Influence de la congélation et de la cryodessiccation qui s'ensuit sur le taux de survie et le pourcentage des deux ferments lactiques (culture mixte)

Streptococcus thermophilus et *Lactobacillus acidophilus*

par

A. JABARIT

Introduction

Dans cette dernière partie de notre étude comparative concernant l'influence des traitements thermiques aux températures basses sur la variation physico-chimique du milieu de culture naturel, le taux de viabilité et le pourcentage respectif des deux ferments lactiques présents sont, à savoir :

- *Streptococcus thermophilus*.
- *Lactobacillus acidophilus*.

Les conditions de travail étaient identiques à celles des quatre autres cultures mixtes ; tant pour les températures de congélation que pour les conditions de cryodessiccation.

Les résultats obtenus indiquent la symbiose et l'effet stimulant de la culture mixte, ainsi que la résistance physiologique des ferments lactiques sont différents.

Une étude ultérieure concernera, le comportement de ces cinq cultures mixtes dans des milieux cryoconcentrés d'une part et en présence de substances protectrices et stimulantes d'autre part.

Identification des micro-organismes réactifs utilisés

Il s'agit des deux ferments lactiques suivants :

- *Streptococcus thermophilus*,
- *Lactobacillus acidophilus*,

provenant de l'Ecole Polytechnique Fédérale de Zurich, régénérés et conservés dans notre laboratoire, sous forme de cultures pures et mixtes, à l'état frais et cryodesséchées.

I. — *STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS*

1.1. ORIGINE

C'est une souche pure de provenance de l'Institut du lait de l'Ecole Polytechnique de Zurich, sous l'immatriculation *Streptococcus thermophilus* (M.T.I.) 44-66.

1.2. ASPECT MICROSCOPIQUE

Les ferments lactiques streptocoques thermophiles sont de forme sphérique en chaînettes régulières, d'une dimension de 2μ environ, présentés toujours deux par deux. Les streptocoques ont une coloration Gram positif.

1.3. CARACTÉRISTIQUES TAXONOMIQUES

Streptocoque thermophile : c'est un streptocoque homo-fermentatif très répandu dans les produits laitiers, exigeant de la nourriture azotée et vitaminique groupe B et des acides aminés. La fermentation du lactose est un caractère majeur des ferments lactiques.

a) Caractères cultureux

Sur le milieu spécifique Man-Rogosa et Sharpe (M.R.S.) gélifié, les streptocoques donnent de petites colonies ponctiformes. Les colonies se forment plus aisément en profondeur qu'en surface.

b) Caractères biochimiques

— Culture à 10°C : négatif ; culture à 37°C : positif ; culture à 45°C : positif ; survie à 63°C pendant 30 mn : positif ; fermentation du glucose et production de CO_2 : négatif ; réduction rapide du lait tournesolé : négatif (réduction avant coagulation) ; production d'acétone : négatif ; production d'ammoniaque en hydrolysant de l'arginine : négatif ; croissance en présence de chlorure de sodium : 2 p. 100 : négatif, 4 p. 100 : négatif, 6,5 p. 100 : négatif.

— Sucres fermentés : lactose, glucose, galactose, saccharose : positif ; pentose, maltose, momitol, salicine : négatif.

— Non pathogène.

II. — *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS*

2.1. ORIGINE

C'est un micro-organisme thermophile. Il a été isolé pour la première fois à partir de faeces d'enfants nourris au lait. Bien qu'il ressemble au lactobacille bulgare, il existe des différences taxonomiques très nettes entre ces deux espèces. Le lactobacille acidophile produit de l'acide lactique DL, et fermente une gamme plus étendue de sucres. De plus, il est très résistant à la bile.

La souche est pure de provenance de l'Institut du lait de l'Ecole Fédérale Polytechnique de Zurich, sous l'immatriculation *Lactobacil-*

lus acidophilus 3009-9-7-57, réhydratée et régénérée dans notre laboratoire.

2.2. ASPECT MICROSCOPIQUE

Les lactobacilles acidophiles sont souvent seules ou par paire sous forme de bâtonnets ou S (courte chaîne) les extrémités arrondies d'une dimension de 0,6 à 0,9 $\times$ 1,5 à 6 μ immobiles.

Les lactobacilles ont une coloration Gram positif, les vieilles cultures ont souvent une coloration Gram négatif.

2.3. CARACTÉRISTIQUES TAXONOMIQUES

Le *Lactobacillus acidophilus* est biochimiquement bien distinct, à savoir :

— L'acidification dans le lait est faible, de nombreux sucres différents peuvent être assimilés. Cette espèce est la seule à pouvoir s'implanter parmi la flore intestinale des enfants nourris au biberon. On la trouve souvent aussi dans les faeces de l'homme adulte et des mammifères. La possibilité de se multiplier dans l'intestin, pour le lactobacille acidophile est très intéressante.

a) Caractères cultureux

Sur les milieux spécifiques tels que : Wort Agar ou jus de tomate gélifié, les lactobacilles sur la surface donnent des colonies plus grandes.

Par contre, dans la profondeur ils donnent des petites colonies irrégulières. Ne se développent pas sur le milieu gélatine à 20° C et ne produisent pas la liquéfaction de celui-ci. Ne se développent pas sur un milieu naturel comme la pomme de terre.

b) Caractères biochimiques

— Culture à 15° C : négatif ; culture à 20° C - 22° C : négatif ; culture à 45° C : positif ; température optimale : 37° C ; température maximale : 43° C à 48° C ; résistance à 60° C/90 mn : négatif ; résistance à 65° C/30 mn : négatif ; acide (p. 100) dans le lait : 0,8 ; configuration de l'acide lactique : DL ; production du gaz à partir du sucre : négatif ; production d'HN₃ à partir de l'arginine : négatif ; culture en Na cl 2 p. 100 : positif ; culture en Na cl 4 p. 100 : positif ; exigences nutritionnelles : riboflavine, acide folique et cyanocobalamine (R.F.S.) ; fermentation des sucres : arabinose et xylose : négatif.

— Fermentation des sucres comme : glucose : positif ; galactose : positif ; lactose : positif ; maltose : positif ; salicine : positif ; saccharose : positif ; tréhalose : positif ; hydrolyse de l'esculine : négatif ; croissance avec 1 p. 100 et 3 p. 100 de bile : positif.

Il s'agit ici du pourcentage de bile liquide et non de bile sèche ou de sels biliaires. La bile employée était une solution à 10 p. 100

de bile de bovin séchée (oxoid). Le milieu à 1 p. 100 de bile contient donc 0,1 p. 100 de bile sèche.

Travail réalisé

1) La préparation de milieu de culture se fait à partir du lait écrémé en poudre ayant 14 p. 100 de matière sèche. La quantité est de 1,8 l chauffé à l'autoclave 90° C - 100° C pendant 45 mn.

Après l'autoclavage, on refroidit à 45° C sous l'eau courante, ce milieu de culture naturelle est prêt pour êtreensemencé.

2) La préparation du levain et l'ensemencement, se font avec l'inoculum à partir des souches pures : streptocoque thermophile et lactobacille acidophile âgées de 18 à 24 h. L'inoculum lui-même est conservé à l'état frais au froid à 2° C à 4° C, réchauffé à la température ambiante (22° C - 24° C) juste avant l'ensemencement. La dose d'ensemencement est de 2,5 p. 100. La durée de l'étuvage est de 1 h 30 à 2 h à la température de 42° C.

Laisser refroidir le yoghourt progressivement jusqu'à la phase stationnaire.

Les souches de ferments lactiques elles-mêmes sont conservées dans notre laboratoire à l'état frais et cryodesséchées sous forme de culture pure et mixte.

3) Prélèvement, contrôle physico-chimique et test de viabilité s'effectuent systématiquement, pour mesurer le pH et l'acidité lactique au gramme par litre : connue sous l'appellation en degré Dornic en France, test de viabilité par la méthode de coagulase, ce qui nous permet de déterminer la fin de la phase logarithmique de croissance des ferments lactiques ainsi que l'évolution du pH et la quantité de l'acide lactique dans le yoghourt.

4) CONGÉLATION DE CULTURE MIXTE. Cette phase de l'opération est très importante, car nous cherchons à connaître la résistance de ces souches aux basses températures, à savoir : -20°C , -25°C , -30°C , -35°C et -40°C . La vitesse de congélation varie suivant les températures de congélation appliquées entre 3 à 8 mm à l'heure.

5) Prélèvement, contrôle physico-chimique et surtout le test de viabilité pour déterminer l'action du froid sur le comportement physico-chimique du milieu de culture et en particulier le taux de survie de population et leur pourcentage respectif.

6) CRYODESSICCATION ET SES DIFFÉRENTES PHASES. Les différentes phases de la cryodessiccation du yoghourt sont les suivantes :

- sublimation } dessiccation primaire
 } dessiccation secondaire

Dans cette phase l'eau libre et un certain nombre d'eau liée sont sublimées :

— désorption { dessiccation tertiaire
 ou
 séchage de finition

Cette phase n'est plus sublimation, c'est une sorte de séchage sous vide. La durée et la température du produit sont très importants. On peut facilement dénaturer la structure hysto-chimique du yoghourt ainsi que provoquer la destruction des cellules vivantes.

La variation du pH se fait pendant cette période car un certain nombre de substances (lactose, protides) sont touchées. La durée de cette période est de l'ordre de 5-15 mn et la température du produit 30° C - 35° C.

8) DÉTERMINATION DE L'HUMIDITÉ RÉSIDUELLE DES PRODUITS CRYODESSÉCHÉS. La détermination de l'humidité résiduelle dans les produits cryodesséchés est très importante, car le pourcentage d'eau résiduelle prouve la qualité du produit cryodesséché. En particulier le taux de survie de la population (ferments lactiques) ainsi que la dégradation hysto-chimique au cours du vieillissement du produit. La durée de conservation, les qualités des produits cryodesséchés dépendent du pourcentage de l'humidité résiduelle. Dans le cas où celui-ci est supérieur à 4 p. 100 la durée de conservation du produit cryodesséché ne peut pas dépasser plus de six mois. L'humidité entre 1 à 2 p. 100 permet la conservation de denrée alimentaire (yoghourt) plus d'un an. La déshydratation trop poussée au-dessous de 1 p. 100 n'est pas souhaitable pour un yoghourt cryodesséché. Le yoghourt cryodesséché est mis en emballage sous vide et compensé à l'azote sec.

9) TEST DE RÉHYDRATATION, ANALYSES ORGANOLEPTIQUES. D'après les tests de réhydratation et les analyses organoleptiques qui se font d'une façon systématique, le yoghourt cryodesséché réhydraté : (14 g du produit ramenés à 100 dans l'eau tiède à 45° C et étuvé à 42° C pendant 2 à 3 h), refroidi à 4° C dans le réfrigérateur, il est prêt à déguster le lendemain. Le produit à déguster est réchauffé à la température de l'ambiance (20° C). L'aspect général du produit réhydraté est satisfaisant, à savoir : la couleur est blanche, la texture est granuleuse ou lisse plus ou moins ferme, souvent, il ressemble au yoghourt dit bulgare. Au cas où ce yoghourt serait présenté sous forme aromatisé, il serait impossible de distinguer entre un yoghourt cryodesséché-réhydraté et celui du frais aromatisé.

Par conséquent, dans l'immédiat, il est intéressant d'envisager dans un premier temps de faire du yoghourt cryodesséché aux différents parfums ou tout simplement plus ou moins sucré et fruité.

Durée de la cryodessiccation suivant la température de chauffage

(température de congélation à -20°C)

Température de chauffage	Dessiccation		Désorption	Durée du cycle en heures	Observations
	primaire	secondaire			
80° C	7 h	3 h	10 mn	10 h 10	
90° C	7 h	2 h	30 mn	9 h 30	
100° C	7 h	40 mn	7 mn	7 h 47	
110° C	5 h 20	3 h 10	15 mn	8 h 45	
120° C	4 h 20	1 h 15	40 mn	6 h 15	

(température de congélation à -25°C)

Température de chauffage	Dessiccation		Désorption	Durée du cycle en heures	Observations
	primaire	secondaire			
80° C	6 h 50	2 h 40	10	8 h 10	
90° C	6 h	2 h 30	5	8 h 35	
100° C	5 h 20	1 h 40	15	7 h 05	
110° C	6 h 15	50	5	7 h 10	
120° C	4 h	2 h 50	20	7 h 10	

Durée de la cryodessiccation suivant la température de chauffage

(température de congélation à -30°C)

Température de chauffage	Dessiccation		Désorption	Durée du cycle en heures	Observations
	primaire	secondaire			
80° C	5 h 20	1 h 40	30 mn	8 h 30	
90° C	6 h 40	2 h	20 mn	9 h	
100° C	6 h 20	2 h 10	10 mn	8 h 40	
110° C	5 h	2 h	10 mn	7 h 10	
120° C	5 h 10	2 h	5 mn	7 h 15	

(température de congélation à -35°C)

Température de chauffage	Dessiccation		Désorption	Durée du cycle en heures	Observations
	primaire	secondaire			
80° C	8 h	2 h	15 mn	10 h 15	
90° C	8 h	4 mn	10 mn	8 h 50	
100° C	6 h 30	1 h 40	20 mn	8 h 30	
110° C	6 h 10	1 h 15	5 mn	7 h 30	
120° C	4 h 20	3 h	20 mn	7 h 20	

Durée de la cryodessiccation suivant la température du chauffage

(température de congélation à -40°C)

Température de chauffage	Dessiccation		Désorption	Durée du cycle en heures	Observations
	primaire	secondaire			
80° C	6 h 30	1 h 45	20 mn	8 h 35	
90° C	8 h	1 h	10 mn	9 h 10	
100° C	6 h 30	2 h 30	15 mn	9 h 15	
110° C	5 h 30	2 h 50	20 mn	8 h 10	
120° C	5 h 30	1 h 30	15 mn	7 h 15	

Voici quelques exemples de la variation du pH du yoghourt au cours de la cryodessiccation.

+ la température de congélation pour ces yaourts qui était de -20°C

Température de chauffage	80° C	90° C	100° C	110° C	120° C	Observations
Le pH du yaourt frais	4,3	4,6	4,3	4,5	4,4	
Le pH du yaourt cryodesséché réhydraté	4,2	4,5	4,2	4,4	4,3	

+ la température de congélation pour ces yaourts qui était de -25°C

Température de chauffage	80° C	90° C	100° C	110° C	120° C	Observations
Le pH du yaourt frais	4,60	4,70	4,40	4,25	4,8	
Le pH du yaourt cryodesséché réhydraté	4,55	4,60	4,35	4,20	4,7	

+ la température de congélation pour ces yaourts qui était de -30°C

Température de chauffage	80° C	90° C	100° C	110° C	120° C	Observations
Le pH du yaourt frais	4,50	4,25	4,25	4,40	4,45	
Le pH du yaourt cryodesséché réhydraté	4,45	4,20	4,20	4,35	4,40	

+ la température de congélation pour ces yaourts qui était de -35°C

Température de chauffage	80° C	90° C	100° C	110° C	120° C	Observations
Le pH du yaourt frais	4,35	4,40	4,30	4,25	4,50	
Le pH du yaourt cryodesséché réhydraté	4,30	4,35	4,20	4,20	4,40	

+ la température de congélation de ces yaourts qui était de -40°C

Température de chauffage	80° C	90° C	100° C	110° C	120° C	Observations
Le pH du yaourt frais	4,30	4,25	4,30	4,25	4,20	
Le pH du yaourt cryodesséché réhydraté	4,20	4,20	4,20	4,20	4,10

fig. 1

Yoghourt à base de ferments lactiques :

- Streptocoque thermophile.
- Lactobacille acidophile.

Influence de la température de congélation — 20° C et la cryodessiccation qui s'ensuit sur le taux de survie des deux ferments lactiques :

Streptococcus thermophilus et *Lactobacillus acidophilus*

Température de chauffage en °C		80	90	100	110	120	Observations
Nombre des ferments lactiques (culture mixte) viables par ml	frais	10 ⁹	10 ¹⁰	10 ¹¹	10 ⁹	10 ¹⁰	La méthode de contrôle de viabilité des ferments lactiques est basée sur le Nombre le Plus Probable (N.P.P.) Hoskins.
	congelé à — 20° C	10 ⁹	10 ⁹	10 ¹⁰	10 ⁹	10 ⁹	
	cryo-desséché	10 ⁹	10 ⁹	10 ¹⁰	10 ⁹	10 ⁹	

Le nombre des ferments lactiques viables dans le yaourt frais est de 10¹⁰.

Le nombre des ferments lactiques viables dans le yaourt congelé à — 40° C est de...

Le nombre des ferments lactiques viables dans le yaourt cryodesséché est de 10⁹.

Influence de la température de congélation — 20° C et de la cryodessiccation qui s'ensuit sur le pourcentage des deux ferments lactiques (culture mixte) :

Streptococcus thermophilus et *Lactobacillus acidophilus*

Température de chauffage en °C			80	90	100	110	120	Observations
Pourcentage des deux ferments lactiques dans 1 ml de yaourt	frais	strepto.	51	50	50	50	50	- La méthode employée est l'examen microscopique sur les frotis colorés au bleu de méthylène.
		lacto.	49	50	50	50	50	
	congelé à — 20° C	strepto.	55	56	54	57	58	- Un contrôle parallèle par la méthode de numération globale avec le mélangeur de Potain et la cellule de Malassez et Vignal a été effectué.
		lacto.	45	44	46	43	42	
	cryo-desséché	strepto.	52	52	51	52	53	
		lacto.	48	48	49	48	47	

- Le pourcentage moyen des deux ferments lactiques respectifs est de 50 p. 100 pour le streptocoque et 50 p. 100 pour le lactobacille, dans la culture mixte fraîche.
- Le pourcentage moyen de ces deux ferments lactiques respectifs (culture mixte) congelés à — 20° C est de 56 p. 100 pour le streptocoque et 44 p. 100 pour le lactobacille.
- Le pourcentage moyen de ces deux ferments lactiques respectifs cryodesséchés réhydratés est de 52 p. 100 pour le streptocoque et 48 p. 100 pour le lactobacille.

Influence de la température de congélation — 25° C et la cryodessiccation qui s'ensuit sur le taux de survie des deux ferments lactiques :

Streptococcus thermophilus et *Lactobacillus acidophilus*

Température de chauffage en °C		80	90	100	110	120	Observations
Nombre des ferments lactiques (culture mixte) viables par ml	frais	10 ¹⁰	10 ¹⁰	10 ¹¹	10 ¹¹	10 ¹⁰	La méthode de contrôle de viabilité des ferments lactiques est basée sur le Nombre le Plus Probable (N.P.P.) Hoskins.
	congelé à — 25° C	10 ⁹	10 ⁹	10 ¹⁰	10 ¹⁰	10 ¹⁰	
	cryo-desséché	10 ⁹	10 ⁹	10 ¹⁰	10 ¹⁰	10 ⁹	

Le nombre des ferments lactiques viables dans le yaourt frais est de 10¹⁰.

Le nombre des ferments lactiques viables dans le yaourt congelé à — 40° C et de — 25° C est de 10⁹.

Le nombre des ferments lactiques viables dans le yaourt cryodesséché est de 10⁹.

Influence de la température de congélation — 25° C et de la cryodessiccation qui s'ensuit sur le pourcentage des deux ferments lactiques (culture mixte) :

Streptococcus thermophilus et *Lactobacillus acidophilus*

Température de chauffage en °C			80	90	100	110	120	Observations
Pourcentage des deux ferments lactiques dans 1 ml de yaourt	frais	strepto.	52	54	52	51	53	- La méthode employée est l'examen microscopique sur les frotis colorés au bleu de méthylène.
		lacto.	48	46	48	49	47	
	congelé à — 25° C	strepto.	54	55	59	57	53	- Un contrôle parallèle par la méthode de numération globale avec le mélangeur de Potain et la cellule de Malassez et Vignal a été effectué.
		lacto.	46	45	41	43	47	
	cryo-desséché	strepto.	56	52	54	52	55	
		lacto.	44	48	46	48	45	

- Le pourcentage moyen des deux ferments lactiques respectifs est de 52,4 p. 100 pour le streptocoque et de 47,6 p. 100 pour le lactobacille, dans la culture mixte fraîche.
- Le pourcentage moyen de ces deux ferments lactiques respectifs (culture mixte) congelés à — 25° C est de 55,6 p. 100 pour le streptocoque et 44,4 p. 100 pour le lactobacille.
- Le pourcentage moyen de ces deux ferments lactiques respectifs cryodesséchés réhydratés est de 53,8 p. 100 pour le streptocoque et 46,2 p. 100 pour le lactobacille.

Influence de la température de congélation — 30° C et la cryodessiccation qui s'ensuit sur le taux de survie des deux ferments lactiques :

Streptococcus thermophilus et *Lactobacillus acidophilus*

Température de chauffage en °C		80	90	100	110	120	Observations
Nombre des ferments lactiques (culture mixte) viables par ml	frais	10 ¹⁰	10 ¹⁰	10 ¹²	10 ¹⁰	10 ¹¹	La méthode de contrôle de viabilité des ferments lactiques est basée sur le Nombre le Plus Probable (N.P.P.) Hoskins.
	congelé à — 30° C	10 ¹⁰	10 ¹⁰	10 ¹⁰	10 ¹⁰	10 ¹⁰	
	cryo-desséché	10 ¹⁰	10 ¹⁰	10 ¹⁰	10 ¹⁰	10 ¹⁰	

Le nombre des ferments lactiques viables dans le yaourt frais est de 10¹¹ par ml.

Le nombre des ferments lactiques viables dans le yaourt congelé à — 30° C est de 10¹⁰ par ml.

Le nombre des ferments lactiques viables dans le yaourt cryodesséché est de 10¹⁰ par ml.

Influence de la température de congélation — 30° C et de la cryodessiccation qui s'ensuit sur le pourcentage des deux ferments lactiques (culture mixte) :

Streptococcus thermophilus et *Lactobacillus acidophilus*

Température de chauffage en °C			80	90	100	110	120	Observations
Pourcentage des deux ferments lactiques dans 1 ml de yaourt	frais	strepto.	51	51	50	50	50	- La méthode employée est l'examen microscopique sur les frotis colorés au bleu de méthylène.
		lacto.	49	49	50	50	50	
	congelé à — 30° C	strepto.	57	57	59	56	56	- Un contrôle parallèle par la méthode de numération globale avec le mélangeur de Potain et la cellule de Malassez et Vignal a été effectué.
		lacto.	43	43	41	44	44	
	cryo-desséché	strepto.	54	53	52	52	53	
		lacto.	46	47	48	48	47	

- Le pourcentage moyen des deux ferments lactiques respectifs est de 50 p. 100 pour le streptocoque et 50 p. 100 pour le lactobacille, dans la culture mixte fraîche.
- Le pourcentage moyen de ces deux ferments lactiques respectifs (culture mixte) congelés à — 30° C est de 57 p. 100 pour le streptocoque et 43 p. 100 pour le lactobacille.
- Le pourcentage moyen de ces deux ferments lactiques respectifs cryodesséchés réhydratés est de 52,8 p. 100 pour le streptocoque et 47,2 p. 100 pour le lactobacille.

Influence de la température de congélation — 35° C et la cryodessiccation qui s'ensuit sur le taux de survie des deux ferments lactiques :

Streptococcus thermophilus et *Lactobacillus acidophilus*

Température de chauffage en °C		80	90	100	110	120	Observations
Nombre des ferments lactiques (culture mixte) viables par ml	frais	10 ¹⁰	10 ¹⁰	10 ¹⁰	10 ¹¹	10 ¹¹	La méthode de contrôle de viabilité des ferments lactiques est basée sur le Nombre le Plus Probable (N.P.P.) Hoskins.
	congelé à — 35° C	10 ⁹	10 ⁹	10 ⁹	10 ¹⁰	10 ¹⁰	
	cryo-desséché	10 ⁹	10 ⁸	10 ⁹	10 ¹⁰	10 ⁸	

Le nombre des ferments lactiques viables dans le yaourt frais est de...

Le nombre des ferments lactiques viables dans le yaourt congelé à — 35° C est de...

Le nombre des ferments lactiques viables dans le yaourt cryodesséché est de...

Influence de la température de congélation — 35° C et de la cryodessiccation qui s'ensuit sur le pourcentage des deux ferments lactiques (culture mixte) :

Streptococcus thermophilus et *Lactobacillus acidophilus*

Température de chauffage en °C			80	90	100	110	120	Observations
Pourcentage des deux ferments lactiques dans 1 ml de yaourt	frais	strepto.	51	53	50	51	51	- La méthode employée est l'examen microscopique sur les frot-tis colorés au bleu de méthylène.
		lacto.	49	47	50	49	49	
	congelé à — 35° C	strepto.	54	55	57	52	52	- Un contrôle parallèle par la méthode de numération globale avec le mélangeur de Potain et la cellule de Malassez et Vignal a été effectué.
		lacto.	46	45	43	48	48	
	cryo-desséché	strepto.	55	57	54	56	56	
		lacto.	45	43	46	44	44	

- Le pourcentage moyen des deux ferments lactiques respectifs est de... pour le streptocoque et pour le lactobacille, dans la culture mixte fraîche.
- Le pourcentage moyen de ces deux ferments lactiques respectifs (culture mixte) congelés à... est de... pour le streptocoque et... pour le lactobacille.
- Le pourcentage moyen de ces deux ferments lactiques respectifs cryodesséchés réhydratés est de... pour le streptocoque et... pour le lactobacille.

Influence de la température de congélation — 40° C et la cryodessiccation qui s'ensuit sur le taux de survie des deux ferments lactiques :

Streptococcus thermophilus et *Lactobacillus acidophilus*

Température de chauffage en °C		80	90	100	110	120	Observations
Nombre des ferments lactiques (culture mixte) viables par ml	frais	10 ¹⁰	10 ¹⁰	10 ¹⁰	10 ¹⁰	10 ¹¹	La méthode de contrôle de viabilité des ferments lactiques est basée sur le Nombre le Plus Probable (N.P.P.) Hoskins.
	congelé à — 40° C	10 ⁹	10 ⁹	10 ⁹	10 ⁹	10 ¹⁰	
	cryo-desséché	10 ⁹	10 ⁹	10 ⁹	10 ⁸	10 ⁹	

Le nombre des ferments lactiques viables dans le yaourt frais est de 10¹⁰ par ml.

Le nombre des ferments lactiques viables dans le yaourt congelé à — 40° C est de 10⁹ par ml.

Le nombre des ferments lactiques viables dans le yaourt cryodesséché est de 10⁹ par ml.

Influence de la température de congélation — 40° C et de la cryodessiccation qui s'ensuit sur le pourcentage des deux ferments lactiques (culture mixte) :

Streptococcus thermophilus et *Lactobacillus acidophilus*

Température de chauffage en °C			80	90	100	110	120	Observations
Pourcentage des deux ferments lactiques dans 1 ml de yaourt	frais	strepto.	50	50	50	51	50	- La méthode employée est l'examen microscopique sur les frotis colorés au bleu de méthylène.
		lacto.	50	50	50	49	50	
	congelé à — 40° C	strepto.	59	57	59	58	57	- Un contrôle parallèle par la méthode de numération globale avec le mélangeur de Potain et la cellule de Malassez et Vignal a été effectué.
		lacto.	51	43	41	42	43	
	cryo-desséché	strepto.	55	54	52	54	53	
		lacto.	45	46	48	46	47	

- Le pourcentage moyen des deux ferments lactiques respectifs est de 50 p. 100 pour le streptocoque et de 50 p. 100 pour le lactobacille, dans la culture mixte fraîche;
- Le pourcentage moyen de ces deux ferments lactiques respectifs (culture mixte) congelés à — 40° C est de 58 p. 100 pour le streptocoque et 42 p. 100 pour le lactobacille.
- Le pourcentage moyen de ces deux ferments lactiques respectifs cryodesséchés réhydratés est de 53,6 p. 100 pour le streptocoque et 46,4 p. 100 pour le lactobacille.

Graphique n° 1

Influence des basses températures sur le taux de survie des ferments lactiques :
streptocoque thermophile et lactobacille acidophile dans le yoghourt
avant la phase stationnaire

——— congelé ; - - - - - cryodesséché

On constate que le taux de population diminue progressivement à partir de la température de congélation de -5°C .

La perte des ferments lactiques se stabilise à partir de -20°C .

Les températures très basses : -25°C , -30°C , -35°C et -40°C , n'ont pas un rôle destructif sur le taux de survie de ces ferments lactiques.

Ce graphique a été établi sur la moyenne de 5 courbes correspondant pour chaque température de congélation, sauf pour le yoghourt frais dont le taux de population a été calculé sur une moyenne de 25 échantillons.

Graphique n° 2

Influence des températures basses et de la cryodessiccation qui s'ensuit sur le pourcentage de deux ferments lactiques revivifiables

On constate une disproportion entre les deux ferments lactiques à partir de la température de congélation de -5°C .

La disproportion s'accroît au maximum à la température de congélation de -20°C .

La disproportion du pourcentage respectif des ferments lactiques présents se stabilise entre -20°C et -30°C .

La disproportion du pourcentage respectif s'affaiblit à la cryodessiccation qui s'ensuit jusqu'à la température de congélation de -30°C .

Ce graphique a été établi sur la moyenne de 5 courbes correspondant pour chaque température de congélation, sauf pour le yoghourt frais dont le pourcentage respectif de ferments lactiques présents a été calculé sur une moyenne de 25 échantillons.

Conclusions générales

Pour ces expériences, nous avons choisi deux ferments lactiques :

— *Streptococcus thermophilus*

— *Lactobacillus acidophilus*

pour essayer de connaître quelle était l'influence des basses températures sur le comportement physico-chimique et la viabilité de ceux-ci.

En effet, nous avons obtenu des résultats reproductibles prouvant la sensibilité des ferments lactiques étudiés, en fonction des températures de congélation.

Nous pouvons donc classer quantitativement les influences des températures basses en plusieurs catégories :

1° La perte des ferments lactiques augmente progressivement jusqu'à -20°C d'une façon sensible.

2° La disproportion entre les deux ferments lactiques s'affaiblit à la température de -30°C , de sorte que, le pourcentage respectif des ferments lactiques présents devient presque négligeable à -35°C et -40°C .

D'une façon générale, d'après nos expérimentations de ces dernières années qui portent sur un certain nombre de ferments lactiques tels que :

- 1) Streptocoque thermophile. Lactobacille bulgare.
- 2) Streptocoque lactique. Lactobacille acidophile.
- 3) Streptocoque thermophile. Lactobacille helvétique.
- 4) Streptocoque lactique. Lactobacille helvétique.
- 5) Streptocoque thermophile. Lactobacille acidophile.

Nous pouvons classer quantitativement ces ferments lactiques, suivant le taux de survie et le pourcentage respectif présents dans les milieux de cultures naturels (lait écrémé de 12 à 14 p. 100 de matière sèche) cryodesséchés en plusieurs catégories, à savoir :

1° Le taux de survie des ferments lactiques : streptocoque thermophile et lactobacille helvétique est de l'ordre de 13 à 15 p. 100.

2° Le taux de population viable des ferments lactiques : streptocoque lactique et lactobacille acidophile est de l'ordre de 12 à 13 p. 100.

3° Le taux de population viable pour les ferments lactiques : streptocoque lactique et lactobacille helvétique d'une part et streptocoque thermophile et lactobacille bulgare d'autre part est de l'ordre de 10 à 12 p. 100.

4° Le taux de population viable pour les ferments lactiques : streptocoque thermophile et lactobacille acidophile est de l'ordre de 10 p. 100.

Les températures basses à partir de -20°C ont un effet nuisible sur les ferments lactiques étudiés dans des conditions de travail identique.

La disproportion du pourcentage respectif entre les ferments lactiques présents s'affaiblit à partir de la température de congélation de -30°C , de sorte que, cet écart devient négligeable à la température de congélation de -40°C .

Les lactobacilles sont moins résistants au départ et subissent une perte énorme. Mais à partir de la température de -25°C la résistance physiologique des streptocoques diminue, de sorte que l'écart de la disproportion entre les deux ferments lactiques ayant une symbiose ou une vie non symbiotique (un simple mélange de culture), s'affaiblit.

Nous pouvons donc en conclure que dans la pratique industrielle, il est préférable de congeler les cultures mixtes de ferments lactiques destinés à la cryodessiccation aux températures de congélation à partir de -30°C / -35°C même à -40°C .

Par ailleurs, la cryodessiccation qui suit cette congélation peut améliorer, dans une certaine mesure, l'écart du pourcentage respectif des ferments lactiques présents. Celle-ci est très importante pour la réhydratation-reconstitution des cultures mixtes cryodesséchées. Son importance est de l'ordre physico-hysto-chimique, biologique et les qualités organoleptiques, à savoir : l'acidité, le pH, la viabilité, le temps d'incubation, l'arôme, la texture, le goût, etc.

Enfin, nous pouvons suggérer aux industries alimentaires, pharmaceutiques, para-pharmaceutiques et diététiques l'emploi de cette technique de conservation des ferments lactiques. En ce qui concerne l'industrie du yoghourt (laits fermentés), en particulier, il est préférable de considérer l'emploi des ferments lactiques cryodesséchés soit pour la période de pointe, soit pour les yoghourt aromatisés, sucrés, semi-liquides, etc.

Bien entendu, la conservation des souches sous forme pure ou mixte pour longue durée en tant que levain est une des meilleures solutions pour les partisans des yoghourts.

Résumé

D'après les résultats obtenus à la suite de nos expérimentations et en ce qui concerne l'influence des basses températures sur le taux de viabilité et le pourcentage respectif des deux ferments lactiques présents ; le taux de survie et le pourcentage respectif des ferments lactiques avant et après la cryodessiccation peuvent varier de 10^{10} à 10^{11} pour le premier et de 10 à 15 p. 100 dans le milieu naturel (lait écrémé), suivant les souches de culture mixte.

Summary

According to result of our experimentation, concerning the effect of freezing and freeze-drying on viability and percentage of Lactic acid bacteria ; we found out that in the skin milk viability is about

10^{10} to 10^{11} and percentage varied between 10 to 15 p. 100 following the mixte culture (symbiosis) of lactic acid bacteria.

Remerciements

Nous remercions M. le Professeur Keilling notre conseiller permanent, ainsi que le Professeur Ulrich pour leur concours scientifique.

Nous remercions bien vivement M. le Professeur Thieulin des précieux conseils qu'il a bien voulu nous donner pour la rédaction et la présentation de cet ouvrage.

Bibliographie

- [1] JABARIT (A.) (1969). — Influence de la congélation et de la cryodessiccation sur le taux de survie et le pourcentage des ferments lactiques dans le yaourt (SOCALTRA, Centre de Recherche, 128, bd Victor-Hugo (92) Clichy). *Le Lait*, n° 483-484, 160.
 - [2] JABARIT (A.) (1969). — Influence de la congélation et de la cryodessiccation sur le taux de survie et le pourcentage des ferments lactiques dans le bioghourt (SEPIAL, Centre de Recherche, 128, bd Victor-Hugo (92) Clichy). *Le Lait*, n° 488, 530.
 - [3] JABARIT (A.) (1970). — Influence de la congélation et de la cryodessiccation sur le taux de survie et le pourcentage des ferments lactiques dans le yoghourt à base de ferments lactiques : *Streptococcus lactis* et *Lactobacillus heveticus* (SEPIAL, Centre de Recherche, 128, bd Victor-Hugo (92) Clichy). *Le Lait*, n° 497, 391.
 - [4] JABARIT A. (1970). — Influence de la congélation et de la cryodessiccation sur le taux de survie et le pourcentage des ferments lactiques dans le yoghourt helvétique (SEPIAL, Centre de Recherche, 128, bd Victor-Hugo (92) Clichy). *Le Lait*, n° 498, 544.
 - [5] ORLA-JENSON (S.) (1919-1943). — The lactic acid Bacterial. Copenhagen.
 - [6] BERGEY (D. H.) (1957). — Manuel of determinative Bacteriology 7 th, edition Baltimore the, Williams and Wilkins Compagny.
-