

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République algérienne démocratique et populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
جامعة عين تموشنت بلحاج بوشعيب
Université –Ain Témouchent- Belhadj Bouchaib
Faculté des Sciences et de Technologie
Département science de la nature et de la vie



Projet de Fin d'Etudes
Pour l'obtention du diplôme de Master en : Microbiologie appliquée
Domaine : Science biologique
Filière : Microbiologie
Spécialité : Microbiologie Appliquée
Thème

Contrôle qualité microbiologique

Présenté Par :

- 1) Melle. BEKKAOUI Fatima
- 2) Melle. AMAR BENSABER Souhila

Devant le jury composé de :

Dr. BENNABI Farid	MCA	UAT.B.B (Ain Témouchent)	Président
Dr. CHERIF Nadjib	MCB	UAT.B.B (Ain Témouchent)	Examineur
Dr. SAIDI Yasmine	MCB	UAT.B.B (Ain Témouchent)	Encadrant

Année Universitaire 2022/2023

Remerciements

Nous remercions Dieu le tout puissant qui nous a donné la force, la patience ainsi que le courage afin de parvenir à achever ce travail.

Avant de commencer la présentation de ce travail, nous profitons de l'occasion pour remercier toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de PFE.

*Notre respect va à notre encadrant Mme **SAIDI Yasmine**, Maitre de conférences B à l'Université Ain Témouchent Belhadj Bouchaib. Nous la remercions de tout cœur pour ses conseils, sa patience ainsi que ses encouragements tout le long du travail.*

*Nous tenons à remercier Monsieur **BENNABI Farid**, Maitre de conférences A, à l'Université Ain Témouchent Belhadj Bouchaib de nous avoir fait l'honneur de présider notre jury .*

*Nous remercions vivement Monsieur **CHERIF Nadjib** pour nous avoir fait l'honneur d'évaluer notre travail.*

*Nous remercions Mr **DRIF Ahmed** ingénieur laboratoire université Ain Témouchent pour son aide apporté.*

*Nos remerciements les plus sincères vont également à **Dr. MERZOUG Mohamed** et à l'équipe de la plateforme génomique de l'ESSBO, en particulier **Melle ZATER Yasmine** « Merci beaucoup pour tout ce que vous avez fait pour nous et merci pour vos conseils ».*

Dédicaces

Je dédie ce projet

A ma chère Mère Naima

A mon père Mohamed

*Qui n'ont jamais cessé de prier pour moi, de me
soutenir et m'aider à atteindre mes objectifs*

A mon frère Ahmed

A ma chère sœur Houaria

*Pour leur soutien moral et leurs conseils précieux
tout au long de mes études.*

A ma nièce Illine

*A ma famille, mes proches et à ceux qui me donnent
de l'amour et de la vivacité*

A mon cher binôme Souhila

Pour son accord et sa sympathie

A mes chères amies Safaa et Halima

*Pour leur aide et supports dans les moments
difficiles*

A tous les gens qui m'aiment

*Chaimaa Sara Bouchra Hadjar Rahaf Nadia
Fatima...*

Fatima

Dédicaces

*Dévouement à qui je préfère à moi-même, et pourquoi pas ; Elle s'est sacrifiée pour moi et n'a épargné aucun effort pour me rendre toujours heureuse, à la main pure qui a enlevé les épines de l'échec de notre chemin et a tracé l'avenir pour moi avec des lignes de confiance et d'amour et m'a donné de son sang, son âme, sa vie et la fleur de sa jeunesse amour, détermination et motivation pour un avenir meilleur ma chère mère (**Fekih Nadjjet**).*

*Nous marchons sur les chemins de la vie, et celui qui contrôle nos esprits dans chaque chemin que nous empruntons reste celui qui a un bon visage et de bonnes actions. Il n'a pas été avare de moi tout au long de sa vie, mon cher père (**Amar bensaber Mohammad**) à mes frères (**Elhabib et Issam**) et ma chère grand-mère et mon professeur (**Saidi Yasmine**) merci. Et à tous ceux qui se sont tenus à mes côtés et m'ont aidé avec tout ce qu'ils avaient, et sous de nombreux aspects, je vous présente cette recherche en espérant qu'elle vous apportera satisfaction.*

Souhila

Table des matières

Résumé	I
Abstract.....	II
ملخص.....	III
Liste des abréviations.....	IV
Liste des figures.....	V
Liste des tableaux	VI
Introduction	1

Synthèse bibliographique

I. Les produits laitiers	3
1. Définition.....	3
2. Différents types de produits laitiers	3
2.1. Le fromage	3
2.2. La crème.....	3
2.3. Le beurre	3
2.4. Yaourt.....	4
II. Généralité sur le yaourt.....	4
1. Définition du Yaourt	4
2. Types du yaourt.....	4
2.1. Yaourt au lait entier pasteurisé	4
2.2. Yaourt nature demi-écrémé pasteurisé	4
2.3. Yaourt allégé	5
2.4. Yaourt brassé	5
2.5. Yaourt aromatisé ou aux fruits	5
2.6. Yaourt à boire	5
3. Composition nutritionnelle de différents types de yaourt	6
4. Diagramme de fabrication d'un yaourt	7
III. Qualité du yaourt	8
1. Le contrôle de qualité.....	8
1.1. Définition de contrôle	8
1.2. Définition de la qualité.....	8
2. Composants de la qualité	8
2.1. Qualité hygiénique	8
2.2. Qualité nutritionnelle	9
2.3. Qualité sensorielle	9

2.4.	Qualité technologique	9
2.5.	Qualité financière.....	9
3.	Contrôle qualité du yaourt.....	9
3.1.	Contrôle physico-chimique.....	9
3.2.	Contrôle microbiologique	10
4.	Les altérations du yaourt.....	11
4.1.	Flore de fabrication	11
4.2.	Flore de l'altération du yaourt.....	11
IV.	Les Bactéries Lactiques.....	13
1.	Généralités	13
2.	Caractéristiques générales des bactéries lactiques du yaourt.....	13
2.1.	<i>Streptococcus thermophilus</i>	13
3.	Diversité des bactéries lactiques.....	15
3.1.	Les lactobacilles	15
3.2.	Les lactocoques.....	15
3.3.	Les entérocoques	15
3.4.	<i>Leuconostoc</i>	15
3.5.	<i>Weissella</i>	16
3.6.	Pédiocoques.....	16
3.7.	<i>Bifidobacterium</i>	16
3.8.	Vagocoques.....	16
3.9.	Carnobacterium	16
4.	Intérêt des bactéries lactiques	17
4.1.	Domaine de fermentation.....	17
4.2.	Domaine d'alimentation	17
4.3.	Domaine de la santé	17

Matériel et méthodes

1.	Lieu de stage.....	18
2.	Objectif.....	18
3.	Matériel biologique	18
4.	Matériel non biologique	18
5.	Echantillonnage.....	18
6.	Contrôle physico-chimique du yaourt.....	19
6.1.	Détermination pH	19
6.2.	Détermination de l'acidité Dornic.....	19

7.	Contrôle microbiologique des yaourts.....	21
7.1.	Préparation des dilutions.....	22
7.2.	Contrôle hygiénique des yaourts.....	23
7.2.1.	Recherche de la flore mésophile aérobie totale (FMAT).....	23
7.2.2.	Recherche des staphylocoques.....	23
7.3.	Recherche des nuisibles et des germes pathogènes.....	24
7.3.1.	Recherche des coliformes totaux et fécaux.....	24
7.3.2.	Recherche de salmonelles.....	25
7.3.3.	Recherche des levures et moisissures.....	26
8.	Recherche et isolement de bactéries lactiques.....	27
8.1.	Purification des souches bactériennes.....	27
8.2.	Caractérisation phénotypique des isolats.....	27
8.2.1.	Pré-identification des isolats.....	27
8.2.2.	Identification physiologique et biochimique des isolats.....	28
8.3.	Caractérisation technologique des isolats.....	30
8.3.1.	Production d'exopolysaccharides (EPS).....	30
8.3.2.	Production d'acétoïne.....	30
8.3.3.	Recherche de l'activité protéolytique.....	30

Résultats et discussion

I.	Résultats du contrôle physico-chimique des yaourts.....	31
1.	Yaourt aromatisé.....	31
1.1.	Yaourt aromatisé non périmé.....	31
1.2.	Yaourt aromatisé périmé.....	31
2.	Yaourt brassé.....	32
2.1.	Yaourt brassé de la superette.....	32
2.2.	Yaourt brassé de l'épicerie.....	32
3.	Yaourt à boire.....	33
3.1.	Yaourt à boire non périmé.....	33
3.2.	Yaourt à boire périmé.....	33
II.	Résultat de l'analyse microbiologique des yaourts.....	34
1.	Résultat du dénombrement et de la recherche de germes pour le contrôle hygiénique	34
4.1.	Dénombrement de la FMAT.....	34
4.2.	Recherche des staphylocoques.....	34
2.	Résultat de la recherche des microorganismes nuisibles et pathogènes.....	35
2.1.	Recherche des coliformes.....	35

2.2.	Recherche des salmonelles	35
2.3.	Recherche des levures et moisissures.....	36
III.	Résultat de l'isolement de bactéries lactiques à partir du yaourt aromatisé.....	37
2.	Pré-identification des isolats	37
2.1.	Observation macroscopique des isolats.....	37
2.2.	Observation microscopique des isolats.....	39
2.3.	Test de la catalase.....	39
3.	Caractérisation physiologique et biochimique des isolats.....	39
3.2.	Hydrolyse de l'arginine.....	40
3.4.	Résistance à la salinité	41
3.5.	Croissance en milieu acide et alcalin	42
4.	Caractérisation technologique des isolats	43
4.1.	Production d'exopolysaccharides (dextrane) sur milieu MSE	43
4.2.	Production d'acétoïne	43
4.3.	Recherche de l'activité protéolytique.....	44
IV.	Discussion	45
	Conclusion générale	49
	Références bibliographiques	50
	Annexes	59

Résumé

Le yaourt est aujourd'hui un aliment très prisé et largement consommé, représentant une part importante du marché des produits laitiers fermentés.

Notre étude concerne différents types de yaourt notamment brassé, aromatisé, et à boire dont l'objectif est de contrôler et d'évaluer la conformité du produit à partir des normes du Journal Officiel de République Algérienne (JORA) en réalisant des analyses microbiologiques et physico-chimiques.

Les résultats d'analyse physicochimique (pH et acidité Dornic du yaourt), et analyse microbiologique (dénombrement de la FMAT, recherche des staphylocoques, levure et moisissure, coliforme fécaux et totaux, salmonelles) sont conformes aux normes du J.O.R.A, démontrés par l'absence de germes pathogènes et d'altération.

L'évaluation des paramètres physico-chimiques et microbiologiques, ainsi que l'étude des bactéries lactiques, de l'activité protéolytique et de l'EPS, permettent d'assurer un contrôle de la qualité du yaourt, en intégrant ces analyses dans les pratiques, il est possible d'optimiser la sécurité alimentaire, la stabilité et la qualité sensorielle des produits finaux.

Mots-clés : yaourt, contrôle qualité, sécurité alimentaire, caractérisation des bactéries lactiques, activité technologique.

Abstract

Yoghurt is a highly prized and widely consumed food today, accounting for a significant share of the fermented dairy market.

Our study concerns different types of yoghurt, in particular stirred, flavored, and drinkable, the objective is to control and evaluate the conformity of the product according to the standards of the Official Journal of the Algerian Republic (J.O.R.A) by carrying out microbiological and physico-chemical analyzes.

The results of physicochemical analysis (pH and Dornic acidity of yoghurt), and microbiological analysis (count of FMAT, search for staphylococci, yeast and mold, faecal and total coliform, salmonella) comply with J.O.R.A standards, demonstrated by the absence of pathogenic germs and spoilage.

The evaluation of physico-chemical and microbiological parameters, as well as the study of lactic acid bacteria, proteolytic activity and EPS, make it possible to ensure yoghurt quality control, by integrating these analyzes into practices, it is possible to optimize the food safety, stability and sensory quality of the final products.

Keywords: yoghurt, quality control, food safety, characterization of lactic acid bacteria, technological activity.

ملخص

الياغورت هو غذاء ذو قيمة عالية ومستهلك على نطاق واسع اليوم، ويمثل حصة كبيرة من سوق منتجات الألبان المخمرة.

تتعلق دراستنا بأنواع مختلفة من الياغورت، ولا سيما المخلوط والنكهة والصالحة للشرب، والهدف منها هو مراقبة و مطابقة المنتج من معايير الجريدة الرسمية للجمهورية الجزائرية (JORA) من خلال إجراء التحليلات الفيزيائية والكيميائية.

نتائج التحليل الفيزيائي الكيميائي (درجة الحموضة وحموضة الياغورت)، والتحليل الميكروبيولوجي (تعداد FMAT، البحث عن المكورات العنقودية، الخميرة والعفن، القولونيات البرازية والكلبي، السالمونيلا) تتوافق مع معايير J.O.R.A، التي يتضح من عدم وجود الجراثيم المسببة للأمراض والتلف.

إن تقييم المعلمات الفيزيائية والكيميائية والمكروبيولوجية، وكذلك دراسة بكتيريا حمض اللاكتيك، والنشاط التحلل للبروتين وEPS، يجعل من الممكن ضمان مراقبة جودة الياغورت، من خلال دمج هذه التحليلات في الممارسات، من الممكن تحسين سلامة الغذاء والاستقرار والجودة الحسية للمنتجات النهائية.

الكلمات المفتاحية: الياغورت، مراقبة الجودة، سلامة الغذاء، توصيف بكتيريا حمض اللاكتيك، النشاط التكنولوجي.

Liste des abréviations

°C : Degré Celsius
ADH : Arginine dihydrolase
BLBVB : Bouillon Lactosé Bilié au Vert Brillant
BP: Baird Parker
CF : Coliforme fécaux
CT : Coliforme totaux
D° : Degré Dornic
EPS : Exopolysaccharides
EPT : eau peptonée tamponnée
FAMT : Flore Aérobie Mésophile Totale
g : gramme
GN : gélose nutritive
h : Heure
J.O.R.A : journal officiel de république algérienne
Lb : *Lactobacillus*
ml : millilitre
MRS : Man Rogosa Sharpe
MSE : Mayeux sandine Elliker
PCA : Plate Count Agar
pH : Potentiel d'Hydrogène
SS : Gélose Salmonella Shigella
St : *Streptococcus*
UHT : Ultra Haute Température
VP : voges proskauer

Liste des figures

Figure 1: Diagramme de fabrication des yaourts (Loones, 1994).....	7
Figure 2: Observation microscopique de <i>Streptococcus thermophilus</i> (Makhloufi.K., 2012)	13
Figure 3: Observation microscopique de <i>Lactobacillus bulgaricus</i> (Makhloufi.K., 2012)	14
Figure 4: yaourts utilisés pour l'analyses physico-chimiques et microbiologiques (A : yaourt brassé, B : yaourt à boire, C : yaourt aromatisé).....	18
Figure 5: Détermination du ph du yaourt non périmé	19
Figure 6: Détermination de l'acidité Dornic du yaourt.....	20
Figure 7: Détermination de l'acidité Dornic du yaourt (A : yaourt périmé, B: yaourt non périmé).....	20
Figure 8: Méthode de la préparation des dilutions du yaourt.....	22
Figure 9: Préparations des dilutions pour les dénombrements	22
Figure 10: Préparation pour le dénombrement de la FMAT	23
Figure 11: Préparations pour la recherche des staphylocoques.....	24
Figure 12: Recherche des coliformes totaux et fécaux sur milieu BLBVB	24
Figure 13: Préparations pour la recherche des levures et moisissures	26
Figure 14: Résultat du titrage colorimétrique du yaourt aromatisé non périmé.....	31
Figure 15: Résultat du titrage colorimétrique du yaourt aromatisé périmé	31
Figure 16: Résultat du titrage colorimétrique du yaourt brassé superette	32
Figure 17: Résultat du titrage colorimétrique du yaourt brassé épicerie.....	32
Figure 18: Résultat du titrage colorimétrique du yaourt à boire non périmé	33
Figure 19: Résultat du titrage colorimétrique du yaourt à boire périmé	33
Figure 20: Exemple du résultat du dénombrement de la FMAT trouvée dans les yaourts aromatisés non périmés (A) : dilution 10^{-3} et (B) : dilution 10^{-4}	34
Figure 21: Résultats de la recherche des staphylocoques trouvée dans les yaourts aromatisés non périmés (A) : dilution 10^{-3} et (B) : dilution 10^{-4}	34
Figure 22: Résultats de la recherche des coliformes trouvée dans les yaourts aromatisés non périmés (A) : Coliforme totaux et (B) : coliforme fécaux	35
Figure 23: Résultats de la recherche de salmonelles dans les yaourts	35
Figure 24: Résultats de la recherche des levures et moisissures trouvée dans les yaourts aromatisés non périmés (A) : dilution 10^{-3} et (B) : dilution 10^{-4}	36
Figure 25: Résultat de la recherche et de l'isolement de bactéries lactiques sur MRS liquide	37
Figure 26: Résultat de la recherche et de l'isolement de bactéries lactiques sur MRS solide (A : souche 1, B : souche 2)	37
Figure 27: Aspect de la culture en milieu liquide.....	38
Figure 28: Aspect de la culture en milieu solide.....	38
Figure 29: Observation microscopique des isolats Gx100 (A : souche 1 Cocci Gram +, B : Cocci Gram +).....	39
Figure 30: Test de la catalase (A) et (B) : isolats catalase (-). (C) : témoin positif.....	39
Figure 31: Résultat du type de fermentation des deux souches isolées.....	40
Figure 32: Recherche de l'ADH chez souches isolées sur milieu M16BCP (1 et 2 : ADH+).40	40
Figure 33: Croissance des souches isolées à 45 °C	41
Figure 34: Croissance des isolats obtenus à 4% de NaCl.....	41
Figure 35: Croissance des isolats obtenus à 6,5% de NaCl.....	41
Figure 36: Croissance des isolats de bactéries lactiques à pH 4	42
Figure 37: Croissance des isolats obtenus à pH 9,6.....	42
Figure 38: Recherche de la production de dextrane sur milieu MSE par les souches isolées	43
Figure 39: Recherche de la production d'acétoïne sur milieu Clark et Lubs.....	43
Figure 40: Recherche de l'activité protéolytique sur milieu PCA additionné de 2 % de lait écrémé UHT.....	44

Liste des tableaux

Tableau 1: Composition nutritionnelle de différents types de yaourt (Fredot, 2005).....	6
Tableau 2: Critères microbiologiques de yaourt (J.O.R.A. N35 de mai 1998).....	10
Tableau 3: Résultats des analyses microbiologiques effectuées sur les yaourts testés	36

Introduction

Introduction

Aujourd'hui, le yaourt est très populaire et largement consommé. Il représente une part importante du marché des produits laitiers frais fermentés (Nakasaki *et al.*, 2008).

Le yaourt est un produit laitier coagulé qui est obtenu par la fermentation lactique. Il est fabriqué en utilisant du lait frais, ainsi que du lait pasteurisé. La fermentation lactique est réalisée grâce à l'action de deux types des bactéries, à savoir *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* (Pouliot M., 2002). Ces bactéries présentent un grand intérêt dans l'industrie laitière (Bakhouch et Baoulahrouf, 2005), car elles font partie de la famille des bactéries lactiques, micro-organismes essentiels, utilisés dans la fermentation des aliments (Hikmate *et al.*, 2012), jouant un rôle essentiel dans les processus de transformation qui conditionnent la texture et la qualité sensorielle des produits alimentaires fermentés (Ganzele *et al.*, 2000 ; Delgado *et al.*, 2001 ; Tailleux, 2001).

En Algérie, il existe encore des personnes qui ne conservent pas le yaourt au réfrigérateur et laissent les pots ouverts pendant un certain temps avant de les consommer, y compris pour les bébés. Ainsi que parfois le non-respect de la chaîne de froid lors du transport du yaourt jusqu'au commerce. Cela est dû au manque de sensibilisation des personnes quant aux conséquences néfastes de ces gestes.

Cette étude vise à comprendre et identifier l'impact des changements physico-chimiques et microbiologiques sur la qualité du produit et sa sécurité pour les consommateurs. Des analyses sont effectuées pour évaluer la conformité du produit aux normes exigées.

Afin de traiter cette thématique nous avons organisé notre travail en deux principales parties :

Une synthèse bibliographique composée de quatre chapitres : le premier chapitre concerne les produits laitiers, le deuxième chapitre consiste à répertorier les différents types de yaourt, le troisième chapitre aborde le contrôle de qualité des yaourts et enfin le quatrième chapitre englobe les principaux genres de bactéries lactiques, leur diversité ainsi que leur intérêt.

Une étude expérimentale présentant le matériel et méthode utilisés, en premier lieu dans le contrôle qualité des yaourts sélectionnés, notamment la détermination de certains paramètres physico-chimiques ainsi que la recherche et le

dénombrement de certains micro-organismes. Et en deuxième lieu dans l'isolement et l'identification de souches lactiques toujours à partir des yaourts. Enfin, La dernière partie est dédiée aux résultats et à la discussion, et se termine par une conclusion générale qui englobe les résultats obtenus lors de cette étude.

Synthèse bibliographique

I. Les produits laitiers

1. Définition

Une large gamme de produits laitiers fermentés sont vendus dans le monde entier. Un grand nombre de laits fermentés de plusieurs pays varient en matières premières, microflore, technologie, texture, goût et durée de conservation (Luquet et Corrieu., 2005).

Le microbiote des bactéries lactiques (BL) dans les produits laitiers traditionnellement fermentés joue un rôle important dans la transmission des propriétés lactières spécifiques et des saveurs indigènes (Varalakshmi *et al.*, 2014).

Ces produits font partie intégrante du patrimoine algérien et revêtent d'une grande importance culturelle, médicale et économique. Ils ont été développés sur une longue période avec les compétences culinaires nécessaires, de sorte qu'aujourd'hui L'ben, J'ben, Rayeb, D'han et Zebda et d'autres produisent les produits traditionnels les plus importants à l'échelle commerciale en Algérie (Medouni *et al.*, 2005).

2. Différents types de produits laitiers

2.1. Le fromage

Selon les normes du Codex Alimentaires, le fromage est un produit mûr ou pas mûr de consistance molle ou semi dure. Le fromage est un lait qui a été totalement ou partiellement coagulé sous l'action de la présure, ou qui a été coagulé par des techniques de fabrication pour obtenir un produit fini présentant des caractéristiques physiques, chimiques et sensoriel (Carole. L et Vignola., 2002).

2.2. La crème

Elle est issue du lait entier écrémé par centrifugation. La centrifugation du lait, qui sépare la phase lourde (lactosérum) de la phase légère (crème), nécessite 100 L de lait pour obtenir 9 à 12 L de crème. La crème doit contenir au moins 30 % de matière grasse (Guyonnet J., 2003).

2.3. Le beurre

Le beurre est un produit alimentaire préparé à partir de produits laitiers conformément aux bonnes pratiques industrielles et doit contenir au moins 80 % de matière grasse laitière. Il peut contenir des cultures bactériennes, du sel et des

colorants alimentaires. Selon le codex alimentaire, le beurre est un produit gras dérivé du lait obtenu sous forme d'émulsion de type eau dans l'huile (Paul A., 2010).

2.4. Yaourt

Le yaourt est un écosystème simple dont la production repose sur l'interaction entre deux bactéries lactiques : *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*. L'importance technologique de cette évolution de l'écosystème a suscité beaucoup d'intérêt. Lors de la fermentation du yaourt, le métabolisme de *Streptococcus thermophilus* et de *Lactobacillus bulgaricus* joue un rôle majeur dans la qualité organoleptique du produit fini (Bourgeois *et al.*, 1996).

II. Généralité sur le yaourt

1. Définition du Yaourt

« yogourt », « yaourt » et même le mot « yoghurt » vient du turc « Yogurtmak », c'est-à-dire épaissir, coaguler (Kaur *et al.*, 2017).

Le yaourt est défini comme un produit laitier coagulé obtenu en ajoutant un certain nombre de bactéries lactiques vivantes au lait pasteurisé (concentré, partiellement écrémé, enrichi en extraits secs) et obtenu dans des conditions de température et d'environnement contrôlées (Meydani *et al.*, 2000).

Les bactéries utilisées sont principalement représentées par deux souches thermophiles : *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*. Cependant, cette dernière peut être associée à d'autres espèces de bactéries lactiques pour améliorer la commercialisation du yaourt (Das *et al.*, 2019).

2. Types du yaourt

2.1. Yaourt au lait entier pasteurisé

Le yaourt entier est fabriqué à partir de lait qui conserve toute son onctuosité. Délicieux et plus crémeux, ils sont les préférés de tous les gourmets. Si le lait conserve toute l'onctuosité, en revanche, il est pasteurisé pour détruire les microbes hostiles à l'homme (Blanc, 1982).

2.2. Yaourt nature demi-écrémé pasteurisé

Le yaourt nature est un yaourt nature sans sucre ajouté ni autres arômes. Il est issu de la fermentation du lait pasteurisé. Frais et délicieux, c'est aussi le yaourt le plus

facile à faire à la maison avec l'ajout de lait et d'un ferment lactique adapté. Le yaourt nature est également bon pour la digestion, grâce à la présence de ferments lactiques, qui continuent à agir dans le tube digestif (Mathieu, 1998 et Debry, 2001).

2.3. Yaourt allégé

Le yaourt faible en gras est fait de lait écrémé, ce qui signifie qu'il ne contient pas de matières grasses. L'écrémage se fait à l'aide d'une écrémeuse centrifuge qui sépare la crème du lait, laissant un lait écrémé encore capable de se transformer grâce à l'inoculation de ferments lactiques. Disponibles partout dans les rayons frais de nos épiceries, ces yogourts 0 % gras sont parfaits pour tous les régimes amaigrissants (Adrian *et al.*, 2003).

2.4. Yaourt brassé

Le yaourt brassé est préparé de la même façon que le yaourt nature ordinaire. Cependant, pour lui donner un aspect plus crémeux et huileux, il passe dans une machine qui le baratte, lui conférant ainsi une toute nouvelle texture avec une sensation en bouche plus douce (Debry, 2001).

2.5. Yaourt aromatisé ou aux fruits

La production de yaourt permet d'obtenir une variété de saveurs et de possibilités. Aromatisé à la vanille, sucré, et des fruits peuvent également être ajoutés sous forme d'arômes ou de confitures (Vignola, 2002).

2.6. Yaourt à boire

Star du petit-déjeuner et du goûter, le yaourt à boire fait partie de la famille des yaourts. Il est fait avec du yaourt brassé. Pour obtenir cette texture liquide, il suffit de le battre (Mahaute *et al.*, 2000).

3. Composition nutritionnelle de différents types de yaourt

Tableau 1: Composition nutritionnelle de différents types de yaourt (Fredot, 2005)

Type de yaourt	Teneur moyenne pour 100 g de produit				
	Protides	Lipides	Glucides	Calcium	Valeur énergétique en kcal
Yaourt nature	4.3	1.1	4.8	170	50
Yaourt nature au lait entier	4.1	3.5	4.7	151	70
Yaourt nature migre	4.5	0.3	4.9	150	50
Yaourt nature sucre	3.9	0.9	13.4	155	80
Yaourt maigre sucré	4	0.1	13.8	150	70
Yaourt aromatisé	4	1	14.5	150	85
Yaourt aromatisé maigre	4.3	0.1	7.1	160	50
Yaourt à boire nature sucré	2.9	1.2	12.8	110	75
Yaourt à boire aromatisé	2.9	1.4	13.3	107	80
Yaourt à boire pulpe de fruits	2.7	1.6	13.5	107	80
Yaourt au lait entier aux fruits	3.5	2.7	18	130	113

4. Diagramme de fabrication d'un yaourt

On peut voir sur la **figure 1** un schéma décrivant les principales étapes de fabrication du yaourt. Le responsable qualité doit établir les caractéristiques requises pour chaque produit et élaborer une liste des défauts éventuels liés à ces mêmes caractéristiques (Vignola C., 2002).

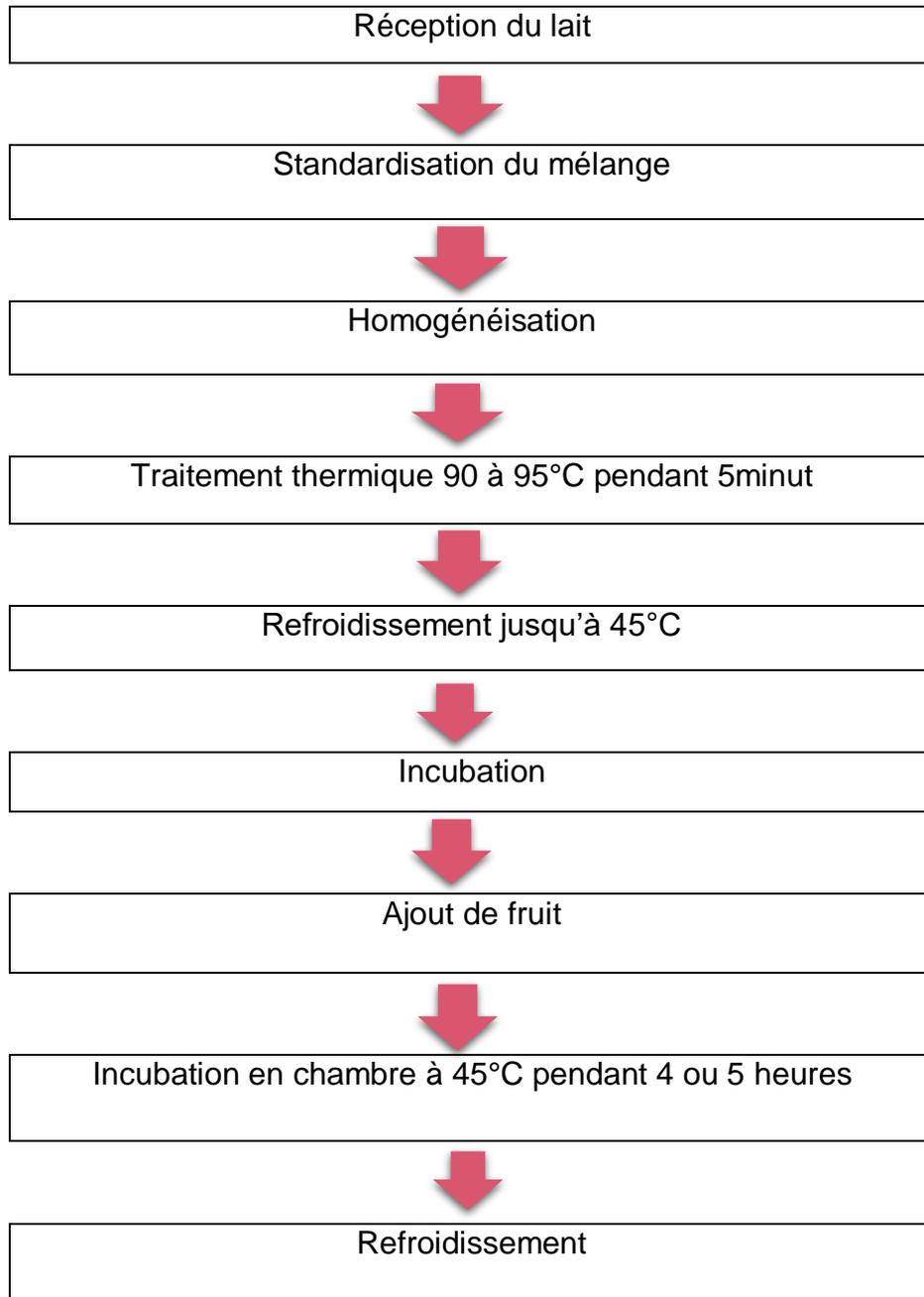


Figure 1: Diagramme de fabrication des yaourts (Loones, 1994)

III. Qualité du yaourt

1. Le contrôle de qualité

1.1. Définition de contrôle

Le mot contrôle peut être utilisé dans le sens de « vérification » ou de « maîtrise ». Pour éviter toute ambiguïté, il est préférable de l'utiliser uniquement dans le premier sens.

On peut alors dire que le contrôle consiste à mesurer une ou plusieurs caractéristiques d'une entité et à comparer les résultats obtenus avec des normes préétablies (Le Hir A *et al.*, 2009).

1.2. Définition de la qualité

La qualité est un concept aux multiples définitions. Selon les normes ISO, la qualité est un ensemble d'attributs et de caractéristiques d'un produit ou d'un service qui lui permettent de répondre aux besoins exprimés ou implicites des clients et des parties liées (Pipet L., 2004).

1.3. But du contrôle de la qualité

Le contrôle de la qualité a pour objectif de prévenir les risques chimiques et biologiques résultant de la contamination des aliments due à une mauvaise manipulation, d'empêcher la mise sur le marché de produits frelatés, toxiques ou inadaptés, d'assurer la protection de la santé et de la sécurité des consommateurs et d'améliorer la qualité du produit (Miller G., 1995).

2. Composants de la qualité

Les composantes de la qualité sont multiples :

2.1. Qualité hygiénique

Les matières premières et les aliments doivent être exemptes de micro-organismes pathogènes, de toxines, de résidus chimiques d'origine phytosanitaire ou thérapeutique ou d'ingrédients indésirables résultant de la transformation (Brule G. *et al.*, 2006).

2.2. Qualité nutritionnelle

Elle correspond à la composition quantitative et qualitative des macronutriments (glucides, lipides, protéines) et micronutriments (vitamines, oligo-éléments), et à leur disponibilité dans l'organisme (Leyral G. Et Vierling E., 2001).

2.3. Qualité sensorielle

Les qualités sensorielles déterminent l'appétence et le plaisir qu'un produit procure à la consommation : elles comprennent la couleur, la texture, l'odeur, la saveur et l'arôme (Brule G. *et al.*, 2006).

2.4. Qualité technologique

Cette norme prend en compte les nouveaux produits qui doivent être correctement contrôlés pour garantir la qualité (Leyral G. et Vierling E., 2001).

2.5. Qualité financière

Le coût est souvent mis en regard d'autres critères, il s'agit donc d'optimiser le rapport qualité/prix. (Bonney C *et al.*, 2002).

3. Contrôle qualité du yaourt

3.1. Contrôle physico-chimique

Le yaourt doit répondre aux caractéristiques suivantes :

- Couleur claire et uniforme
- Gout fractionné et arôme unique
- Texture homogène (pour le yaourt brassé) et ferme (yaourt étuvé)

3.1.1. La viscosité

Le yaourt est défini comme un fluide viscoélastique, qui a à la fois la viscosité d'un liquide et l'élasticité d'un fluide (Boubchir-ladj, 2004).

La viscosité du yaourt représente la dureté, l'adhérence, la cohésion et la résistance à l'écoulement du yaourt et du lait fermenté (Siuta *et al.*, 2002).

Divers équipements de laboratoire sont utilisés pour caractériser les propriétés rhéologiques du yaourt, à savoir les viscosimètres Brookfield, les rhéomètres rotatifs, les pénétromètres et même les entonnoirs Posthumus (Pacie et kora., 2004).

3.1.2. Le pH

Lors de la commercialisation des yaourts, il est recommandé de garantir une quantité minimale d'acide lactique libre d'au moins 0,8g pour chaque 100g de produit, afin de maintenir une qualité optimale. Il est également conseillé de maintenir le pH du yaourt autour de 4 (Seydi M., 2002).

3.1.3. La température

La chauffe du mélange (lait et éventuels ingrédients ajoutés) et le choix de l'agent levant jouent un rôle crucial dans la création de la texture du yaourt. Un traitement thermique intense provoque la précipitation des protéines sériques à la surface des micelles de caséine, limitant la possibilité de dissociation des micelles entre pH 5,3 et 4,8.

Le traitement thermique vise à réduire la charge microbienne et à améliorer les propriétés physiques du yaourt visqueux (Soudini et Béal., 2008).

3.2. Contrôle microbiologique

Selon la norme nationale n° 34 du Bulletin de 1998, le yaourt ne doit contenir aucune bactérie pathogène. Le traitement thermique du lait avant la fabrication du yaourt est suffisant pour détruire les agents pathogènes ou les micro-organismes qui ne forment pas de spores. Leur présence dans le yaourt ne peut être qu'accidentelle. Le pH acide du yaourt le rend hostile aux agents pathogènes et à la plupart des autres bactéries nocives. Cependant, des levures et des moisissures peuvent se développer dans le yaourt, ces dernières principalement à partir de l'air ambiant, la contamination se produit au stade de l'emballage (LARPENT et BOURGEOIS, 1995).

Tableau 2: Critères microbiologiques de yaourt (J.O.R.A. N35 de mai 1998)

Micro-organismes	Normes
Coliformes totaux	10 germes/g
Coliformes fécaux	1 germe/g
Salmonelles	Abs/25g
<i>Staphylococcus aureus</i>	10 germes/g
Levures	100 germes/g
Moisissures	Abs/g

4. Les altérations du yaourt

4.1. Flore de fabrication

La technologie du yaourt repose sur l'utilisation simultanée de deux types de bactéries lactiques : *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*. Cependant, la composition de la levure est ajustée en fonction des caractéristiques du produit final. Souvent, une synergie entre les deux espèces favorise l'acidification (BOURGEOIS, 1996).

4.2. Flore de l'altération du yaourt

Selon GUIRAUD (1998), les flores contaminantes sont des indicateurs d'une qualité généralement médiocre et du non-respect des "bonnes pratiques de fabrication". La présence de ces micro-organismes révèle la possibilité d'une contamination, et donc d'une mauvaise hygiène, et constitue souvent une présomption de présence de micro-organismes pathogènes plus dangereux, le plus souvent étudiés en relation avec la flore contaminée par des matières fécales.

4.2.1. Les coliformes totaux

Les comptages de coliformes sont principalement effectués dans le cadre d'analyses d'eau et d'analyses d'aliments transformés, où ils peuvent mettre en évidence des défauts dans le procédé ou de mauvaises conditions de fabrication (recontamination). D'un point de vue sanitaire, les bactéries coliformes ne sont généralement pas dangereuses sauf si elles prolifèrent en grand nombre ou sont particulièrement acceptables pour les consommateurs (GUIRAUD., 1998).

4.2.2. Les coliformes thermorésistants

Le nombre de coliformes thermotolérants (coliformes fécaux) est un bon indicateur de santé et dans de nombreux cas un assez bon indice de contamination fécale humaine et animale, ces coliformes représentent environ 1% de la flore intestinale (10 % substances par gramme de fèces) et ne provoquent généralement pas de maladie chez l'adulte, sont souvent associées à des entérobactéries pathogènes telles que Salmonelles et Shigelles (GUIRAUD., 1998).

4.2.3. Staphylocoques

Tous les staphylocoques présents dans les aliments ne sont pas entérotoxiques et certains auteurs suggèrent de les considérer comme des organismes indicateurs dans les aliments crus pouvant signaler une contamination humaine par manipulation ou une contamination aérienne ou brute des produits animaux. Ce fait permet de recevoir de faibles quantités de staphylocoques dans certains produits et est souvent associé à des intoxications alimentaires (GUIRAUD., 1998).

4.2.4. Salmonelles

Les salmonelles sont des entérobactéries très répandues dans l'environnement, et les nombres nécessaires pour provoquer une infection clinique sont très faibles (moins d'une par gramme). Les salmonelles étant des bactéries dangereuses qui causent un grand nombre de maladies d'origine alimentaire, elles ne doivent pas être présentes dans les aliments (GUIRAUD, 1998).

La salmonelle est toujours l'agent pathogène responsable de la gastro-entérite (JOFFIN et JOFFIN., 1999).

4.2.5. Levures et moisissures

Les levures et moisissures peuvent se développer dans le yaourt et constituent de bons indicateurs de la qualité générale. De nombreuses moisissures ne sont pas gênées par l'acidité et ont des résidus de saccharose et de lactose, une riche source d'énergie. Ces moisissures peuvent former une couche de mycélium à la surface du yaourt lorsque l'emballage n'a pas été dérangé pendant un certain temps, tandis que la levure peut se développer à la surface (GUIRAUD., 1998).

IV. Les Bactéries Lactiques

1. Généralités

Les bactéries lactiques (BL) sont un groupe diversifié de micro-organismes qui se distinguent par leur capacité à produire de l'acide lactique à partir du glucose, entraînant une diminution du pH. Cette production d'acide crée un environnement favorable à la croissance de divers agents pathogènes et micro-organismes responsables de la détérioration. Les BL ont une meilleure tolérance à un pH bas et présentent des caractéristiques telles que leur classification en tant que bactéries gram-positives, leur absence de spores, leur absence d'activité catalase, leur tolérance à l'oxygène et aux acides, ainsi que leur capacité de fermentation. En outre, elles sont largement utilisées en tant que flore probiotique essentielle dans de nombreux produits laitiers probiotiques (Lourens-Hattingh *et al.*, 2001).

2. Caractéristiques générales des bactéries lactiques du yaourt

2.1. *Streptococcus thermophilus*

Les streptocoques sont sphériques ou ovales, de moins de 2 µm de diamètre, disposés en paires ou en longues chaînes (Boullouf., 2016). Certaines chaînes peuvent contenir 50 cellules ou plus. Ils sont micro-aérophiles et homofermentaires (Lahtinen *et al.*, 2012).

En raison de leurs besoins nutritionnels complexes. La plupart des streptocoques se développent relativement mal sur les milieux nutritifs de base, avec une température optimale autour de 37°C pour la plupart des espèces. Bien que certains d'entre eux tels que *Streptococcus uberis* et *Streptococcus thermophilus* puissent se développer à 10°C et 45°C respectivement (Lahtinen *et al.*, 2012).

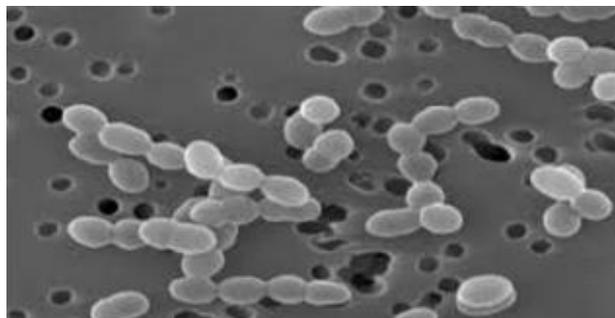


Figure 2: Observation microscopique de *Streptococcus thermophilus* (Makhloufi.K., 2012)

2.2. *Lactobacillus bulgaricus*

Lactobacillus bulgaricus est un bacille Gram positif, immobile, asporulé, micro-aérophile. Il est isolé sous forme de bâtonnets ou de chainettes. Il possède un métabolisme strictement fermentaire avec production exclusive d'acide lactique comme principal produit final à partir des hexoses par voie d'Embden Meyerhof. Il est incapable de fermenter les pentoses. *Lb. bulgaricus* est une bactérie thermophile, très exigeante en calcium et en magnésium et sa température optimale de croissance est d'environ de 42°C. Cette bactérie a un rôle essentiel dans le développement des qualités organoleptiques et hygiéniques du yaourt (Marty-Teyssset *et al.*, 2000).

Ces deux bactéries lactiques tolèrent de petites quantités d'oxygène. Ceci peut être probablement relié au peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) qui est produit dans les cellules en présence d'air. Le système le plus efficace pour éliminer le peroxyde d'hydrogène est l'utilisation d'une enzyme, la catalase, dont les bactéries lactiques sont déficientes. Ces dernières possèdent plutôt une peroxydase (pseudo catalase) qui est moins efficace que la catalase. Comme les bactéries lactiques n'éliminent pas facilement le peroxyde, elles sont dites micro-aérophiles (Doleyres., 2003).

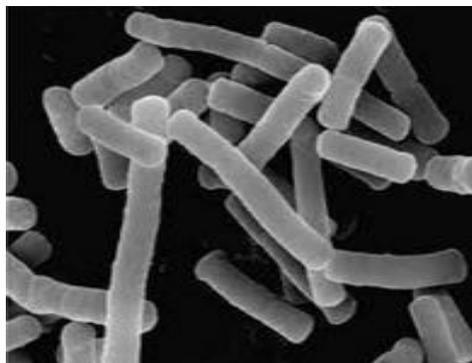


Figure 3: Observation microscopique de *Lactobacillus bulgaricus* (Makhloufi.K., 2012)

3. Diversité des bactéries lactiques

Parmi 13 genres de bactéries lactiques on distingue les principaux genres :

3.1. Les lactobacilles

Les lactobacilles se caractérisent par leur diversité. Ils font partie du groupe des Firmicutes, de la classe des *Bacilli*, de l'ordre des Lactobacillales et de la famille des *Lactobacillaceae* (De Vos *et al.*, 2009). Ils sont présents dans la flore normale de la cavité buccale, urogénitale et du tractus gastro-intestinal chez l'homme et les animaux. Ils constituent le groupe le plus important de bactéries lactiques, comprenant plus de 120 espèces et 20 sous-espèces (Saad,N., 2010).

3.2. Les lactocoques

Le genre *Lactococcus* est composé de 7 espèces et 4 sous-espèces (Euzéby ,2011). Les lactocoques se présentent sous forme de cocci disposés en paires ou en chaînes de différentes longueurs. Ce sont des bactéries anaérobies facultatives, qui produisent exclusivement de l'acide lactique L(+). Leur température de croissance optimale se situe aux alentours de 30°C (Tamime ,2002).

3.3. Les entérocoques

Les bactéries du genre *Enterococcus* sont des cocci à Gram positif, qui se déplacent peu et font partie de la famille des *Streptococcaceae*. Elles peuvent être anaérobies ou tolérantes à l'oxygène et certaines espèces sont capables de former des spores. Certaines d'entre elles possèdent également une capsule (Delorme *et al.* ,2008). Ce qui distingue ces bactéries, c'est leur capacité à se développer dans des conditions de pH élevé, à résister à l'acidité et à survivre en présence de concentrations salines élevées. On les retrouve fréquemment dans l'intestin humain et animal, ainsi que dans des produits végétaux, le sol et les produits laitiers. (Ruiz-Moyano *et al.*, 2008).

3.4. *Leuconostoc*

Les *Leuconostocaceae* constituent une famille comprenant des cocci ovoïdes qui ont la capacité de se prolonger et de prendre une forme elliptique. Ces cellules sphériques se trouvent généralement en paires ou en chaînes (Gonzalez *et al.*,2007).

3.5. *Weissella*

Les espèces de *Weissella* se caractérisent par la présence de bacilles courts ou de coccobacilles, ainsi que de cocci ovoïdes, tous étant Gram positif et catalase négative. Elles peuvent être observées soit de manière isolée, soit regroupées par deux ou en courtes chaînes. (Walter *et al.*, 2001).

3.6. Pédiocoques

Les membres du genre *Pediococcus* se présentent sous la forme de coques homofermentaires qui se regroupent spécifiquement en tétrades. Ils sont adaptés à des conditions de température modérée (mésophiles) et ont généralement une capacité limitée à métaboliser le lactose. Leur croissance nécessite la présence de divers facteurs de croissance (Simpson et Taguchi, 1995).

3.7. *Bifidobactérium*

Le genre le plus largement reconnu se compose de bactéries en forme de bâtonnets, à Gram positif, anaérobies, asporulées et immobiles. Leur morphologie peut varier, avec des courbes ou occasionnellement des ramifications. Les bactéries en forme de bâtonnets peuvent généralement être trouvées individuellement, en amas, en paires ou en forme de V (Lansing *et al.*, 2003).

3.8. Vagocoques

Le genre *Vagococcus* présente des cellules ovoïdes, se trouvant à l'isolement, en paires ou en chaînes. La majorité des espèces de *Vagococcus* sont mobiles grâce à des flagelles péritriches. De plus, elles ont la capacité de se développer à des températures aussi basses que 10°C sans produire de gaz ni d'ADH (arginine dihydrolase) (Salminen *et al.*, 2004).

3.9. *Carnobacterium*

Les lactobacilles et le genre *Carnobacterium* sont morphologiquement très similaires. Cependant, une autre différence importante entre les deux genres réside dans la composition chimique du peptidoglycane de leur paroi cellulaire. Les lactobacilles possèdent le dipeptide Lysine – Asparagine, tandis que le genre *Carnobacterium* présente une composition peptidoglycanique différente (Axelsson, 2004).

4. Intérêt des bactéries lactiques

4.1. Domaine de fermentation

Les BL constituent un groupe de micro-organismes capables de transformer le glucose en acide conduisant à un abaissement du pH, responsable de l'établissement des conditions physico-chimiques favorables à diverses transformations dans l'industrie laitière, conférant ainsi le goût acidulé recherché à certains produits. Ces acides ont également un effet antagoniste, ce qui est bénéfique pour protéger les aliments des contaminants et des agents pathogènes (Corrieu et Luquet, 2008).

4.2. Domaine d'alimentation

Rôle sur la texture due à partir de la production d'exopolysaccharides qui jouent un rôle d'épaississant, et provoquent une augmentation de la viscosité des milieux (Corrieu et Luquet, 2008). Les BL ont la capacité de produire divers composés aromatiques tel que l'acétoïne principalement à partir du lactose et matières grasses, cette activité joue un rôle essentiel lors de la fabrication de produits tels que les laits fermentés, les fromages frais, ces composés aromatiques ajoutant des saveurs caractéristiques des produit (Bourgeois *et al.*, 1996; Gerrit *et al.*, 2005; Cholet, 2006).

4.3. Domaine de la santé

Dans le domaine de la santé, certaines BL sont utilisées comme probiotiques, c'est-à-dire des micro-organismes vivants, qui sont appliqués sur le corps humain pour exercer des effets bénéfiques en améliorant les caractéristiques de la flore intestinale. Une espèce couramment utilisée est *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus delbrueckii*, *subsp bulgaricus* (SALMINEN *et al.*, 2004). En plus d'abaisser le cholestérol sanguin et de déconjuguer les sels biliaires, cette souche probiotique peut également traiter certains types d'infections ou de diarrhée (Nout M *et al.*, 2014, 2009).

Matériel et Méthodes

1. Lieu du stage

Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire 7 du site 2 du Département de Biologie Faculté des Sciences et de la Technologie de l'Université Ain Témouchent Belhadj Bouchaib (UAT B.B.) ainsi qu'au niveau de la plateforme génomique de l'ESSBO (Ecole Supérieure des Sciences Biologiques d'Oran).

2. Objectif

Objectif général de cette étude est le contrôle de la qualité physico-chimique et microbiologique de différents types de yaourt (brassé, aromatisé, à boire) prélevé au hasard au niveau de grandes superettes ou de petites épiceries.

3. Matériel biologique



Figure 4: yaourts utilisés pour l'analyse physico-chimique et microbiologique (A : yaourt brassé, B : yaourt à boire, C : yaourt aromatisé)

4. Matériel non biologique

Voir annexe 01

5. Echantillonnage

Avant de procéder à une analyse physico-chimique ou microbiologique, une série d'opérations très importantes doit être réalisée, dont dépend en grande partie la qualité des résultats analytiques. Il est nécessaire de sélectionner les échantillons et de déterminer le lieu et les conditions de prélèvement afin qu'ils puissent être transportés au laboratoire d'analyse en bon état (GALZY et GUIRAUD, 1998).

6. Contrôle physico-chimique du yaourt

6.1. Détermination pH

Le pH a été déterminé à l'aide d'un pH-mètre. La première étape consiste à allumer l'appareil, à retirer la sonde, puis à la rincer à l'eau distillée. L'étape suivante consiste à y tremper la solution de yaourt à tester. Enfin lire la valeur du pH affiché.

- **Expression des résultats**

La valeur du pH est obtenue avec une simple lecture à l'écran du pH-mètre de marque (OHAUS Starter 3100).



Figure 5: Détermination du pH du yaourt non périmé

6.2. Détermination de l'acidité Dornic

Un degré Dornic (1 °D) correspond à la présence de 0.1 g d'acide lactique par litre de yaourt (Moulay *et al.*, 2006).

C'est le principe du dosage colorimétrique d'un acide (solution titré) par une base (solution titrante qui contient solution hydroxyde de sodium NaOH N/9).

➤ **Mode opératoire**

- Préparer la solution NaOH N/9 titrante (annexe 03).
- Remplir la burette graduée d'une solution de soude jusqu'à atteindre le zéro.
- A l'aide d'une seringue prélever 10 ml de yaourt et le dilué avec 10 ml d'eau distillée, puis mélanger.

- Ajouter 2 à 3 gouttes de phénophtaléine (indicateur coloré) et mettre le bécher sur un agitateur magnétique.
- Laisser couler goutte à goutte la solution titrante jusqu'au virage de la couleur au rose pâle.
- Calculer la valeur d'acidité Dornic Selon la loi suivante :

$$^{\circ} D = 10 \times V$$

$^{\circ} D$: Degré Dornic

V : volume à l'équivalence



Figure 6: Détermination de l'acidité Dornic du yaourt

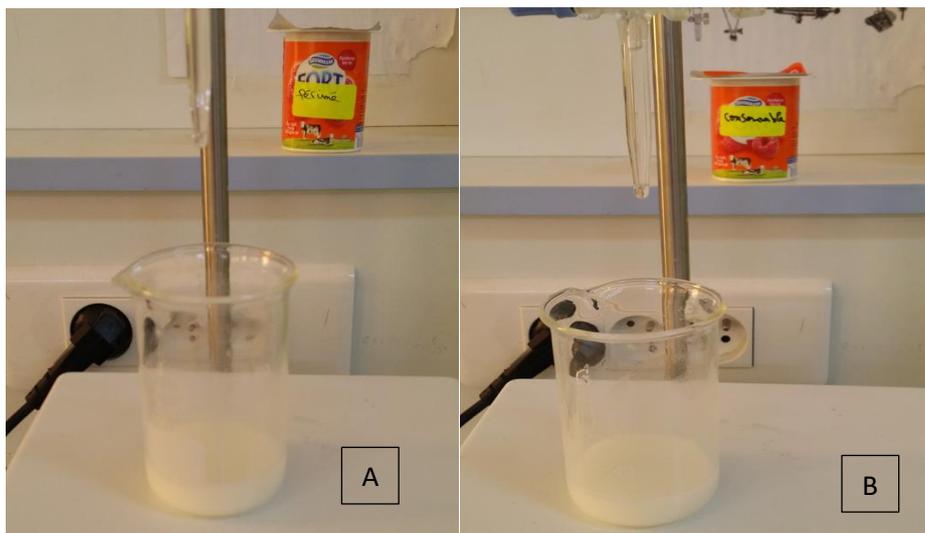


Figure 7: Détermination de l'acidité Dornic du yaourt (A : yaourt périmé, B: yaourt non périmé)

7. Contrôle microbiologique des yaourts

Il s'agit de contrôler la qualité microbiologique de différents échantillons de yaourt brassé, à boire, aromatisé, sélectionnés en recherchant un certain nombre de bactéries selon les critères précisés par le Journal Officiel de l'Algérie.

➤ **Milieux de culture utilisés**

- Bouillon Lactosé Bilié au Vert Brillant (BLBVB)
- Gélose Salmonella Shigella (SS)
- Baird Parker (BP)
- Gélose nutritive (GN)
- Sabouraud et chloramphénicol
- Man Rogosa Sharpe (MRS)
- Plate Counting Agar (PCA)
- Mayeux Sandine Elliker (MSE)
- Clark et Lubs

7.1. Préparation des dilutions

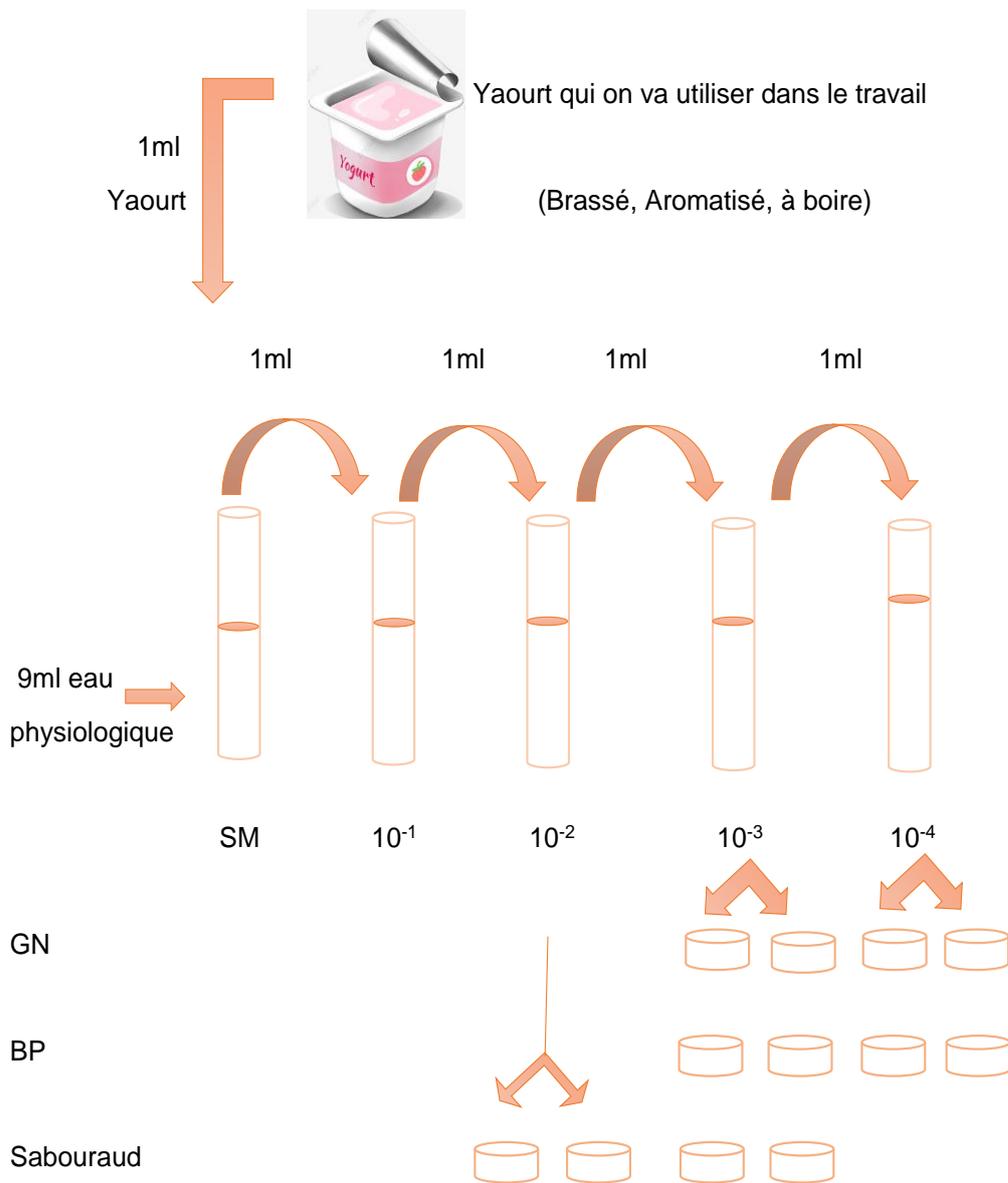


Figure 8: Méthode de la préparation des dilutions du yaourt

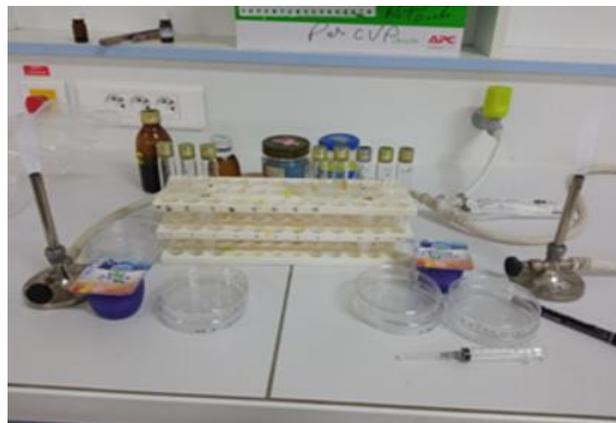


Figure 9: Préparations des dilutions pour les dénombrements

7.2. Contrôle hygiénique des yaourts

7.2.1. Recherche de la flore mésophile aérobie totale (FMAT)

Pour le dénombrement des FMAT, nous procéderons comme suit :

- A l'aide d'une pipette stérile prélever 1 ml de la dilution 10^{-3} du yaourt à analyser, et mettre ce volume dans une boîte de pétri.
- Verser environ 20 ml du milieu GN en surfusion (environ 45 °C) et mélanger en mouvements 8 pour assurer une bonne homogénéisation de l'inoculum avec le milieu.
- Mettre en incubation pendant 48h à 30 °C.
- Compter les colonies.
- L'expérience a été faite aussi avec la dilution 10^{-4} .
- Pour chaque dilution le test a été répété deux fois.

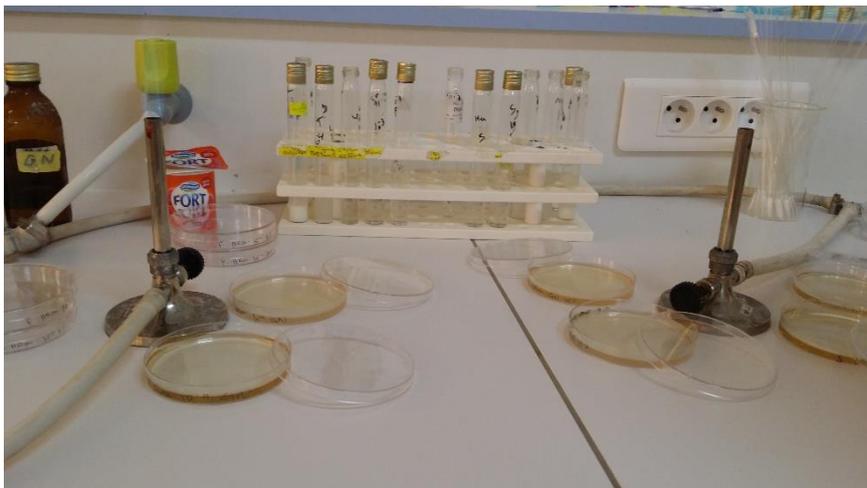


Figure 10: Préparation pour le dénombrement de la FMAT

7.2.2. Recherche des staphylocoques

Les staphylocoques sont des bactéries de forme *cocci* Gram positif aérobie-anaérobies facultatives immobile et sans spores. Leur recherche est basée sur l'utilisation du milieu d'isolement et de comptage sur gélose BP.

La technique est la suivante :

- Prélever 0.1 ml du yaourt à analyser, dilué à 10^{-3} à l'aide d'une pipette stérile
- Couler environ 20 ml du milieu BP dans les boîtes de pétri.
- Faire un ensemencement en surface à l'aide d'un râteau.
- Incuber à 37 °C pendant 48h.

- Compter des colonies
- L'expérience a été faite aussi avec la dilution 10^{-4} .
- Pour chaque dilution le test a été répété deux fois.



Figure 11: Préparations pour la recherche des staphylocoques

7.3. Recherche des nuisibles et des germes pathogènes

7.3.1. Recherche des coliformes totaux et fécaux

C'est un groupe de micro-organismes qui peut se développer et se reproduire à l'extérieur des intestins des animaux à sang chaud.

Leur température de croissance optimale se situe entre 25°C et 45°C . La flore est un indicateur de qualité générale du produit à analyser (Guiraud, 1998).

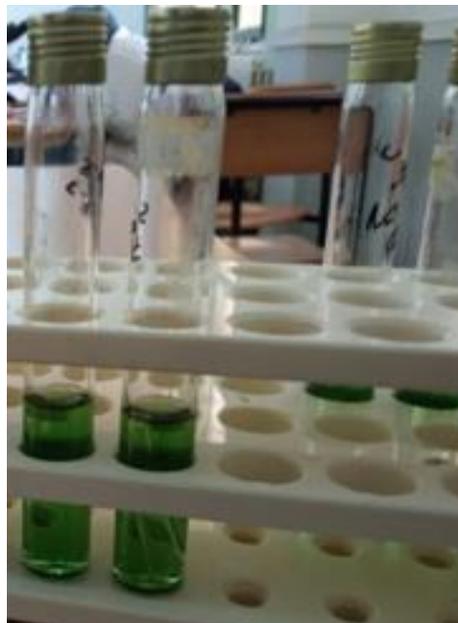


Figure 12: Recherche des coliformes totaux et fécaux sur milieu BLBVB

➤ Ensemencement

- Transférer 0,1mL de la solution 10^{-3} et 10^{-4} dans un tube contenant 9 mL du milieu BLBVB contenant la cloche de Durham stérile.

- Bien homogénéiser les tubes et s'assurer que la solution est bien répartie y compris sous la cloche.
- Evacuer les bulles d'air de la cloche pour éviter d'avoir de faux positifs
- Pour chaque dilution une répétition deux fois
- Inverser le tube et placer dans une étuve à 37 °C pour les CT et 44 °C pour les CF pendant 48h.

➤ Lecture

- **Résultat positif** : présence d'un trouble dans le milieu et dégagement de gaz.
- **Résultat négatif** : absence des troubles et pas de dégagement de gaz (Guiraud, 1998).

7.3.2. Recherche de salmonelles

La recherche des salmonelles se fait en plusieurs étapes :

7.3.2.1. Pré-enrichissement

Le pré-enrichissement pour la recherche des salmonelles se fait dans de l'eau additionnée de peptone (EPT) comme suit :

- Mettre dans des tubes à essai stériles 9 ml d'EPT
- A l'aide d'une seringue stérile, prélever 1 ml de yaourt
- Homogénéiser la préparation avec le vortex
- Mettre en incubation à 37 C° pendant 24 h

Ceci permet aux salmonelles (si elles sont présentes) de se multiplier en abondance pour devenir ainsi facilement détectables par la suite.

7.3.2.2. Enrichissement

Le deuxième jour un enrichissement a été effectué. Cette étape permet de favoriser la croissance sélective des salmonelles, facilitant ainsi leur isolement et leur identification. Les étapes sont effectuées comme suit :

- Mettre 10 ml du milieu sélénite cystéine dans des tubes à essai stériles
- A l'aide d'une micropipette prélever 1 ml de solution de pré enrichissement
- Homogénéiser la solution avec le vortex
- Mettre en incubation pendant 24 h à 37 °C

7.3.2.3. Isolement

- Couler milieu SS sur les boites de pétri
- A l'aide d'une anse de platine stérile on le met dans la suspension bactérienne, et ensemençer par méthode de stries
- Incubation 37 °C pendant 24 h

7.3.2.4. Lecture

Les colonies sont incolores transparentes avec ou sans centre noir (Korsak *et al.*, 2004).

7.3.3. Recherche des levures et moisissures

Pour le comptage des levures et moisissures, nous suivrons ces étapes :

- Prélever 0.1 ml du yaourt à analyser, dilué à 10^{-3} à l'aide d'une pipette stérile
- Couler environ 20 ml du milieu Sabouraud dans les boites de pétri
- Faire un ensemençement en surface à l'aide d'un râteau
- Incuber à 25 °C pendant 5 à 7 jours
- Compter les colonies
- L'expérience a été faite aussi avec la dilution 10^{-4}
- Pour chaque dilution le test a été répété deux fois

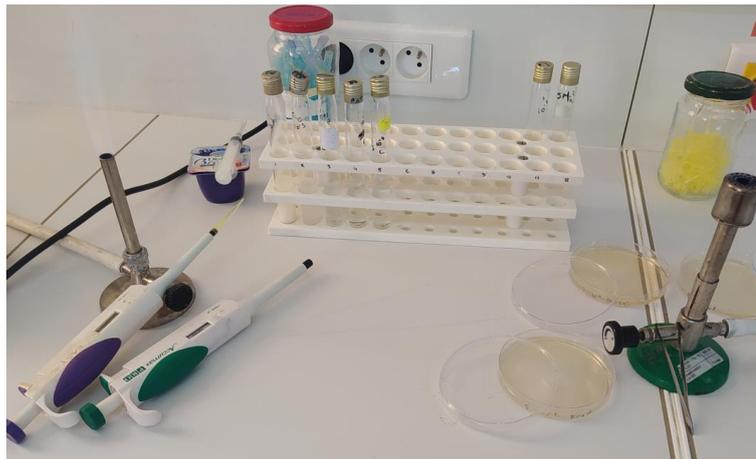


Figure 13: Préparations pour la recherche des levures et moisissures

8. Recherche et isolement de bactéries lactiques

La recherche et l'isolement des BL à partir du yaourt ont été effectués sur le milieu MRS liquide comme suit :

- Préparer deux tubes à essai stériles contenant du MRS liquide
- A l'aide d'une anse de platine stérile prélever une colonie de bactérie lactique supposée du milieu GN
- Inoculation de chaque tube contenant du MRS liquide avec les colonies prélevées
- Incubation à 30 °C pendant 48 h

8.1. Purification des souches bactériennes

Après incubation les colonies isolées ont été purifiées par la méthode des stries sur milieu solide MRS en effectuant plusieurs repiquages. Une fois la purification effectuée on procède à la caractérisation des souches sélectionnées.

8.2. Caractérisation phénotypique des isolats

Après leur purification, les isolats ont été pré-identifiés :

8.2.1. Pré-identification des isolats

La pré-identification des souches de BL isolées pures passe en premier lieu par une caractérisation morphologique (macroscopique et microscopique), ainsi que la recherche de la catalase.

8.2.1.1. Caractérisation morphologique macroscopique

L'examen macroscopique des colonies obtenues sur milieu MRS permet de décrire plusieurs caractéristiques telles que la taille, la forme, la consistance, le contour, la viscosité et la couleur des colonies (Guiraud, 2003).

8.2.1.2. Caractérisation morphologique microscopique

L'observation microscopique est faite après la coloration de Gram qui permet de classer les bactéries selon leur Gram, la forme ainsi que leur mode d'association, suivant les étapes suivantes :

- Fixation des frottis sur une lame
- Coloration du frottis avec du violet de gentiane durant 1 minute

- Rejet du colorant et ajout du Lugol pendant 45 secondes
- Rinçage à l'eau
- Décoloration à l'alcool pendant 10 secondes
- Rinçage à l'eau
- Ajout de la fuchsine durant 1 minute
- Rinçage à l'eau et ajouter huile à l'immersion
- Observation microscopique au G×100

8.2.1.3. Recherche de la catalase

La catalase est une enzyme retrouvée chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives. En effet, en présence d'oxygène moléculaire, certaines réactions métaboliques conduisent à la formation d'eau oxygénée qui est un composé cellulaire toxique. Cette enzyme empêche l'accumulation de l'eau oxygénée en la décomposant en eau et en oxygène (Delarras, 2007; Fuglsang et Edwards, 2007).



La méthode se fait en déposant sur une lame contenant une colonie pure une goutte d'eau oxygénée et les émulsionner ensemble. Observer par la suite s'il y a apparition de bulles indiquant que la bactérie est catalase positive. Si pas de bulles la bactérie est considérée comme catalase négative (Delarras, 2007).

8.2.2. Identification physiologique et biochimique des isolats

8.2.2.1. Production de gaz à partir du glucose

Ce test permet de séparer les souches entre deux groupes de bactéries lactiques : homofermentaire et hétérofermentaire (Bourgeois *et al.*, 1996).

- Dans des tubes à essai contenant la cloche de Durham mettre le milieu MRS liquide.
- Avec l'anse de platine stérile ensemencer par les différentes souches bactériennes.
- Incubation à 30 °C pendant 48 h.

Après 48 h la souche hétérofermentaire conduit à la libération de gaz collecté dans la cloche, par contre la souche homofermentaire conduit à une absence de bulle d'air dans la cloche (Mathot *et al.*, 1994).

8.2.2.2. Hydrolyse de l'arginine

Cette enzyme revêt un intérêt considérable dans la caractérisation des BL, car elle joue un rôle essentiel dans la conversion de l'arginine en ammoniac et en citruline.

L'ensemencement de chaque souche se fait sur milieu M16BCP, en surface, et l'incubation est effectuée à 30°C pendant 48h.

La croissance des BL sur ce milieu permet de détecter la fermentation du lactose, qui entraîne la production d'acide lactique et provoque un changement de couleur de l'indicateur de pH (le pourpre de bromocrésol) vers le jaune. Cependant, les BL possédant une ADH métabolisent l'arginine, libérant ainsi du NH_4 qui neutralise l'acide lactique. Cette neutralisation empêche le changement de couleur de l'indicateur de pH, maintenant ainsi la couleur initiale du milieu (Thomas, 1973).

8.2.2.3. Test de de la thermotolérance à 45 °C

Les souches pures sont ensemencées sur milieu MRS et incubées à la température de 45 °C pendant 48 h.

Ce test permet de faire la différence entre les bactéries mésophiles et les bactéries thermophiles.

8.2.2.4. Résistance à la salinité

La croissance bactérienne à des concentrations variables de chlorure de sodium (NaCl) est un élément clé dans le processus d'identification des bactéries (Badis *et al.*, 2005).

Les colonies à tester sont ajoutées aux bouillons fortement salés contenant respectivement 4% et 6,5% de NaCl, elles sont ensuite incubées à une température de 30 °C pendant 24 h à 48 h (Badis *et al.*, 2005). La croissance est appréciée par l'apparition d'un trouble bactérien.

8.2.2.5. Capacité de croissance en milieu acide et basique

Ce test est réalisé pour évaluer la capacité des souches à se développer dans un bouillon MRS ajusté à un pH acide de 4 et pH basique de 9,6 (Guiraud, 2003).

La méthode se fait par ensemencement des différentes souches et incubation à 30°C pendant 24 à 48 h. La croissance est appréciée par l'apparition d'un trouble bactérien.

8.3. Caractérisation technologique des isolats

8.3.1. Production d'exopolysaccharides (EPS)

Le milieu MSE est spécifiquement employé pour détecter les souches de bactéries lactiques qui ont la capacité de produire du dextrane, une substance d'intérêt majeur dans l'industrie agroalimentaire et pharmaceutique. Sur ce milieu, les bactéries lactiques productrices de dextrane se manifestent par des colonies larges et visqueuses (Mayeux *et al.*, 1962).

8.3.2. Production d'acétoïne

Se fait par ensemencement du milieu Clark et Lubs qui permet d'étudier les produits de fermentation du glucose, selon la technique suivante (Boumehira, 2010):

- Le milieu Clark et Lubs estensemencé par les souches à tester
- Incubation pendant 24 à 48 h à 30 °C
- Après incubation, prélever 2 ml de la souche, et ajouter 0,5 ml du réactif VP1 (α -naphthol), puis 0,5 ml du VP2 (hydroxyde de sodium).
- Agiter fréquemment durant 15 minutes. La production d'acétoïne se traduit par l'apparition d'un anneau rouge à la surface du tube.

8.3.3. Recherche de l'activité protéolytique

L'activité protéolytique a été évaluée en ensemencant le milieu PCA (Plate Counting Agar) additionné de 2 % de lait écrémé stérile UHT. Chaque culture bactérienne a été déposée à la surface du milieu en utilisant la méthode du multipoint et a été incubée pendant 48 heures à 30 °C. L'activité protéolytique est observée par la présence d'une zone transparente (halo) autour de chaque point d'ensemencement (Moulay *et al.*, 2006, Bettache *et al.*, 2012).

Résultats et Discussion

I. Résultats du contrôle physico-chimique des yaourts

1. Yaourt aromatisé

1.1. Yaourt aromatisé non périmé

- Résultat du pH = 4,22
- Résultat de l'acidité Dornic = 83 °D



Figure 14: Résultat du titrage colorimétrique du yaourt aromatisé non périmé

1.2. Yaourt aromatisé périmé

- Résultat du pH = 4,25
- Acidité Dornic = 82,5 °D



Figure 15: Résultat du titrage colorimétrique du yaourt aromatisé périmé

2. Yaourt brassé

2.1. Yaourt brassé de la superette

- Résultat du pH = 4,13
- Résultat de l'acidité Dornic = 69 °D



Figure 16: Résultat du titrage colorimétrique du yaourt brassé superette

2.2. Yaourt brassé de l'épicerie

- Résultat du pH= 4,22
- Résultat de l'acidité Dornic =75,5 °D

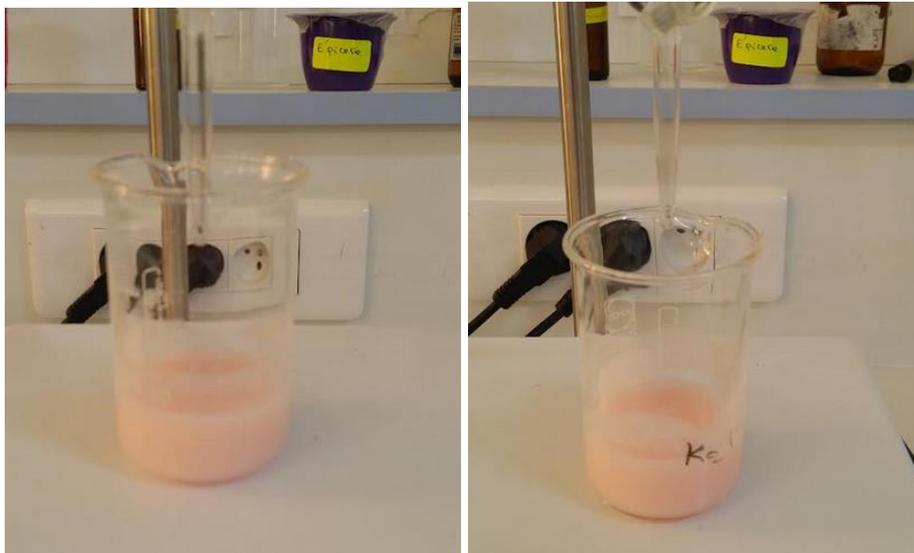


Figure 17: Résultat du titrage colorimétrique du yaourt brassé épicerie

3. Yaourt à boire

3.1. Yaourt à boire non périmé

- Résultat du pH= 4,04
- Résultat de l'acidité Dornic = 50,5 °D



Figure 18: Résultat du titrage colorimétrique du yaourt à boire non périmé

3.2. Yaourt à boire périmé

- Résultat du pH= 4,06
- Résultat de l'acidité Dornic = 65,5 °D

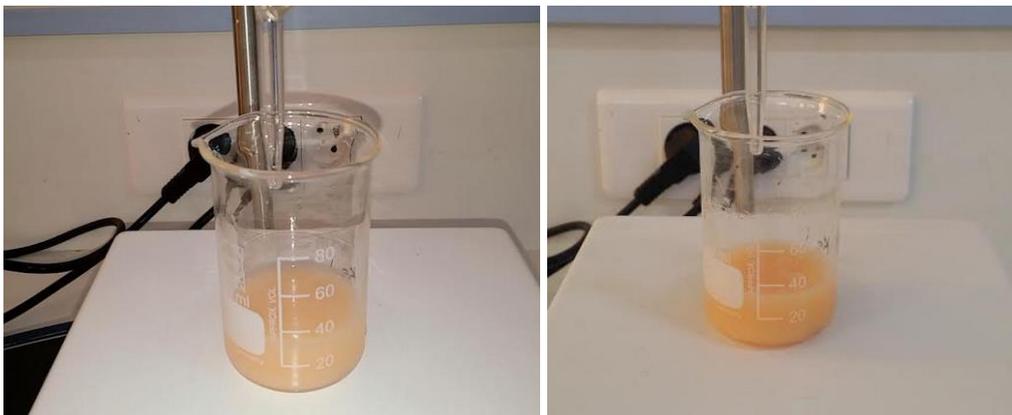


Figure 19: Résultat du titrage colorimétrique du yaourt à boire périmé

II. Résultat de l'analyse microbiologique des yaourts

1. Résultat du dénombrement et de la recherche de germes pour le contrôle hygiénique

Les résultats obtenus lors de l'analyse microbiologique hygiénique (dénombrement de la FMAT, recherche de staphylocoques) du yaourt aromatisé périmé et non périmé sont présentés dans les **figures 20 et 21**.

4.1. Dénombrement de la FMAT

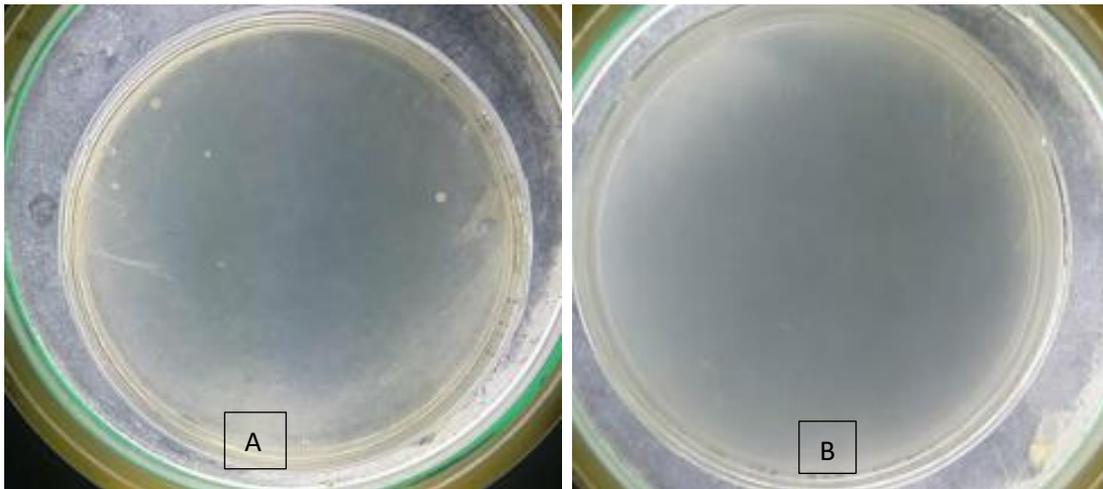


Figure 20: Exemple du résultat du dénombrement de la FMAT trouvée dans les yaourts aromatisés non périmés **(A)** : dilution 10^{-3} et **(B)** : dilution 10^{-4}

4.2. Recherche des staphylocoques

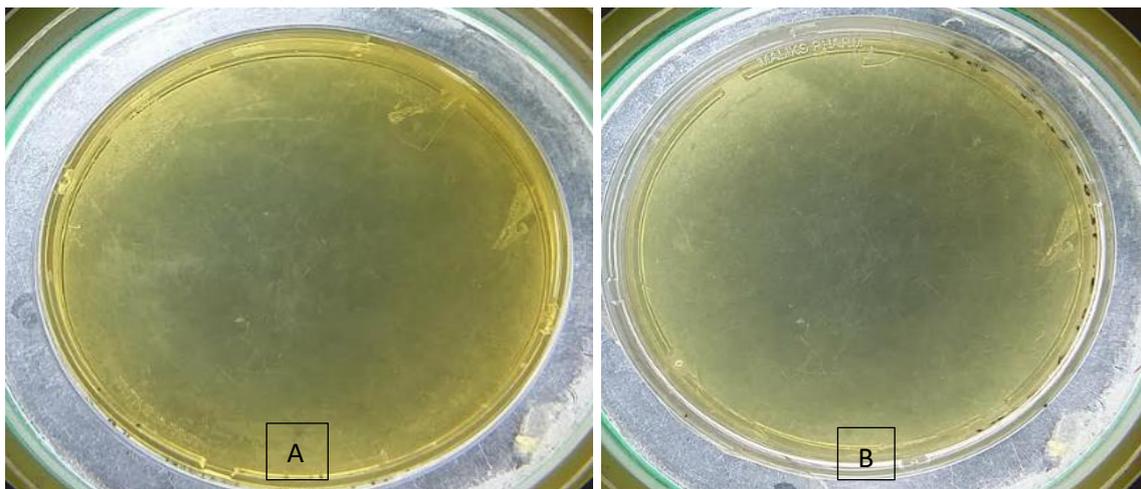


Figure 21: Résultats de la recherche des staphylocoques trouvée dans les yaourts aromatisés non périmés **(A)** : dilution 10^{-3} et **(B)** : dilution 10^{-4}

2. Résultat de la recherche des microorganismes nuisibles et pathogènes

Les résultats obtenus lors de la recherche de certains nuisibles et bactéries pathogènes (coliformes totaux et fécaux, les salmonelles ainsi que les levures et moisissures) dans les yaourts aromatisés non périmés sont présentés dans les figures 22, 23 et 24.

2.1. Recherche des coliformes

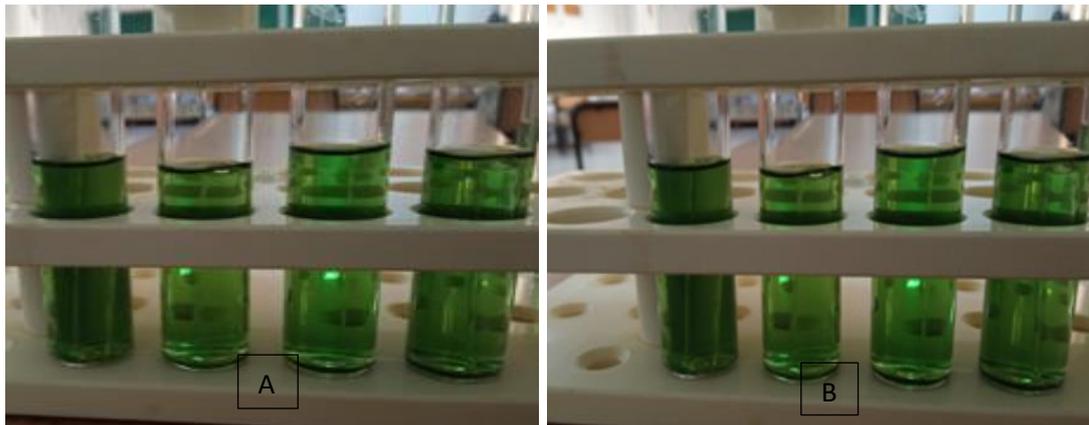


Figure 22: Résultats de la recherche des coliformes trouvée dans les yaourts aromatisés non périmés **(A)** : Coliforme totaux et **(B)** : coliforme fécaux

2.2. Recherche des salmonelles

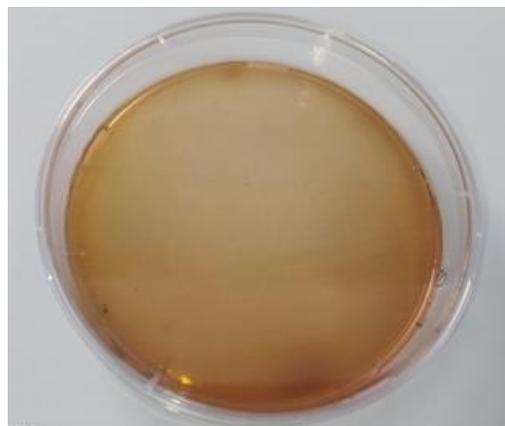


Figure 23: Résultats de la recherche de salmonelles dans les yaourts

2.3. Recherche des levures et moisissures

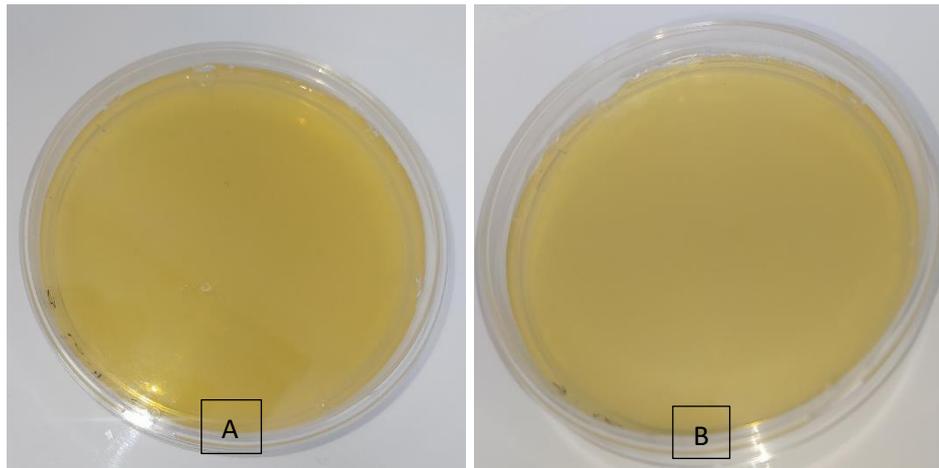


Figure 24: Résultats de la recherche des levures et moisissures trouvée dans les yaourts aromatisés non périmés (A) : dilution 10^{-3} et (B) : dilution 10^{-4}

Les résultats obtenus lors de l'analyse microbiologique (recherche et dénombrement de le FMAT, recherche de staphylocoques) ainsi que la recherche de nuisibles et bactéries pathogènes (coliformes totaux et fécaux, les salmonelles ainsi que les levures et moisissures), ont tous montré des résultats semblables.

Le **Tableau 03** résumé tous les résultats obtenus

Tableau 3: Résultats des analyses microbiologiques effectuées sur les yaourts testés

Type de yaourt	à boire		Aromatisé		Brassé		Norme selon J.O.R.A
	Périmé	Non périmé	périmé	Non périmé	superette	épicerie	
Germes							
FMAT	Abs*	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	
Coliforme fécaux	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	10 -100
Coliforme totaux	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	1 -10
staphylocoques	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	10 -100
Salmonelle	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
Levure	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	$< 10^2$
Moisissure	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs

* Abs : absence

III. Résultat de l'isolement de bactéries lactiques à partir du yaourt aromatisé

1. Isolement sur milieu MRS

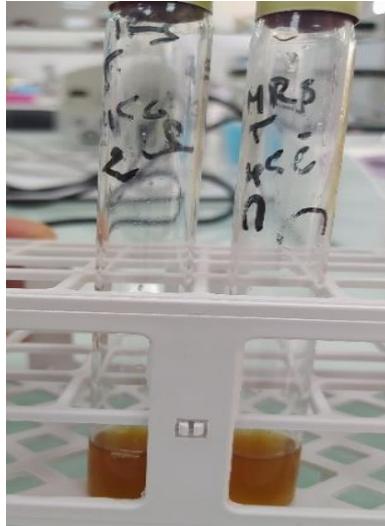


Figure 25: Résultat de la recherche et de l'isolement de bactéries lactiques sur MRS liquide

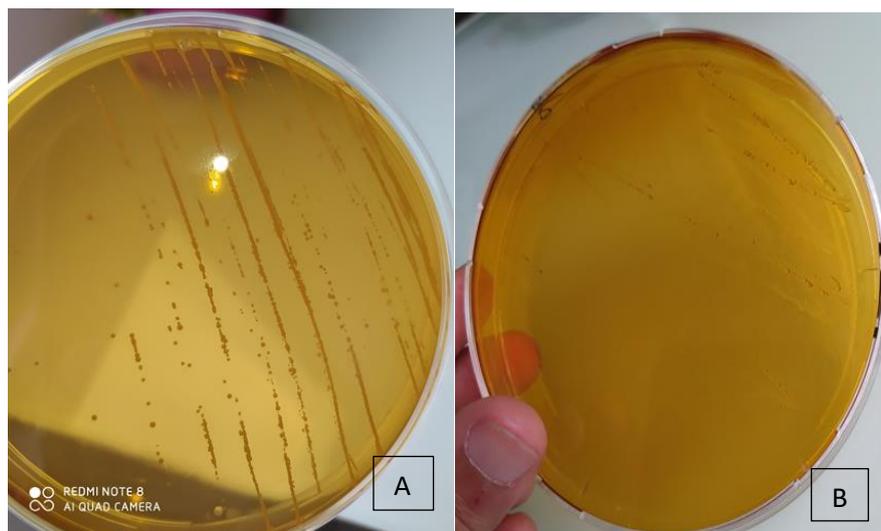


Figure 26: Résultat de la recherche et de l'isolement de bactéries lactiques sur MRS solide
(A : souche 1, B : souche 2)

2. Pré-identification des isolats

2.1. Observation macroscopique des isolats

L'étude de leur aspect macroscopique a montré différents aspects de colonies: arrondies, lenticulaires, bombées, de couleur blanchâtre, crème (**fig. 28**).

En milieu liquide, les cultures apparaissent troubles dans la partie profonde du tube, la partie supérieure restant claire, orientant vers un type respiratoire micro-aérophile (**fig. 27**).



Figure 27: Aspect de la culture en milieu liquide



Figure 28: Aspect de la culture en milieu solide

2.2. Observation microscopique des isolats

La figure 29 montre l'observation microscopique des deux isolats obtenus au G x 100

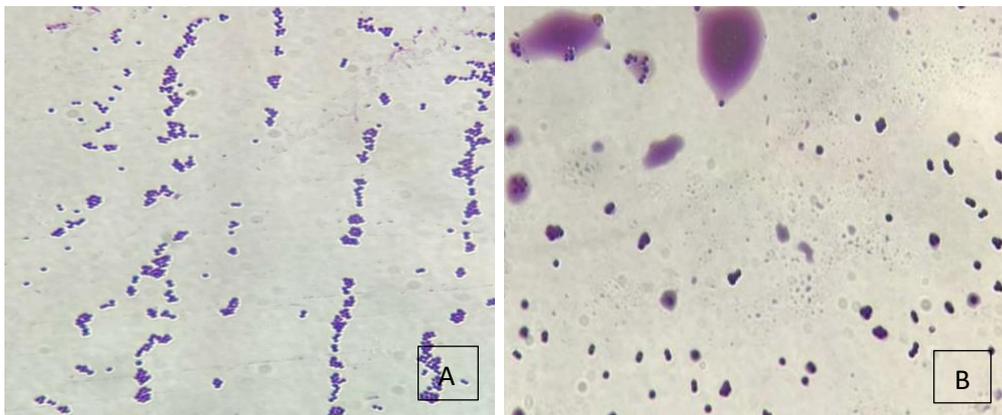


Figure 29: Observation microscopique des isolats Gx100 (**A** : souche 1 Cocci Gram +, **B** : Cocci Gram +)

2.3. Test de la catalase

Le résultat des deux isolats testés ont montré l'absence de la catalase (absence de bulles) (**fig. 30 (A) et (B)**). La figure 31 montre un témoin positif pour le test de la catalase



Figure 30: Test de la catalase (**A**) et (**B**) : isolats catalase (-). (**C**) : témoin positif

3. Caractérisation physiologique et biochimique des isolats

3.1. Production de gaz à partir du glucose

Les deux souches testés se sont révélées être de type homofermentaire (ne dégageant pas de CO₂ lors de la fermentation du sucre). La **figure 31** montre le résultat obtenu pour les deux souches testés



Figure 31: Résultat du type de fermentation des deux souches isolées

3.2. Hydrolyse de l'arginine

Les deux souches isolées et testées ont montré qu'elle possédait l'enzyme capable d'hydrolyser l'arginine (l'arginine dihydrolase). La **figure 32** illustre le résultat obtenu.

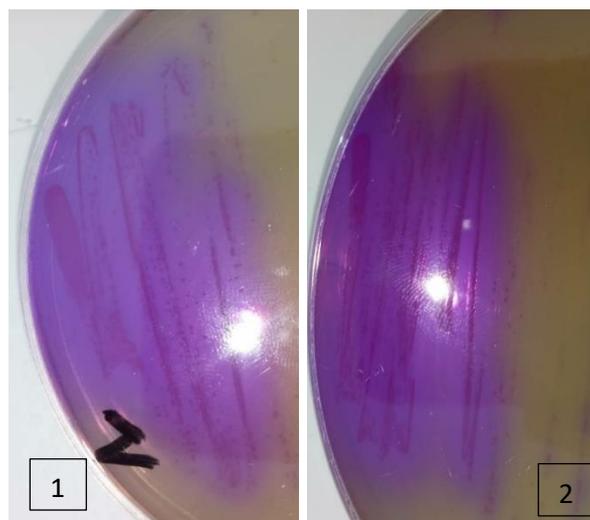


Figure 32: Recherche de l'ADH chez souches isolées sur milieu M16BCP (1 et 2 : ADH+)

3.3. Test de la thermotolérance et croissance à 45 °C

Les deux souches testées ont montré une capacité de croître à un température de 45 °C (apparition d'un trouble dans le milieu). Ceci est montré dans la **figure 33** :

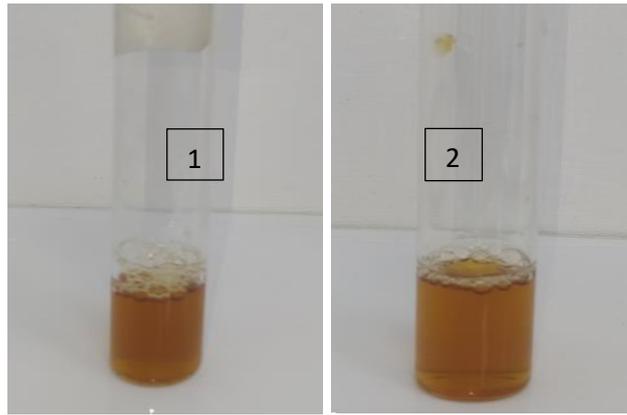


Figure 33: Croissance des souches isolées à 45 °C

3.4. Résistance à la salinité

Les bactéries ont montré une capacité de croître en présence de NaCl à 4 % par contre elles ont été incapables de pousser à une concentration de 6,5 % de NaCl. Les résultats obtenus sont montrés dans les **figures 34** et **35**

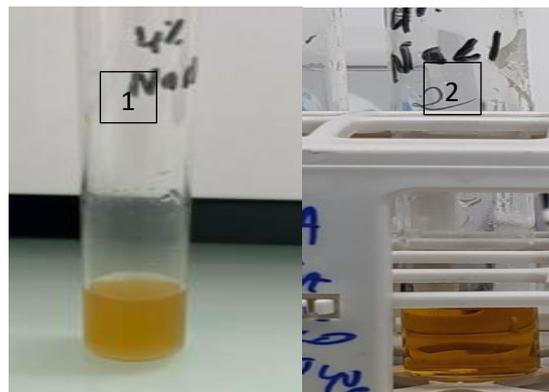


Figure 34: Croissance des isolats obtenus à 4% de NaCl



Figure 35: Croissance des isolats obtenus à 6,5% de NaCl

3.5. Croissance en milieu acide et alcalin

D'après les résultats obtenus (**fig. 36 et fig. 37**) les bactéries ont la capacité de croître en milieu acide mais n'ont pas la capacité de croître en milieu alcalin.



Figure 36: Croissance des isolats de bactéries lactiques à pH 4



Figure 37: Croissance des isolats obtenus à pH 9,6

4. Caractérisation technologique des isolats

4.1. Production d'exopolysaccharides (dextrane) sur milieu MSE

La **figure 38** montre que les isolats testés ne sont pas producteurs de dextrane sur milieu MSE.

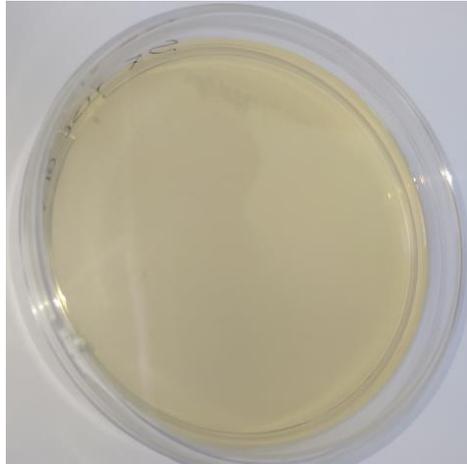


Figure 38: Recherche de la production de dextrane sur milieu MSE par les souches isolées

4.2. Production d'acétoïne

Lors du test pour la production d'acétoïne sur milieu Clark et Lubs, il n'y a pas eu apparition d'anneau rouge en surface (**Fig. 39**), ce qui démontre que les deux isolats testés n'ont pas la capacité de produire de l'acétoïne.

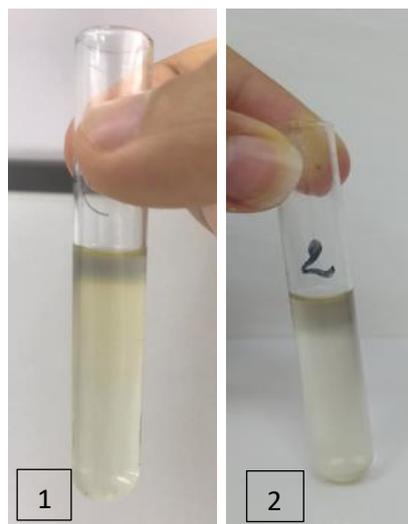


Figure 39: Recherche de la production d'acétoïne sur milieu Clark et Lubs

4.3. Recherche de l'activité protéolytique

Ce test n'a pas montré une activité protéolytique potentielle des isolats testés, pas d'apparition d'un halo clair autour des colonies (**fig. 40**).



Figure 40: Recherche de l'activité protéolytique sur milieu PCA additionné de 2 % de lait écrémé UHT

IV. Discussion

Les résultats physico-chimiques de différents types de yaourt testés, ont montré que le pH obtenu est compris entre 4,04 et 4,26 et que l'acidité titrable mesurée est comprise entre 50,5 °D à 83 °D.

En comparant les résultats du pH et de l'acidité titrable obtenus avec les normes décrites dans le JORA, (1998), nous pouvons constater qu'ils sont plutôt satisfaisants et que nos yaourts sont d'une bonne qualité physico-chimique: $4 < \text{pH} < 4,6$, et $70 < \text{°D} < 99$.

Lors de la fermentation, les BL utilisées pour la fabrication du yaourt transforment le lactose (un sucre présent dans le lait) en acide lactique (donnant au yaourt sa consistance spécifique), abaissant le pH du lait de 6,8 à 4,5 (Ashraf et Smith, 2015).

La diminution du pH constatée lors du stockage du yaourt est attribuable à la croissance continue des BL. Ces bactéries métabolisent les glucides présents dans le yaourt, ce qui entraîne la production d'acide lactique. L'accumulation progressive de l'acide lactique dans le yaourt conduit à une baisse du pH global (Gaucheron *et al.*, 2004). Cette diminution évolue légèrement tout en restant dans les normes réglementaires du pH, prouvant par ailleurs, le respect des conditions et de la température de stockage appropriés. En effet, le froid empêche la prolifération de bactéries dans le yaourt entre autres les bactéries pathogènes, mais sans totalement arrêter leurs activités métaboliques (Kaur *et al.*, 2017).

Les variations des valeurs de pH et d'acidité entre les échantillons peuvent être expliquées par les différences de concentration de poudre de lait utilisée. Lorsqu'une plus grande quantité de poudre de lait est ajoutée, cela fournit davantage de substrats (glucides) disponibles pour être métabolisés par les BL présentes dans le yaourt. En conséquence, une plus grande quantité d'acide lactique et d'autres acides est produite, ce qui entraîne une diminution du pH global du yaourt (Arab *et al.*, 2014).

L'analyse microbiologique des produits finis périmés et non périmés (yaourts brassés, aromatisés et à boire) a montré l'absence totale de bactéries pathogènes (Salmonelles et Staphylocoques), de coliformes totaux et fécaux, de bactéries aérobies mésophiles et de bactéries d'altération (levures) et moisissures). L'absence de coliformes dans le yaourt peut s'expliquer par la présence de bactéries lactiques entraînant une inhibition de la croissance des coliformes (GUIGMA, 1998).

En effet, les coliformes se multiplient pendant un certain temps avant que la croissance des streptocoques ne prenne le relais et ralentisse leur croissance. Et ceci est confirmé par ALAIS MOROU (2010) expliquant que la contamination initiale par des bactéries pathogènes soit affectée par l'abaissement du pH du milieu.

Cette absence totale de germes renseigne sur les conditions d'hygiène des équipements et la qualité des matières premières utilisées dans le processus de fabrication du yaourt, notamment l'hygiène du personnel ; elle renseigne également sur le mode de pasteurisation, puisqu'il joue un rôle très important, y compris l'élimination ou la réduction de la charge microbienne. Selon Oteng et Yang (1984), les objectifs de la pasteurisation sont nombreux et comprennent : la destruction de tous les micro-organismes pathogènes non sporulés, la destruction des levures, des moisissures et de la plupart des cellules végétatives bactériennes. On peut dire que les yaourts testés possèdent de bonnes qualités microbiologiques et hygiéniques.

En plus du contrôle qualité sur les yaourts nous avons pu isoler deux souches bactériennes apparentées aux BL. La confirmation de l'identité des souches a été effectuée par des procédures phénotypiques conventionnelles basées sur les tests morphologiques, physiologiques et biochimiques (Carr *et al.*, 2002).

La croissance des bactéries apparaît sous forme de trouble homogène et fumeux dans le milieu MRS liquide, Dans certains tubes, on observe une concentration du trouble au fond du tube, ce qui suggère la présence de conditions anaérobiques (**voir figure 25**), ce qui a été observé par Kihal (1996) et Carr et al. en 2002.

Les souches cultivées sur le milieu MRS solide ont formé des colonies de forme lenticulaire. Parfois circulaires, de petites tailles à moyennes d'environ 1mm de diamètre, blanchâtres ou laiteuses, avec un pourtour régulier et lisse. Ceci est confirmé par (Carmen et Hernández, 2017) qui décrivent les colonies de bactéries lactiques obtenues comme étant des colonies de petite taille, de forme circulaire ou lenticulaire, avec une couleur blanchâtre et d'un pourtour régulier ou irrégulier. Selon Teuber et Geis (2018), les colonies de *Lactobacillus bulgaricus* observées sur le milieu MRS étaient de couleur blanchâtre, de forme ronde et présentaient un contour régulier.

L'observation microscopique de nos deux isolats est Gram positif, sous forme de coques disposées en diplocoques et en chainettes. Ces résultats concordent avec ceux retrouvés par Lairini et al. 2014 et Corrieu et Luquet, 2008. Les BL ne possèdent pas d'activité catalasique. Il a été rapporté que certaines souches peuvent accumuler du peroxyde d'hydrogène, comme indiqué par Condon (1987). Selon le Manuel de la

Systematique Bactérienne de Bergey, les lactobacilles sont généralement catalase négative, ce qui signifie qu'ils ne produisent pas l'enzyme catalase. (de Vos *et al.*, 2009). L'absence de bulles d'air après l'ajout de l'eau oxygéné sur l'inoculum indique que nos deux isolats testés sont catalase négative. Ces bactéries sont identifiées comme des BL (Saad djaballah et Medkour, 2015).

Pour ce qui est de nos souches, aucune production de gaz (CO₂) à partir du glucose n'a été observée, ainsi, elles sont considérées comme homofermentaires.

En général, la fermentation du lactose conduit à la production d'acides organiques, qui jouent un rôle majeur dans la conservation des produits laitiers fermentés (yaourt, camembert...), et elle contribue à l'inhibition des germes pathogènes ou des contaminants et améliore la digestibilité du produit (Ouweland, 1998 ; Messens, 2002).

Les tests effectués sur milieu MRS acide pH 4 ainsi que le milieu MRS additionné de NaCl à 4 % ont montré que les deux souches testées ont été capables de croître dans ces deux milieux se traduisant par l'apparition d'un trouble. Ces résultats confirment la caractéristique d'acido-tolérance de certaines BL ainsi qu'une certaine tolérance à l'hypersalinité du milieu (Larpen, 1997). En revanche aucune croissance n'a été notée dans le milieu MRS alcalin pH 9,6 ainsi que le milieu MRS hypersalé à 6,5 %. Ces tests sont principalement utilisés pour identifier le genre *Enterococcus* des autres genres bactériens connus pour sa capacité à croître à différents pH acide et alcalin ainsi qu'en milieu hypersalé (Guiraud, 2003).

Les souches de BL 1 et 2 sont thermorésistantes, où une croissance sur bouillon MRS est observée un trouble après incubation à T 45°C. Ce test permet de faire la différence entre la flore thermophile et mésophile (Carr *et al.*, 2002)

Selon Rallu *et al.* (2000), les recherches indiquent que les souches de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* démontrent une plus grande résistance aux stress et sont capables de se développer à des températures élevées, atteignant 40 °C, ainsi qu'à un pH de 9,2. Selon Guiraud (1998), les isolats sélectionnés présentaient des formes cellulaires en chaînettes associées et étaient capables de se développer à 45 °C, mais pas à 10 °C. Des tests de résistance à la température ont été effectués pour différencier les streptocoques.

Concernant l'étude biochimique de nos deux isolats, nous avons pu déterminer que nos souches possédaient toutes les deux l'ADH et qu'elles étaient capables d'utiliser l'arginine comme source de carbone.

En revanche les deux isolats ne possèdent pas d'activité protéolytique détectable sur milieu PCA additionné de 2 % de lait écrémé UHT.

L'activité protéolytique des bactéries lactiques est une caractéristique technologique importante et est essentielle pour leur croissance dans le lait ainsi que pour le développement des propriétés organoleptiques des différents produits laitiers (Savoy et Hébert, 2001; Hassaïne *et al.*, 2007; Maghnia, 2011)

Deux autres paramètres ont été testés sur nos isolats qui sont la production d'acétoïne sur milieu Clark et Lubs (FIL, 1996), ainsi que la production de dextrans sur milieu MSE. Nous avons constaté que nos isolats 1 et 2 n'ont pas cette capacité technologique qui peuvent avoir un intérêt en industrie agro-alimentaire.

Conclusion

Conclusion générale

En conclusion, cette étude visait à évaluer les paramètres physico-chimiques et microbiologiques du différent yaourt pour répondre aux problématiques de contrôle qualité. Les résultats obtenus fournissent des informations précieuses pour la qualité et la sécurité des produits laitiers fermentés.

L'évaluation des paramètres physico-chimiques, tels que le pH et l'acidité Dornic, a permis de mettre en évidence l'importance fondamentale de ces éléments pour assurer la stabilité et la texture optimales du yaourt.

La recherche microbiologique a mis en évidence l'importance de contrôler la contamination microbienne dans le yaourt pour assurer sa sécurité des risques potentiels associés à des micro-organismes tels que la microflore aérobique totale, les staphylocoques, les levures et moisissures, les coliformes ainsi que les salmonelles.

Afin d'assurer la sécurité des consommateurs, il est essentiel de mettre en place des mesures préventives et de contrôle telles que le respect de bonnes pratiques d'hygiène, des procédures de nettoyage et de désinfection, minimiser la contamination et assurer la sécurité du yaourt.

De plus à recherche et l'isolement des bactéries lactiques ont permis d'explorer leur impact à la fois à grande échelle et à un niveau microscopique. L'identification des différentes souches et l'étude de leurs caractéristiques, telles que leur capacité de croissance à des pH et salinités variables, ainsi que la production d'acétoïne et d'EPS, et leur activité protéolytique auraient pu apporter des informations complémentaires sur la qualité et les propriétés des bactéries lactiques utilisées dans le processus de fermentation des yaourts.

Références bibliographiques

Adrian, J., Wilson, T., & Garaiova, I. (2003). The importance of yogurt in weight management. *Nutrition Bulletin*, 28(1), 3-6.

Arab, K., Bouchenak, O., Yahiaoui, K. (2014). Phytochemical study and evaluation of the antimicrobial and antioxidant activity of essential oils and phenolic compounds of *Pistacia lentiscus* L. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*.6(1), 77-91.

Ashraf R. et Smith S.C (2015). Selective enumeration of dairy based strains of probiotic and lactic acid Bacteria. *International Food Research Journal* 22(6), Pp: 2576- 2586. Journal home page:<http://www.ifrj.upm.edu.my>.

Axellsson. (2004). Lactic Acid Bacteria: classification and physiology. In *Biology of Microorganisms on Graps, in Must and in Wine*. Konig, H. et Frohlich, J. (2009) Springer ed,Allema, P 3 R 29.

Badis A., Laouabdia-Sellami N ., Guetarni D ., Kihal M ., Ouzrout R. (2005). Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales "arabia et kabyle". *Sciences & Technologie C* (23) :30-37.

Bettache, G., Fatma, A., Miloud, H. & Mebrouk, K. 2012. Isolation and identification of lactic acid bacteria from Dhan, a traditional butter and their major technological traits. *World Applied Sciences Journal*, 17, 480-488.

Blanc, B. (1982). Les yaourts. *Technique de l'Ingénieur*, A8610, 1-14. Page 3.

BONNEFOY C, GUILLET F, LEYRAL G, et VERNE-BOURDAIS E, (2002) «microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaire». Edition Doin. Paris 24p.

Boubchir-ladj K. (2004). 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'AKBOU. Mémoire de Magister: Sciences biologiques. Biochimie appliquée et biotechnologies. Université de Tizi-Ouzou. Pp: 86.

Boullouf, A. (2016). Etude du Pouvoir Technologique de Quelques Bactéries Lactiques du Fromage Traditionnel "Bouhezza", Thèse de Magister, Université des Frères Mantouri, Constantine, Département de Technologie Alimentaire, p.20, 22, 23.

Boumehira, Z. A. 2010. Identification et caractérisation technologique et fonctionnelle des souches *Lactobacillus plantarum* isolées du lait cru de chèvre et de chamelle. Université Oran1-Ahmed Ben Bella.

Bourgeois C.M, et Larpent J.P. (1996). Microbiologie alimentaire : Aliments fermentés et fermentations alimentaires. Tec & Doc, Lavoisier. 2ème édition. Paris : 523p.

BRULE G, SCHUCK P, CROGUENNEC T, et JEANTET R, (2006) «science des aliments, biochimie-microbiologie-procèdes-produits». Volume 1, édition, technique et documentaire Lavoisier, Paris 776p, 352-353-356p.

Carmen Collado M, Hernández M, 2007. Identification and differentiation of *Lactobacillus*, *Streptococcus* and *Bifidobacterium* species in fermented milk products with *Bifidobacterium*. *Microbiol Res* 162:86–92.

CAROLE. L et VIGNOLA (2002): « Science et technologie du lait. Edit. Fondation de technologie laitière du Québec Inc., Canada, 599p >>.

Carr F.J., Chill D., Maida N. (2002). The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey, *Critical Reviews in Microbiology*, 28, 281-370.

Cholet O. (2006). Etude de l'écosystème fromager par une approche biochimique et moléculaire. Institut National Agronomique Paris-Grignon. Ecole Doctorale ABIES. UMR de Génie et Microbiologie des Procédés Alimentaires INRA, INA.16.

Condon S (1987). Responses of lactic acid bacteria to oxygen. *FEMS. Microbiol. Lett.*46:269-280.

Corieu, G.; Luquet, F.M.; 2008. Bactéries lactiques de la génétique aux ferments. Edition Techniques et documentation, Lavoisier, Paris.Pb :19-88,762-746.

Corrieu G., Luquet F M., 2008 - bactéries lactiques de la génétique aux ferments. Ed. Lavoisier. Paris. France: pp 472 -676.

Das, K., Choudhary, R., & Thompson Witrick, K. A. (2019). Effects of new technology on the current manufacturing process of yogurt-to increase the overall marketability of yogurt. *Lwt.* 108, 69-80.

De Vos P, Garrity GM, Jones D, Krieg NR, Ludwig W, Rainey FA, Schleifer KH, Whitmanet WB (2009). Genus *Lactobacillus*, *Bacillus* and *Listeria*. In: «Bergey's manual of systematic bacteriology - The Firmicutes » Vol 3. Springer éd., New York.pp.19-511.

Debry, G. (2001). Les secrets du yaourt maison. Éditions du Chêne. Page 62.

Debry, G. (2001). Yaourts et laits fermentés maison. Editions La Plage. pp. 52-65.

Debry, G. (2001). Yaourts, fromages frais et crémeux. Paris: Hachette Pratique. Pages 36-37.

DELARAS C. (2007). Microbiologie pratique pour les laboratooire d'analyse ou de contrôle sanitaire.Ed., Tec et Doc., Lavoisier, Paris,p 126-173. MM

Delorme, C., Bartholini, C., Bolotine, A., Ehrlich, S.D.and Renault, P. (2010). Emergence of a cell wall protease in the *Streptococcus thermophilus* population. *Apl. Env. Microbiol.*,76(2): 451-460.

- Doleyres Y. (2003).** Production en continue du ferment lactique probiotique par la technologie des cellules immobilisées. Thèse de Doctorat. Université de Laval, Quebec.
- Euzeby, J.P. (2011).** List of Bacteriol Names with standing Nomenclatura folder available on the internet. Int.J. Syst. Bacteriol. 47: 590-592.
- FIL-Norme. (1991).** Yaourt, identification des micro-organismes caractéristiques: *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* et *Streptococcus. salivarius* subsp *thermophilus*. Revue .46:1-4.
- Fredot É., 2005.** Connaissance des aliments, bases alimentaires et nutritionnelles de ladiététique, Lavoisier, 31-70pp.
- FUGELSANG K.C. et EDWARDDS C.G (2007).** Lactic acid bacteria; in: « wine microbiology : partial application and procedures » 2^{ème} éd., Springer New York, USA, pp29-44.
- Gaucheron F. (2004).** Minéraux et produits laitiers. Edition : Tec et Doc, Lavoisier. Paris. 922p.
- Gerrit S, Bart A.S. et Wim J.M.E. (2005).** Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. FEMS Microbiology. 29, 591-610.
- Gonzalez, et al. (2007).** In Boudjani, W. (2009). « Action de la flore lactique sur les bactéries contamination ». Mémoire d'ingénieur, Institut de biologie, Université de Tlemcen. 73 pages.
- Guigma Y, 1998.** -Contrôle bactériologique et amélioration de la qualité organoleptique du yaourt de l'unité centrale d'Adaptation des process. Mémoire Maîtrise des Sciences et Techniques : Ouagadougou.
- GUIRAUD J.P (1998):**« Microbiologie alimentaire; tome 2. Edition DunodParis. 652 p»
- Guiraud J.P., 1998:** Microbiologie alimentaire. Edition Dunod Paris: 19-294.
- Guiraud J-P ;(1998).** «microbiologie alimentaire .DUNOD , paris ; pp 369_425.
- Guiraud, J. 2003.** Microbiologie alimentaire: milieux et techniques générales de culture. Dunod, Paris, 178-180.
- GUIRAUDJ-P., 1998,** Microbiologie alimentaire .Techniques d'analyses microbiologiques. P 82, 83, 88. Ed. Dunod.
- GUYONNET J.P (2003):** « La matière grasse laitière, un formidable domaine de recherche RLF, octobre 2003, n° 635, p.20-23 ».

Hassaïne O., Zadi-Karam H. et Karam N.E., 2007. Technologically important properties of lactic acid bacteria isolated from raw milk of three breeds of Algerian dromedary (*Camelus dromedarius*). *Afr. J. Biotechnol.* 6 (14) : 1720-172.

J.O.R.A. N°35., (1998). Arrête interministériel du 25 Ramadhan 1418 correspondant au 24 Janvier 1998 modifiant et complétant l'arrête du 14 Safar 1415 correspondant au 23 Juillet 1994 relatif au spécification microbiologique de certaines denrées alimentaires p 7.

J.O.R.A. N°35, (1998). Arrêté interministériel du 25 Ramadhan 1418 correspondant au 24 janvier 1998 modifiant et complétant l'arrêté du 23 juillet 1994. Relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires, 17.

Joffin C et Joffin J_N. (1999) «microbiologie alimentaire, 5ème édition C.R de DOC .PED.d'AQU , Bordeau ; pp,124-145.

Kaur, R., Kaur, G., Mishra, S. K., Panwar, H., Mishra, K. K., & Brar, G. S. (2017). Yogurt: A nature's wonder for mankind. *International Journal of Fermented Foods.* 6(1), 57- 69.

KIHAL, M, (1996). Etude de la production du dioxyde de carbone par *Leuconostoc mesenteroides*, élément d'application en technologie fromagère type fromage bleu thèse de Doctorat d'Etat, Université d'Oran.

Korsak N., Clinquart A., Daube G. 2004. *Salmonella* spp. Dans les denrées alimentaires d'origine animale : un réel problème de santé publique. *Ann. Méd. Vét* 148 :174-193.

Lahtinen, S., Ouwehand, A. C., Salminen, S., Vonwright, A. (2012). *Lactic Acid Bacteria, Microbiological and Functionnal Aspects*, Fourth edition, p. 18-33, 77.

Lairini, S., Beqqali, N., Bouslamti, R., Belkhou, R., et Zerrouq, F. (2014). Isolement des bactéries lactiques à partir des produits laitiers traditionnels Marocains et formulation d'un lait fermenté proche du Kéfir. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences etTechnologie*, 10(4), 267-277.

Lansing, M., Prescott, John P., Harley, Donald. et A. Klein, (2003). *Microbiologie De Boeck Supérieur*, P 549.

LARPENT, J.P et BOURJEOIS, C.M.(1995) .*Microbiologie alimentaire: Aliment fermentés et fermentation alimentaire.* Tom 2.2ème Ed Tec et Doc. Lavoisier. Paris.

Larparent-Gourgaud, M., Michaux, O., Larparent, J.P., Desmasures, N., Desmazeaud, M., Mangin, I., Masson, F., Montel, M.C., Taillier, P. (1997). Les ferments lactiques et bactéries apparentées. In *Microbiologie alimentaire Techniques de laboratoire.* Larparent J-P. Tec & Doc, Lavoisier, p 199-255.

LE HIR A, CHAUMIEL et BROSSARD D, (2009) «pharmacie galénique, bonne Pratique de fabrication des médicaments». 9eme édition, Masson, Paris 400p.

LEYRAL G et VIERLING E, (2001) «microbiologie et toxicologie des aliments: hygiène et sécurité alimentaire». Edition, CNPD d'aquitaine, 3eme édition 274p.

Loones, A. 1994. Laits fermentés Par Les bactéries Lactique. In Bactéries Lactiques : Aspect Fondamentaux Et Technologiques. Vol 2. De Roissart, H. & Luquet, F.M. (Ed), Lonca, Unage, 135-154.

Lourens-Hattingh, A et Viljoen, BC., 2001. Yogurt as Probiotic Carrier Food - paris : International Dairy Journal, . Vol. 11. pp.1-17 .

Luquet, F.M et Corrieu G., (2005). Bactéries lactiques et probiotiques. Santé et Nutrition. France.

Maghnia, D. (2011). Etude de potentiel technologique des bactéries lactiques isolées des aliments fermentés traditionnels algériens.

Mahaut, M.-L., Bouix, M., & Lebeau, J. (2000). Les produits laitiers: yaourts et laits fermentés. Technique de l'Ingénieur, A8610, 1-16.

Makhloufi K. M. (2012). « Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolée du boza ». Thèse de doctorat de l'université pierre et marie curie. Spécialité : microbiologie, biochimie (école doctorale iviv).

Marty-Teyssset C., De La Torre F. & Garel J.R. (2000). Increased production of hydrogen peroxide by *Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus* upon acration: involvement. Applied and Environmental Microbiology, 66 (1), 262-267.

Mathieu, A. (1998). Le yaourt, l'art de la fabrication maison. Editions Rustica.

Mathot, A., Kihal, M., Prevost, H. & Divies, C. (1994). Selective enumeration of *Leuconostoc* on vancomycin agar media. International Dairy Journal, 4, 459-469.

Mayeux, J.V, Sandine, W.W.E, Elliker, P.R, (1962). A selective medium for detecting *Leuconostoc* organisms in mixed strain starter cultures, J. Dairy. Sci., 45, pp. 655-656.

Medouni Y., Boulahchiche N. et Brahimi R. (2005). Role de la femme rurale dans le système de production agropastoral. Cas de la fabrication Ouled-Baida de la zone d'El Guedid Region de Djelfa (Steppe central). Option : Méditerranéennes, série A., N°70.

Messens W, De Vuyst L.(2002). Inhibitory substances produced by lactobacilli isolated from sourdoughs, vol. 72, p. 31-43.

Meydani, S. N., & Ha, W. K. (2000). Immunologic effects of yogurt. The American journal of clinical nutrition.71(4), 861-872.

MILLER G, (1995) «manuels sur le contrôle de la qualité des produits alimentaire: analyse des résidus de pesticides dans les laboratoires de contrôle de la qualité des aliments. Food and agriculture Org» 183p.

Moulay M., Aggad H., Benmeckhernene Z., Guessas B., Henni D.E., kihal M. (2006).Cultivable Lactic Acid Bacteria Isolated from Algerian Raw Goat is Milk and Their prteolyticActivity.WourJournal of Dairy and Food Sciences, 1 (1): 12-18.

Nout M., Settachaimongkon S., Antunes Fernandes E., Hettinga K., Vervoort J., van Hooijdonk T., 2014. Influence of different proteolytic strains of Streptococcus thermophilus in co-culture with Lactobacillusdelbrueckii subsp. bulgaricus on the metabolite profile of set yoghurt. Int. J. Food. Microbiol, 177, 29-36p.

Oteng K et Yang G, 1984 : Introduction à la microbiologie alimentaire dans les pays chaudes édition Lavoisier ,320 p.

Ouwehand A.C. 1998. Antimicrobial components from lactic acid bacteria. In:Salminen, S. and Von Wright A. (Ed.), lactic acid bacteria: Microbiology and functional aspects, 2nd edition(edited by). Marcel Dekker Inc, New York. 139-159.

Paci kora.E. (2004). Interaction physico-chimiques et sensorielles dans le yaourt brassé aromatisé : quels impacts respectifs sur la perception de la texture et de la flaveur. Thèse de doctorat. Science des aliments. Institut national agronomique PARISGRIGRON.PP :206.

PAUL A. (2010). Beurre et fractions de matière grasse laitière, Dans: VINGOLE C.L. Science et Technologie du lait, presses polytechnique, n°5, p. 323-347.

PIPET L, (2004) «qualité à l'officine». Edition le moniteur, France 31p.

RALLU F., Gruss A., ERLISH S. D. MAGNI E. (2000), Acid and multi-stress resistant mutants of Lactococcus cremoris; identification of intracellulaire stress signal. Mol.Microbiol 35:517-528.

Ruiz- Moyano, S., Martin, A., Benita, M.J., Nevado, F.P.and Cordoba, M.G. (2008).Meat Sciences, (80), 715-721.

Saad, N. (2010).Caractérisation d'rentités moléculaires de surface impliquées dans la relation de la bactérie probiotique Lactobacillus plantarum 299v avec hôte : approche in vitro. Thèse Doctorat. Biologie et santé. Université Limoge.

Salminen S., Ouwehand A. et von Wright A., 2004. Lactic Acid Bacteria:Microbial and Functional Aspects, 3rd ed. Marcel Dekker. New York. 375-395p.

Salminen, S., Wright, A. V.and Ouwehand, A. (2004). Lactic acid bacteria. Microbiological and functional aspects. Marcel Dekker. Inc., U.S.A.

Savoy de Giori G. et Hébert M.(2001). Methods to determine proteolytic activity of lactic acid bacteria. *Methods in biotechnology*, Vol. 14: Food Microbiol. Protocols. Humana Press. Totowa. 197-202.

SEYDI M., 2002. Le lait fermenté type yaourt ou yoghourt : EISMV/ HIDAOA.- 5p.

Simpson, W.J. et Taguchi, H. (1995). The genus *Pediococcus* with notes on the genera *Tetragenococcus* and *Aerrococcus*. In the *Genera of lactic acid bacteria*, Wood BJB., Holzapel WH, Eds; Chapman & Hall, London, 125-172.

Siuta. b. A., Bonczara G., Wszoleka M. (2002). The effects of certain factors on the properties of yoghurt made from ewe's milk. *Food Chemistry*. 79 : 85–91.

Sodini C., Béal I, (2008). Fabrication des yaourts et des laits fermentés.

Tamime, A.Y. (2002). Microbiology of starter cultures. In: *Dairy microbiology handbook* (Robinson R.K.). 3e Ed., John Wiley and Sons, Inc., New York. 261-366.

Teuber M., Geis A. 2006. The genus *Lactococcus*. *Prokaryotes* 4: 205-228.

Thomas, T. 1973. Agar medium for differentiation of *Streptococcus cremoris* from the other bacteria. *NZJ Dairy Sciences and Technology*, 8, 70-71.

Varalakshmi, S., Balasubramanyam, B.V., Surendranath, B., Bagath, M. and Rajendran, D. (2014). Use of novel lactic acid bacterial strains with antagonistic activity for the preparation of safe indigenous fermented dairy foods (dahi and raita). *J Food Safety* 34, 26– 33.

Vignola, C. I. (2002) Science et technologie du lait : transformation du lait. Ed Lvoisier, Paris, p : 600.

Vignola, G. (2002). Production de yaourts aromatisés. In *Techniques de l'ingénieur* (Vol. A8610). Editions Techniques de l'Ingénieur.

Vignola, M. (2002). Fruits and Flavors: Yogurt Goes Beyond Vanilla. *Food Technology*, 56(5), 24-29.

Walter, J., Hertel, C., Tannock, G.W., Lis, C.M., Munro, K et Hammes, W.P. (2001). Detection of *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, and *Weissella* species in human feces by using group-specific PCR primers and denaturing gradient gel electrophoresis. *Appl. Environ. Microbiol.*, 67 : 2578-2585.

Annexes

Annexe 01

Matériel

- Erlenmeyer
- Bécher
- Eprouvette graduée
- Tubes à essai +support
- Flacon
- Pince
- Compte-gouttes
- Verre de montre
- Pissette
- Balance
- Agitateur magnétique
- Bec bunsen
- Boite de Pétri
- Cloche de durham
- Anse de platine
- pH mètre et thermomètre
- Lame et lamelle
- Microscope optique
- Pipette graduée + poire
- Pipette pasteur et micropipette
- Burette +support
- Autoclave
- Incubateur

Annexe 02**Composition des milieux de culture****• Milieu Gélose nutritive**

Gélose nutritive5,75 g

Eau distillée250 mL

Autoclavage pendant 20 min à 121°C

• Milieu BLBVB

BLBVB10 g

Eau distillée250 mL

Autoclavage pendant 20 min à 121°C

• Milieu Salmonelle Shigelle

SS.....13 g

Eau distillée250 mL

• Milieu Baird Parker

Baird parker.....16,69 g

Eau distillée250 mL

Autoclavage pendant 20 min à 121°C

• Milieu sabouraud :

Sabouraud.....16,25 g

Eau distillée250 mL

Autoclavage pendant 20 min à 121°C

• Milieu sélinite cystine

Sélinite2,3 g

Eau distillé.....100 mL

Autoclavage pendant 20 min à 121°C

- **Milieu MRS**

MRS broth	27.15 mL
Agar - agar	10 g
Eau distillé.....	500 mL
pH 6,8	
Autoclavage pendant 20 min à 121 °C	

- **Milieu MSE**

Peptone	2g
Extrait de levure.....	1 g
Saccharose.....	20 g
Citrate de Sodium.....	0,2g
Glucose.....	1 g
Gélatine.....	0,5 g
Sodium azide.....	0,015 g
Agar –agar.....	3 g
Eau distillée.....	200 mL
pH 6,5	
Autoclavage pendant 20 min à 121 °C	

- **Milieu M16 BCP**

Extrait de levure.....	0,25 g
Extrait de viande	0,5 g
Peptone.....	1 g
Acide ascorbique	0,05 g
Lactose	0,2 g
L-arginine	0,4 g
Pourpre de Bromocrésol.....	0,05 g
Agar-agar.....	2 g
Eau distillée	100 mL
pH 6,8	
Autoclavage pendant 20 min à 121 °C	

- **Milieu Clarck et Lubs**

Peptone.....	0,5 g
Glucose.....	0,5 g
Hydrog�no-phosphate de potassium.....	0,5 g
Eau distill�e.....	100 mL

pH 7,5
Autoclavage 120  C pendant 20 min

- **Milieu PCA**

Tryptone.....	0,5 g
Extrait de levure.....	0,25 g
Glucose.....	0,1 g
Agar-agar	1,5 g
Eau distill�e.....	100 mL

pH 7,0
Autoclavage 120 C pendant 20 minutes

- **Composition pour 250 ml d'eau physiologique**

NaCl.....	2,7 g
Eau distill�e	250 ml

Autoclavage 20 min   121 C

- **Composition de la solution hydroxyde de sodium N/9**

NaOH	0,4 g
Eau distill�e.....	100 ml

- **Composition pour 100 ml eau pepton e**

Peptone	1 g
NaCl.....	0,5 g
Eau distill�e	100 ml

Autoclavage   121 C pendant 20 min

- **Composition de la solution VP1**

Alpha-naphtol.....0,6 g
Ethanol.....10 mL

- **Composition de la solution VP2**

NaOH.....1,6 g
Eau distillée.....10 mL

Annexe 03**Acidité Dornic de yaourt aromatisé non périmé**

$$D^0 = 10 \times V_{eq}$$

$$V_{eq} = (5,6 + 11) / 2$$

$$V_{eq} = 8,3$$

$$D^0 = 8,3 \times 10$$

$$D^0 = 83^\circ D$$

Acidité Dornic de yaourt aromatisé périmé

$$D^0 = 10 \times V_{eq}$$

$$V_{eq} = (11 + 5,5) / 2$$

$$V_{eq} = 8,25$$

$$D^0 = 8,25 \times 10$$

$$D^0 = 82,5^\circ D$$

Acidité Dornic de yaourt brassé superette

$$D^0 = 10 \times V_{eq}$$

$$V_{eq} = (6,3 + 7,5) / 2$$

$$V_{eq} = 6,9$$

$$D^0 = 6,9 \times 10$$

$$D^0 = 69^\circ D$$

Acidité Dornic de yaourt brassé épicerie

$$D^0 = 10 \times V_{eq}$$

$$V_{eq} = (7,1 + 8) / 2$$

$$V_{eq} = 7,55$$

$$D^0 = 7,55 \times 10$$

$$D^0 = 75,5^\circ D$$

Acidité Dornic de yaourt à boire non périmé

$$D^0 = 10 \times V_{\text{eq}}$$

$$V_{\text{eq}} = (5,1 + 5) / 2$$

$$V_{\text{eq}} = 5,05$$

$$D^0 = 5,05 \times 10$$

$$D^0 = 50,5^\circ D$$

Acidité Dornic de yaourt à boire périmé

$$D^0 = 10 \times V_{\text{eq}}$$

$$V_{\text{eq}} = (6,1 + 7) / 2$$

$$V_{\text{eq}} = 6,55$$

$$D^0 = 6,55 \times 10$$

$$D^0 = 65,5^\circ D$$