

Stabilité acide et viables starters après conservation des yaourts industriels, commercialisés aux Nord -Est d'Algérie

A. MERIBAI^{1*}, A. DIAFET¹, A. BAHLOUL¹, M. OUARKOUB¹, S. NAAMI¹, N. MEKHOUKH¹, A. BENSOLTANE².

¹ Laboratoire Caractérisation et Valorisation des Ressources Naturelles -(L.C.V.R.N): Sis au : département des sciences Agronomiques- Faculté SNV- Université de Bordj Bou Arreridj (34000)- Algérie.

² Laboratoire de Microbiologie Alimentaire - Université Es'Senia- Oran (31000)– Algérie.

* Auteur correspondant: hic.mer71@gmail.com

Abstract - In Algeria, industrial yogurt is made wholly or partly with milk powder (recombined milk). Yoghurt is a fermented milk, product obtained from fermentation of raw milk *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* strains. Cold Storage, during sale, induce viability problem of lactic acid starters, pH, rheology (syneresis) changes, leading to decreases viability of lactic starter. This leads to defects in the organoleptic and hygienic characters. The purpose of the study was to verify the titrable acidity (in Dornic degree °D) pH stability, Viscosity, after 21 days storage at +4°C, and thermophilic lactic starters rates in colony forming units /gram (cfu /g) of eight brands of Algerian industrial yogurts (the eighth sample was a traditional cow fermented milk) collected from dairy market in the Algerian NorthEastern arid areas (Bordj Bou Arreridj province). Before storage 25% of the samples, on MRS medium, were *Lactobacillus bulgaricus* devoid. Yoghurt Acidity appear stable after 21 days at low temperature storage. pH values between 04.6 and 04.38, average 04.22, titrable acidity values between 93.6°D and 121.5°D, average 120.22°D). viables *Streptococcus thermophilus* numbers were determined between 05X10⁶ cfu/g and 106cfu/g, species enumerated on M17 medium at 37°C were predominate, 100% Samples were not conform to the required standards (≤106 cfu/g).

Keywords: Industriel Yoghurt, Storage, Stability, Acidity, Starter, Viability.

Résumé - La conservation du yaourt, au froid, au cours de sa mise en vente, pose le problème de viabilité des ferments lactiques, stabilité du pH, la concentration d'acide lactique, de la rhéologie du produit, ce qui conduit à des défauts des caractères organoleptiques et hygiéniques. L'objectif de l'étude est de vérifier la stabilité des pH, d'acidité titrable et les taux des ferments lactiques en unité formant colonies/gramme (ufc/g) de huit marques du yaourt industriel (dont le huitième est un yaourt traditionnel appelé: Raib): SOUMMAM (1), DANONE(2) , BETOUCHE(3),TREFLE(4), RAMDY(5), HODNA(6), PALMA-NOVA(7), collectés du marché laitier, au Nord-Est d'Algérie, après conservation pendant 21jours à +4C. Les pH étaient cernés entre 04.18(Danone) et 04.78(Raib) avec une moyenne de 04.34. Après conservation ces derniers étaient: 04.60(Raib) et 04.38(Soumam). L'acidité titrable, été cerné entre: 162°D(Bettouche) et 82.8°D(Trefle) avec une moyenne de 120.22°D, après conservation ces valeurs étaient de 121.5°D(Raib) et 93.6°D(Soumam) avec une moyenne de 106.085°D. Les dénombrements des espèces *Lactobacillus bulgaricus* sur milieu MRS à 37°C avant conservation, étaient (01.5X10³ et 01X10³) ufc/g, après conservation étaient entre (105 et 102) ufc/g. 25% des échantillons étaient exempt des espèces *Lactobacillus* sp. Les espèces *Streptococcus thermophilus* sur M17, étaient cernés entre (07.20 108 et 01.55X108)ufc/g, après conservation étaient (05X10⁶ et 106)ufc/g. 37.5% des échantillons étaient dépourvu de cette espèce. L'acidité titrable, les pH des échantillons semblent stables après 21 jours de conservation à +4C. Les espèces *Streptococcus thermophilus* dénombrées sur milieu M17 prédominent les échantillons, ces yaourts industriels ne répond pas aux normes requises(≤106ufc). Les échantillons semblent stables, après période de conservation, Cependant les espèces starters sont en nette atténuation ce qui affecte l'effet probiotique escompté.

Mots clés : Yaourt, Ferment, Viabilité, Stabilité, Acidité.



1. Introduction

Les bactéries lactiques, sont largement utilisées en industrie laitière ; pour la préparation des produits laitiers, dont les laits fermentés, les yaourts et les fromages. Elles contribuent à la texture, à la saveur de ces derniers, par la production des exopolysaccharides et des composés aromatiques. Ces bactéries inhibent la prolifération des microorganismes pathogènes et d'altération des aliments par l'abaissement du pH, en produisant de l'acide lactique et la sécrétion des molécules bioactives tels que les arômes et bactériocines. Les ferments lactiques thermophiles; ayant température optimale de croissance entre 42°C et 45°C (Auclair et Accolas, 1983), sont les plus utilisés dans les processus technologiques laitiers; sous forme de levains starters. L'évolution des connaissances en ce domaine, a conduit à la sélection des souches lactiques aux propriétés technologiques spécifiques. Des nouvelles techniques microbiologiques, génétiques et biotechnologiques sont élaborées pour une meilleure connaissance de leur sélection et une maîtrise de leur équilibre en cultures mixtes, par conséquent, leur meilleure utilisation industrielle, (Meribai et al, 2010). La production du yaourt, résulte de l'association des deux espèces thermophiles, *Streptococcus thermophilus* espèce ayant le statut G.R.A.S*(Generally Reconised As Safe) (Delorme, 2008); *Lactobacillus bulgaricus* espèce thermophile, anaérobie, reconnue aussi parmi les espèces lactiques ayant le statut GRAS (Bernardeau et al, 2008), ces dernières doivent être ensemencées simultanément et se trouvent vivantes, à un taux de supérieur à 10⁶ufc*/g (unité formant colonie/ gramme du produit), jusqu'à la date limite de consommation (D.L.C). La quantité d'acide lactique libre, contenue dans 100g de yaourt ne doit pas être inférieure à 0,70g (Kurmann et Razik, 1991). Des travaux, ont élucidé des phénomènes de synergies (Courtin et Rul, 2004), libellées coopération, entre ces deux espèces lactiques (Angelov et al, 2009). Les processus de fabrication du yaourt, même si leur principe de base, demeure le même, sont complexes, en perpétuelle évolution car, ils intègrent, à chaque fois des nouvelles connaissances, les progrès, réalisés dans des domaines variés tels que: la Biologie moléculaire, la Biotechnologie, la chimie, la Biophysique (Angelov et al, 2009). En Algérie, le yaourt est fabriqué partiellement ou entièrement à base de lait en poudre (lait recombiné), de point de vue consistance, on distingue des yaourts brassés plus ou moins fluide, yaourt ferme (formation du gel des protéines sous l'action d'acidité) et à un degré moins des yaourts fluide (mousse) à boire. L'Algérie, à l'instar des pays, sous développés, fait recours aux importations massives des levains lactiques, sous forme lyophilisée, Cependant; l'usage incompatible des ferments importés, et la non maîtrise des techniques relatives à leur entretien et à leurs préincubation, est à l'origine des accidents de fabrication et/ou l'obtention des produits finis entachés de défauts de fabrication, engendrant des pertes économiques. En outre; le yaourt fabriqué exclusivement, à base du lait en poudre, incompatible pour ces ferments industriels, sélectionnés des laits crus, conçus dans d'autres environnements, en vue de répondre aux exigences d'autres processus technologiques, et de satisfaire les besoins nutritionnels et gustatifs d'autres consommateurs, ce qui rend leur utilisation inadéquates avec nos conditions technologiques, nos habitudes alimentaires et les attentes de nos consommateurs. La conservation du yaourt, au froid, durant sa mise en vente, pose le problème de viabilité des ferments lactiques, des modifications du pH, de la concentration d'acide lactique, de la rhéologie du produit, et de ces caractéristiques gustatives. (Irkin et Eren,2008), ce qui conduit à des défauts des caractères organoleptiques et hygiéniques du produit par modification des nombres des flores lactiques viables finales (Abdelmalek et al,2009) et la qualité hygiénique du produit (Saint- Eve et al, 2008). L'objectif de l'étude est d'explorer l'impact de la température (+4°C), de la durée de conservation (21jours), sur la viabilité des flores lactiques thermophiles, les *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* et l'évolution simultanée des paramètres physico chimiques; (pH, acidité titrable, la viscosité et conductivité) et leur impact sur les qualités organoleptiques et physico chimiques pour huit marques locales des yaourts industriels, collectés du marché local, dans la wilaya de Bordj Bou Arreridj (hauts plateaux) Nord-est d'Algérie.

2. Matériels et méthodes

2.1. Echantillonnage

Deux lots, de huit (08) pots de yaourt, ont été prélevés du marché local des produits laitiers, dans la wilaya de Bordj Bou Arreridj, Algérie, avec le respect de la chaîne du froid, le huitième échantillon ; un yaourt traditionnel, préparé à base de lait d'espèce bovine, spontanément fermenté, à température ambiante (tableau1). Prélevés selon les bonnes pratiques d'hygiène et d'échantillonnage, le premier lot est utilisé pour les différentes analyses, le deuxième a été stocké à +4°C, pour une durée de 21jours,

selon le protocole préconisé par Saint-Eve et al, (2008) ; Saccaro et al, (2009), avant toute analyse, l'inspection des pots, par vérification de leurs étanchéité, gonflement, présence de gaz ou d'odeur suspecte a été effectuée.

Tableau 1 : Présentation des huit échantillons

Ec	Marque	Type/produit	Poids	Lieu de production	Operateur
01	SOUMMAM	Yar. Au lait reconstitué aromatisé	100g	ZI. Akbou-Béjaia-Algérie	Laiterie Soummam
02	DANONE	Y. Aromatisé partiellement écrémé	100g	ZI. Taharacht. Akbou-Béjaia-Algérie	Danone-Djurdjura-Algérie
03	BETOUCHE	Y. Aromatisé partiellement écrémé	100g	Hawch Ben Daily Baie-Rouïba-Algerie	Laiterie Betouche
04	TREFLE	Y. Aromatisé au lait entier reconstitué	100g	ZI*. Ben Boulaid-Blida Algerie	Laiterie Trèfle
05	RAMDY	Y. Sucré aromatisé partiellement écrémé	100g	Akbou-Béjaia-Algerie	Laiterie Ramdy
06	HODNA	Y. Aromatisé partiellement écrémé	100g	ZI. M'SILA. Algerie	Laiterie Hodna
07	PALMA-NOVA	Y. Sucré aromatisé partiellement écrémé	100g	12, ZI. Palma/ Constantine/ Algérie	Société Suis-lait
08	Y.TRADITI-ONNEL	Fermentation spontanée à T°C ambiante	Flc/ 250ml	Localité Khelil W/BBA Algerie	FermentatinSpontanée

Ec: Echantillon, Y: Yaourt ; ZI : Zone industrielle, BBA Bordj Bou Arreridj.

2.2. Analyses microbiologiques

Les estimations des charges, en bactéries lactiques (L.A.B* ; Lactic Acid Bacteria), pour chaque échantillons, avant conservation (tableau2 et tableau3) et après conservation à +4°C, pendant 21 jours (tableau4 et tableau5), ont été basé sur des dénombrements (à partir des dilutions, réalisées par une solution stérile tryptone sel (TSE), D10-2 10-4et D10-6) des Lactobacilles mésophiles à 37°C, et thermophiles à 44°C, sur le milieu gélosé MRS (Pronadisa Spain) - (De Man et al, 1960), et des Lactocoques mésophiles à 37°C et thermophiles à 44°C, sur le milieu gélosé M17 (Pronadisa- Spain) (Tarzaghi et Sandine, 1975), par réalisation des séries de dilutions décimales. L'ensemencement des différents échantillons, s'est fait en surface de la gélose M17 (Norme ISO 7889/IDF, 2003) pour les streptocoques lactiques, en profondeur (en double couche) pour la gélose MRS, pour les Lactobacilles (Norme ISO 20128/IDF, 2006). Les dénombrements des colonies de bactéries lactiques, ont été réalisés après 24h, 48h et 72h d'incubation, à l'aide d'un compteur de colonies (Selecta J.P.- Spain), les résultats, (sont les moyennes des trois répétitions (triplicatas), ont été exprimés en UFC*/ml (unité formant colonies/millilitre du produit).

2.3. Analyses physicochimiques

La mesure des pH à l'aide d'un pH mètre, type Sertes/ Inolab pH730 (Germany), l'acidité en degré dornic par neutralisation, à l'aide de la soude N/9, d'un volume lait fermenté auquel est ajouté un indicateur de pH (solution alcoolique de 01% de phénolphtaléine, (1°D= 0,1g /L d'acide lactique) avant (lot1) et après période de conservation (lot2) (Chamba et Prost, 1989). La prise des valeurs de la viscosité, des échantillons, réalisée par écoulement à température ambiante puis par viscosimètre de marque: Rion Viscotester VT-03F (Origine: Chinoise) avec une limite de mesure à 20°C : est de 300 mPascal (S) avant conservation.

3. Résultats et discussion

3.1. Résultats des analyses microbiologiques

Sur le milieu MRS, (milieu sélectif pour les lactobacilles), à 44°C, avant conservation, (lot1), et après 48h d'incubation, les valeurs, des Ufc/ml; varient entre: 02,70x10⁶ et 04x10⁵ufc/ml, pour la dilution D10-5 (tableau2 et tableau3). Après 21 jours d'incubation au froid ; on note une disparition des lactobacilles thermophiles, une seule valeur enregistrée à 44°C: 01x10 Ufc/ml (tableau4 et tableau5).

Tableau 2 : Résultats des dénombrements en UFC/ml avant conservation (lot 1) et après 24Hd'incubation

Ec/ Dilution	Nombre d'UFC sur milieu MRS (UFC/ml)		Nombre d'UFC sur milieu M17 (UFC/ml)	
	D10-2 à 37°C.	D10-5 à 44°C.	D10-2à T°C 37°C.	D10-5 à 44°C.
01	-*	-*	ND**	04,35×10 ⁸
02	ND**	-	ND	02,95×10 ⁸
03	-	-	ND	07×10 ⁷
04	-	-	ND	04,50×10 ⁷
05	ND	-	ND	01,70 ×10 ⁷
06	ND	-	ND	04,20 ×10 ⁷
07	-	-	ND	07,90 ×10 ⁷
08	ND	-	ND	03,50 ×10 ⁷

(-)* Absence de colonies **ND Non déterminé

Tableau 3 : Résultats des dénombrements en UFC/ml avant conservation (lot 1) après 48Hd'incubation

Ec/Dilution	Nombre d'UFCsur milieu MRS (UFC/ml)		Nombre d UFC sur milieu M17 (UFC/ml)	
	D10-2 à 37°C	D10-5 à 44°C	D10-2 à 37°C	D10-5 à 44°C
01	01,10×10 ³	-	ND	04,35 ×10 ⁸
02	ND	0,400×10 ⁶	ND	02,85×10 ⁸
03	ND	02,70×10 ⁶	ND	06,84 ×10 ⁸
04	01,80×10 ³	0,600×10 ⁶	ND	0,450×10 ⁸
05	ND	-*	ND	01,95×10 ⁸
06	15,6×10 ³	0,700×10 ⁶	ND	01,08×10 ⁸
07	02,60×10 ³	-	ND	02,75×10 ⁸
08	0,70×10 ³	-	ND	0,400×10 ⁸

(-)* Absence de colonies

Sur le milieu M17, sélectif pour les *Streptococcus thermophilus*, avant conservation au froid (lot1) (tableau2 et tableau3), le dénombrement des colonies, à 44°C, n'est possible, que après 48H d'incubation, les valeurs des Ufc/ml; varient entre 0,4 x10⁸ Ufc/ml et 06,84 x10⁸ufc/ml, ces valeurs, après 21 jours d'incubation au froid (lot2) varient entre: 09x 10⁶ufc/ml et 18x10⁶ufc /ml (tableau4 et tableau5).

Tableau 4 : Résultats des dénombrements en UFC/ml après 21 jours de conservation a + 4°C (Lot 2) après 24Hd'incubation

Ec/Dilution	Nombre d'UFC sur milieu MRS (UFC/ml)		Nombre d'UFC sur milieu M17 (UFC/ml)	
	10 ⁻² à 37°C	10 ⁻⁵ à 44°C	10 ⁻² à 37°C	10 ⁻⁵ à 44°C
01	01,00×10 ²	*-	ND	01, 00×10 ⁶
02	01,00×10 ²	-	-	18,00×10 ⁶
03	-	-	-	05,00×10 ⁶
04	-	-	-	-
05	-	-	-	-
06	08,15×10 ⁴	-	-	-
07	01,00×10 ²	-	05,00×10 ³	02,00×10 ⁶
08	05,54×10 ⁴	-	-	-

(-)* Absence de colonies

Tableau 5 : Résultats des dénombrements en UFC/ml après 21 jours de conservation (lot 2) après 48Hd'incubation

Ec/Dilution	Nombre d'UFC sur milieu MRS (UFC/ml)		Nombre d'UFC sur milieu M17 (UFC/ml)	
	10 ⁻² à 37°C	10 ⁻⁵ à 44°C	10 ⁻² à 37°C	10 ⁻⁵ à 44°C
01	01,00×10 ²	*-	01,00×10 ³	
02	01,00×10 ²	-		01,80×10 ⁷
03	-	-		05,00×10 ⁶
04	-	-		
05	-	-		02,00×10 ⁶
06	08,93×10 ⁴	-		
07	01,00×10 ²	01,00×10 ⁵	07,00×10 ³	09,00×10 ⁶
08	05,54×10 ⁴	-	-	-

(-)* Absence de colonies

3.2. Résultats des analyses physicochimiques

3.2.1. La mesure du pH

Le tableau 6 représente les valeurs des pH des lot1 et lot2

Tableau 6 : Les mesures des pH des lot1.et lot2.

Echantillon	001	002	003	004	005	006	007	008	Moyenne
pH/ lot1	04,40	04,18	04,25	04,22	04,35	04,32	04,25	04,78	04,34375
pH/ lot2	04,38	04,25	04,29	04,34	04,38	04,43	04,28	04,86	04,40125

Les valeurs des pH, varient entre 04,18(Ec2) et 04,78(Ec8), et ont une moyenne de 04,34. Après 21 jours de conservation, à 04°C, ces valeurs varient entre 04,25 (Ec 02) et 04,86(Ec 08), avec une moyenne de 04,40 (tableau6 et figure1).

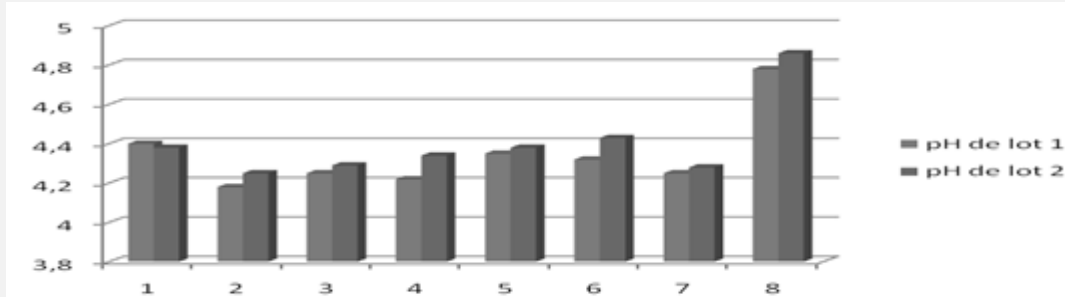


Figure 1. Histogramme : valeurs des pH : lot 1 avant conservation et lot 2 après 21 jours de conservation.

Tableau 7 : Concentrations d'acide lactique en degré Dornic (°D), des lot1: et après conservation lot2.

Echantillon	01	02	03	04	05	06	07	08	Moyenne
AT (°D) lot 1	126,9	155,7	162	82,8	119,7	99,9	131,4	88,2	120,825
AT (°D) lot 2	93,6	110,7	108,9	96,3	96,3	103,5	117,9	121,5	106,0875

Variation d'acidité titrable C Al en fonction des différents Yaourt des lot1 et lot2

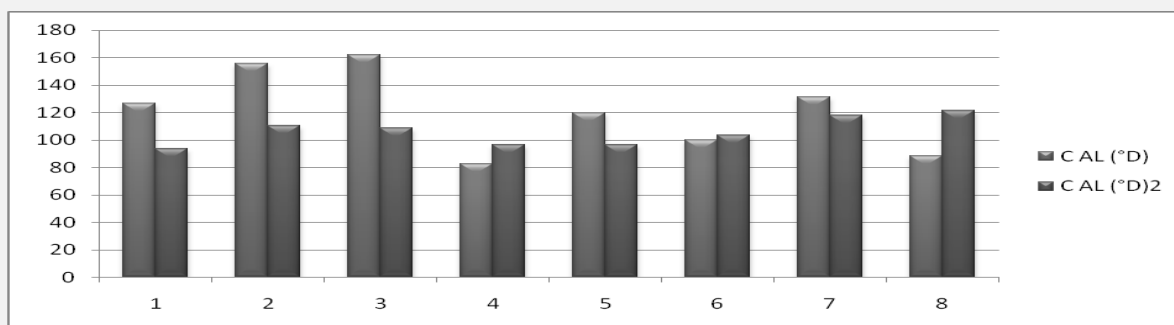


Figure 2. Histogramme l'acidité titrable(AT) avant conservation lot1 et lot2 après conservation.

3.2.2. L'acidité titrable en degré Dornic (°D)

Les valeurs de l'acidité titrable (°D) varient entre 82,8 (Ec4)- 162°D (Ec3), avec une moyenne de 120,82°D. Après conservation (lot2), ces valeurs varient entre 93,6°D (Ec1)-et 121,5°D (Ec8) avec une moyenne de 106,09 °D (tableau7, figure2).

Tableau 8 : Valeurs de la viscosité intrinsèque (η) de lot1 et lot2.

Echantillon	01	02	03	04	05	06	07	08	Moyenne
Viscosité (m Pas (S))	14	10	13,5	12	12	15.5	12	12	12.62
Conductivité (ms/cm)	6.66	6.52	6.70	6.66	6.68	6.85	5.95	6.01	6.50

3.2.3. La viscosité

La viscosité intrinsèque, du premier lot (avant conservation), varient de 15.5 (échantillon6 Hodna) et 10 (Echantillon2 Danone), Avec une moyenne de 12.62. Tandis que ces valeurs, après période de conservation. La conductivité des échantillons varient entre un maximum (6.85 pour l'échantillon 6 Hodna) et minimum (5.95 l'échantillon 7 Palma-Nova) avec une moyenne de 6.50.

3.3. Discussion

3.3.1. Analyses microbiologiques

Lors d'inspection des échantillons, aucun défaut de fabrication n'a été enregistré (défaut d'emballage, gonflement, ouverture des pots, odeur suspecte).

La viabilité des flores lactiques, pour l'ensemble des huit échantillons, avant et après conservation, a été d'une atténuation remarquable: $02,7 \times 10^6$ UFC/ml avant conservation et 01×10^5 UFC/ml, après conservation, légèrement inférieure au seuil fixé pour les lactobacilles. L'atténuation a été, relativement, faible $06,84 \times 10^8$ UFC/ml avant conservation et $01,8 \times 10^7$ UFC/ml, après conservation pour les espèces *Streptococcus thermophilus*.

Cependant ; ces chiffres sont supérieurs au seuil fixé par la littérature scientifique à 106 UFC/ml (Kurman et Rasic, 1991). En outre, le législateur Algérien, dans l'arrêté du 24 mai 2004, (Anonyme: Journal Officiel n : 43/ 2004), a rendu obligatoire le dénombrement des colonies caractéristiques du yaourt, sur le milieu MRS gélosé, acidifié, pour les lactobacilles, le pH doit être ajusté par une solution d'acide acétique (100%), à un point final égal à 05,4 à 25°C, l'incubation est préconisée en anaérobiose, le milieu M17 (Tarzaghi et Sandine,1975), est recommandé pour le dénombrement des *Streptocoques thermophiles*. Pratiquement, il n'ya pas, une technique standard, pour le dénombrement des bactéries lactiques. Cependant, des milieux de culture sélectifs, M.R.S: (De Man et al, 1960) rendu selectif par Tween 80 (1.08ml/ L); et M17: (Tarzaghi et Sandine, 1975), rendu selectif par ajout du glycerophosphate de sodium a un taux de 19g/ L, les plus recommandés, permettant la croissance sélective des espèces lactiques starters, du yaourt, assurant l'inhibition des autres microorganismes, ont été élaborés (Karimi et al, 2011).

En outre, Moreno et al, (2005): lors d'estimation des bactéries lactiques, viables, par deux méthodes différentes: énumération sur des milieux de culture sélectifs et comptage des bactéries par microscopie à fluorescence; ont montré que: les nombres des bactéries/gramme de lait fermenté conservé, décroît après la date limite d'expiration du produit.

Pour l'ensemble des laits fermentés, les nombres des bactéries lactiques est proche de 10^6 ufc/ml, les chiffres des bactéries estimées sur le milieu sélectifs étaient inférieurs aux chiffres obtenus par la deuxième méthode, cette dernière est inadéquate pour le dénombrement des probiotiques. Contrairement aux autres espèces lactiques, l'espèce *Streptococcus thermophilus*, responsable d'acidification du yaourt, est seule uréase positive, selon Zotta et al, (2008), cette enzyme convertit l'urée présente dans le lait (à des proportions de 0,25% g/l) en CO_2 et NH_4 , ce qui influe sur l'abaissement de pH (Mora et al, 2004; 2005). Selon Spinler et Corrieu, (1989), le taux d'acidification du lait, semble espèce-dépendant. Néanmoins; ce caractère est influencé, par l'activité uréasique relative à l'espèce précitée et l'activité urolytique lors du chauffage du lait. En outre, le rôle de l'uréase chez l'espèce *Streptococcus thermophilus* a un double sens; par l'usage d'un inhibiteur de l'uréase, le fluorofamide, des travaux ont élucidé ce double rôle: d'une part, l'ammoniac (NH_4), produit à partir de l'urée tend à alcaliniser le pH, ont remarqué que l'effet est important, lorsque la concentration de lactate est élevée.

La suppression de métabolisme de l'urée, par l'usage de: fluorofamide, diminue le temps nécessaire d'acidification, et les nombres UFC/ml des Streptocoques lactiques (Pernoud et al, 2004). Cependant, d'autres biotypes *Streptococcus thermophilus*, uréase négative ou uréase faible, ont été décrits (Louiche et Braquart, 2001). En outre, selon Zotta et al, (2008); l'activité uréasique, relative à cette espèce lactique, reflète plusieurs avantages, en technologie laitière; elle favorise le nombre des *Streptococcus thermophilus*, en culture mixtes avec des *Lactobacillus bulgaricus*, qui supportent des pH très acides, aussi le NH_3 produit par l'espèce *Streptococcus thermophilus*, affecte la vitesse d'acidification par l'alcalinisation du milieu, le CO_2 produit par l'uréase stimule la croissance de l'espèce *Lactobacillus bulgaricus* (Angelov et al, 2009). Il semble que cette enzyme (l'uréase), avait assuré un rôle protecteur en faveur de l'espèce *Streptococcus thermophilus* à basse température. En outre, chez l'espèce *Streptococcus thermophilus*, la cryotolérance est attribut aux acides gras insaturés membranaires (Beal et al, 1999; Fonseca et al, 2001). En outre, Dave et Shah, (1996) ont rapporté que; le milieu MRS à pH 05,2 ou le milieu RCA; Reinforced Clostridium Agar à pH 05,3 peuvent être utilisés pour des dénombrements différentiels entre les deux espèces lactiques précitées, la température d'incubation pour les deux espèces est de 45°C pendant 72 heures. Toutefois; les auteurs ont enregistré, sur ces deux milieux, la croissance des espèces *Bifidobacterium* sp. Dans une étude, Abdelmalek et al, (2009), ont rapporté, des résultats similaires, pour des espèces lactiques thermophiles et des probiotiques: *Bifidobacterium* sp, lors des dénombrements des UFC/ml à partir des yaourts collectés sur le marché des yaourts à l'Ouest Algérien.

Le suivi d'évolution des pH réalisés, sur un système de culture en Batch, pour ces deux espèces, starters, thermophiles: *Streptococcus salivarius* ssp *thermophilus* 404 et *Lactobacillus delbrückii* ssp *bulgaricus* 398 et la comparaison des paramètres d'acidification, de croissance et de productivité, en culture pures et mixtes ont révélés: des populations bactériennes en fin de fermentation 04,9 fois plus élevée, en cultures mixtes, les productivités ont été 02,9 fois plus élevée, tandis que l'acidification n'a pas changée en cultures pures et mixtes (Beal et al, 1999). L'évolution de la viscosité, sous les effets des facteurs étudiés (pH, $T^\circ\text{C}$ d'incubation, temps d'incubation), aussi par les interactions entre ces paramètres: L'acidité est influencée par la température d'incubation et les associations entre les souches acidifiantes.

La valeur de viscosité la plus élevée, s'est corrélée (a été obtenue) avec la valeur la plus basse de pH; le yaourt le plus visqueux, a été obtenu à une basse température de fermentation et à un point de pH plus bas par des souches lactiques *Streptococcus thermophilus* texturantes, exigeant du temps prolongé de la fermentation (Beal et al, 1999).

Dans une étude sur la viabilité, des souches lactiques starters, après conservation au froid, du yaourt préparé par trois espèces lactiques (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* et une espèce probiotique: *Bifidobacterium bifidum*: ce dernier, lyophilisé, après fermentation jusqu'au point de pH: 04,6, puis conservé à une température de congélation pendant une période de 04 semaines. Les résultats ont montré une stabilité des pH et la diminution des nombres des bactéries en ufc viables/g du produit (Wirjantoro et Phianmongkhol, 2008).

3.3.2. Analyses physicochimiques

Dans les laits fermentés, particulièrement, les yaourts, la cinétique d'acidification des deux espèces lactiques, est d'évolution différente, voir contradictoire: Ce trait, est lié aux caractéristiques physiologiques, biochimiques des deux espèces lactiques utilisées: *Streptococcus thermophilus*, ayant

une vitesse élevée d'acidification (Meribai et al, 2010), cette espèce est victime d'abaissement du pH, contrairement à *Lactobacillus bulgaricus*, ayant un pH optimum de croissance, au tour de 04,90 (espèce acidotolérante) (Angelov et al, 2009).

Pour l'ensemble des échantillons étudiés, les valeurs des pH, avant conservation (lot1), varient entre 04,18 cas d'échantillon Ec02 et 04,78 pour l'échantillon Ec08, avec la moyenne de 04,34. Après conservation, des échantillons (lot2), ces valeurs des pH n'ont pas changées, avec la moyenne de 04,40, ce qui indique une relative stabilité du produit, et l'absence de toute activité postacidifiante. Irkin et Eren, (2008), dans une étude, sur des yaourts collectés du marché Turque, rapportent des valeurs des pH situées entre 03,95 et 04,23. Wirjantoro et Phianmongkhol, (2008), ont signalé, la stabilité des pH des yaourts, après 04 semaines de congélation. nos résultats corroborent, ceux ayant montré, la stabilité des yaourts, après une conservation au froid (Beal et al, 1999).

La moyenne des pH 04,40, après période de conservation, est proche du pH optimum, relatif à l'espèce *Lactobacillus bulgaricus*.

L'acidité, en degré Dornic, a été estimée par neutralisation, à l'aide de la soude N/9, de 10ml de lait fermenté auquel est ajouté un indicateur de pH (solution alcoolique de 01% . . . de phénolphtaléine, (1°D= 0,1g /L d'acide lactique) et par des mesures de pH. (Chamba et Prost, 1989; Thomas et Chamba, 2000). Sachant que, dans le processus fermentaire du yaourt, la température utilisée est de 45°C, proche de l'optimum, pour les deux espèces lactiques (Béal et al, 1999). Si cette température est proche de l'optimale, pour les 02 espèces, il n'on n'est pas le cas pour le pH, du yaourt, Selon, Tabasco et al, (2007), une température de 45°C pour l'isolement et l'incubation des *Streptococcus thermophilus* à été recommandée, Cependant; certains auteurs (Degeest et al, 2002; Tabasco et al, 2007) ont conclu que l'espèce *Streptococcus thermophilus*, en culture mixte, exige une température optimale située entre: 42°C et 46°C. Le pH du yaourt, est proche de celui du suc gastrique, ce caractère, permet la survie de cette flore lactique thermophile, lors de son passage. à travers le tractus digestif, d'ou l'effet probiotique espéré. Les souches probiotiques doivent être résistantes aux acides gastriques et aux sels biliaires (Da Cruz et al, 2007). De plus, elles présentent des propriétés thérapeutiques spécifiques à chaque souche, principalement en termes d'activités immunostimulantes et anti-diarrhéiques. L'effet post acidifiant, (variation du pH au cours de conservation a basse température est faible), la moyenne des valeurs des pH était de : 04,34 avant conservation et de 04,40 après conservation ; l'acidité en °D était de : 120,8°D avant conservation et 106,8°D après conservation, ceci traduit l'inhibition des processus fermentaires d'acidification durant la période de conservation. Le yaourt est défini comme, un fluide viscoélastique, il possède, à la fois les propriétés visqueuses d'un liquide et les propriétés élastiques d'un solide. La viscosité du produit dépend de la vitesse d'écoulement ou de la force entre les molécules dans le fluide et l'interface du tube capillaire. La viscosité intrinsèque du yaourt est liée aussi à sa densité. Les changements de la viscosité, semblent en fonction de la marque d'échantillon analysé, sa composition, son mode de préparation : En général les huit échantillons du yaourts étudiés, possèdent une viscosité cernée entre (15.5 (max) échantillon 06 Hodna et 10 (min) pour l'échantillon 02 Danone, avant conservation, avec une moyenne de 12.62. Après conservation, ces valeurs oscillent entre : 02,41 et 08,67, avec la moyenne de 05,452cm³/g). Selon Saint-Eve et al, (2008): lors d'évaluation de l'impact de deux types d'emballage en polypropylène ou en polystyrène sur le yaourt, durant une conservation pendant 28jours à +4°C, sur la viscosité, que la consistance et les arômes, de deux types de yaourts (à 0% et à 04% de matière grasse); les résultats ont montré que le yaourt à 0% de matière grasse est plus influencé par l'emballage, la viscosité et la consistance des yaourt ont augmentés durant la conservation, ceci est attribué à la production des exopolysaccharides, le polystyrène limite les pertes des composés aromatiques.

En outre, Sodini et al, (2005), ont étudié l'effet d'addition des protéines sériques et des hydrolysats des caséines du lait, a des concentrations; allant de 0,25g/L, a 04g/l; au lait, sur la qualité des yaourts préparés par des combinaisons de ferments différentes: Les résultats ont montré, une diminution du temps de fermentation et la réduction de la viscosité, lors d'addition des hydrolysats de caséines. Zisu et Shah, (2003) ont étudiés, l'effet de la température, du pH et de la supplémentation en protéines, sur la production des exopolysaccharides, responsable de la viscosité, par l'espèce *Streptococcus thermophilus* 1275, les différentes combinaisons entre ces paramètres, ont montré; que les plus grandes quantités des exopolysaccharides ont été produites à pH: 04,08 et à 37°C, et à 40°C, contrairement à l'effet du pH, la température élevée de 45°C à diminuée la production des EPS. En plus, du temps et la température de conservation du yaourt, d'autres paramètres affecte la rhéologie de

ce produit: La composition du lait, les caractéristiques des cultures starters utilisées, la température d'incubation et la séparation du lactosérum (Kristo et al, 2003).

4. Conclusion

Les huit marques du yaourt semblent stables, de point de vue physico chimique, après période de conservation au froid. Cependant, les espèces lactiques starters sont en nette atténuation, ce qui affecte l'effet probiotique escompté pour le consommateur, l'espèce *Streptococcus thermophilus* prédomine les dénombrements.

5. Références

- Abdelmalek A, Bey F, Gheziel Y, Krantar K, Ait Abdeslam A., Meribai A; Medouakh L and Bensoltane A. (2009) Viability and resistance to acidity of Bifidobacterium sp in Algerian's Bio-yoghurts.** Egypt.Jo.of Appl. Sci, 24 (2A), 193- 201.
- Angelov M, Kostov G, Simova E, Beshkova D & Petia Koprinkova-Hristova P. (2009) Protocoopération factors in yogurt starter cultures.** Revue de Génie Industriel 3, 5- 12.
- Anonyme (2004): J.O.R.A, N°43/2004** Arrêté ministérielle du 24 mai 2004 rendant obligatoire une méthode de dénombrement des microorganismes caractéristiques par une technique de comptage des colonies à 37°C dans le yaourt. WWW. JORA. DZ.
- Auclair, J & Accolas JP (1983) Use of thermophilic lactic starters in dairy industry.** Antonie Vanleeuwenhoeck.49, 313- 326.
- Beal C, Skokanova J., LatrilleE, MartinN and Corrieu G. (1999) Combined effects of culture conditions and storage time on acidification and viscosity of stirred yogurt 1999.** Jo. Dairy. Sci 82: 673– 681.
- Bernardeau M, Vernoux JP, Henri-Dubernet S & Guéguen M (2008) Safety assessment of dairy microorganisms: The Lactobacillus genus.** International Journ of Food Microb. 126, 278– 285.
- Chamba JF & Prost, F (1989) Mesure de l'activité acidifiante des Bactéries lactiques, thermophiles pour la fabrication de fromage à pâte cuite.** Lait, (69), 417- 431.
- Courtin P & Rul F (2004) Interactions between microorganisms in a simple ecosystem: yogurt bacteria as a study model,** Lait, 84, 125- 134.
- Da Cruz A G, Faria J A. F & Van Dender A. G. F. (2007) Packaging system and probiotic dairy foods.** Food Research International, 40, 951- 956.
- DaveR I, and Shah N P (1996) Evaluation of media for selective enumeration of Streptococcus thermophilus, Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus, Lactobacillus acidophilus, and Bifidobacteria.** Journal of Dairy Science 79: 1529- 1536.
- De Man JC, Rogosa M. and Sharpe M.E (1960) A medium for the cultivation of Lactobacilli.** Jo. Appl. Bacteriol, 23: 130- 135.
- Degeest B, Mozzi F & De Vuyst L (2002) Effect of medium composition and temperature and pH changes on exopolysaccharide yields and stability during Streptococcus thermophilus LY03 fermentations.** International Journal of Food Microbiology, 79, 161– 174.
- Delorme C (2008) Safety assessment of the dairy microorganisms: Streptococcus thermophilus.** International Journal of Food Microbiology. 126, 274 – 277.
- Fonseca F, Béal C, & Corrieu G (2001) Operating conditions that affect the resistance of lactic acid bacteria to freezing and frozen storage.** Cryobiology 43, 189–198.
- Irkin R & Eren U.V (2008) A research about viable Lactobacillus bulgaricus and Streptococcus thermophilus numbers in the market yoghurts.** World Journal of Dairy & Food Sciences 3 (1): 25- 28.
- Karimi, R., Mortazavian, A. M., & Da-Cruz, A.G., (2011) Viability of probiotic microorganisms in cheese during production and storage: A review.** Dairy Science and Technology 91, 283-308.
- Kristo E, BiliaderisC.G., and TzanetakisN, (2003) Modelling of the acidification process and rheological properties of milk fermented with a yogurt starter culture using response surface methodology,** Food Chem., 83, 437– 446.
- Kurmann J.A & Rasic J.L(1991) The health potential of products containing Bifidobacteria. in therapeutic properties of fermented milks.** London: Elsevier Applied Food science.160, 117- 158.
- Louiche H. & Braquart P. (2001) Carbone dioxide production by morphological variant of Streptococcus thermophilus CNRZ 368.** Milchwissenschaft-Milk. Science. International, 56, 187- 190.

- Meribai A, Ait-Abdeslam A, Krantar K, Mahi M^{ed}, Benzeguir FM, Slimane N, Maghnia D, Mouadene R & Bensoltane A. (2010)** Biotechnological study of a thermophilic acid starter isolated from Algerian cow's raw milk. Egypt. Jo. of Appl. Sci, 25(4B), 243– 254.
- Mora D, Maguin E, Masiero M, Parini C, Ricci G, Manachini PL & Daffonchio D (2004)** Characterization of uréase genes cluster of *Streptococcus thermophilus*. Jo Appl Microbiol. 96 (1), Pp: 209- 219.
- Mora D, Monnet C, Parini C, Guglielmetti S, Mariani A, Pintus P, Molinari F, Daffonchio D & Manachini PL (2005)** Urease biogenesis in *Streptococcus thermophilus*. Resea. In Microbiology, 156, 897- 903.
- Moreno Y, Collado MC, Ferrús MA., Cobo J.M., Hernández E, Hernández M (2005)** Viability assessment of lactic acid bacteria in commercial dairy products stored at 4 C using LIVE/DEAD® BacLight™ staining and conventional plate counts. International Journal Of Food Sciences And Technology.
- Norme ISO20128/IDF192 Mai (2006)** Produits laitiers dénombrement de *Lactobacillus acidophilus* présomptifs sur un milieu sélectif. Technique de comptage des colonies à 37 °C.
- Norme ISO7889/IDF117 Février(2003)** Yaourt Dénombrement des micro-organismes caractéristiques Technique de comptage des colonies à 37°C.
- Pernoud S, Fremaux C, Sepulchre A, Corieu G & Monnet C (2004)** Effect of the metabolism of urea on the acidifying activity of *Streptococcus thermophilus*. Journal of Dairy Science, 87, 550- 555.
- Saccaro DM, Tamime AY, Pilleggi A.L.0 & Oliveira M.N (2009)** The viability of three probiotic organisms grown with yoghurt starter cultures during storage for 21 days at 4°C. International Journal of Dairy Technology, Vol 62, No3 August 2009; 397- 404.
- Saint-Eve A, Le'vy C, Le Moigne M, Ducruet V & Souchon I (2008)** Quality changes in yogurt during storage in different packaging materials Food Chemistry, 110, Pp: 285– 293.
- Sodini I, Lucasa, A, Tissierb, JP & Corrieu, G (2005)** Physical properties and microstructure of yoghurts supplemented with milk protein hydrolysates. International Dairy Journal 15 (2005), 29– 35.
- Spinnler HE, & Corrieu G (1989)** Automatic method of to quantify starter activity based on pH measurement. Journal. Dairy. Resea, 56,755- 764.
- Tabasco R, Paarup T, Janer C, Pelaez C & Requena T (2007)** Selective enumeration and identification of mixed cultures of *Streptococcus thermophilus* *Lactobacillus delbrueckii* sub sp bulgaricus *Lb acidophilus* *Lb paracasei* sub sp paracasei and *Bifidobacterium lactis* in fermented milk. International Dairy .Journal, 17, 1107- 1114.
- Tarzaghi BE, and Sandine WE, (1975)** Improved medium for lactic *Streptococcus* and their bacteriophages, Appl. Microbiol, 29:807- 813.
- Thomas A & Chamba, JF (2000)** Mise en évidence de l'évolution des aptitudes technologiques des bactéries lactiques thermophiles utilisées dans les fromages à pâte pressée cuite. Sciences des Aliments .20, 159- 167.
- Wirjantoro TI & Phianmongkhol, A (2008)** The viability of lactic acid bacteria and *Bifidobacterium bifidum* in yoghurt powder during storage. CMU. Jo. Nation. Scien. Vol, 8(1): 95- 104.
- Zisu B, and Shah NP (2003)** Effect of pH, temperature, supplement with whey protein concentrate and adjunte cultures on the production of exopolysaccharides by *Streptococcus thermophilus* 1275. Journal of Dairy Science.86, (11), 3405-3415.
- Zotta T, Ricciardi A, Rossano R and Pareute E. (2008)** Uréase production by *Streptococcus thermophilus*. Food. Microbiology. (25), 113-119.