

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun–Tiaret-
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Science Biologique



Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : "Sciences de la Nature et de la Vie"

Filière : "Sciences Biologiques"

Spécialité : "Microbiologie Appliquée"

Présenté par

-M^{lle}. BELMOKHTAR Fatima

- M^{lle}. GARADI Fatima Zohra

- M^{lle}. KOUADRIA Hadjer

Thème

Comparaison entre deux types de yaourt obtenus à partir de deux souches isolées localement et lyophilisées

Soutenu publiquement le 26/06/2019

JURY

-President : Mr. HADJ SAID A.

MCA

-Promoteur :Mr. BENBEGUARA M.

MAA

-Co-promoteur : M^{me} MOULAY M.

MCA

-Examineur : Mr. YEZLI W.

MCB

Année universitaire : 2018/2019

Remerciements

Nous tenons à remercier :

*ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la chance, le courage et la patience
d'avoir accompli notre travail.*

*Notre promoteur Mr. BENBEGUARA.M. Et Co-promotrice
Mme. Moulay M. qu'ils trouvent ici l'expression de notre très vive reconnaissance
pour ses disponibilités, aides, ses conseils, ainsi que ses qualités relationnelles et
humaines.*

*Notre profonde gratitude, et nos vifs remerciements vont également :
A Mr. Hadj Saïd de nous avoir fait l'honneur de présider l'honorable jury.
A Mr. Yezli d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Nous tenons à remercier sincèrement et profondément l'équipe de L'INSTITUT DES
SCIENCES VETERINAIRES et du laboratoire de recherche : HYGIENE ET
PATHOLOGIE ANIMALE*

*« Mr. MOSTAPHA et RADWENE » nous avoir mis à disposition tout ce dont nous
avons besoin au cours de notre stage.*

*Nous remercions les techniciens du laboratoire tous sans exception à commencer par :
Khaira et Zahra pour leur aide et d'avoir partagé leur savoir-faire avec nous.*



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour, à ceux qui m'ont encouragé et soutenu dans les moments les plus durs et ceux à qui je dois tant : à mes parent, pour leur amour et leur support affectif.

A mon adorable nièce : Bissane, la plus belle chose qui me soit arrivé.

A mes chères sœurs : Nawel et Amina pour leurs encouragements sans oublier mon petit frère Mohamed, que Dieu vous garde en bonne santé et à mes côtés.

A mes chères amies : Khalida et Fatima avec lesquelles j'ai passé les plus beaux moments.

A Fatima et Hadjer avec lesquelles j'ai partagé ce travail, je lui souhaite plein de bonheur et réussite.

Et a tous mes collègues de la promotion de microbiologie appliquée : 2018/2019



Fatima

Dédicaces

A mes chères parents ma mère et mon père pour leur patience, leur amour, leur soutien et leur encouragement

A mes chères sœurs Soumia, Asma et l'adorable Rihab

A mon frère unique Ayoub

A toi ma copine Rahil

A mes amis intimes ceux et celles qui j'ai partagé des moments agréables

Fatima, Hadjer, Nor el Houda, Imene, Amine de nice et Fateh

A toutes les personnes que je connais sans exception de près ou de loin

A toutes la promotion de microbiologie appliquée 2018/2019



TIMOUCHA

Dédicaces

Je dédie ce travail à dieu tout puissant pour avoir guidé mes pas pour la réalisation de ce mémoire

A mes chères parents "Fatima et Khalil " pour leur amour, leur encouragement et leur soutien

A ma grand-mère "Oum el khir " que dieu la garde pour nous

A mes frères "Oussama et abdelwahab "

A ma chère sœur "Hiba"

A mes amies "Fouzia, Miyada, Tamani, Asma et Sihem"

A mes collègues "Fatima zohra et Fatima "

A toute ma promotion microbiologie appliquée 2018 -2019



Hadjer

Sommaire

Liste des abréviations.....	i
Liste des tableaux.....	ii
Liste des figures.....	iii
Liste des photos.....	iiii

Introduction

Première partie: Synthèse Bibliographique

1. Lait.....	2
1.1. Définition.....	2
1.2. Composition du lait.....	2
2. Yaourt.....	2
2.1. Définition.....	2
2.2. Types de yaourt.....	2
2.2.1. Teneur en matières grasses.....	3
2.2.2. Goût.....	3
2.2.3. Texture.....	3
2.3. Composition de yaourt.....	4
2.4. Bactéries lactiques.....	4
2.4.1. Caractéristiques des bactéries lactiques.....	5
2.4.1.1. <i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i>	5
2.4.1.2. <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>Bulgarius</i>	5
2.4.2. Classification des bactéries lactiques.....	6

Deuxième partie: Partie expérimentale

Chapitre I: Matériel et méthodes

1. Objectifs.....	7
2. Lieu et période de l'étude.....	7
3. Matériel et méthodes.....	7
3.1. Matériel.....	8
3.2. Méthodes.....	9
3.2.1. Protocole expérimental.....	10
3.2.2. Isolement et purification des souches.....	11
3.2.3. Ré-identification des souches.....	11
3.2.3.1. Coloration de Gram.....	11

3.2.3.2. Test de catalase.....	12
3.2.3.3. Test de métabolisme fermentaire.....	12
3.2.4. Préparation de levain.....	12
3.2.4.1. Ferments Lactiques.....	12
3.2.4.2. Préparation de lait écrémé.....	12
3.2.4.3. Standardisation.....	13
3.2.5. Fabrication du yaourt.....	13
3.2.5.1. Préparation du lait.....	13
3.2.5.1.1. Enrichissement en matière sèche.....	13
3.2.5.2. Traitement thermique.....	13
3.2.5.3. Fermentation.....	13
3.2.5.4. Etuvage.....	14
3.2.5.5. Arrêt de fermentation.....	14
3.2.6. Cinétique des paramètres de coagulation.....	15
3.2.6.1. Cinétique des paramètres physicochimiques.....	15
a)- pH.....	15
b)-Acidité titrable.....	15
3.2.6.2. Cinétique de la croissance bactérienne.....	16
3.2.6.3. Dénombrement de la flore lactique.....	16
3.2.6.3.1. Préparation de la solution mère.....	16
3.2.6.3.2. Préparation des dilutions décimales.....	16
3.2.6.3.3. Dénombrement par technique de micro-spots.....	16
3.2.6.3.4. Dénombrement par spectrophotométrie.....	17
3.2.7. Caractère sensoriel du yaourt.....	18

Chapitre II: Résultats et discussion

1. Résultats et discussion.....	19
1.1. Isolement et ré-identification des souches.....	19
1.1.1. Caractérisation morphologiques.....	19
1.1.1.1. Caractérisation macroscopique.....	19
1.1.1.2. Caractérisation microscopique.....	21
1.1.2. Caractérisation biochimiques.....	22
1.1.2.1. Test de catalase.....	22
1.1.2.2 Type fermentaire.....	22

1.2. Cinétique des paramètres physicochimiques.....	23
1.2.1. pH et acidité.....	23
1.3. Cinétique des paramètres microbiologiques.....	24
1.3.1 Densité optique et croissance bactérienne.....	24
1.4. Caractère sensoriel.....	27
Conclusion.....	29

Références bibliographiques

Annexe

Résumé

Liste des abréviations

°D : Degré Dornic

DO : Densité Optique

FAO : Food and Agriculture Organization (United Nations)

Lb : *Lactobacillus*

MRS : Gélose de Man Rogusa et Sharp

pH : Potentielle d'hydrogène

St : *Streptococcus*

Subsp : Sous espèce

UFC : Unité Formant Colonies

UV-V : Ultra-violet visible

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
01	Composition moyenne du lait de vache	02
02	Composition nutritionnelle de différents types de yaourt	04
03	Classification des bactéries lactiques du yaourt	06
04	Appareillages et verreries	08
05	Réactifs, solutions et autres	08
06	La qualité organoleptique du yaourt pour les deux souches	27

Liste des figures

Numéro	Titre	Page
01	Aspect microscopique de <i>Lactobacillus bulgaricus</i> .	06
02	Aspect microscopique de <i>Streptococcus thermophilus</i> .	06
03	Protocole expérimental.	10
04	Organigramme de la fabrication du yaourt ferme.	14
05	Caractérisation macroscopique des bactériesensemencées sur milieu M17 après 24h d'incubation à 45°C pour les deux souches lyophilisées et isolées localement.	19
06	Caractérisation macroscopique des bactériesensemencées sur milieu MRS modifié après 48h d'incubation à 45°C pour les deux souches lyophilisées et isolées localement.	20
07	Caractérisation macroscopique des bactéries sur MRS et M17 après 24-h d'incubation à 45°C.	20
08	Caractérisation microscopique des bactéries isolées localement et lyophilisées sur milieu M17 et MRS modifiée.	21
09	Test de catalase des souches isolées localement et lyophilisées.	22
10	Type fermentaire des bactéries lactiques.	23
11	Evolution de pH et acidité en fonction du temps de la fermentation du lait obtenus par l'action des souches lyophilisées.	23
12	Evolution de pH et acidité en fonction du temps de la fermentation du lait obtenus par l'action des souches isolées localement.	24
13	Evolution de la DO en fonction du temps sous l'action des souches lyophilisées et isolées localement.	25
14	Croissance bactérienne en fonction du temps sous l'action des souches lyophilisées et isolées localement.	26

Liste des photos

Numéro	Titre	Page
01	Aspect macroscopique de <i>Streptococcus thermophilus</i> isolées à partir des souches lyophilisées	20
02	Aspect macroscopique de <i>Streptococcus thermophilus</i> isolée localement	20
03	Aspect macroscopique de <i>Lactobacillus bulgaricus</i> isolées à partir des souches lyophilisées	21
04	Aspect macroscopique de <i>Lactobacillus bulgaricus</i> isolée localement	21
05	Aspect macroscopique de <i>Streptococcus thermophilus</i> sur M17	21
06	Aspect macroscopique de <i>Lactobacillus bulgaricus</i> sur MRS	21
07	Aspect microscopique de <i>Lactobacillus bulgaricus</i> (X100)	22
08	Aspect microscopique de <i>Streptococcus thermophilus</i> (X 100)	22

Introduction

Les laits fermentés sont des produits laitiers transformés par une fermentation essentiellement lactique qui aboutit à l'acidification et la gélification du lait (Tamine et Robinson, 1985).

La production des laits fermentés représente une technologie complexe, qui fait intervenir différents facteurs : en premier lieu, des facteurs biologiques, associés à la mise en œuvre d'une matière première d'origine vivante, le lait et à sa transformation par des micro-organismes, les bactéries lactiques ; en second lieu des facteurs d'ordre technologiques, liés à la mise en œuvre de différentes opérations unitaires. Cette complexité permet des combinaisons très diverses, ce qui aboutit à l'élaboration de produits très variés. Les contraintes de qualité, à la fois hygiénique, organoleptique et nutritionnelle, doivent, en outre, impérativement être prises en compte (Sodini et Béal, 2008).

Le yaourt est le plus connu des laits fermentés. produit obtenus grâce à l'action de bactéries lactiques, dont *Streptococcus thermophilus*, et d'autres bactéries appartenant très majoritairement aux genres *Lactobacillus* et dans lesquels les bactéries demeurent vivantes et nombreuses pendant la durée de la vie du produit, qui doit donc être conservé au froid (Pierre et al., 2011).

Il reste très prisé en raison de son image en tant qu'aliment fermenté «moderne», résultant de ses propriétés nutritionnelles attractives et de sa diversification croissante, associée à l'industrialisation de sa fabrication (Corrieu et Béal, 2016).

Notre étude consiste à comparer entre deux types de yaourt obtenus à partir de deux souches isolées localement et lyophilisées.

Première partie
Synthèse
Bibliographique

1. Lait

1.1. Définition

Le lait est le produit intégral de la traite totale ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum (Debry, 2001).

1.2. Composition du lait

Le lait est un substrat très riche fournissant à l'homme, et aux jeunes mammifères un aliment presque complet (Larpent et Bourgeois, 1995).

Le tableau 01 présente la composition moyenne du lait de vache.

Tableau 01 : Composition moyenne du lait de vache (Vignola, 2002).

Constituants	Quantité (g/l)
Eau	875
Glucides	46
Matière grasse	37
Protéine	32
Sels minéraux	8
Constituants mineurs	Traces

2. Yaourt

2.1. Définition

La dénomination yaourt ou yoghurt est réservée au lait fermenté obtenu, selon les usages loyaux et constants, par le développement des seules bactéries lactiques, *Streptococcus salivarius* subsp *thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, qui doivent êtreensemencées simultanément et se trouvent vivantes dans le produit à raison d'au moins 10^7 bactéries.g⁻¹. La quantité d'acide lactique libre ne doit pas être inférieure à 0,7g.100g⁻¹ lors de la vente au consommateur (Romain et al., 2008).

2.2. Types de yaourt

Selon Fredot (2005), les yaourts sont classés selon :

2.2.1. Teneur en matières grasses

On trouve les yaourts maigres obtenus à partir d'un lait qui contient une teneur en matière grasse inférieures à 1%, les yaourts ordinaires nature où le lait utilisé à une teneur en matière grasse est au minimum de 1 % et les yaourts au lait entier où la matière grasse est égale à 3,5 %.

2.2.2. Goût

Les yaourts classés selon leur goût sont :

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

2.2.3. Texture

Selon Alpes (2011), les différents types de yaourt classés en fonction de la texture sont :

- Les yaourts fermes : dont la fermentation a lieu en pots, ce sont généralement des yaourts naturels ou aromatisés (Pacikora, 2004), les pots sont maintenus dans une enceinte à 40–50°C puis refroidis à 4 °C (Mohtadji-Lamballais, 1989).
- Les yaourts brassés : dont la fermentation a lieu en cuves avant le conditionnement ce sont généralement des yaourts brassés nature ou aux fruits (Pacikora, 2004).
- Le yaourt à boire : sa texture liquide et mousseuse a été obtenue en battant le yaourt avant de le mettre en flacons (Alpes, 2011).

2.3. Composition de yaourt

La Composition nutritionnelle de différents types de yaourts pour 100 g de produit est donnée dans le tableau 02.

Tableau 02 : Composition nutritionnelle de différents types de yaourt (Anses, 2008)

Types de yaourt	Energie (Kcal)	Eau (g)	Protéines (g)	Glucides (g)	Lipides (g)
Yaourt nature au lait entier	70.6	86.5	3.8	5	3.6
Yaourt nature au lait partiellement écrémé	47.7	88.2	4	4.8	1.02
Yaourt nature 0% au lait Ecrémé	42	88.6	4.4	5.1	0.07
Yaourt aromatisé sucre au lait demi-écrémé	84.8	81.1	3.1	14.2	1.4
Yaourt aux fruits sucre au lait demi-écrémé	91.8	77.6	3.2	15.2	1.69

2.4. Bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont des cocci ou des bâtonnets, gram positif, anaérobies mais généralement aérotolérants, capables de fermenter le carbohydrate en énergie (Parada et al., 2007). ce sont des hétérotrophes et des chimioorganotrophes, immobiles, asporulées et ont des exigences nutritionnelles complexes pour les acides aminés, les sels, les acides gras, les peptides et les glucides fermentescibles (Dellaglio et al., 1994) . On désigne sous le nom de bactéries lactiques, celles dont la fermentation des sucres est faite par deux voies métaboliques homolactique et hétérolactique (Dunand, 1991 ; Yann, 2003).

2.4.1. Caractéristiques des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques utilisées dans la fabrication du yaourt sont :

2.4.1.1. *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*

Streptococcus salivarius subsp. *thermophilus* est largement utilisé dans la production des produits lactés et fromages (Portello, 2012). C'est une Cocci, Gram positif, anaérobie facultative, non mobile. On la trouve dans le lait fermenté et les fromages, thermorésistante sensible au bleu de méthylène (0.1%) et aux antibiotiques. Elle est isolée exclusivement du lait et du produit laitiers sous forme de coques disposés en chaîne de longueurs variable ou par paires. Sa température optimale de croissance varie entre 40 et 50°C. Son métabolisme est du type homo fermentaire.

Le rôle principal de *St. thermophilus* est la fermentation du lactose du lait en acide lactique. En plus de son pouvoir acidifiant, elle est responsable de la texture dans les laits fermentés. Cette bactérie augmente la viscosité du lait par production de polysaccharides (composés de galactose, glucose, ainsi que de petites quantités de rhamnose, arabinose et mannose) (Bergamaier, 2002).

2.4.1.2. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*

Lactobacillus delbrueckii subsp. *bulgaricus* est une bactérie lactique largement utilisée en industrie alimentaire. C'est un bacille Gram positif, immobile, sporulé, micro-aérophile. Il est isolé sous forme de bâtonnes ou de chaînettes. Il possède un métabolisme strictement fermentaire avec production exclusive d'acide lactique comme principal produit final à partir des hexoses de sucre. Il est incapable de fermenté les pentoses.

Lactobacillus bulgaricus est une bactérie thermophile, très exigeante en calcium et en magnésium, sa température optimale de croissance est d'environ de 45 à 50°C en acidifiant fortement le lait jusqu'à 1.8 % (pH voisin 4.5) (FAO, 1995).

Cette bactérie a un rôle essentiel dans le développement des qualités organoleptiques et hygiéniques du yaourt (Marty-Teyssset et al., 2000).

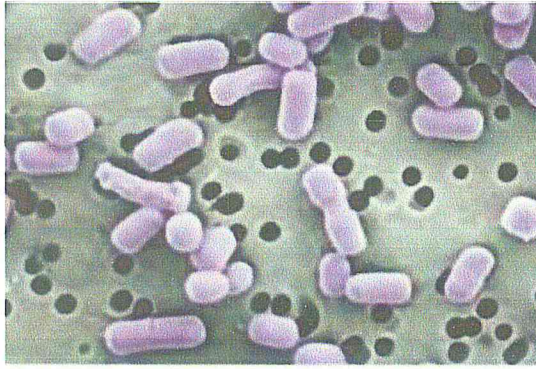


Figure 01 : Aspect microscopique de *Lactobacillus bulgaricus* (Corrieu et Luquet, 2008).

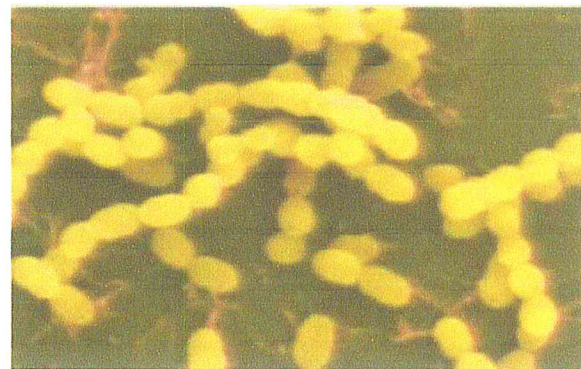


Figure 02 : Aspect microscopique de *Streptococcus thermophilus* (Durso et Huktins, 2003).

2.4.2. Classification des bactéries lactiques

La classification des bactéries lactiques est présentée dans le tableau 03.

Tableau 03 : Classification des bactéries lactiques du yaourt (Devo et al., 2009).

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

Deuxième partie
Partie expérimentale

Chapitre I

Matériel et méthodes

1. Objectifs

Les objectifs de notre travail visent à :

- Isoler et ré-identifier les bactéries lactiques (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*) ;
- Fabriquer un yaourt ferme à partir des souches lyophilisées et isolées à partir d'un yaourt ;
- Suivi la cinétique des paramètres physicochimiques et croissance bactérienne de la fabrication de yaourt ;
- Comparer entre les deux types de yaourt obtenus à partir des souches isolées localement et lyophilisées.

2. Lieu et période de l'étude

Notre travail s'est déroulé dans le Laboratoire de microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et le Laboratoire de recherche : Hygiène et pathologie animale "ex ITMA" de l'UNIVERSITE IBN KHALDOUN TIARET pendant une période allant de 10 Février 2019 au 18 Avril 2019.

3. Matériel et méthodes

3.1. Matériel

3.1.1. Matériel biologique utilisé

❖ Souches

Streptococcus thermophilus / *Lactobacillus bulgaricus* lyophilisées et isolées à partir d'un yaourt.

❖ Lait

- Lait entier en poudre de marque Candia à 26% de matière grasse provient de commerce.
- Lait écrémé à 0% de matière grasse provient de OROLAIT.

Le matériel utilisé dans notre expérimentation est donné dans les tableaux 4 et 5.

Tableau 04 : Appareillages et verreries

Appareillages	Verreries
<ul style="list-style-type: none"> -Agitateur à plaque chauffante (STUART) -Autoclave -Balance analytique (KERN 440-45N) -Bain marie (MEMMERT) -Incubateur de 45-65°C (MEMMERT) -Microscope optique ordinaire (BENTLEY : LAB SCOPE 200) -pH mètre (HANNA) -Réfrigérateur (IRIS) -Spectrophotomètre UV-V (BIOCHROM LIBRA S6) -Vortex (TECHNOKARTELL) 	<ul style="list-style-type: none"> -Béchers (10, 200, 250 et 500ml) -Burette graduée (10ml) -Cloches du Durham -Eprouvette (10 et 100ml) -Flacons en verre - Lames -Pipette graduée (1 et 2ml) -Tubes à essai

Tableau 05 : Réactifs, solutions et autres.

Réactifs et solutions	Autres matériels
<ul style="list-style-type: none"> -Alcool (Ethanol 95%) - Carbonate de Calcium (CaCo3) -Eau distillée -Eau minérale de marque SAIDA -Eau oxygénée (H₂O₂) -Fuchsine -Lugol -Phénolphtaléine -Solution d'hydroxyde de Sodium (NaOH 0,1 N) -Violet de gentiane 	<ul style="list-style-type: none"> -Anse de platine -Bac de coloration -Boîtes de pétri -Micropipette (10µl) -Pince en bois et en métal -Pissette -Portoir -Seringue

Milieux de cultures

- MRS modifié : utilisé pour la recherche et le dénombrement de *Lactobacillus bulgaricus* (Annexe 01).
- M17 : utilisé pour la recherche et le dénombrement de *Streptococcus thermophilus* (Annexe 01).

3.2. Méthodes

3.2.1. Protocole expérimental

Les principales étapes de notre partie expérimentale sont résumées dans la figure 03.

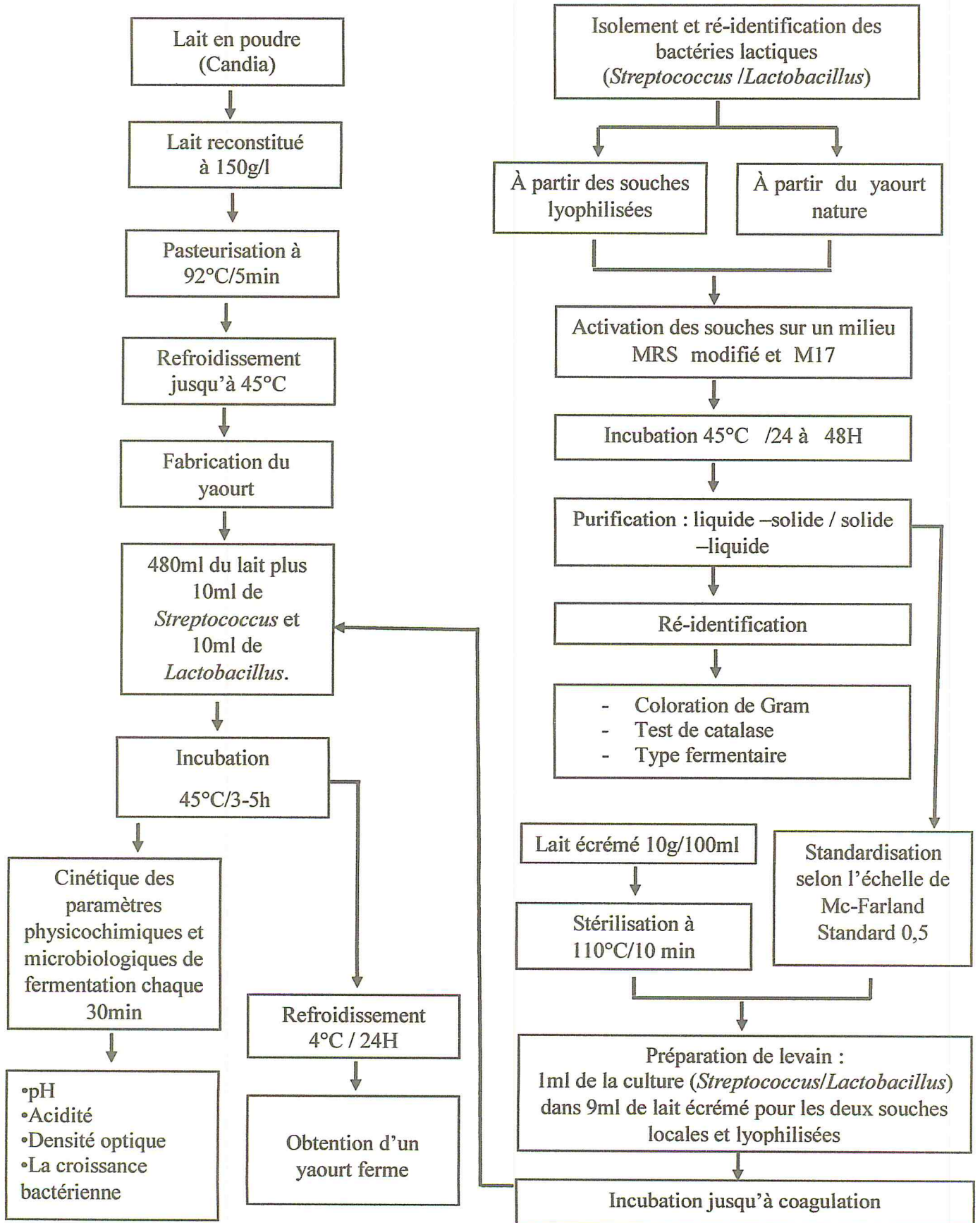


Figure 03 : Protocole expérimental

3.2.2. Isolement et purification des souches

Après avoir mélangé soigneusement le contenu du pot de yaourt nature, 1ml de l'échantillon a été prélevé aseptiquement, et introduit dans un tube à essai stérile préalablement contenant 9ml d'eau distillée stérile. L'homogénéisation a été réalisée à l'aide d'un vortex donc on obtient ainsi la dilution au 10^{-1}

1ml de la dilution 10^{-1} est prélevé aseptiquement à l'aide d'une pipette graduée stérile et introduit dans un autre tube à essai contenant 9 ml d'eau distillée stérile.

Chaque dilution $10^{-1}/10^{-2}$ est agitée pendant 10 secondes à l'aide d'un Vortex, à partir de ces dilutions, des boîtes de Pétri contenant de la gélose M17 et MRS modifié sont ensemencées en stries et en profondeur par les souches prélevés, l'incubation des boîtes se fait à 45°C pendant 24 à 72h. Une colonie est bien distincte a été prélevé aseptiquement et ensemencée dans le bouillon M17 et MRS qui sont incubés à 45°C pendant 24 à 72h. Plusieurs repiquages ont été faits pour obtenir des souches pures (Boucherfa, 2012).

Pour les souches lyophilisées, nous avons incorporé les ferments lactiques à raison de deux grains de la souche mixte dans des tubes à essais stériles contenant 9ml d'eau distillée stérile et on obtient la dilution 10^{-1} , puis nous avons suivi les mêmes étapes citées précédemment.

3.2.3. Ré-identification des souches

Les isolats sont ré-identifiés par les tests morphologiques et physicochimiques.

3.2.3.1. Coloration de Gram

Elle permet de différencier les bactéries à Gram + de celle à Gram -, et de nous renseigner sur leur formes et le mode de leur association.

pour chacune des lames dont les souches sont fixées, quelques gouttes de violet de gentiane a été déposées et laissé agir pendant 1 min. Après rinçage avec de l'eau de robinet, du lugol est redéposé pendant 1min pour le mordantage. Ensuite, la décoloration a été faite par l'alcool à 95% pendant 10s puis un autre rinçage est effectué. Enfin, un deuxième colorant fuschine de Ziehl est déposé pendant 1min (Larpent, 1990).

Après le dernier lavage et séchage des lames, l'observation a été réalisée au microscope optique (x 100) avec l'utilisation de l'huile d'immersion.

3.2.3.2. Test de catalase

La catalase permet la dégradation de l'eau oxygénée qui résulte de l'oxydation, par l'oxygène de l'air, des protons issus des voies d'oxydation directe.

Elle est mise en évidence par contact de la culture avec une solution fraîche d'eau oxygénée à 10 volumes.

Une goutte d'eau oxygénée est placée sur une lame et un peu de culture en milieu solide y est répartie.

Un dégagement gazeux abondant sous forme de mousse ou de bulles traduit la décomposition de l'eau oxygénée sous l'action de la catalase (Guiraud, 1998), comme le montre la réaction suivante :



3.2.3.3. Test de métabolisme fermentaire

Ce test se traduit par un dégagement de CO₂ caractéristique des espèces hétéro fermentaire (Coppola et al., 1997).

Des tubes ont été remplis par 10ml de bouillon de MRS pour *Lactobacillus* et 10ml de bouillon de M17 pour *Streptococcus* avec une cloche de Durham introduite au fond des tubes.

Par la suite, les tubes ont été inoculés par les souches appropriés et incubés à 45°C pendant 24 à 72 h. La présence ou l'absence du gaz dans la cloche indique le type fermentaire.

3.2.4. Préparation de levain

3.2.4.1. Ferments Lactiques

Un ferment lactique est une préparation comprenant un grand nombre de microorganismes (une seule espèce ou plusieurs), qui est ajouté au lait pour produire un aliment fermenté en accélérant et en orientant son processus de fermentation (Yildiz, 2010).

3.2.4.2. Préparation de lait écrémé

Nous avons mélangé 10g de lait écrémé en poudre dans 100ml d'eau distillée stérile, nous agiteons bien pour l'homogénéisation et stériliser à 110°C pendant 10min.

3.2.4.3. Standardisation

Au cours de la fabrication du yaourt, il est nécessaire de standardiser les ferments lactiques pour atteindre les exigences normatives et qualitatives du produit fini, et pour ce sens nous avons choisi échelle 0,5 Mc-Farland.

Après avoir préparé le lait écrémé et standardisé les ferments lactiques, on a prélevé 1ml de la culture bactérienne (*Streptococcus/Lactobacillus*) et mettez dans un tube stérile contenant 9ml de lait écrémé et incubé à 45°C jusqu'à la coagulation.

3.2.5. Fabrication du yaourt

Les procédés de fabrication des yaourts et des laits fermentés se caractérisent par trois grandes étapes : la préparation du lait, la fermentation et les traitements post fermentaires du produit (Béal et Sodini, 2003).

3.2.5.1. Préparation du lait

3.2.5.1.1. Enrichissement en matière sèche

La teneur en matière sèche du lait mis en œuvre dans la fabrication du yaourt est un facteur important, car elle conditionne la viscosité et la consistance du produit (Romain et al., 2008).

Pour le lait, nous avons mélangés 72g du lait en poudre de la marque commercialisée Candia dans 480ml d'eau minérale, et agité jusqu'à l'homogénéisation ; pour éviter la remontée des matières grasses pendant la fermentation, et aussi pour augmenter la viscosité du yaourt et de réduire le phénomène d'exsudation de sérum (ou synérèse) pendant le stockage du yaourt ferme (Beal et Sodini, 2003 ; Luquet et Corrieu, 2005).

3.2.5.2. Traitement thermique

Le lait homogénéisé est traité à une température de 92°C pendant 5min puis le laissé refroidir jusqu'à 45°C.

3.2.5.3. Fermentation

L'ensemencement est effectué avec 10ml de la souche *Streptococcus thermophilus* et 10ml de *Lactobacillus bulgaricus* que ce soit isolées localement ou lyophilisées dans 480ml du lait.

Après l'ensemencement, le mélange (480ml du lait reconstitué + 20ml des souches prélevées) a été divisé en deux :

Une quantité de 250ml destinée pour la cinétique des paramètres physicochimiques et croissance bactérienne, et le reste pour la fabrication du yaourt.

3.2.5.4. Etuvage

L'incubation a été réalisée dans un bain marie réglé à une température de 45°C durant 3 à 5h.

3.2.5.5. Arrêt de fermentation

La fermentation a été stoppée par refroidissement dans un réfrigérateur à 4°C /24h.

Toutes ces étapes sont données par l'organigramme illustré dans la Figure 04.

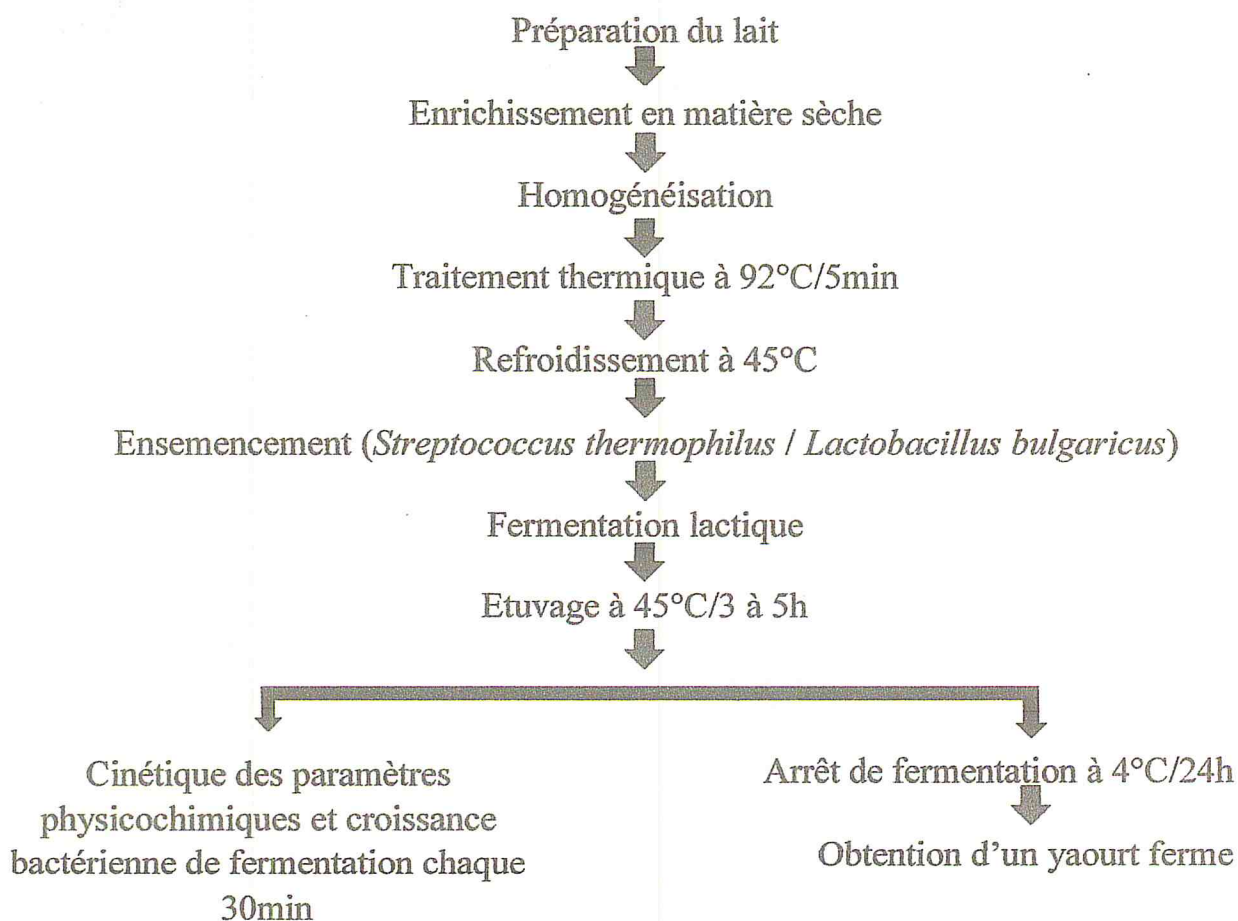


Figure 04 : Organigramme de la fabrication du yaourt ferme (Loones, 1994)

3.2.6. Cinétique des paramètres de coagulation

La cinétique des paramètres physico-chimiques et croissance bactérienne a été réalisée chaque 30 min pour les deux types de yaourt fabriqués.

3.2.6.1. Cinétique des paramètres physicochimiques

C'est un ensemble de tests ayant pour but l'évaluation des caractéristiques nutritionnelles et organoleptiques d'un produit.

a)- pH

❖ Principe

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

❖ Mode opératoire

Après avoir étalonné le pH mètre avec les solutions tampons (pH 7 et pH 4), l'électrode du pH mètre est plongé dans la solution à analyser (yaourt). La valeur du pH est obtenue par simple lecture sur l'écran du pH-mètre (Annexe 03).

b)-Acidité titrable

❖ Principe

L'acidité titrable est la quantité de l'acide lactique contenue dans un litre du lait et dite aussi acidité Dornic, exprimé en degré Dornic (°D) (Guiraud et Rose, 2004).

Il se base sur le titrage de l'acidité par l'hydroxyde de sodium (0.1 N) en présence du Phénolphaléine comme indicateur de couleur.

❖ Mode opératoire

Après avoir homogénéisé le yaourt à l'aide d'un vortex, un volume de 10ml est versé dans une fiole jaugée à l'aide d'une seringue, après 3 à 4 gouttes de la phénolphaléine sont ajoutés, puis le titrage est réalisé avec la solution de NaOH jusqu'au virage à la couleur rose pâle persistante.

Expression des résultats

L'acidité est exprimée en degrés Dornic °D, sachant que : $1^{\circ}\text{D}=0,1\text{g d'acide lactique dans un litre de lait.}$

$$\text{Acidité} = \text{volume de soude en ml} \times 10$$

3.2.6.2. Cinétique de la croissance bactérienne

Il s'agit de dénombrer la flore lactique qui est constituée de deux espèces, *St. thermophilus* et *Lb. bulgaricus* dans des yaourts au cours du temps.

3.2.6.3. Dénombrement de la flore lactique

Préparation de l'échantillon et des dilutions

3.2.6.3.1. Préparation de la solution mère

Après avoir mélangé soigneusement le contenu du tube de yaourt, 1ml de l'échantillon a été prélevé aseptiquement, et introduit dans un tube stérile préalablement contenant 9ml d'eau distillée stérile. L'homogénéisation a été réalisée manuellement. On obtient ainsi la dilution au 1/10.

3.2.6.3.2. Préparation des dilutions décimales

Un millilitre de la dilution 1/10 est prélevé aseptiquement à l'aide d'une pipette graduée stérile et introduit dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau distillée stérile, cette opération est poursuivie jusqu'à la dilution 10^{-4} .

Chaque dilution est agitée pendant 10 secondes à l'aide d'un Vortex.

A partir de la dilution 10^{-1} effectuée, on a prélevé 1ml et introduit dans un tube stérile contenant 9ml d'eau distillée stérile, et on obtient ainsi la dilution 10^{-1} , cette opération est poursuivie jusqu'à la dilution 10^{-4} .

3.2.6.3.3. Dénombrement par technique de micro-spots

C'est une technique permettant de quantifier à l'œil nu le nombre d'unité bactérienne formant colonies (UFC).

Un volume de 10 µl de chaque dilution bactérienne (micro-spot) est déposé sur une surface de gélose MRS déjà gélifiée. Chaque spot est reproduit quatre fois, après séchage des micro-spots, la boîte de pétri est ensuite retournée puis incubée à l'étuve à 45°C durant une nuit. Les micro-spots contenant 3 à 60 bactéries sont dénombrés (Bulard, 2012).

Expression des résultats

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

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

N : Nombre total des cellules comptées dans les boîtes de Petrie (UFC/ml).

C : le nombre de colonies comptées par boîte.

n : le nombre de boîtes comptées dans la première dilution.

n₂ : le nombre de boîtes comptées dans la deuxième.

d : le facteur de dilution à partir duquel les premiers comptages ont été obtenus.

3.2.6.3.4. Dénombrement par spectrophotométrie

❖ Principe

La spectrophotométrie est une méthode analytique quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique donnée, généralement en solution.

La densité optique des échantillons est déterminée par un spectrophotomètre préalablement étalonné sur la longueur d'onde d'absorption de la substance à étudier.

❖ Mode opératoire

Un volume des dilutions effectuées, doit être versé aseptiquement dans une cuve et placé dans un spectrophotomètre réglé à une longueur d'onde 625 nm qui correspondent à 10⁸ UFC/ml pour la mesure.

3.2.7. Caractère sensoriel du yaourt

❖ Principe

L'analyse physicochimique d'un yaourt est bien évidemment incontournable, mais elle est tout à fait insuffisante pour refléter ce que perçoit le consommateur sur le plan sensoriel. Ce dernier est particulièrement sensible à l'aspect, à la texture et au goût. L'analyse sensorielle a pour but de décrire les caractéristiques organoleptiques des produits selon des critères bien définis d'aspect, de texture, de saveur et d'arômes (Luquet et corrieu, 2005).

❖ Mode opératoire

Après l'obtention du yaourt ferme, 30 personnes ont dégusté notre produit pour apprécier la qualité du yaourt selon les critères couleur, texture, aspect, goût et odeur.

Chapitre II

Résultats et discussion

1. Résultats et discussion

1.1. Isolement et ré-identification des souches

1.1.1. Caractérisation morphologiques

1.1.1.1. Caractérisation macroscopique

Les caractéristiques macroscopiques des souches lyophilisées et isolées à partir d'un yaourt sont présentées dans les figures 5 et 6.



Photo 01 : Aspect macroscopique de *Streptococcus thermophilus* isolées à partir des souches lyophilisées



Photo 02 : Aspect macroscopique de *Streptococcus thermophilus* isolée localement

Figure 05 : Caractérisation macroscopique des bactériesensemencées sur milieu M17 après 24h d'incubation à 45°C pour les deux souches lyophilisées et isolées localement

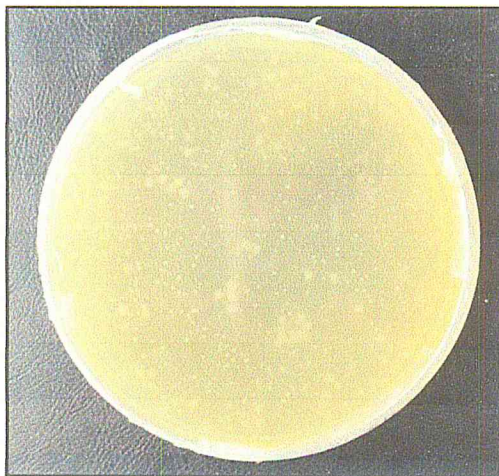


Photo 03 : Aspect macroscopique de *Lactobacillus bulgaricus* isolées à partir des souches lyophilisées

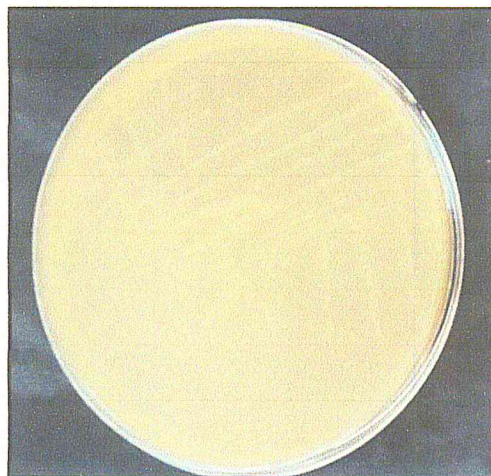


Photo 04 : Aspect macroscopique de *Lactobacillus bulgaricus* isolée localement

Figure 06 : Caractérisation macroscopique des bactéries ensemencées sur milieu MRS modifié après 48h d'incubation à 45°C pour les deux souches lyophilisées et isolées localement

La caractérisation macroscopique sur milieu M17 et MRS liquide est illustrée dans la figure 07

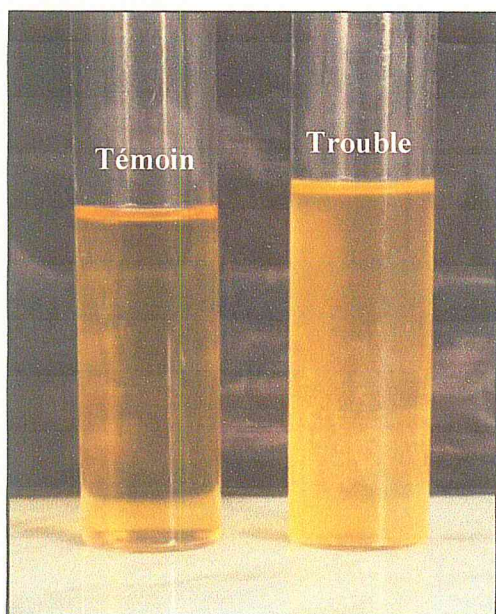


Photo 05 : Aspect macroscopique de *Streptococcus thermophilus* sur M17

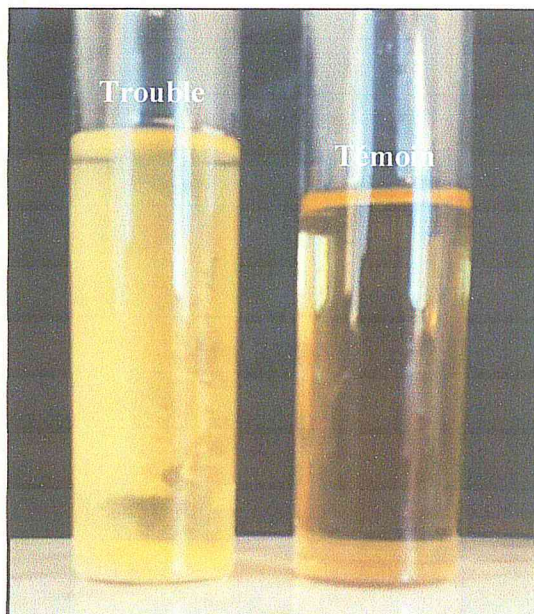


Photo 06 : Aspect macroscopique de *Lactobacillus bulgaricus* sur MRS

Figure 07 : Caractérisation macroscopique des bactéries sur MRS et M17 après 24-h d'incubation à 45°C

D'après la **figure 05**, on constate une apparition de petites colonies, bien isolées, de couleur blanchâtre avec une forme lenticulaire sur milieu M17 après 24 h d'incubation à 45°C.

Des petites colonies de forme ronde, de couleur blanche, ont apparus sur milieux MRS modifié solide à pH 5.3 après 48h d'incubation à 45°C (**Figure 06**).

L'observation macroscopique présentée dans la figure 07 montre un trouble dans les tubes, qui dû à une croissance bactérienne qui confirme l'aspect micro aérophile des bactéries étudiées.

Nos résultats de l'étude macroscopique des bactéries sont conformes à ceux décrits par **Joffin et Leyral (1996)**.

1.1.1.2. Caractérisation microscopique

Coloration de Gram

La figure 08 illustre l'aspect microscopique des bactéries isolées.

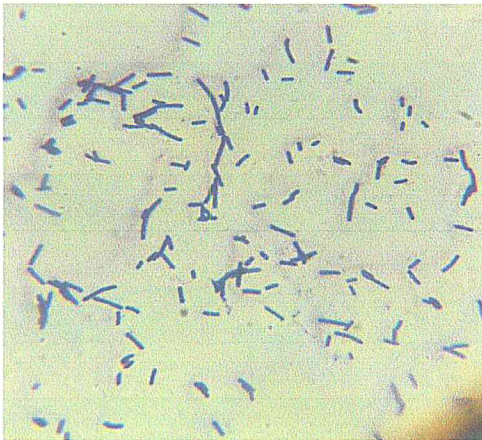


Photo 07 : Aspect microscopique de *Lactobacillus bulgaricus* (X100)

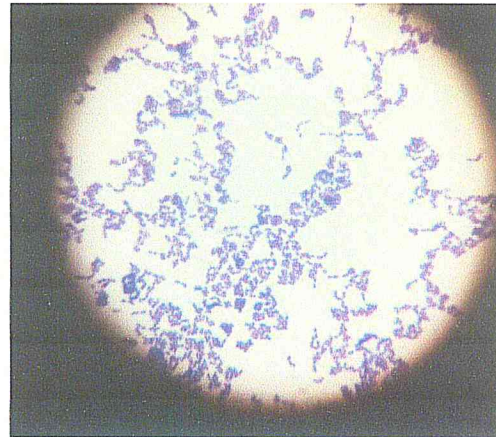


Photo 08 : Aspect microscopique de *Streptococcus thermophilus* (X 100)

Figure 08 : Caractérisation microscopique des bactéries isolées localement et lyophilisées sur milieu M17 et MRS modifiée après 24-48h d'incubation à 45°C

Les observations microscopiques montrent que les bactéries lactiques utilisées retiennent la couleur violette, et permis aussi de déterminer la forme et le mode de regroupement :

- Selon la figure 08 on observe que l'espèce *St. thermophilus* ce sont des coques disposées en paires et surtout en chaînes par contre *Lb. bulgaricus* ce sont des bacilles courts ou en chaînettes.

Les résultats obtenus de l'observation microscopique sont conformes aux travaux réalisés par **Badis et al., (2004)**.

1.1.2. Caractérisation biochimiques

1.1.2.1. Test de catalase

Le test de catalase réalisé pour les deux souches est présenté dans la figure 09



Figure 09 : Test de catalase des souches isolées localement et lyophilisées

L'absence de bulles de gaz pour les deux souches signifie que ce sont des souches de catalase négative.

1.1.2.2 Type fermentaire

La figure 10 montre le type fermentaire des bactéries utilisées

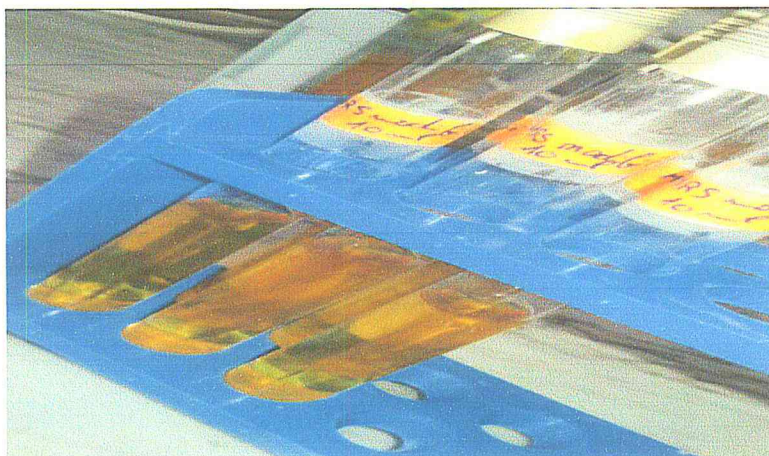


Figure 10 : Type fermentaire des bactéries lactiques

On note l'absence de bulles de gaz au fond des cloches, qui confirme que les souches utilisent la voie homo fermentaire dans leurs métabolismes.

Nos résultats sont comparables à ceux obtenus par Guessas et Kihal, (2004).

1.2. Cinétique des paramètres physicochimiques

1.2.1. pH et acidité

La variation de pH et l'acidité en fonction du temps de la fermentation du lait sous l'action des souches lyophilisées et isolées localement est résumée dans les figures 11 et 12.

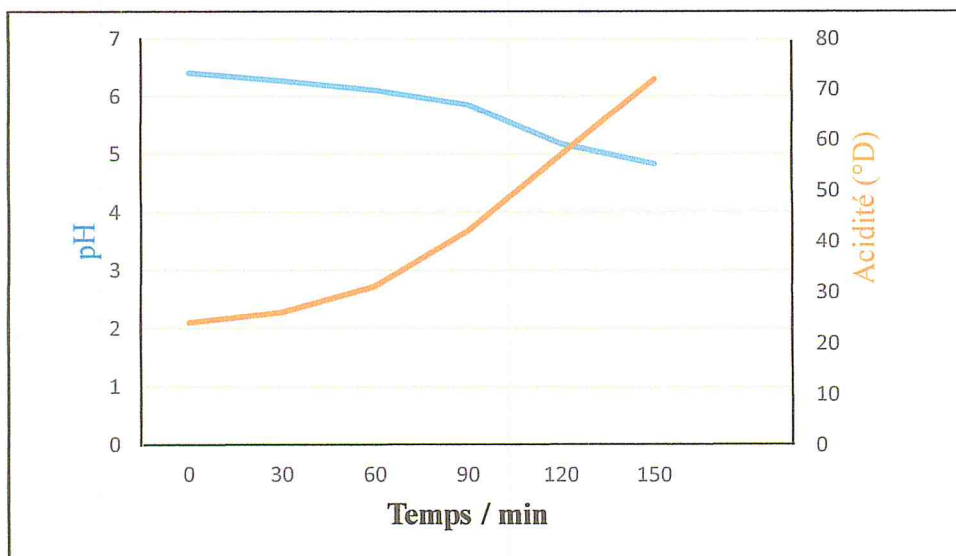


Figure11 : Evolution de pH et acidité en fonction du temps de la fermentation du lait obtenus par l'action des souches lyophilisées

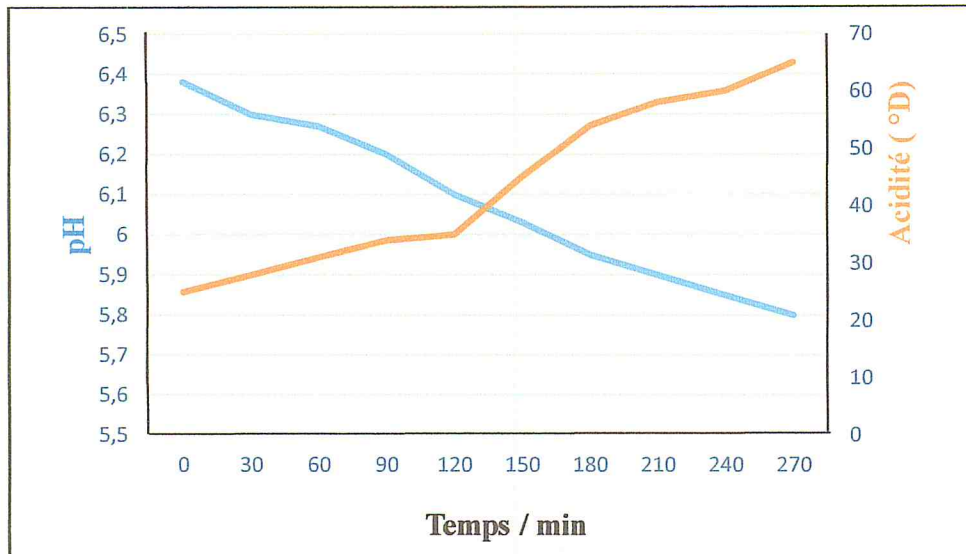


Figure 12 : Evolution de pH et acidité en fonction du temps de la fermentation du lait obtenus par l'action des souches isolées localement

D'après les courbes de l'acidité et du pH présentées dans les figures 11 et 12 :

Nous constatons que l'allure de la courbe de pH est décroissante par contre l'allure de la courbe d'acidité est croissante.

Le pouvoir acidifiant et le pouvoir de dégradation du lactose (pH) sont inversement proportionnels, quand l'acidité augmente le taux du lactose diminue en fonction du temps.

Nous notons que la valeur de l'acidité à t_0 est de 24°D pour les souches lyophilisées et de 25°D pour les souches isolées localement, ces valeurs sont supérieures à celles données par (Benayad et al., 2010) qui ont trouvés 16°D. L'acidité évolue avec la composition, une teneur élevée en substances acides, protéines, anions phosphates, citrates, s'accompagne d'une acidité élevée.

Par contre le pH présenté une valeur de 6,40 pour les souches lyophilisées et 6,38 pour les souches isolées localement. Ces valeurs sont légèrement inférieurs aux normes données par (Driessen et al., 1982) dont le pH est avoisine de 6,6.

Au cours du temps, les valeurs du pH et d'acidité ont subi une augmentation jusqu'à une valeur maximal 72°D et un pH de 4,38 au bout de 2h 30min.

Alors qu'ils était de 65°D et de pH 5,8 durant 5h d'incubation pour les souches isolées localement (figure 12), l'évolution lente de l'acidité en début de culture correspond à la période d'adaptation des bactéries au nouvelles conditions de culture et d'utilisation de

nutriments comme le confirme plusieurs auteurs ; notamment Alais, (1975) ; Deroissart, (1986) et Béal et *al.*, (1994).

Il s'avère alors que selon le temps, la production d'acidité par les différentes souches est effectivement différente d'après Zourari et *al.*, (1991).

Il est bien connu que l'association symbiotique de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* se traduit par un effet synergique notable sur l'activité acidifiante du milieu.

Le démarrage de la fermentation lactique est ainsi assuré par les *Streptococcus thermophilus* qui utilisent comme facteurs de croissance les acides aminés et les peptides se trouvant dans le milieu et libérés des caséines par l'hydrolyse partielle enzymatique des aminopeptidase sécrété par les *Lactobacillus bulgaricus*. Durant cette première phase de la période de fermentation, l'acide lactique produit, abaisse le pH du milieu jusqu'à 4,6 (Souches lyophilisées) et 5,8 (Souches isolées localement) où la croissance des *Streptococcus thermophilus* est freiné. La fermentation est ensuite relayée par les *Lactobacillus bulgaricus* qui utilisent comme facteurs de croissance le CO₂ et l'acide formique produit au préalable par les *Streptococcus thermophilus* (Ebenzer et Vedamuthu, 1991).

1.3. Cinétique des paramètres microbiologiques

1.3.1 Densité optique et croissance bactérienne

La variation de la densité optique et croissance bactérienne en fonction du temps sous l'action des souches lyophilisées et isolées localement est présentée dans les figures 13 et 14.

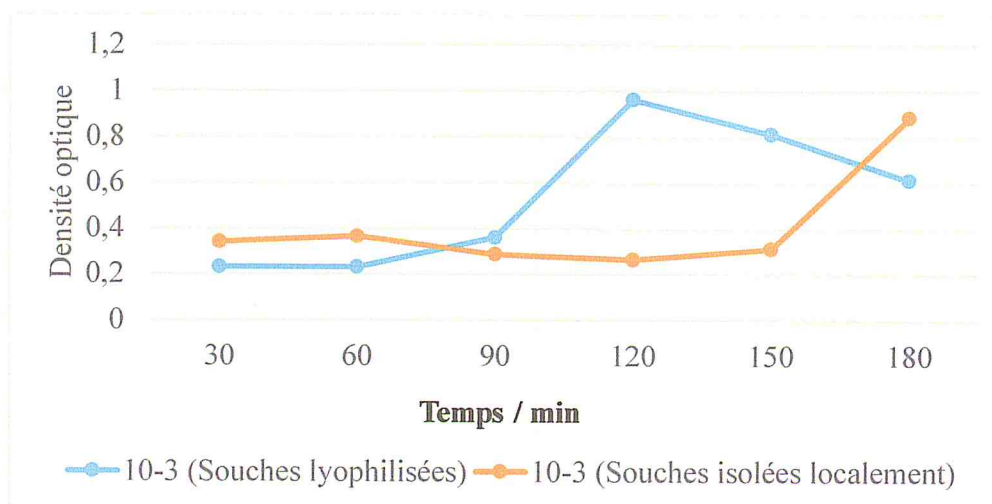


Figure 13 : Evolution de la DO en fonction du temps sous l'action des souches lyophilisées et isolées localement

1.4. Caractère sensoriel

La qualité organoleptique du yaourt obtenu à partir des souches isolées localement et lyophilisées est illustrée sur le tableau 06.

Tableau 06 : La qualité organoleptique du yaourt pour les deux souches

Critère	Sensations ressenties	% d'appréciation (Yaourt obtenu à partir des souches lyophilisées)	% d'appréciation (Yaourt obtenu à partir des souches isolées localement)	
Couleur	Jaunâtre	0%	0%	
	Jaune crème	0%	0%	
	Crème claire	0%	0%	
	Blanchâtre	100%	100%	
Texture	Ferme	100%	100%	
	Visqueux	0%	0%	
	Souple	0%	0%	
	Granulé	0%	0%	
Aspect	Sec	0%	0%	
	Hydratant	100%	100%	
Goût	Bon	0%	100%	
	Très bon	100%	0%	
	Acide	Acide	0%	0%
		Amère	0%	0%
		Rance	0%	0%
		Salé	0%	0%
Odeur	Lait	100%	100%	
	Beurre	0%	0%	
	Fromage	0%	0%	
Le yaourt		Très bon	Bon	

Après l'obtention du yaourt ferme, 30 personnes ont dégusté notre produit pour apprécier la qualité du yaourt selon les critères cités dans le **tableau 6**, les résultats sont comme suit :

La totalité des dégustateurs (soit 100%) ont jugé que les yaourts obtenus sont de couleur blanchâtre, de texture ferme, un aspect hydratant avec une odeur du lait .

Cette analyse a montré qu'il y'a pas de différence entre les deux types de yaourts obtenus sauf pour l'appréciation globale les dégustateurs ont jugé que le yaourt obtenu à partir des souches lyophilisées est très bon .

Conclusion

Conclusion

Cette étude nous a permis de contribuer aux travaux de recherches dans le domaine de l'industrie laitière et de renforcer l'idée de pouvoir remplacer les ferments lyophilisés par ceux isolés localement.

Notre étude a porté sur l'isolement de deux espèces *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* à partir des souches lyophilisées et d'un yaourt ferme.

Les études microscopiques et macroscopiques ont montrées que les Streptocoques forment des petites colonies bien isolées de couleur blanchâtre avec une forme lenticulaire, alors que les Lactobacilles sont des petites colonies de forme ronde de couleur blanche.

Les résultats de la ré-identification des souches indiquent que les bactéries isolées ont du gram positif, catalase négative et de type homofermentaire.

Concernant le suivi de la cinétique du pH et d'acidité du lait fermenté par les souches lyophilisées qui varie de 6,40 à 4,6 et 24 °D à 72°D , sont plus proches aux norme par rapport au lait fermenté par les souches isolées localement qui ont une valeur de 6,38 à 5,8 et de 25°D à 65°D.

Les résultats trouvés ont permis de dire que le temps de coagulation du yaourt obtenu à partir des souches lyophilisée est court par rapport à celui obtenu à partir des souches isolées localement.

Les analyses sensorielles ont permis de comparer les deux types de yaourts obtenus et d'après les résultats obtenus nous pouvons conclure que la majorité des personnes interrogés lors de l'évaluation sensorielle, estiment que le yaourt obtenu par l'utilisation des souches lyophilisées est très bon.

Cette recherche nous a permis de penser à des perspectives telles que l'utilisation d'autre marque de yaourt nature afin d'isoler les bactéries lactiques, concentration des souches isolées localement pour faire une comparaison avec ceux lyophilisées et la fabrication d'autres types de yaourts (brassé, aromatisé, fruité...).

Références bibliographiques

A

- Alais C. (1975). Sciences du lait : principes et techniques laitières. 3^{ème} édition. Ed. S.E.P.A.I.C., Paris, p 324.
- Alais C., et Linden G. (1984). Abrège biochimie alimentaire. Ed. Massons. Paris. Pp 172-182.
- Alpes R. (2011). Les produits laitiers. p 1.
- Anses (2008). Composition nutritionnelle des aliments. Table ciqual.

B

- Badis A., Laouabdia-Sellami N., Guetami D., Kihal M., Ouzrout R. (2004). Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locale *arabia kabyle* Sciences & Technologie C23.Pp 30-37.
- Beal C., Deschamp N., Jouillard V., Deroissart H., Richard J et Saraux B. (1994). Cinétique de croissance et d'acidification des bactéries lactiques in bactéries lactiques, Tome 1, Ed. Loriga, paris, pp 1-264.
- Beal C. et Sodini I. (2003). Fabrication des yaourts et des laits fermentés. Technique de l'ingénieur, traité Agroalimentaire, Doc. F6 315, pp 2-16.
- Benayad B., Azzouz F., Benmohamed-Bouazza K., Mebarki-Sennour K., Bennouna F. (2010). Côtrole de la qualité et analyse. Ed. Tec & Doc. Alger, p 83.
- Bergamaier D. (2002). Production d'exopolysaccharides par fermentation avec des cellules immobilisées de lactobacillus rhamnosus RW-959 M dans un milieu à base de permeat de lactosérum. Thèse de doctorat, Université de Laval, Canada.
- Boucherfa A. (2012). Yaourts probiotiques algériens et ferments commerciaux utilisés dans leur fabrication : dans leur fabrication : contrôle de qualité et de l'étiquetage. Thèse de magistère universitaire de Constantine. Pp 9, 41.
- Bourgeois C M., Larpent, J.P. (1995). Aliments fermentés et fermentation alimentaire, Collection sciences et techniques agroalimentaires, Ed : Lavoisier Tec et Doc, Paris, 307p.

C

- Copolla R., Iorizzo M., Saotta R., Sorrentino E et Grazia L. (1997). Characterization of micrococci and staphylococci isolated from sopressata molisana, a Southern Italy fermented sausage. *Food Microbiology*, 14: pp 47-53.
- Corrieu G., et Béal C. (2016). Yogurt: The Product and its Manufacture. *The Encyclopedia of Food and Health* vol. 5, pp. 617-624.
- Corrieu G., Luquet F M. (2008). Bactéries lactiques de la génétique aux ferments. Ed. De Roissart H et Luquet F.M. Ed : Loriga. Paris, pp 37-151.

D

- De vos P., Garrity G.M., Jones D., Krieg N.R., Ludwig W., Rainey F.A., Schleifer K.H. et Whitman W.B. (2009). *Bergey's Manual of Systematic bacteriology 2eme Ed., Vol 3: les Firmicutes*, Springer USA, Pp1422.
- Debry, G. (2001). *Lait, nutrition et santé*. Tec & Doc, Lavoisier, Paris. 566 p.
- Dellaglio F., de Roissart H., Curk M. c. et Janssens D. (1994). Caractérisation des bactéries lactiques. In : *Bactéries lactique Vol 1*, de Roissard H et Luquet F.M. Eds : Tec & Doc, Loriga, Pp 25-116.
- Deroissart H.B. (1986). Bactéries lactiques. In: *lait et produits laitiers (vache-chèvre-brebis)*. Ed. APRIA, Paris, pp 343-386.
- Desoissart H.B ., Luquet F.M. (1994). Bactéries lactiques, Tome I et II. Edition Loriga, lac Oser, Paris, P 605.
- Driessen F., Kingma F., Stadhauders J. (1982). Evidence that *Lactobacillus bulgaricus* is stimulated by dioxyde produced by *Streptococcus thermophilus*. *Neth. Milk Dairy J.*, 36 :pp 135-144.
- Dunaud. (1991). *Les levains lactiques*. Centre d'enseignement par correspondance. Texel Paris.
- Durso L., Hukins R. (2003). *Starter cultures*. Universitu of Nebraska, Linocoln, NE, USA. Elsevier Science Ltd pp 5583-5593.

F

- FAO. (1995). Le lait et produits laitiers dans la nutrition humaine. Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture, Rome.
- Fredot E. (2005). Connaissance des aliments. Edition : Tec et Doc. Lavoisier, Paris. Pp31-36.

G

- Guessas B. Kihal M. (2004). Characterization of lactic acid bacteria isolated from Algerian arid zone raw goat's milk. Afr.J.Biotechnology.3.Pp339.342.
- Guiraud J-P. (1998). Microbiologie alimentaire, DUNOD. Paris. Pp 80, 84, 116, 282,291.
- Guiraud J-P et Rose J-P. (2004). Pratique des normes en biologie alimentaire. Ed : AFNOR, Paris. 279p.

J

- Joffin J., Leyral G. (2006). Microbiologie technique. 4ième édition, centre régional de Documentations pédagogique d'Aquitaine. Polytechnique.
- Jose Luis Parada., Carolina Ricoy Caron., Adriane Biomchip Mediros., Carlos Ricardo Saccol. (2007). Bacteriocines from lactic acid bacteria: purification, properties and use as biopreservatives. Food Science and technology. Technol. Vol.50 no.3 Curitiba May 2007.

L

- Larpent, J. P., Larpent, G. M. (1990). Mémento technique de microbiologie. Tec & Doc, Lavoisier, Paris. 471 p.
- Larpent J., Bourgeois C.M. (1995). Microbiologie alimentaire Tome 2. Aliments fermentés et fermentation alimentaire. Tec & Doc, Lavoisier, Paris. 6p.
- Loones A. (1994). Lait fermenté par les bactéries lactiques. In : Bactéries lactiques : Aspects fondamentaux et technologiques. Pp 135-154. Ed. De Roissart H. et Luquet F. M. Lorica. Paris. France. pp. 37 -151.
- Luquet F.M., Corrieu G. (2005). Bactéries lactiques et probiotiques. Collection sciences et techniques agroalimentaires. Techniques et documentation. Lavoisier (Ed). Paris. P 307.
- Luquet F.M. (1990). Lait et produits laitiers vache-brebis-chèvre. Deuxième édition. Tec et Doc Lavoisier, Paris. Tom 2.637 p.
- Luquet F.M., Corrieu G. (2008). Bactéries lactiques de la génétique aux ferments. Collection sciences et techniques agroalimentaires. Techniques et documentation. Lavoisier (Ed). Paris. P 307.

M

- Marty-Teyssset C., Delatorre F., Garel J.R. (2000). Increased production of hydrogen peroxide by *lactobacillus delbruckii* subsp.*bulgaricus* upon aeration: Involvement of an NADH oxidase in oxidative stress, Applied and Environmental Microbiology, N°1, Pp 262-267.
- Mohtadji-Lamballais C. (1980). Les aliments. Ed : Malouine. Pp 26-27.

P

- Pacikora E. (2004). Interaction physico-chimiques et sensorielles dans le yaourt brassé aromatisé : quels impacts respectifs sur la perception de la texture et de la saveur .Thèse. P 221.
- Pierre B., Véronique B., Denis DG. M. (2011). Yaourts et autres laits fermentés .Cahiers de nutrition et de diététique 46 (6), pp 305-314.
- Portello F. (2012). Caractérisation du dialogue entre *streptococcus thermophilus* et le tractus gastro-intestinal de son hôte. Mémoire de master biologie Agro campus Ouest, Pp21-22.

R

- Romain J., Thomas C., Michel M., Pierre S., Gérant B. (2008). Les produits laitiers 2^e édition. Ed. Tec & Doc. Lavoisier. France pp 24-25.

S

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

T

- Tamime A.Y., Robinson R.K. (1985). Background to manufacturing practice. In yogurt. Science and technology. Pp 7-90. Ed. Tamime, A.Y. et Robinson, R.K; pergamon press, paris.

V

- Vignola C.I. (2002). Science et technologie du lait. Transformation du lait. Ed. Tec & Doc. Lavoisier. Paris. p600.

Y

- Yann D. (2003). Thèse de doctorat, Production en continu de ferments lactiques probiotiques par la technologie des cellules immobilisées, université de Laval Québec.
- Yildiz F. (2010). Developpement and manufacture of yougurt and other dairy products, CRC Press Taylor & Francis Group, USA, p 435.

Z

-Zourari A., Accolas J.P., Desmazeaud M. J. (1992). Metabolisme and biochemical characteristics of yoghurt bacteria. *Le lait*, 72, pp 1-34.

Annexe

Annexe 01

Composition des différents milieux de culture utilisés

► Gélose M17

Sodium glycérophosphate	19g
Soy Peptone	05g
Beef Extract	05g
Lactose	05g
MeatPeptone	2.5g
CaseinPeptone	2.5g
Yeast Extract	2.5g
Ascorbic Acid	0.5g
Magnesium Sulfate	0.25g
Bactenological agar	12.75g

► Gélose MRS

Dextrose	20g
Bacteriological Peptone	10g
Beef Extract	4g
Dipotassium Phosphate	2g
Ammonium Citrate	2g
Tween 80	1g
Magnesium Sulfate	0.2g
Manganese Sulfate	0.05g
Bacteriological Agar	1g

► **Bouillon M17**

Disodium Glycerophosphate	19g
Tryptone	5g
Soy Peptone	5g
Beef Extract	5g
Yeast Extract	5g
Ascorbic Acid	0.5g
Magnesium Sulfate	0.25g

► **Bouillon MRS**

Dextrose	20g
Bacteriological peptone	10g
Beef extract	8g
Sodium acetate	5g
Yeast extract	4g
Dipotassium phosphate	2g
Magnesium sulfate	0.2g
Manganese sulfate	0.05g

Annexe 02

Préparation des milieux utilisés dans l'isolement

► Gélose MRS modifié

Eau distillée	300 ml
Milieu MRS	18.6 g
CaCo3	1.3 g

► Gélose M17

Eau distillée	300 ml
Milieu M17	16.5 g

► Bouillon MRS modifié

Eau distillée	120 ml
Milieu MRS	6.27 g

► Bouillon M17

Eau distillée	100 ml
Milieu M17	3.7 g

Annexe 03

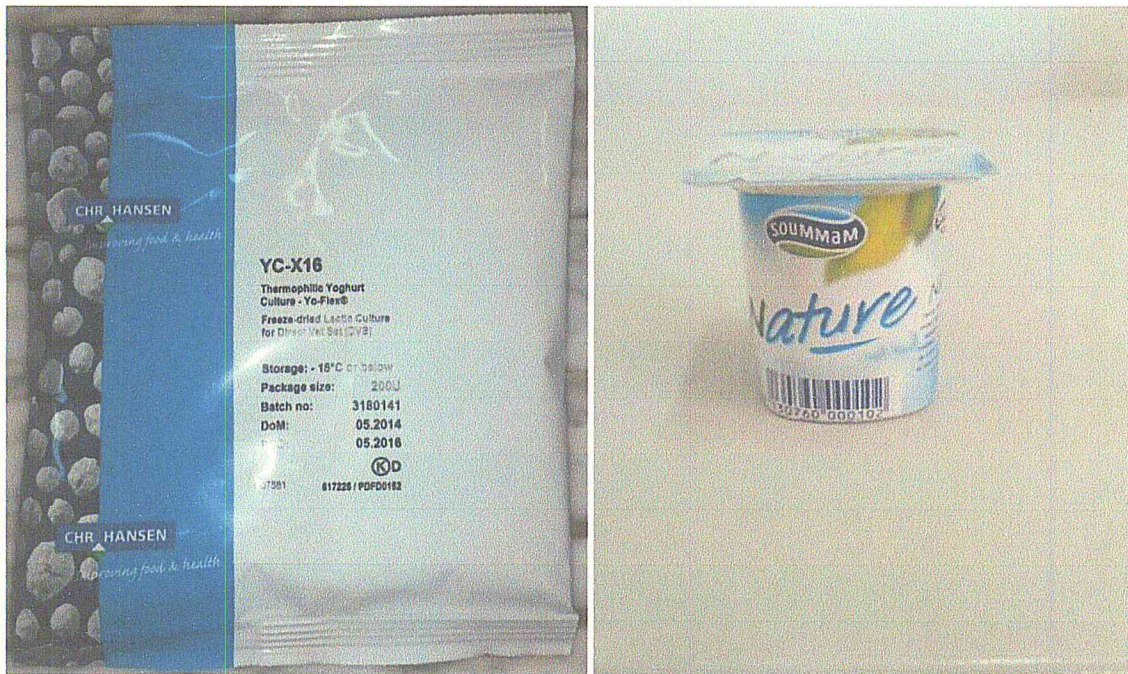


Photo 01 : Souches lyophilisées et isolées localement



Photo 02 : pH-mètre

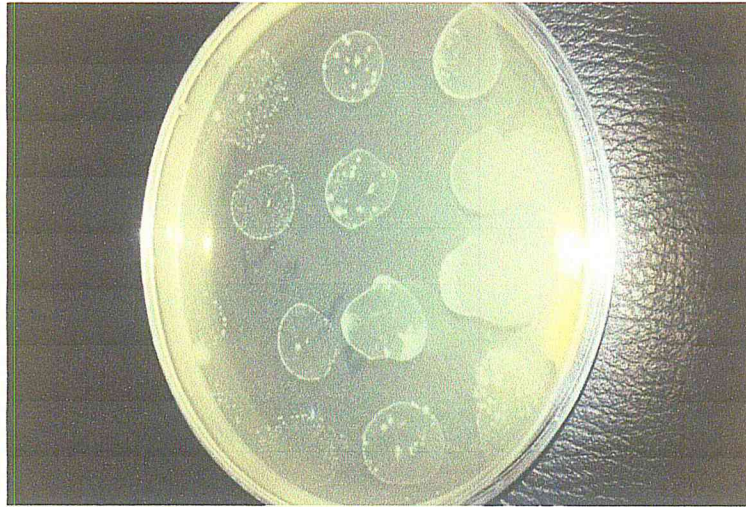


Photo 03 : croissance bactérienne des souches

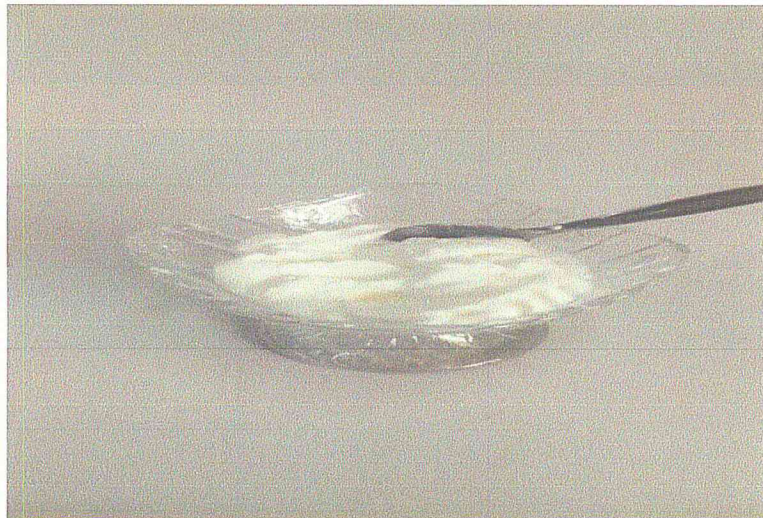


Photo 04 : yaourt obtenu

Annexe 04

Variation du pH et de l'acidité Dornic en fonction du temps des deux souches

1-souches lyophilisées

	T ₀ =0 min	T ₁ =30min	T ₂ =60min	T ₃ =90min	T ₄ =120min	T ₅ =150min	T ₆ =180min
pH	6.4	6.27	6.1	5.85	5.17	4.83	4.6
Acidité	2.4	2.6	3.1	4.2	5.7	7.2	10

2-souches isolées localement

	T ₀ =0min	T ₁ =30min	T ₂ =60min	T ₃ =90min	T ₄ =120min	T ₅ =150min	T ₆ =180min	T ₇ =210min	T ₈ =240min	T ₉ =270min
pH	6.38	6.3	6.27	6.2	6.1	6.03	5.95	5.9	5.85	5.8
Acidité	2.5	2.8	3.1	3.4	3.5	4.5	5.4	5.8	6	6.5

Variation de la densité optique en fonction du temps des deux souches :

1-souche lyophilisée

	T ₁ =30min	T ₂ =60min	T ₃ =90min	T ₄ =120	T ₅ =150min	T ₆ =180min
10 ⁻²	1.521	1.757	1.958	2.5	2.474	2.6
10 ⁻³	0.231	0.23	0.361	0.962	0.812	0.613
10 ⁻⁴	0.055	0.016	0.028	0.0265	0.292	0.127

2- souches isolées localement

	T ₁ =30min	T ₂ =60min	T ₃ =90min	T ₄ =120min	T ₅ =150min	T ₆ =180
10 ⁻²	1.595	2.245	1.899	2.200	2.270	2.366
10 ⁻³	0.340	0.366	0.286	0.264	0.311	0.884
10 ⁻⁴	0.119	0.037	0.05	0.012	0.007	0.122

Annexe 05

Fiche de dégustation

Critère	Sensations ressenties	% d'appréciation (Yaourt obtenu à partir des souches lyophilisées)	% d'appréciation (Yaourt obtenu à partir des souches isolées localement)
Couleur	Jaunâtre		
	Jaune crème		
	Crème claire		
	Blanchâtre		
Texture	Ferme		
	Visqueux		
	Souple		
	Granulé		
Aspect	Sec		
	Hydratant		
Goût	Bon		
	Très bon		
	Acide		
	Amère		
	Rance		
Odeur	Salé		
	Lait		
	Beurre		
	Fromage		
Le yaourt			

Résumé

Ce travail vise à comparer entre deux types de yaourt obtenu à partir des souches isolées localement et lyophilisées.

Les souches ont été isolées et purifiées à partir d'un pot de yaourt nature de la marque SOUMMAM et à partir de deux grains de souches lyophilisées mixtes. Les isolats sont ré-identifiés par les tests morphologiques et physicochimiques.

La préparation de levain à été faite par l'ajout des ferments lactiques dans le lait écrémé.

Les procédés de la fabrication des yaourts et des laits fermentés se caractérisent par trois grandes étapes : la préparation du lait, la fermentation et les traitements post fermentaires du produit.

L'isolement et la ré-identification de deux souches confirment que les bactéries sont des cocci ou des bâtonnets, à gram positive, catalase négative et utilisent la voie homo fermentaire dans leurs métabolismes.

Le suivi des paramètres physicochimiques a montrés que le pH diminue de 6,40 jusqu'à 4,38 et l'acidité augmente de 24°D jusqu'à 72°D pour les souches lyophilisées et 6,38 jusqu'à 5,8 et de 25°D jusqu'à 65°D pour les souches isolées localement.

Les résultats de la qualité sensorielle montrent que les deux types de yaourt obtenu sont estimés par les dégustateurs.

Mots clés : cinétique, ferments lactiques (*Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*), isolement, yaourt, lyophilisation.

المخلص

الهدف من عملنا هو مقارنة نوعين من الزبادي الذي تم الحصول عليه من السلالات المعزولة محليا والمجففة بالتجميد. تم عزل السلالات و تنقيتها من وعاء الزبادي من علامة تجارية صومام و مع اثنين من حبوب سلالات مختلطة بالتجميد المجفف , يتم تحديد العزلات عن طريق الاختبارات المورفولوجية و الفيزيائية.

تم تحضير الخميرة عن طريق اضافة التخمرات اللبنية في الحليب الخالي من الدسم.

تميز عمليات تصنيع الزبادي والحليب المخمر بثلاث مراحل اساسية: تحضير الحليب، التخمر ومعالجات ما بعد التخمر للمنتج.

يؤكد العزل واعادة تحديد نوعين من السلالات أن البكتيريا مكورلت أو عصيات، جرام موجب، كتنلاز سلاب، تستخدم مسار التخمر البشري في الايض.

أظهرت الخصائص الفيزيوكيميائية أن pH يتناقص من 6,4 إلى 4,38، و أن للاحموضة تتراد من 24°D إلى 72°D للسلالات المجففة بالتجميد، و 6,38 حتى 5,8 و من 25°D إلى 65°D للسلالات المعزولة محليا.

تظهر نتائج الجودة الحسية أن النوعين من الزبادي الذي تم الحصول عليه فونوعية جيدة.

الكلمات المفتاحية: حركي، المتحرمت للابينية (*Lb. bulgaricus*, *St. thermophilus*)

العزل ، الزبادي، تجفيف بالتجميد .