La qualité des produits alimentaire : politique, incitations, gestion et contrôle. 2^{ème} édition. Tec et Doc .Lavoisier. P 214.
131. **Multon J-L., 1998.** Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires. 3^{ème} édition, Collection Sciences et Techniques Agroalimentaires. Edition Tech et Doc. P 746.
132. **Noblet B., 2012.** Le lait : produits, composition et consommation en France. Cahiers de Nutrition et de Diététique. Ed .Elsevier. 47: 242-249.

133. **OMS, 1995.** World Health Organization: The treatment of diarrhoea: A manual for physicians and other senior health workers. Genève : FAO/WHO. P 23.
134. **O'Sullivan et Condon 1997.** Intracellular pH is a major factor in the induction of tolerance to acid and other stresses. In : *Lactococcus lactis*. Appl Environ Microbiol. 63(11) :4210-4215.
135. **Ottogali G., Resmini P., Rondinini G., Saracchi S., 1972.** Modifications chimiques et microbiologiques lors de la conservation du yaourt. Ann. Min. 22 :71-79.
136. **Ouadghiri M., 2009.** Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés « Lben » et « Jben » d'origine marocaine. Thèse Doc. Univ Mohammed v – Agdal .Maroc.
137. **Paci Kora E., 2004.** Interactions physico-chimiques et sensorielles dans le yaourt brassé aromatisé : quels impact respectifs sur la perception de la texture et de la flaveur ? .Thèse de doctorat de l'institut national agronomique de Paris-Grignon, science des aliments . P 205.
138. **Paquet D., Ayerbe A., Soustre Y., 2010.** Lait fermentés, yaourts, fromages frais et desserts lactés, Lavoisier, Sciences des aliments . vol. 29, n° 1-2, 61-67 pp.
139. **Patrignani, F., Lanciotti, R., Mathara, J. M., Guerzoni, M. E. and Holzapfel. W. H., 2006.** Potential of functional strains, isolated from traditional Maasai milk, as starters for the production of fermented milks. Int. J. Food Microbiol. 107: 1 – 11
140. **Pearce J., 1996.** Effects of milk and fermented dairy products on the blood cholesterol content and profile of mammals in relation to coronary heart disease. Int. Dairy J. 6 :661-672.
141. **Perez, P.F., De Antoni, G.L., Anon, C., 1991.** Formate production by *Streptococcus thermophilus* cultures. Journal of Dairy Science. 74: 2850-2854.
142. **Potelon J., et Zysmank, 1998.** Le guide des analyses de l'eau potable. Ed. La lettre du cadre territorial.S.EPT. P253.
143. **Radke-Mitchell, L.C., Sandine, W.E., 1984.** Associative growth and differential enumeration of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*. journal of Food Protection . 47: 245-248.
144. **Rajagopal S.N. et Sandine W.E., 1990.** Associative growth and proteolysis of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* in skim milk. J. Dairy Sci, 73: 894-899.
145. **Rasic, J.L., Kurmann, J.A., 1978.** Fermented fresh milk products. Yoghurt. Scientific grounds, technology, manufacture and preparation, Technical Dairy Publishing House, Copenhagen, Denmark. Vol .1.

146. **Renard A-C . , 2012.** Allégations santé L'Efsa dit oui aux ferments vivants du yaourt .
Revue laitière française. Ed. Société des éditions laitière française.719 : 36-37.
147. **Righi Mohamed, 2006 .**Microorganismes en action : le yaourt, PISTES, FSE,
Université Laval;2006. [consulté en Mai 2012]. In :
http://classeur.pistes.org/chantier/theme/291/LE_YAOURT.pdf
148. **Roberts R.F. et Maust J.M., 1995.** Composition and number of viable *Streptococcus salivarius subsp.thermophilus* and *Lactobacillus delbruckii subsp. bulgaricus* in refrigerated non-fat and low-fat yogurts available at retail outlets. Cult. Dairy Prod. J. 30 : 2-6.
149. **Rosset P., Beaufort A., Cornu M., Poumeyrol G., 2002.** La chaine du froid en agroalimentaire .Cahier de Nutrition et de Diététique. 37 : 124-130.
150. **Roux L ., 1994.** Conserver les aliments comparaison des méthodes et des technologies.
Tec et Doc Lavoisier. P705.
151. **Saint-Eve A., 2006 .**Compréhension de la libération et de la perception des composés d'arome en condition de consommation : Cas du yaourt brassé aromatisé. Thèse de doctorat .Institut National Agronomique Paris-Grignon.P232.
152. **Salaün F., Mietton B., Gaucheron F., 2005.** Buffering capacity of dairy products.
International Dairy Journal. 15 (2): 95-109.
153. **Saloff-Coste C. J., 1995.** Yoghurt as a calcium source. Danone world newsletter. N°4.
1-12 pp.
154. **Schaafsma G.,1996.** State of the art concerning probiotic strains in milk products. IDF Nutr. Newsl. 5 :23-24.
155. **Schaafsma, G., 2008.** Lactose and lactose derivatives as bioactive ingredients in human nutrition. Int. Dairy Sci. 18(5): 458–465.
156. **Schmidt J.M, Tourneur C et Lenoir J. ,1994.** Fonction et choix des bactéries lactiques en technologie laitière. In « bactéries lactiques » volume 2. Ed.Lorica.Paris. P 37-54.
157. **Scriban R., 1999.** Biotechnologie. 5^{ème} édition. Tec et Doc .Lavoisier . P1005.
158. **Shahani K M. et Chandan R C. ,1979.** Nutritional and healthful aspects of cultured and heat ontaining dairy food. Dairy sci. 62 (10) : 1685-1694.
159. **Singh Sudheer K., Ahmed Syed U. , Ashok P., 2006.** Yogurt science and technologie. 2nd Ed .Cambridge :Woodhead Publishing.
160. **Solis Pereyra B. , Lemonnier D. ,1993.** Induction of human cytokines by bacteria used in dairy foods. Nutr. Research 13, 1127-1140.

161. Soualhi R. ,2010 . Elaboration d'une nouvelle formulation de yaourt à vocation diététique . Memoire de magister. Sci. Agroalimentaires.Univer.Blida. P162.
162. Steele J., 1997. Biology and application of rod and Coccus Cultures. Marschall Italian and Specialty Cheese Seminars. 1-8 pp.
163. Steinkraus K.H.,1996. Handbook of Indigenous Fermented Foods. 2nd Edition Revised and Enlarged. New York, NY: Marcel Dekker. P 776.
164. Suarez F.L .et Savaiano D.A. ,1997. Diet, genetics, and lactose intolerance. Food Technol. 51 :74-76.
165. Suzuki, I., Kato, S., Jitada, T., Yano, N., Morichi, T., 1986. Growth of *Lactobacillus bulgaricus* in milk, Cell elongation and the role of formic acid in boiled milk. Journal of Dairy Science. 69: 311-320.
166. Tamime A.Y, Robinson R.K.,1999 . Yogurt science and technologie.2nd Ed .Cambridge :Woodhead Publishing.
167. Tamime A.Y et Robinson A.Y. ,2001 .Technologie du lait : constitution, récolte, traitement, transformation du lait .3^{ème} édition.
168. Terré S. ,1986. Propriétés technologiques, nutritionnelles et physiologiques *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*. Techniques Laitière et Marketing. 1008 : 26-36 .
169. Tremolieres J., Servilly Y., Jaquot R. et Dupin. H. ,1984. Manuel d'alimentation humaine. Ed . ESF. Viète. Paris. P100.
170. Vanassche, 1994. Technologie et propriétés des produits laitiers fermentés. Le lait et nous. Volume 04. 17-19pp.
171. Vandamme, P., Pot, B., Gillis, M., de Vos, P., Kersters, K. et Swings, J. 1996. Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. Microbiol Rev. 60 (2) : 407-438.
172. Veiseyre R. ,1975 .Technologie du lait. 3^{ème} Edition : la maison rustique. 396-331pp.
173. Verherbruggen J-M ,2006 .Les additifs alimentaires. In :
<http://www.ville-saumur.fr/pdf/habiter/additifs.pdf>
174. Veringa, H.A., Galesloot, T.H.E., Davelaar, H., 1968. Symbiosis in yoghurt (II). Isolation and identification of a growth factor for *Lactobacillus bulgaricus* produced by *Streptococcus thermophilus*. Netherland Milk Dairy Journal. 22: 114-120.
175. Veringa, 1973. Biochemical processus in the production of yoghourt ; les levains lactiques thermophiles, propriétés et comportement en technologie laitière. P503.

176. Vierling E., 2008 . Aliments et boissons : filières et produits. 3^{ème} Edition, Lavoisier, Paris. P277.15-33pp.
177. Vignola C.L., 2002 . Science et technologie du lait, transformation du lait. Ecole polytechnique de Montréal .Canada .443 – 469pp.
178. Walstra P, Woulters J.T.M., Geurts T.J., 2006, Milk Components, Dans Dairy Science and Technology, CRC Taylor & Francis Group, Florida, USA.63-83pp.
179. Warwick S., 2000. Elevages, cultures et biotechnologies. Le péril écologique des cultures transgéniques. Ed.Pour la science, 26: 128-132.
180. Yakhlef H.,madani T.,Ghozlane F.et Bir B., 2010. Rôle du matériel animal et de l'environnement dans l'orientation des systèmes d'élevages bovins en Algérie ; In : « la filière lait en Algérie».Communication aux 8èmes Journées des Sciences Vétérinaires ,18et 19 avril. École Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger.
181. Yildiz, F., 2010. Development and manufacture of yogurt and other functional dairy products. Taylor and Francis group. CRC Press, FL. USA. P435.
182. Zamfir M., Vancanneyt M., Makras L., Vaningelgem F., Lefebvre K., Pot B., Swings J. et De Vuyst L. 2006. Biodiversity of lactic acid bacteria in Romanian dairy products. Syst. Appl. Microbiol. 29: 487–495.
183. Zourrari A. et Desmazeaud M.J.,1991. Caractérisation de bactéries lactiques thermophiles isolées de yaourts artisanaux grecs. II. Souches de *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* et cultures mixtes avec *Streptococcus salivarius subsp thermophilus*. Lait. 71: 463-482.

Normes et textes réglementaires consultés

-NF T01-013, 1974: Norme Française NF T01-013. PH-métrie – Mesure électrométrique du pH au moyen d'une électrode de verre – Vocabulaire et méthode de mesure. AFNOR(Association française de normalisation).

-NA 1655, 1994. Norme Algérienne NA 1655. Qualité de l'eau-dosage du calcium. Méthode titrimétrique à l'EDTA,

-ISO 11869, 1997. Norme internationale ISO 11869. Yaourt- Détermination de l'acidité titrable.

-ISO 1736, 1994. Norme internationale ISO 1736. Lait sec -Détermination de la teneur en matière grasse-.

-ISO 13580, 2005. Norme internationale ISO 13580. Yogurt-Determination of total solids content (Reference method).

-ISO 2173,2003. Norme internationale ISO 2173. Produits dérivés des fruits et légumes - Détermination du résidu sec soluble (Méthode réfractométrique).

-ISO 6222, 1999. Norme internationale ISO 6222. Méthode microbiologique pour le dénombrement des germes totaux à 22°C, 37°C dans l'eau, Dénombrement des micro-organismes revivifiables - Comptage des colonies par ensemencement dans un milieu de culture nutritif gélosé.

-ISO 7899-1, 1998. Norme internationale ISO 7899-1. Qualité de l'eau - Recherche et dénombrement des entérocoques intestinaux dans les eaux de surface et des déchets - Partie 1: Méthode miniaturisée (nombre le plus probable) par ensemencement en milieu liquide.

-ISO 9308-2, 1990. Norme internationale ISO 9308-2. Recherche et dénombrement des organismes coliformes, des organismes coliformes thermotolérants et des *Escherichia coli* présumés dans l'eau -- Partie 2: Méthode du nombre le plus probable.

-NF T90-415, 1985. Norme Française T90-415. Essais des eaux – Recherche et dénombrement des spores de bactéries anaérobies sulfite-réductrices et de {Clostridium} sulfite-réducteurs – Méthode générale par incorporation en gélose en tubes profonds.AFNOR.

-ISO 7218, 2001. Norme internationale ISO 7218. Microbiologie des aliments, règles générales pour les examens microbiologiques.

-ISO 4833, 2003. Norme internationale ISO 4833. Microbiologie des aliments- Méthode horizontale pour le dénombrement des micro-organismes - Technique de comptage des colonies à 30 degrés C.

--ISO 4832, 2006. Norme internationale ISO 4832. Microbiologie des aliments- Méthode horizontale pour le dénombrement des coliformes- Méthode par comptage des colonies.

-NF V08-061, 2005. Norme Française V08-061. Dénombrement des spores d'anaérobies sulfito-réducteurs à 37°C dans les denrées alimentaires ; Dénombrement en anaérobiose des bactéries sulfito-réductrices par comptage des colonies à 46 °C - Méthode de routine. AFNOR.

-ISO 6888-1, 1999. Norme internationale ISO 6888-1. Méthode horizontale pour le dénombrement des Staphylocoques à Coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autres espèces).

-ISO 6785, 2001. Norme internationale ISO 6785. Lait et produits laitiers -Recherche de *Salmonella* spp.

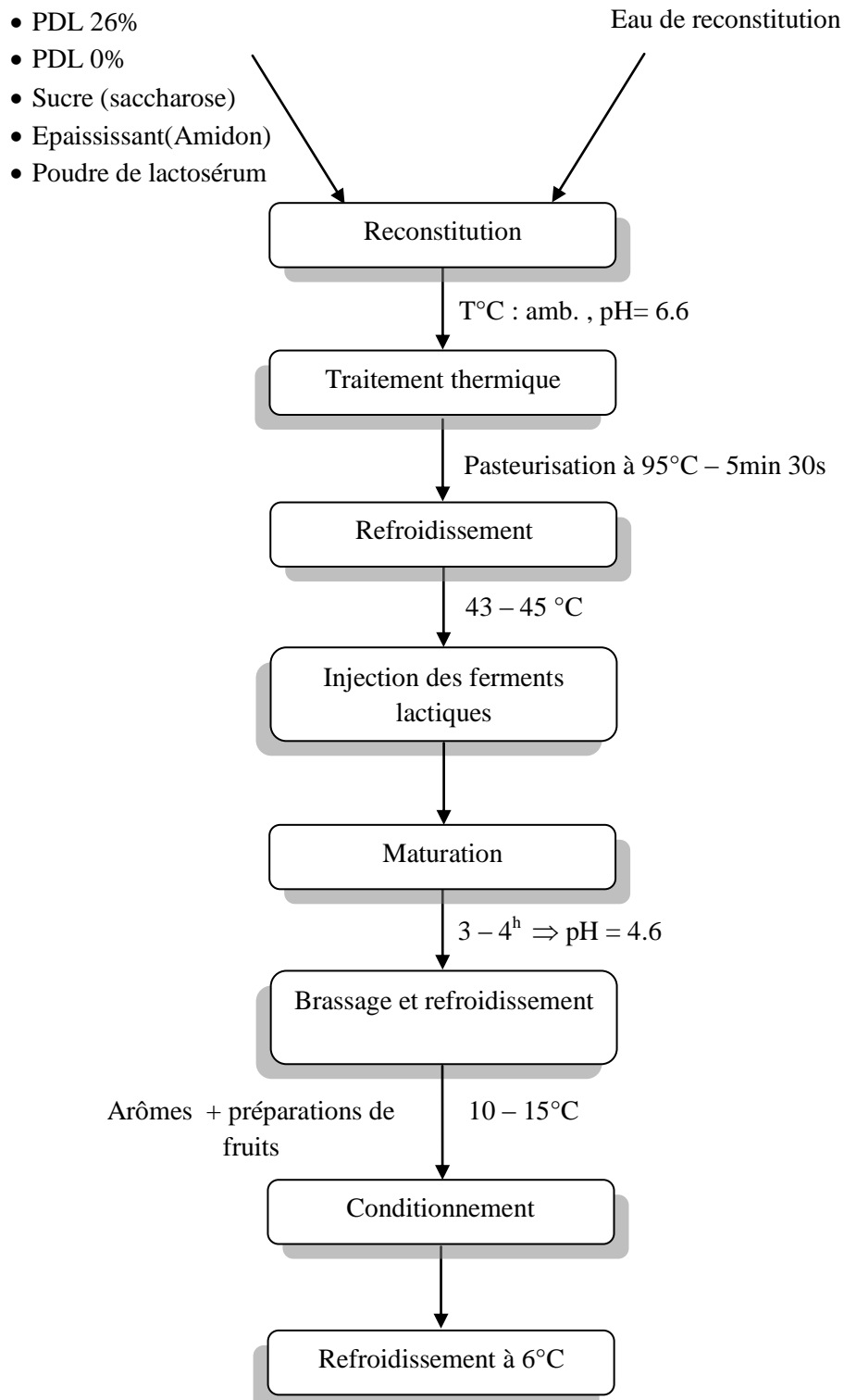
-ISO 6611, 2004. Norme international ISO 6611. Lait et produits laitiers- Dénombrement des unités formant colonie de levures et/ou moisissures-Comptage des colonies à 25 degrés C.

-JORA, 2004. Journal Officiel De La République Algérienne N° 43. Arrêté rendant obligatoire une méthode de dénombrement des micro-organismes caractéristiques par une technique de comptage des colonies à 37°C dans le yaourt. Algérie, Ministère du commerce.16 Jomada El Oula 1425 ,4 juillet 2004. 11-15pp.

-JORA 1998. Journal Officiel De La République Algérienne N° 86. Arrêté interministériel du 16 Jomada Ethania 1419 correspondant au 7 octobre 1998 relatifs aux spécifications techniques des yaourts et aux modalités de leur mise à la consommation.P.22.

-JORA, 1998. Journal Officiel De La République Algérienne N° 35. Arrêté interministériel du 24 janvier 1998 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées attains. 9-25pp.

Annexe 1 : Diagramme de fabrication du yaourt à boire fruité (bouteille) marque « Trèfle »



Annexe 2: L'appareillage, la verrerie, les solutions, les réactifs, les additifs et les milieux de culture

➤ **Appareillage et Verrerie**

- Bec Benzène
- Balance analytique électrique.
- Bain marie
- Etuves d'incubations
- Pincés stériles
- Réfrigérateurs pour stocker les milieux de cultures et les échantillons
- Thermomètre approprié destiné à vérifier la température du bain d'eau
- Four Pasteur (MEMMERT)
- Centrifugeuse
- Butyromètre de TEICHERT (pour la poudre de lait).
- Butyromètre GERBER (pour le yaourt).
- pH mètre
- Acidimètre
- Dessiccateur
- Réfractomètre manuel

- Boîtes de Pétri
- Béchers
- Burettes graduées
- Capsules métalliques ou en porcelaine
- Eprouvettes graduées de capacités différentes : 500 ml, 1000 ml
- Flacons en verre de 250 ml et 500 ml
- Pipettes Pasteur
- Pipettes graduées : 1ml, 10 ml
- Tubes à essais en verre de 25 ml

➤ **Réactifs, Additifs, Solutions et Colorants**

1. Pour l'analyse physico-chimique

- Alcool iso-amylque : masse volumique $\rho_{20} = 0,811 \pm 0,002$ g/ml.
- Acide sulfurique (H_2SO_4) : masse volumique $\rho_{20} = 1,820 \pm 0,005$ g/ml.
- Hydroxyde de sodium (NaOH) : solution sodique titrée à 0,111 mol/l.
- Acide sulfurique à 0,1 mol/l.
- Sel disodique d'Acide Ethylène Diamine Tétracétique (EDTA) à 0,01N.
- Phénol-phtaléine : solution alcoolique à 1%.

- Eau distillée stérile.
- Tampon ammoniacal.
- Méthyle orange.
- Noir d'Eriochrome T (NET) à 0,5%.

2. Pour l'analyse microbiologique

- Réactif de kovacs.
- Additif Alun de Fer.
- Additif Sulfite de Sodium.
- Additif Tellurite de Potassium.
- Eau distillée stérile.

Compositions des milieux de cultures

MILIEU DE CULTURE	COMPOSITION	QUANTITEE	PH
Tryptone sel eau (TSE)	<ul style="list-style-type: none"> • Tryptone • Chlorure de sodium • Eau distillée 	<ul style="list-style-type: none"> • 1 g • 8.5 g • 100ml 	7
Eau physiologique	<ul style="list-style-type: none"> • Chlorure de sodium • Eau distillé 	<ul style="list-style-type: none"> • 9g • 1000ml 	7,5
Gelose Plat count agar (PCA)	<ul style="list-style-type: none"> • Peptone • Extrait de levure • Glucose • Eau distillée • Autoclaver 	<ul style="list-style-type: none"> • 5g • 2,5g • 1g • 1000 ml • 20 mn à 120 °C 	5,4
ROTHE (bouillon)	<ul style="list-style-type: none"> • Peptone. • Glucose. • Chlorure dipotassique. • Phosphate dipotassique. • Phosphate monopotassique. • Eau distillée. 	<ul style="list-style-type: none"> • 20g • 5g • 5g • 2,7g • 2,7g • 1000ml 	6, 8 à 7

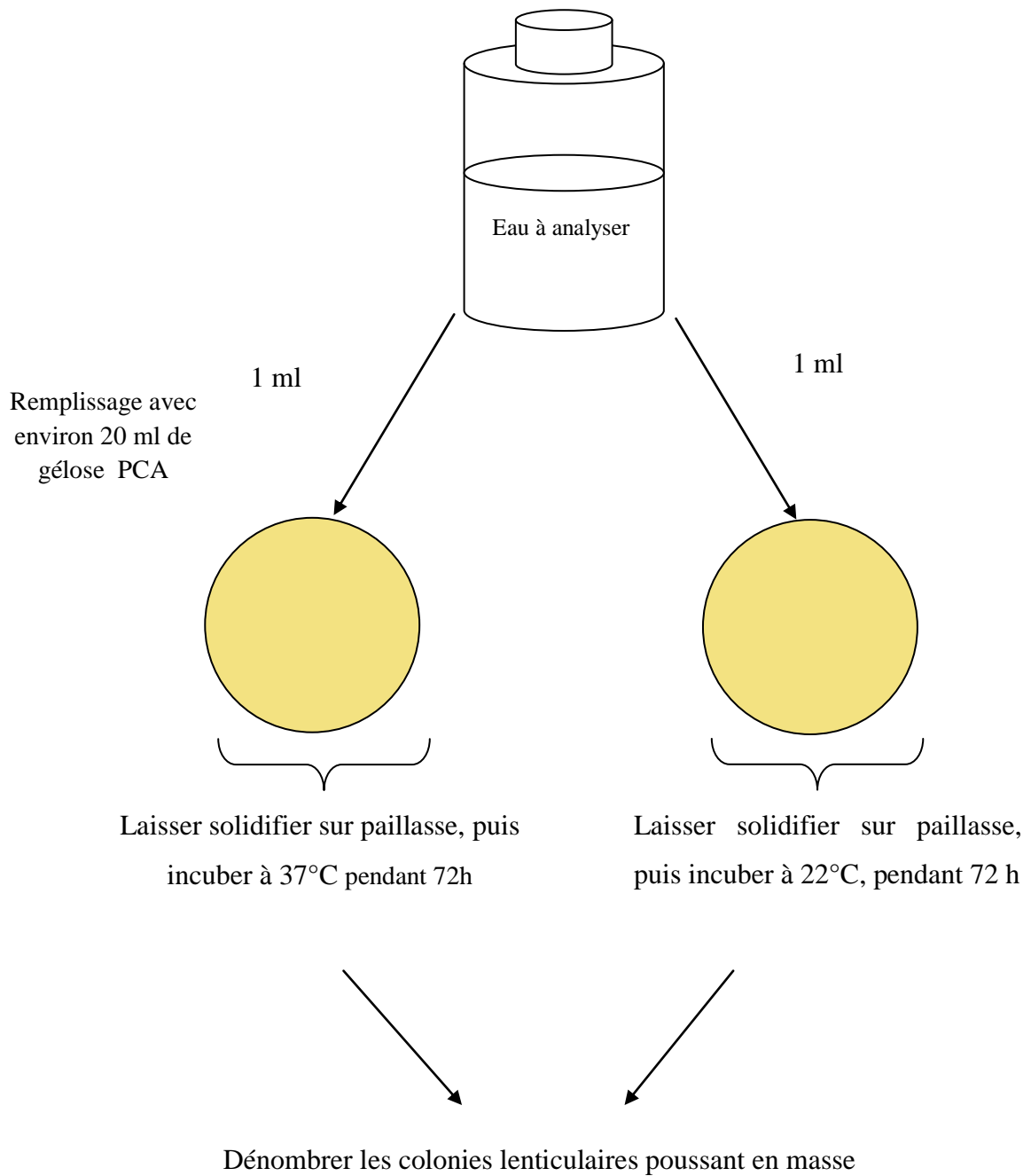
Eva-litsky (Bouillon)	<ul style="list-style-type: none"> • Peptone • Glucose • Chlorure de sodium • Phosphate dipotassique • Phosphamonomotassique • Eau distillée 	<ul style="list-style-type: none"> • 20 g • 5 g • 5 g • 2,7g • 2,7 g • 1000 ml 	6,8 à 7
Bouillon Lactose à la Poudre de Bromocresol (BCPL)	<ul style="list-style-type: none"> • Peptone • Extrait de viande • Lactose • Poudre de bromocrésol • Eau distillée 	<ul style="list-style-type: none"> • 5g • 3g • 10 g • 25 g • 1000 mL 	7
Gélose viande foie(VF)	<ul style="list-style-type: none"> • Extrait viande fois • Glucose • Amidon • Gélose 	<ul style="list-style-type: none"> • 30 g • 2g • 2 g • 12 g 	7,6
VRBL : (Gélose Lactosée Biliée au Cristal Violet et au Rouge Neutre)	<ul style="list-style-type: none"> • Peptone • Extrait de levure • Sels biliaires • Glucose • Chlorure de sodium • Rouge neutre • Cristal violet • Lactose • Autoclaver 	<ul style="list-style-type: none"> • 7g • 5g • 1,5g • 10g • 5g • 30mg • 2mg • 12g • 20mn à 120°C 	7.4
Gélose mannitol (Chapman)	<ul style="list-style-type: none"> • Extrait de viande 1g • Peptone 10g • Chlorure de sodium 5g • Mannitol 10g • Rouge de phénol 25 mg • Gélose 15 mg • Eau distillée 	<ul style="list-style-type: none"> • 1g • 10g • 5g • 10g • 25 mg • 15 mg • 1000 ml 	7,4
Bouillon au sélénite de sodium et à la caséine (SFB)	<ul style="list-style-type: none"> • Peptone trypsine de caséine • Cystéine • Lactose • Phosphate de sodium • Sélénite de sodium • Eau distillée 	<ul style="list-style-type: none"> • 5 g • 0,01 g • 4 g • 10 g • 4 g • 1000 mL 	7

Milieu Sabouraud	<ul style="list-style-type: none"> • Peptone de viande • Peptone de caséine • Glucose • Eau distillée 	<ul style="list-style-type: none"> • 5g • 5g • 20 g • 1000 mL 	6,3
Gélose glucose à l'Oxytétracycline (OGA)	<ul style="list-style-type: none"> • Extrait de levure • Glucose. • Agar. • Eau distillé. 	<ul style="list-style-type: none"> • 5g. • 20g • 16g • 1000ml 	6,8
Milieu MRS acidifié	<ul style="list-style-type: none"> • Peptone 1 • Extrait de viande • Extrait de levure déshydraté • Glucose (c6 H 12 O6) • Tween 80 (sorbitanne monoléate) • Hydrogéo-orthophosphate dipotassique (K₂HPO₄) • Acétate de sodium, trihydraté (CH₃CO₂ Na₃H₂O) • Citrate d'ammoniaque (C₆H₆O₇(NH₄)₂) • Sulfate de magnésium heptahydraté (MnSO 47H₂o) • Sulfate de manganèse tétrahydraté (MnSO 4H₂O) • Agar-agar • Eau 	<ul style="list-style-type: none"> • 10 g • 10 g • 5 g • 20 g • 1 ml • 2 g • 2 g • 2 g • 0,2 g • 0,05 g • 9-18 g • 1000 ml 	
Milieu M17	<ul style="list-style-type: none"> • Peptone 1 (hydrolysats tryptique de caséine) • Peptone 2 (hydrolysats peptique de viande) • Peptone 3 (hydrolysats papaenique de soja) • Extrait de levure déshydratée • Extrait de viande • B-glycérophosphate (sel disodique) (C₃H₇) • Sulfate de magnésium heptahydraté (MgSO₄7H₂O) • Acide ascorbique (C₆H₈O₆) • Agar-agar • Eau 950 	<ul style="list-style-type: none"> • 2,50 g • 2,50 g • 5,00 g • 2,50 g • 5,00 g • 19,00 g • 0,25 g • 50 g • 9-18 g • 950 ml 	

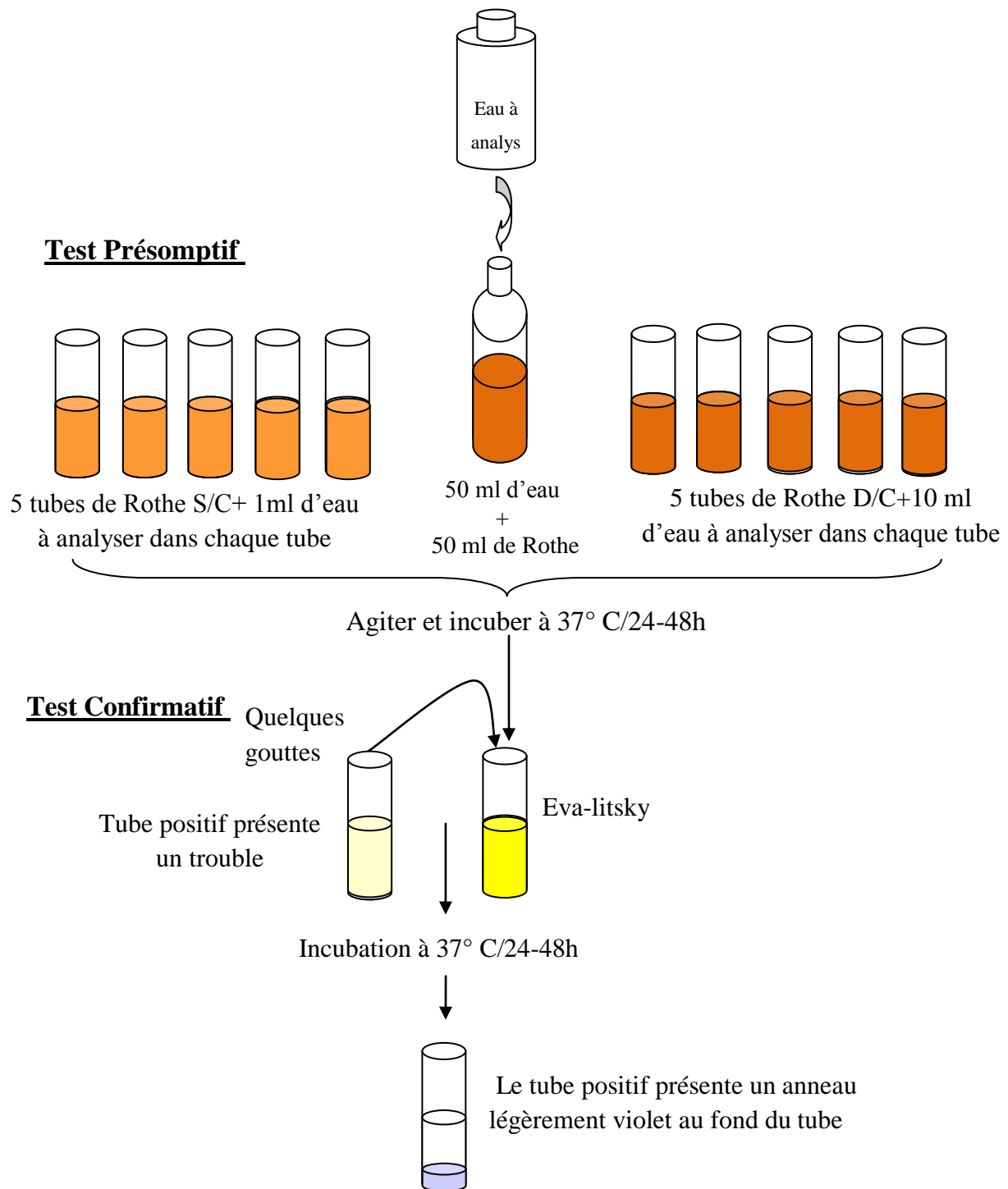
Gélose viande foie (VF)	<ul style="list-style-type: none"> • Extrait viande foie • Amidon • Glucose • Agar • Eau distillée 	<ul style="list-style-type: none"> • 30g • 2g • 2g • 11g • 1000ml 	6,8 à 7
Gélose oxytétracycline glucose agar (OGA)	<ul style="list-style-type: none"> • Extrait de levure • Glucose • Agar • Eau distillée 	<ul style="list-style-type: none"> • 5g • 20g • 16g • 1000ml 	6,8 à 7
Milieu de Roth (bouillon glucosé à l'azide de sodium)	<p style="text-align: center;"><u>Formule normale (S/C)</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Peptone • Glucose • Chlorure de sodium • Phosphate bio potassique • Phosphate mono potassique • Azide de sodium • Eau distillée 	<ul style="list-style-type: none"> • 20g • 5g • 5g • 2.7g • 2.7g • 0.2g • 1000ml 	7
	<p style="text-align: center;"><u>Formule concentrée (D/C)</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Peptone • Glucose • Chlorure de sodium • Phosphate bio potassique • Phosphate mono potassique • Azide de sodium • Eau distillée 	<ul style="list-style-type: none"> • 40g • 10g • 10g • 5.4g • 5.4g • 0.4g • 1000ml 	7
Bouillon lactosé au pourpre de bromocrésolé (BCPL)	<p style="text-align: center;"><u>Formule normale (S/C)</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Extrait de viande • Peptone • Lactose • BCP • Eau distillée 	<ul style="list-style-type: none"> • 3g • 5g • 5g • 0,015g • 1000ml 	6, 7
	<p style="text-align: center;"><u>Formule concentre (D/C)</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Extrait de viande • Peptone • Lactose • BCP • Eau distillée 	<ul style="list-style-type: none"> • 5g • 10g • 10g • 0.03g • 1000ml 	7

Gélose-tryptone-glucos-extrait de levure -agar (TGEA)	<ul style="list-style-type: none"> • Peptone de caséine • Extrait de levure • Extrait de viande • Tryptone • Lait peptonisé • Gélose • Eau distillée 	<ul style="list-style-type: none"> • 5g • 3g • 1g • 15g • 15g • 15g • 1000ml 	5,4
Milieu Schubert (Bouillon de Schubert modifié pour coliformes)	<ul style="list-style-type: none"> • Tryptophane • Acide glutamique • Sulfate de magnésium • Citrate de sodium • Sulfate d'ammoniu • Chlorure de sodium • Peptone • Mannito • Phosphate disodique • Phosphate monopotassique • Eau distillée 	<ul style="list-style-type: none"> • 0.2g • 0.2g • 0.7g • 0.5g • 0.4g • 2g • 10g • 7.5g • 4g • 0.6g • 1000ml 	5,4
Milieu de litsky (bouillon à l'azide et l'éthyle -violet= bouillon EVA)	<ul style="list-style-type: none"> • Peptone • Glucose • Chlorure de sodium • Phosphate dipotassique • Phosphate monopotassique • Azide de sodium • Ethyle violet 	<ul style="list-style-type: none"> • 20g • 5g • 5g • 2.7g • 2.7g • 0.3g • 0.5g 	7

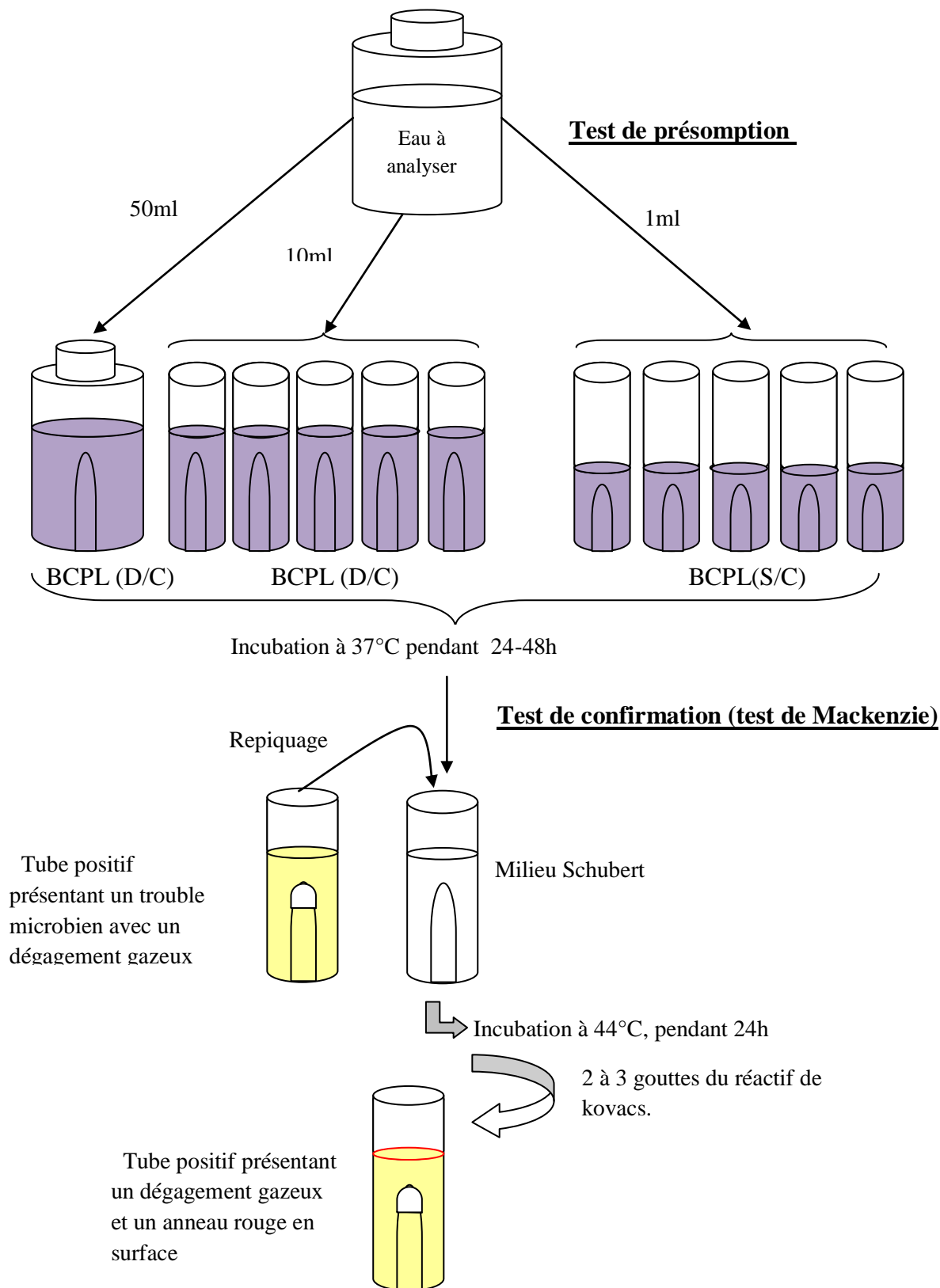
Annexe 3 : Technique de recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux dans l'eau de procès



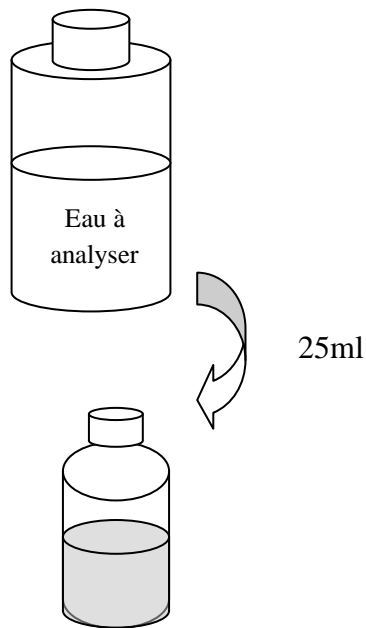
Annexe 4: Technique de recherche et dénombrement des *Streptocoques fécaux* en milieu liquide dans l'eau de procès



Annexe 5 : Technique de recherche et dénombrement des *coliformes totaux et fécaux* en milieu liquide dans l'eau de procès



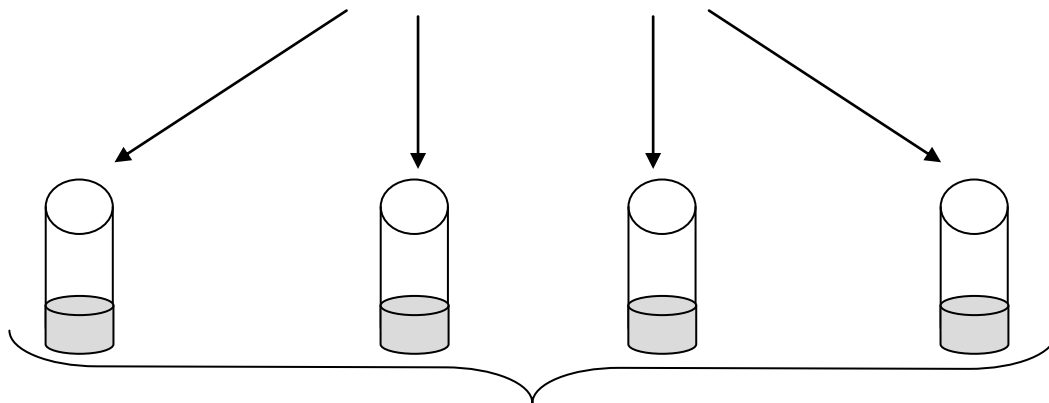
Annexe 6 : Technique de recherche et dénombrement des *Clostridium Sulfitoréducteur* dans l'eau de process



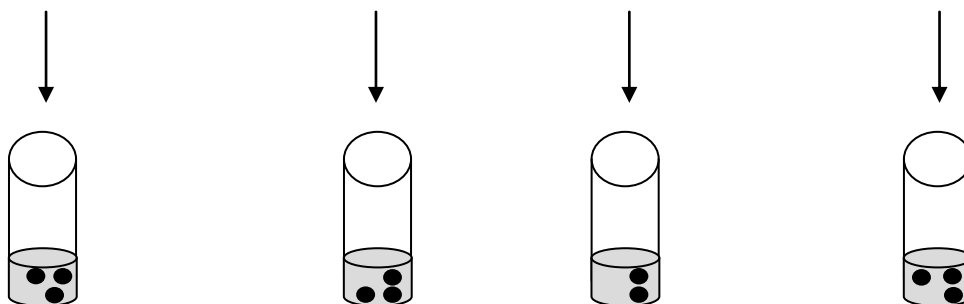
Chauffage à 80°C, 10 minutes

Refroidissement brutal sous l'eau de robinet

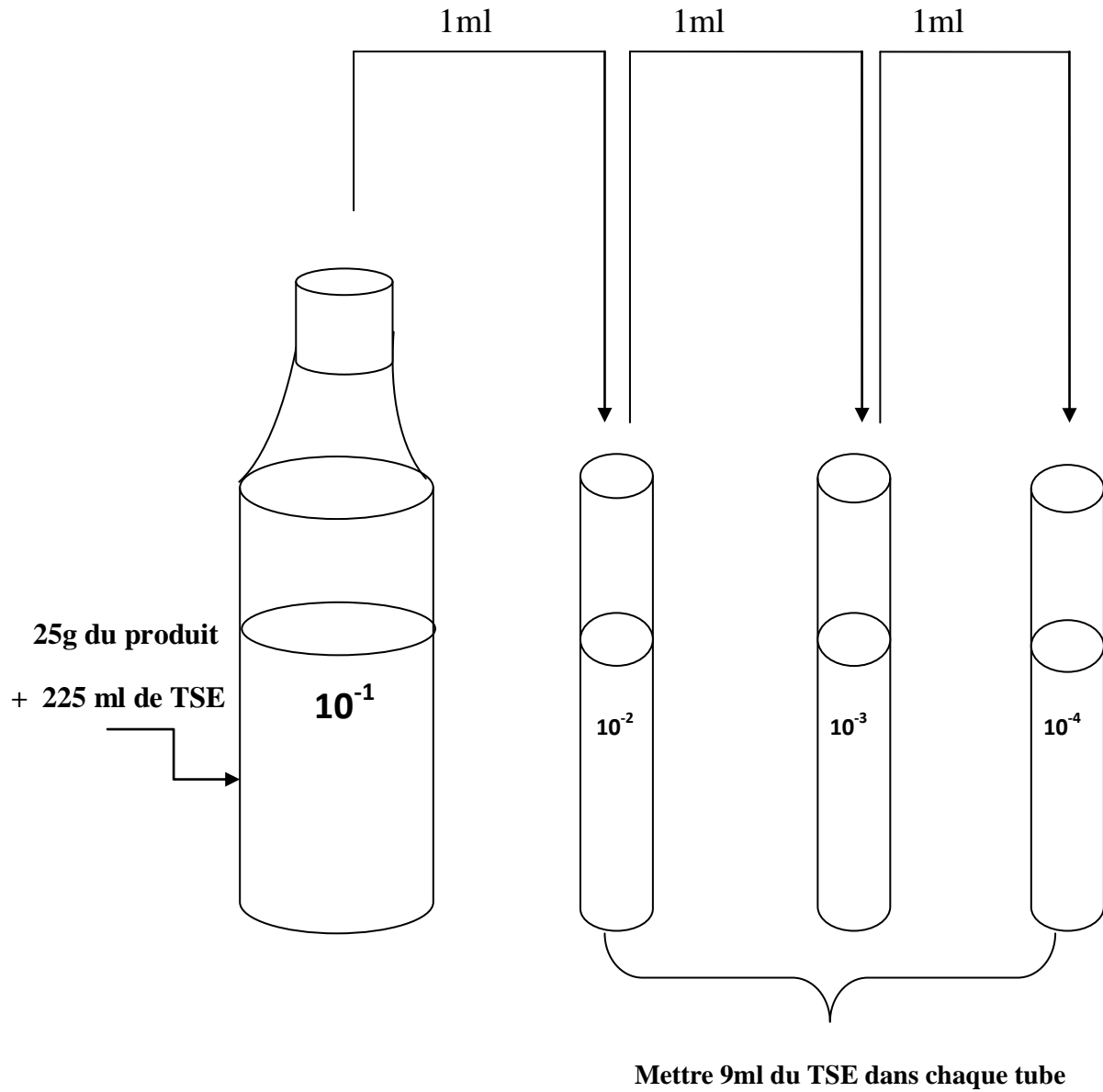
Répartir à raison de 5 ml par tube dans 4 tubes



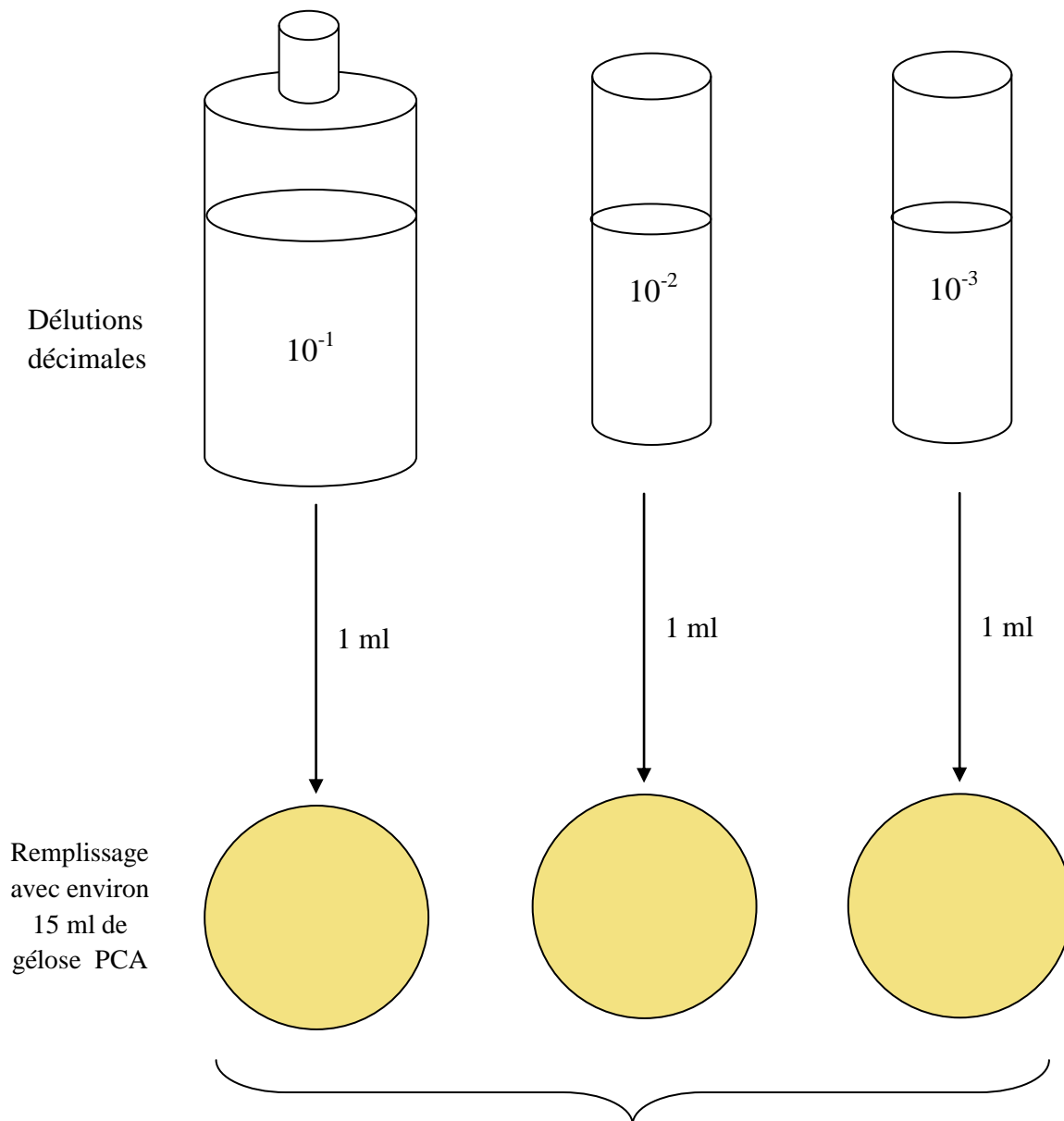
Ajouter environ 15 ml de gélose VF fondue puis refroidie à $45 \pm 1^\circ\text{C}$



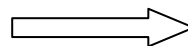
Annexe 7 : Technique de préparation des dilutions décimales



Annexe 8 : Technique de recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux (matière première, yaourt)

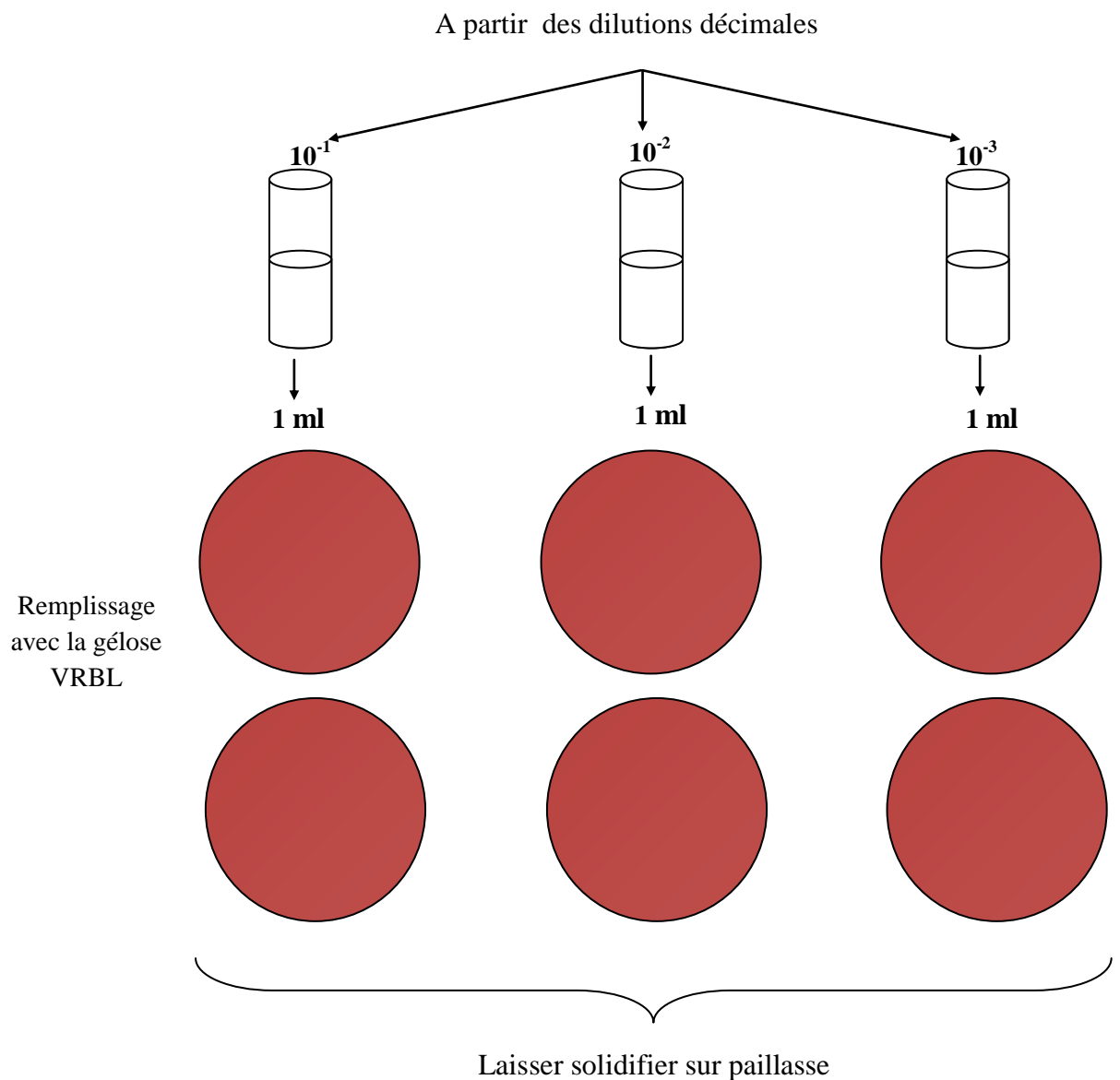


Incubation à 30° C pendant 24 ,48 à 72 heures

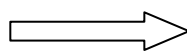


Dénombrer les colonies lenticulaires en masse

Annexe 9 : Technique de recherche et dénombrement des *coliformes totaux* et *fécaux* en milieu solide (matière première, yaourt)



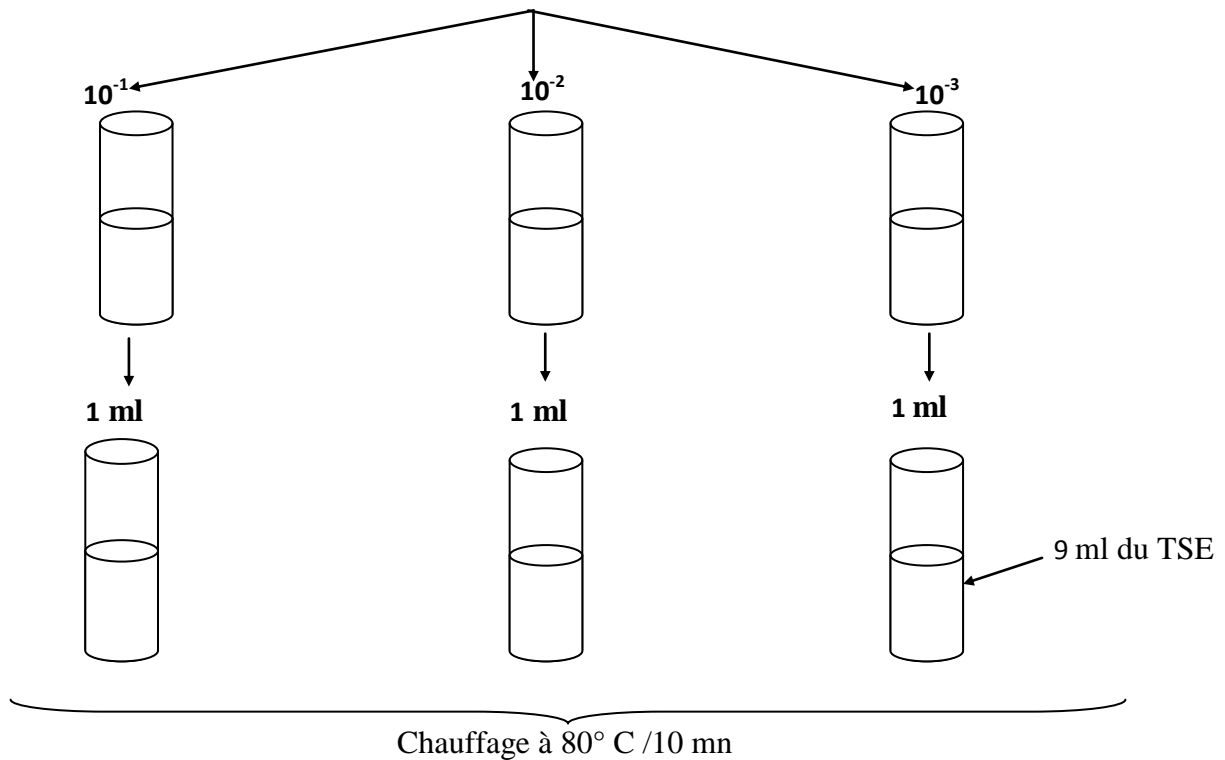
L'incubation se fait pendant 24 à 48 h à 37°C pour les *coliformes totaux* et à 44°C pour la deuxième série qui servira à la recherche des *coliformes*



On va dénombrer les boîtes contenant des colonies de couleur rouge foncé, brillantes de 0,5mm de diamètre

Annexe 10 : Technique de recherche et dénombrement des Spores *Clostridium Sulfitoréducteurs* (matière première, yaourt)

A partir des dilutions décimales

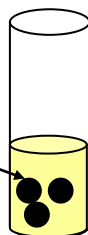


Refroidissement brutal sous l'effet de l'eau du robinet

Addition de 15 ml de gélose VF + 5 ml d'alun de fer et 1ml de Sulfite de Sodium

↓
Incubation à 37° C pendant 24 à 48 h

Présence de colonies
noires



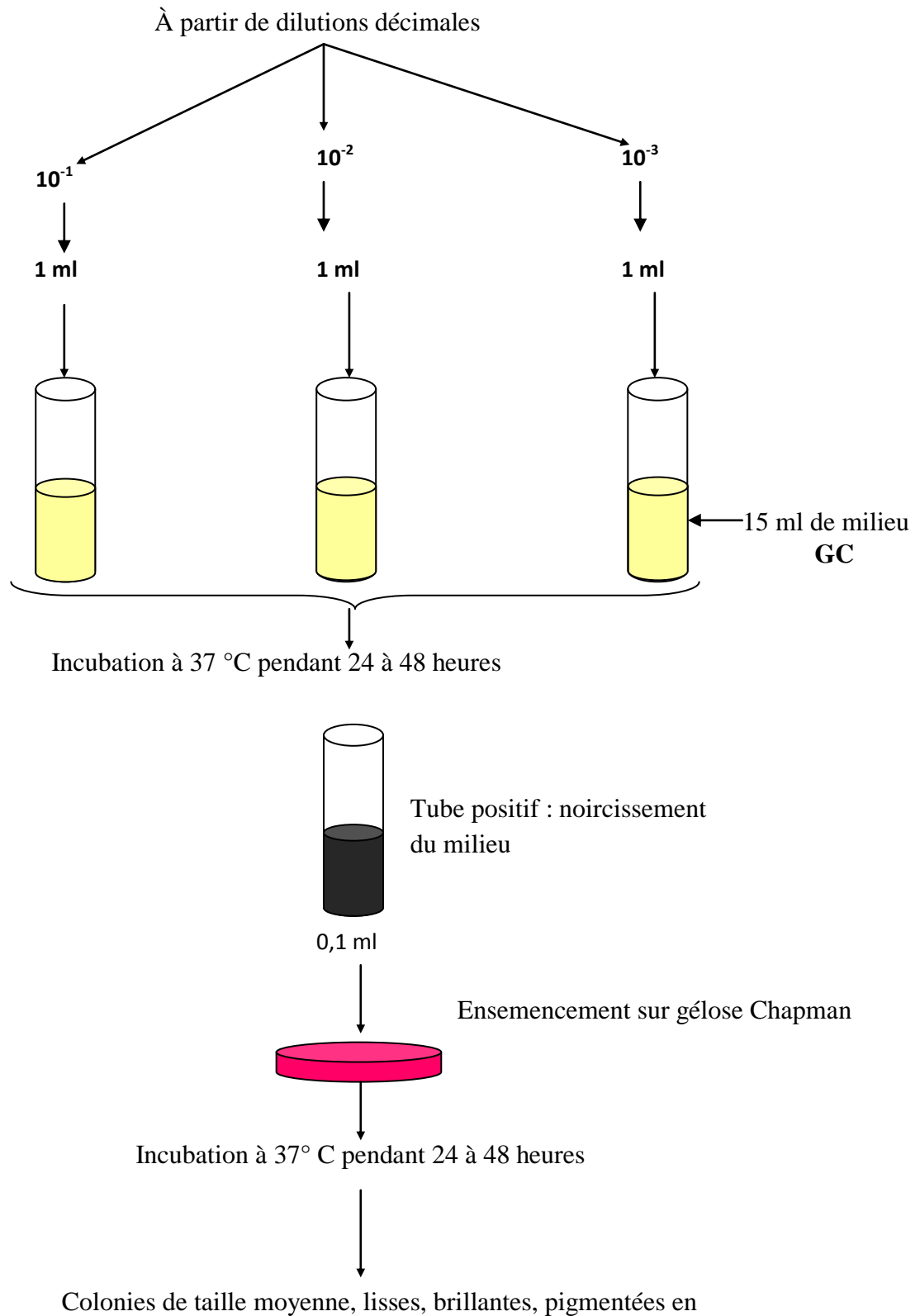
Tube positif présence de spores de
Clostridium sulfito-réducteurs

Absence de colonies
noires

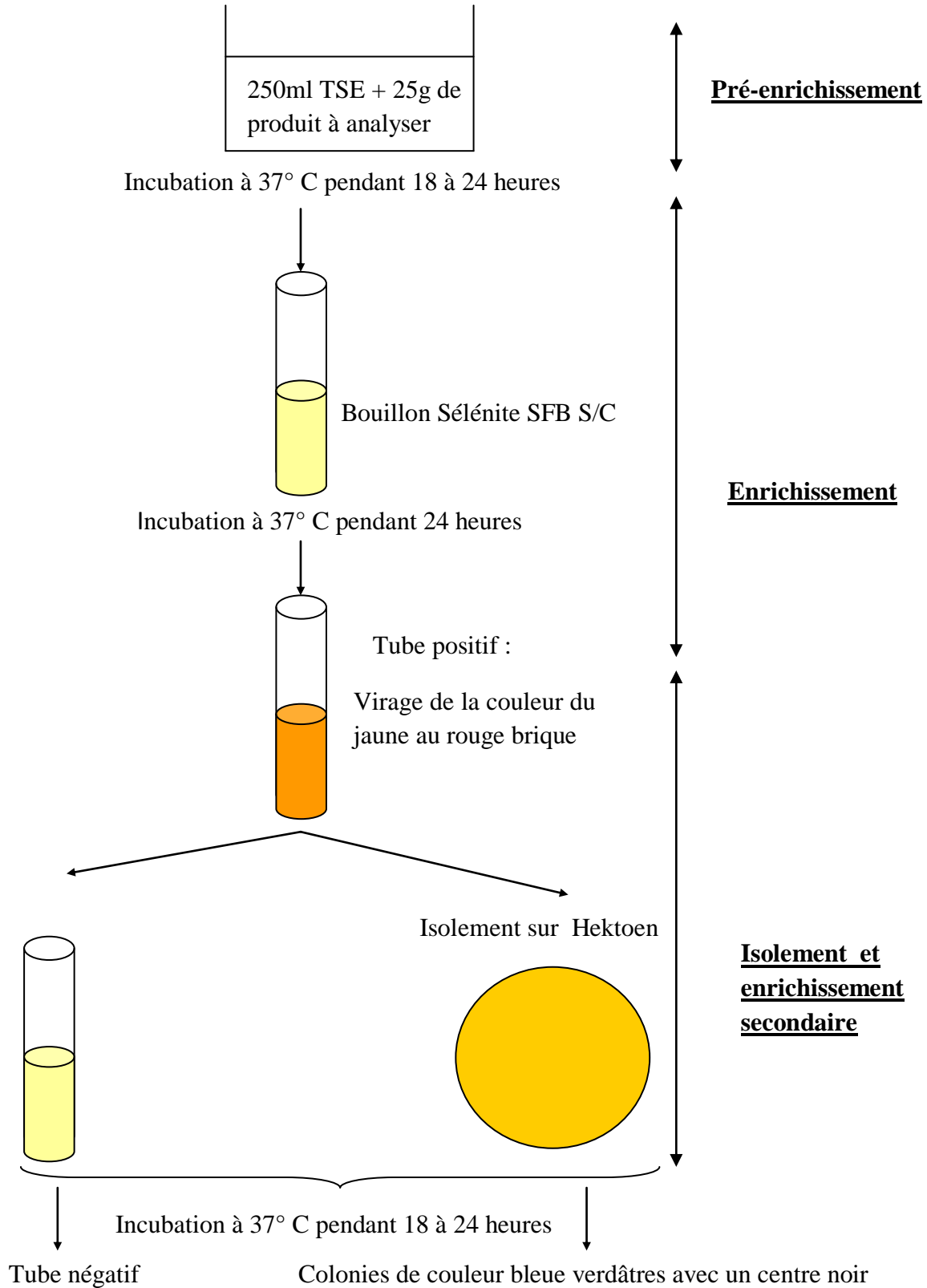


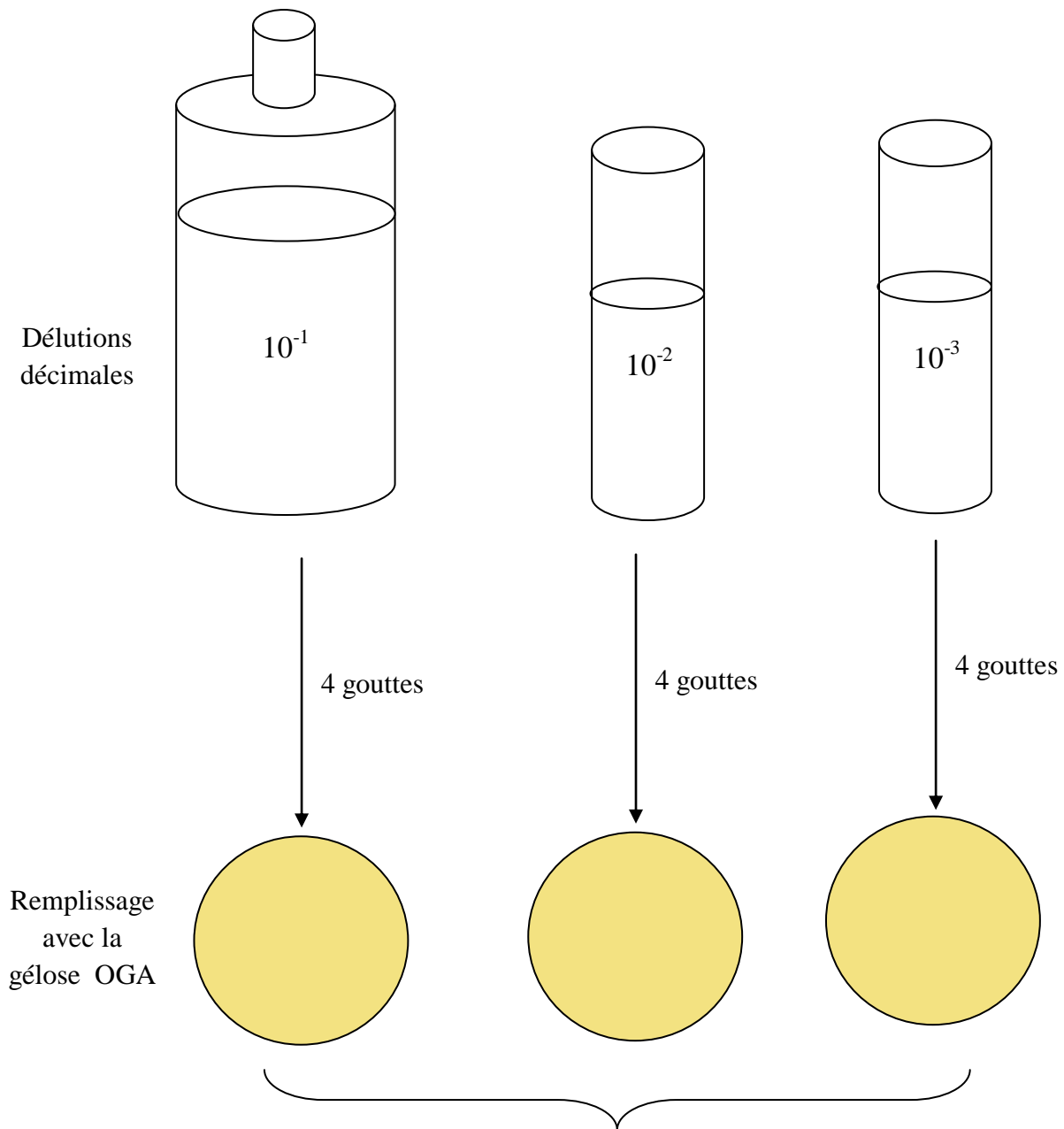
Tube négatif absence de spores de
Clostridium sulfito-réducteurs

Annexe 11 : Technique de recherche et dénombrement des *Staphylococcus aureus* (matière première, yaourt)



Annexe 12 : Technique de recherche et dénombrement des *Salmonelles* (matière première, yaourt)



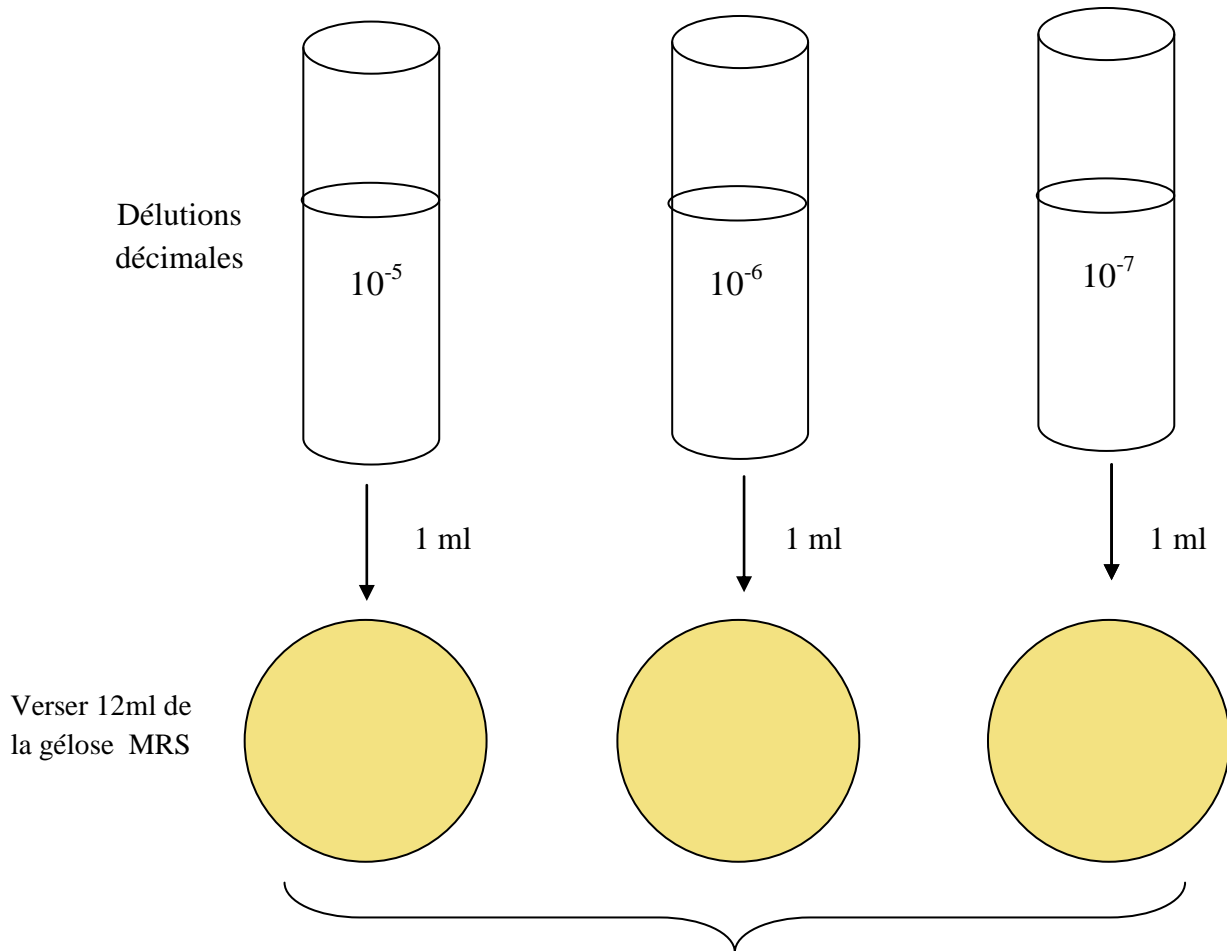
**Annexe 13 : Technique de recherche et dénombrement des levures et moisissures
(matière première, yaourt)**

Étaler les gouttes à l'aide d'une pipette râteau stérile. Laisser solidifier sur

Incubation à 22° C pendant 5 jours \Longrightarrow

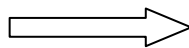
La lecture se fait chaque jour, les colonies des levures sont de consistance crémeuse, ronde ou ovale et souvent opaque. Les moisissures apparaissent pigmentées à aspect velouté et

Annexe 14 : Technique de recherche et dénombrement de *Lactobacillus bulgaricus* dans le yaourt



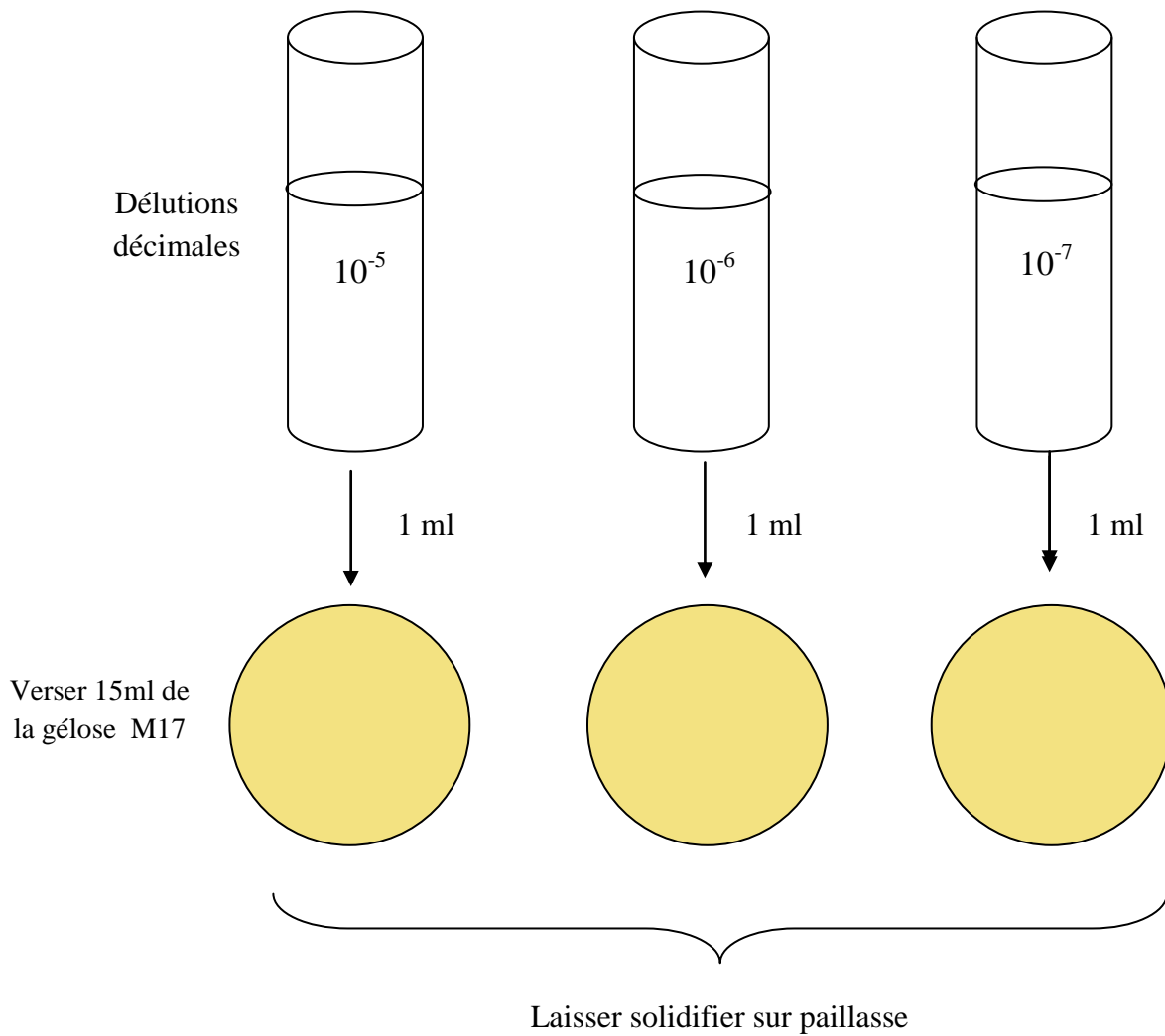
Laisser solidifier sur pailleasse, puis rajouter une deuxième couche de gélose MRS ou de gélose blanche afin de créer l'anaérobiose

L'incubation des boites se fait pendant 72 h à 37°C

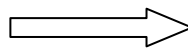


Les colonies de *Lb.bulgaricus* sont des colonies blanchâtres lenticulaires souvent en forme d'étoile, de 1 à 3 mm de diamètre

Annexe 15 : Technique de recherche et dénombrement de *Streptococcus thermophilus* dans le yaourt



L'incubation des boites se fait pendant
48 h à $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$



Les colonies de *S. thermophilus*
sont des colonies blanchâtres,
lenticulaires de 1 à 2mm de
diamètre.

Annexe 16 : Résultats des analyses physicochimiques des produits (A, B) au cours du stockage à différentes températures

Paramètres / Jours	T°C (°C)	Acidité (°D)		pH		MG(%)		EST(%)	
		P _(A)	P _(B)	P _(A)	P _(B)	P _(A)	P _(B)	P _(A)	P _(B)
J₀	6°C	78	84	4,4	4,12	1,8	1,6	21,64	19,24
J₇	6°C	85	98	4,21	4,06	1,8	1,6	21,32	19,25
	20°C	101	107	4,05	3,92	1,8	1,5	21,30	18,90
	37°C	125	113	3,69	3,77	1,7	1,6	21,20	19
J₁₄	6°C	82	95	4,17	4,06	1,8	1,6	21,26	19,26
	20°C	115	112	3,92	3,91	1,6	1,6	21,94	18,85
	37°C	138	115	3,58	3,76	1,8	1,6	21,58	18,76
J₂₁	6°C	89	96	4,15	4,06	1,8	1,5	21,50	19,27
	20°C	118	114	3,90	3,89	1,8	1,6	21,75	19,18
	37°C	141	123	3,52	3,77	1,8	1,6	21,34	19,09
J₂₈	6°C	82	90	4,19	4,06	1,8	1,6	21,17	19,21
	20°C	116	117	3,90	3,86	1,7	1,6	21,40	18,72
	37°C	145	122	3,49	3,71	1,7	1,5	21,63	19,02
Normes JORA (1998)		75 –110		3,8-4,7		1,6– 2,2		19- 22	

P_(A) : yaourt à boire fruité, produit de marque « Trèfle »

P_(B) : yaourt à boire fruité, produit de marque « Hodna »

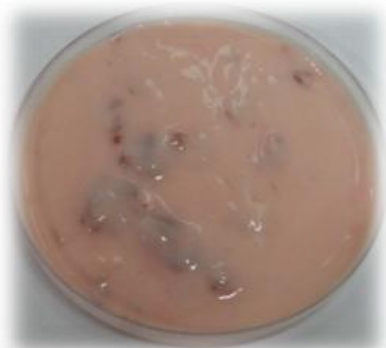
Annexe 17 : Résultats de dénombrement des deux bactéries lactiques *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* des produits (A, B) lors du stockage à différentes températures

Jours	T°C (°C)	Nombre de <i>Streptococcus thermophilus</i> (germes/g)		Nombre de <i>Lactobacillus bulgaricus</i> (germes/g)	
		P (A)	P (B)	P (A)	P (B)
J ₀	6°C	2,2. 10 ⁷	2,9. 10 ⁷	1,2. 10 ⁷	1,8. 10 ⁷
J ₇	6°C	2,3. 10 ⁷	3,1. 10 ⁷	1,3. 10 ⁷	1,7. 10 ⁷
	20°C	2,1. 10 ⁷	2,7. 10 ⁷	1,2. 10 ⁷	1,1. 10 ⁷
	37°C	2,8. 10 ⁶	3,5. 10 ⁷	1,8. 10 ⁶	1,9. 10 ⁷
J ₁₄	6°C	5. 10 ⁷	2,8. 10 ⁷	3,2. 10 ⁷	1,5. 10 ⁷
	20°C	1,5. 10 ⁷	2,1. 10 ⁷	1,1. 10 ⁷	1. 10 ⁷
	37°C	/	3. 10 ⁵	/	1,8. 10 ⁵
J ₂₁	6°C	5,4. 10 ⁷	2,6. 10 ⁷	3,8. 10 ⁷	1,3. 10 ⁷
	20°C	3,4. 10 ⁶	4,1. 10 ⁶	2,5. 10 ⁵	4,4. 10 ⁶
	37°C	/	/	/	
J ₂₈	6°C	2,4. 10 ⁷	2,5. 10 ⁷	2,1. 10 ⁷	1. 10 ⁷
	20°C	/	/	/	/
	37°C	/	/	/	/
Norme CODEX STAN 243-2003 Somme des microorganismes constituant le levain		Minimum 10 ⁷			

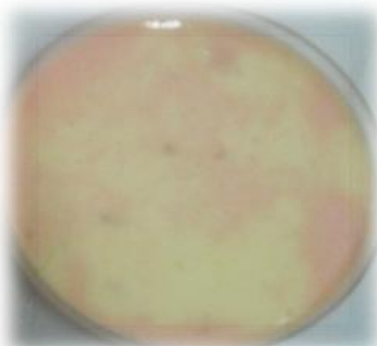
Annexe 18 : Photographies représentant la stabilité de la couleur des deux produits (Trèfle et Hodna) au cour du stockage à différentes températures

Yaourt Trèfle

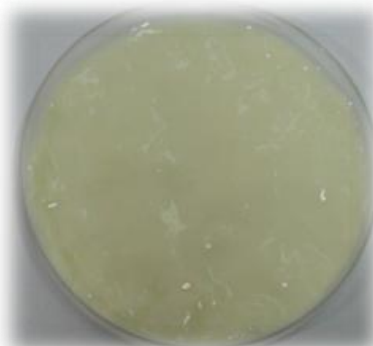
Température 20°C



J₀

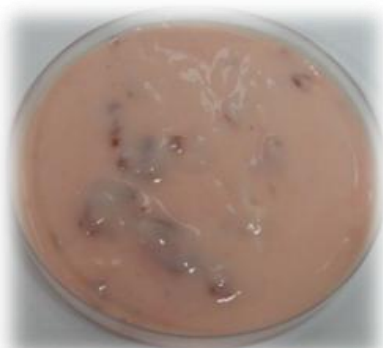


J₇



J₁₀

Température 37°C



J₀



J₇

Yaourt Hodna : Pendant toute la période de stockage à différentes températures la couleur du yaourt Hodna est restée stable et n'a subit aucune modification.



Couleur stable de J₀ jusqu'au J₂₈
pour toute les températures de
stockage

Annexe 19 : Présentation des Tables de NPP et de MAC-GRADY

Table de NPP

1*50 ml	5*10ml	5*1ml	Nombre caractéristique	Limite d'inférieur	supérieur
0	0	0	<1		
0	0	1	1	<0.5	4
0	0	2	2	<0.5	6
0	1	0	1	<0.5	4
0	1	1	2	<0.5	6
0	1	2	3	<0.5	8
0	2	0	2	<0.5	6
0	2	1	3	<0.5	8
0	2	2	4	<0.5	11
0	3	0	3	<0.5	8
0	3	1	5	<0.5	13
0	4	0	5	<0.5	13
1	0	0	1	<0.5	4
1	0	1	3	<0.5	8
1	0	2	4	<0.5	11
1	0	3	6	<0.5	15
1	1	0	3	<0.5	8
1	1	1	5	<0.5	13
1	1	2	7	1	17
1	1	3	9	2	21
1	2	0	5	<0.5	13
1	2	1	7	1	17
1	2	2	10	3	23
1	2	3	12	3	28
1	3	0	8	2	19
1	3	1	11	3	26
1	3	2	14	4	34
1	3	3	18	5	53
1	3	4	21	6	66
1	4	0	13	4	31
1	4	1	17	5	47
1	4	2	22	7	59
1	4	3	28	9	85
1	4	4	35	12	10
1	4	5	43	15	120
1	5	0	24	8	75
1	5	1	35	12	1
1	5	2	54	18	140
1	5	3	92	27	220
1	5	4	160	39	450
1	5	5	240		

Table de MAC-GRADY

Nombre caractéristique	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	16,0
320	9,5
321	15,0
322	20,0
323	30,0
330	25,0
331	45,0
332	110,0
333	140,0