

MAST-RTU-203/02



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université ABOU BEKR BELKAID –Tlemcen

Faculté des Sciences de la Nature de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers
Département de Biologie

Laboratoire de Recherche en Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au
Biomédical et à l'Environnement (LAMAABE)

MÉMOIRE

Inscrit Sous le N° 6078
Date : 18-04-2012
Cote :

Présenté par: M^{lle} MAATA Melouka

En vue de l'obtention du diplôme de

Master en Biologie Moléculaire et Cellulaire

Option : Microbiologie



*Etude de la thermorésistance chez la flore dominante de
contamination de trois variétés de couscous commercialisés dans
la région de Tlemcen*

Soutenu le : 04/04/2012 ;

Devant le jury composé de :

Président : Mr D. ABDELOUAHID

Promoteur : Mr B.MOUSSA BOUDJEMAA

Examineur : Mr S.A. RIBIAHI

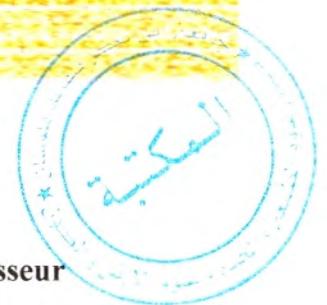
Examineur : Mme N.BENDIMERAD

Professeur

Professeur

Maitre Assistant (A)

Maitre Assistante (A)



Année universitaire 2011/2012

Remerciements

Ce travail a été réalisé au sein du Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire au Biomédical et à l'Environnement (LAMAABE) de l'Université ABOU BAKR BELKAID de Tlemcen,

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à M. **B. MOUSSA BOUDJEMAA** mon Directeur de thèse, Directeur du Lamaabe, Professeur au département de Biologie, Faculté des SNV/STU de l'université *Abou Bakr Belkaid*, qui m'a suivi et encouragé. Je tiens à le remercier pour son infinie patience et pour la très grande liberté qu'il m'a accordée dans la conduite de ce travail.

Mes remerciements vont également à Monsieur **D. ABDELOUAHID** Professeur au département de Biologie, faculté des sciences, l'université *Abou Bakr Belkaid*, qui ma a fait l'honneur de présider le jury qui a jugé ce travail.

J'adresse mes remerciements à Monsieur **S.A. RIBIAHI**, Maitre assistant (A), au département de biologie, faculté des sciences, de l'université *Abou Bakr Belkaid*, pour sa disponibilité à juger ce travail.

Je tiens à remercier Madame **N. BENDIMERAD**, Maitre assistante (A), au département de biologie, faculté des sciences, de l'université *Abou Bakr Belkaid*, pour avoir acceptée de siéger parmi les membres du jury.

Je remercie également tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail spécialement :

Mes parents, Lily, M^{me} Malek, et M^{elle} Driss khodja.



M^{elle} MAATA



Dédicaces

Je rends grâce à dieu, tout puissant qui m'a accordé la patience nécessaire à la réalisation de ce modeste travail que je dédie chaleureusement :

A mes très chers parents pour les efforts et les sacrifices qu'ils ont consent

Mon binôme transparente Benseddik Leila (Lily) pour m'avoir aidé tout au long de ce travail.

A mes sœurs Fatima, Karima, Mahdia, Djihad et Ikram.

A mes frères Amine, Abd El Samad et spécialement Abdelkader.

A mes beaux frères : Abdelkader, Bouelam, Mokhtar.

A toutes les fleurs de la famille : Baraa, Fatima, Akram, Asmaa, Sarra, Meriem, Mohammed, Khadidja, Ilham, Hadjer, Kawetar et Ibrahim alKhalil.

A la famille Benseddik surtout Imane.

A mes amies : Souad (Nada), Zahira, Siham, Souad, Karima, Samia, Samira, Nessrine, Nabila, Nadjet, Timimoun, Aicha, Halima, Nassera et H. Baali.

A mes grandes mères, et mes grands pères, ainsi à toute ma famille sans exception.

A tous mes enseignants depuis le premier.

Je tiens à remercier M^{lle} Driss Khodja Fatima pour son aide.

Je dédie également l'équipe du laboratoire (LAMAABE) surtout : Khadidja, Meriem, Nassima, Asmaa, Karima, Samia et Nadia.

M^{lle} Melouka

Liste des tableaux

Tableau N° I :	Les couscous utilisés pour l'étude.....	01
Tableau N° II :	Les taux d'humidité des trois marques du couscous.....	08
Tableau N° III :	Résultats de dénombrements de la flore totale de Couscous « A ».....	09
Tableau N° IV :	Résultats de dénombrements de la flore totale de Couscous « M ».....	10
Tableau N° V :	Résultats de dénombrements de la flore totale de Couscous « S ».....	11
Tableau N° VI :	Caractères macroscopiques des colonies de la flore totale de couscous..	12
Tableau N° VII :	Les résultats des tests d'identification de la flore dominante.....	14
Tableau N° VIII :	Synthèse des résultats d'identification de la flore totale de couscous.....	19
Tableau N° IX :	Les valeurs D de la flore dominante de couscous	22
Tableau N° X :	L'influence de l a _w sur les valeurs D de <i>Bacillus subtilis</i>	23

Liste des figures

Figure 01:	Les étapes de fabrication du couscous	04
Figure 02:	Le poids de couscous « M » + boîte avant le traitement thermique.....	08
Figure 03:	Les échantillons dans un dessiccateur après le traitement thermique.....	08
Figure 04:	Résultats du dénombrement de la flore totale des différentes dates de couscous...	09
Figure 05 :	Résultats du dénombrement de la flore totale des différentes dates de couscous...	10
Figure 06:	Résultats du dénombrement de la flore totale des différentes dates de couscous...	11
Figure 07:	Les types des colonies de la flore totale.....	12
Figure 08:	Purification de la flore dominante du morphotype N° 1.....	13
Figure 09:	Purification de colonie du morphotype N° 2.....	13
Figure 10:	Purification de colonie du morphotype N° 3.....	13
Figure 11:	Purification de colonie du morphotype N° 4.....	13
Figure 12:	Observation microscopique de la flore dominante après coloration de Gram...	14
Figure 13:	Résultat de test d'hémolyse sur gélose au sang de la flore dominante.....	14
Figure 14:	Observation microscopique de colonie du type 2 après coloration de Gram....	15
Figure 15:	Aspect des colonies du type 2 sur gélose nutritive.....	15
Figure 16:	Résultat de test d'hémolyse sur gélose au sang de colonie du type2.....	16
Figure 17:	Résultat d'isolement de colonies du type 2 sur milieu Mossel de base.....	16
Figure 18:	Observation microscopique de colonie du type 3 après coloration de Gram...	17
Figure 19:	Croissance sur milieu de Rothe.....	17
Figure 20:	Croissance sur milieu de Litsky.....	17
Figure 21:	Croissance sur bouillon nutritif à 6.5% de Nacl et pH 9.6.....	17
Figure 22:	Résultat de test d'hémolyse sur gélose au sang de colonie du type 3.....	17

Figure 23:	Observation microscopique de colonies du type 4 après coloration de Gram...	18
Figure 24:	Aspect de colonies N°4 sur milieu Chapman.....	18
Figure 25:	Résultat du test de coagulase.....	18
Figure 26:	Organigramme propre pour les Bactéries Gram Positif (BGP).....	20
Figure 27:	Courbe de survie de la flore dominante (<i>Bacillus spp</i>) à 80 °C.....	21
Figure 28:	Courbe de survie de la flore dominante (<i>Bacillus spp</i>) à 85 °C.....	21
Figure 29:	Courbe de survie de la flore dominante (<i>Bacillus spp</i>) à 90 °C.....	21
Figure 30:	Courbe de survie de la flore dominante (<i>Bacillus spp</i>) à 95 °C.....	21
Figure 31 :	Courbe des valeurs de log D en fonction de la température.....	23

Liste des Abréviations

°C :	Degré Celsius.
a_w :	Activity of water (activité de l'eau)
B.N:	Bouillon Nutritif.
BGP:	Bactéries Gram Positif.
DLUO:	Date Limite d'Utilisation Optimale.
FAO :	Food and Agriculture Organisation (Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'agriculture).
FMAT:	Flore Mésophile Aérobie Totale.
g/L:	gramme par Litre.
GN :	Gélose Nutritive.
Gram (+):	Gram positif.
h:	heures.
log :	logarithme décimal.
mL :	millilitre.
mm :	millimètre.
mn:	minutes.
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé.
P:	poids.
PCA:	Plate Count Agar.
S/C :	Simple concentration.
UFC:	Unité Formant Colonie.

Résumé

Le couscous constitue un plat typique en Algérie, servi notamment aux occasions. On trouve sur le marché local différentes marques de couscous industriel fait à partir d'un mélange d'un tiers de grosses semoules et de deux tiers de fines semoules séchées à 180°C pendant 8 minutes.

Dans ce travail nous avons étudié la thermorésistance d'un représentant de la flore dominante des couscous commercialisés en Algérie. Pour cela, 13 échantillons de couscous ont été acquis de différents points de vente et analysés pour leurs paramètres physicochimiques et microbiologiques.

Les résultats obtenus ont montré que la teneur en humidité du couscous est de 10,5% en moyenne. Elle ne dépasse la norme 13,5% jugée comme limite à risque. Cependant, les échantillons de couscous analysés présentent une charge microbienne qui dépasse les normes de qualité microbiologique exigeant un nombre de la flore totale mésophile ne dépassant pas (10^6 UFC/g) (Norme FAO/OMS).

L'identification des bactéries isolées à partir de couscous a abouti à la mise en évidence de l'existence de quatre types de souches. Ces types avèrent proches de *Bacillus sp.* (morphotype N°1 flore dominante), *Bacillus cereus* (morphotype N° 2), *Enterococcus sp.* (morphotype N° 3) et *Staphylococcus aureus* (morphotype N° 4).

L'étude de la thermorésistance des spores du morphotype N°1 *Bacillus sp.* (la flore dominante) a montré que ce morphotype a $D_{80}=5,45$ min, $D_{85}=2,54$ min, $D_{90}=1,91$ min, D_{95} min=0,57. Cette thermorésistance est également caractérisée par une valeur de $Z=16,34$ °C.

Ces valeurs sont dans la moyenne des valeurs rapportées par la littérature qui restent très hétérogènes.

Mots-Clés: couscous, thermorésistance, flore dominante,



Abstract

The couscous constitutes a typical dish in Algeria; it is used particularly for specific occasions. One can find in the local market various marks of industrial couscous made starting from a mixture of a third of large semolina and two thirds of fine semolina dried with 180°C during 8 minutes.

In this work we studied the thermoresistance of a representative of the dominant flora of the couscous marketed in Algeria. For that, 13 samples of couscous were acquired various retail outlets and were analyzed for their physico-chemical and microbiological parameters.

The results obtained had revealed that the moisture content of the couscous is about 10% on average. It does not exceed the standard 13.5% judged like limit at the risk. However, the samples of analyzed couscous present a microbial load which exceeds the quality standards microbiological requiring a number of the total flora mesophile not exceeding (10^6 UFC/g) (**Standard FAO/OMS**).

The identification of the bacteria isolated starting from couscous led to the setting in evidence of the existence of four type of stocks. These types were identified. It prove to be close to *Bacillus sp.* (morphotype 1: dominant flora), *Bacillus cereus* (morphotype N° 2), *Enterococcus sp* (morphotype N° 3) and *Staphylococcus aureus* (morphotype N° 4).

The study of the thermoresistance of the spores of the morphotype 1 *Bacillus sp* (dominant flora) showed that this morphotype has $D_{80}=5,45\text{min}$, $D_{85}=2,54\text{min}$, $D_{90}=1,91\text{min}$, $D_{95}\text{min}=0,57$. this thermoresistance is also characterized by a value of $Z=16,34^\circ\text{C}$.

These values are in the average of the values reported by the literature which remain very heterogeneous.

Key word: couscous, thermoresistance, dominant flora.

تلخيص

يمثل الكسكس الطبق الرئيسي في الجزائر، يستعمل خاصة في المناسبات. الأسواق الجزائرية غنية بأنواع كثيرة من الكسكس الصناعي، الذي يتكون من ثلث الدقيق السميك وثلث الدقيق الرفيع ويجفف في درجة حرارة 180°م لمدة ثمانية دقائق.

في هذا العمل تمت دراسة المقاومة الحرارية للبكتيريا الغالبية الموجودة في أنواع الكسكس المدروس. لتحصيل هذا الغرض درسنا ثلاثة عشر عينة (13) موجودة في مختلف نقاط البيع.

كما تم تحليلها فيزيوكيميائيا و ميكروبيولوجيا، النتائج المتحصل عليها أظهرت أن متوسط درجة الرطوبة الموجودة في الكسكس تصل إلى 10.5 بالمئة، وهذه النسبة لا تتجاوز 13.5 بالمئة القيمة المتفق عليها عالميا، بينما العينات الخاصة بالكسكس أظهرت أنها تحتوي على كمية من البكتيريا تتجاوز معايير الجودة المتفق عليها التي تنص على عدد بكتيري عام لا يتجاوز 10^6 وحدة مكونة للمستعمرة في الغرام الواحد من الكسكس. (Standard FAO/OMS).

إن تحديد هوية البكتيريا المعزولة إنطلاقا من الكسكس المستعمل بينت وجود أربعة أنواع من البكتيريا، هذه الأخيرة عرفت كما يلي: (*Bacillus sp*) (البكتيريا الغالبة)، (*Bacillus cereus*) (النمط الشكلي رقم 02)، (*Enterococcus sp*) (النمط الشكلي رقم 03)، (*Staphylococcus aureus*) (النمط الشكلي رقم 04).

إن دراسة المقاومة الحرارية الشكل المقاوم للبكتيريا الغالبة المصنف ب"*Bacillus sp*" أعطت نتائج للقيمة D بالنسب الآتية: $D_{80} = 5.45$ دقيقة، $D_{85} = 2.54$ دقيقة، $D_{90} = 1.91$ دقيقة، $D_{95} = 0.57$ دقيقة. هذه المقاومة تتميز أيضا بنسبة $Z = 16.34$ °م.

القيم المذكورة أعلاه موجودة معدل القيم الأبحاث العلمية المطبقة سابقا والتي تكون في غالب الأحيان غير متناسقة.

الكلمات المفتاحية: الكسكس، المقاومة الحرارية، البكتيريا الغالبة.

Sommaire

Remerciements	I
Liste des tableaux	III
Liste des figures	IV
Liste des abréviations	VI
Résumé en Français	VII
Résumé en Arabe	VIII
Résumé en Anglais	IX

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : LE Couscous	01
1. Le blé dur	01
1.1 Les caractères du blé dur	01
1.2 Le développement des micro-organismes dans les blés stockés	01
1.3 La qualité industrielle des blés durs	01
1.4 Utilisation du blé dur	02
2. La semoule	02
2.1 Qualité de la semoule destinée à la fabrication du couscous	02
2.2 Composition chimique des semoules	02
3. Le couscous	02
3.1 Historique	02
3.2 Définition du couscous	03
3.3 Les dérivés du couscous	03
3.4 La fabrication industrielle du couscous	03
3.5 Les propriétés physico-chimiques du couscous industriel	05
3.5.1 Valeurs couscoussière	05
➤ Aspect du couscous sec	05
➤ Qualité culinaire	06
3.5.1 Les bienfaits nutritionnels de la graine de couscous	06
3.6 Critères microbiologiques	07
3.7 Facteurs influents sur la qualité du couscous	08

3.7.1 matière première	08
3.7.2 Technique de fabrication	08
Chapitre II : La thermorésistance	09
1. La thermorésistance des cellules bactériennes	09

PARTIE EXPERIMENTALE

I. Matériels et méthodes	10
1. Origine des échantillons	10
2. Analyse physique des échantillons de couscous	10
2.1 Humidité	10
3. Analyse microbiologique des échantillons de couscous	11
1.1 Préparation des dilutions décimales	11
1.2 Dénombrement des colonies de la flore totale « FAMT »	11
1.2.1 Technique d'ensemencement	11
1.2.2 Lecture des boîtes après l'incubation	11
1.3 Purification des colonies sur la gélose nutritive	11
1.4 Conservation des souches	11
2. Identification de la flore dominante.	12
4.1 Examen des caractères morphologiques	12
❖ L'Aspect macroscopique	12
❖ Aspect microscopique	12
❖ Mobilité	12
❖ Recherche des spores	12
4.2 Isolement des souches de la flore dominante	12
4.3 Caractères biochimiques	12
❖ Oxydase	12
❖ Catalase	12
❖ Test d'hémolyse	12
❖ Dégradation du Mannitol	13
3. Identification des autres flores présentes dans le couscous	13
5.1 Identification de La flore (morphotype N° 2)	13
❖ Recherche de lécithinase	13

5.2	Identification de La flore (morphotype N° 3)	13
5.2.1	Isolement des souches de la flore	13
5.2.2	Caractère physiologique	13
❖	Aptitude à croitre en milieu alcalin (pH= 9,6)	13
❖	Aptitude à croitre en milieu hostile (hypersalé)	13
5.3	Identification de La flore (morphotype N° 4)	14
5.3.1	Isolement des souches de la flore	14
5.3.2	Test de coagulase	14
4.	Etude de la thermorésistance de la flore dominante	14
4.1	Préparation des suspensions sporales	14
4.2	Traitement thermique des suspensions sporales	15
4.2.1	Gamme de températures testées	15
4.2.2	Numération des spores de <i>Bacillus spp</i> (flore dominante)	15
4.2.3	Méthode de traitement thermique	15
	I. Résultats et interprétations	16
1.	Résultats d'analyse physique des échantillons de couscous	16
1.1	Résultats de mesure le taux d'humidité	16
2.	Résultats d'analyse microbiologique des échantillons de couscous	18
2.1	Résultats de dénombrements de la flore totale	18
3.	Résultats d'examen des caractères macroscopiques des colonies de la flore totale mésophile (FMAT) de couscous	21
4.	Résultats de Purification des colonies sur la gélose nutritive	22
5.	Résultats d'identification de la flore totale de couscous	23
5.1	Résultats d'identification des souches de la flore dominante	23
5.2	Résultats d'identification des autres flores isolées des échantillons de couscous.	24
5.2.1	Résultats d'identification de La flore (morphotype N° 2)	24
5.2.2	Résultats d'identification de La flore (morphotype N° 3)	26
5.2.3	Résultats d'identification de La flore (morphotype N° 4)	27
5.3	Synthèse générale des résultats d'identification de la flore totale de couscous . . .	28
6.	Résultats de la thermorésistance de la flore dominante	30
	Conclusion	34

Chapitre I : LE COUSCOUS

A partir du blé dur on obtient de la semoule à partir de la quelle on fabrique des pattes alimentaire et du couscous.

Blé dur → Semoule → Pates alimentaires + Couscous

1. Le blé dur :

1.1 Les caractères du blé dur :

Tableau I : les caractéristiques du blé dur

caractères blé	Aspect génétique	Prédominance	Aspect de la plante	Forme
Blé dur	2 génomes A et B	Des protéines	Feuilles large, maturation très longue, moisson tardive, exigeante du point de vue sol et climat	Texture vitreuse

1.2 Le développement des micro-organismes dans les blés stockés :

Le développement des micro-organismes est du aux mauvaises conditions de stockage des grains de blés. La prolifération des micro-organismes est favorisée par une humidité élevée ainsi qu'une température comprise entre 20°C et 40°C. a cause des moisissures les valeurs nutritives est marchandes du produit fini seront compromises.

Pour éviter ce phénomène, il faut :

- ✓ Sécher les grains de manière à ce que leur teneur en eau soit inférieur à 12%.
- ✓ L'humidité et la teneur en CO₂ et en O₂ de l'atmosphère au sein du silo doivent être contrôlées d'une manière continuelle (Doumandji.A et al, 2003).

1.3 La qualité industrielle des blés durs

La qualité industrielle des blés durs peut etre subdivisée en valeurs semoulière et en valeur pastière. La première est l'aptitude d'un blé à donner un rendement élevé en semoule de pureté déterminée ; la seconde permet de prévoir les caractéristiques (aspect, comportement à la cuisson) des produits finis (les variétés de blé dur en France, 1998).

1.4 Utilisation du blé dur :

Situé à la fois en amont et en aval de la céréaliculture algérienne, le blé est la matière première de base pour la fabrication de nombreux aliments céréaliers.

Les pâtes alimentaires, le couscous et la semoule constituent la quasi-totalité des produits finis issus du blé dur.

2. La semoule :

La semoule est le produit obtenu par mouture grossière d'une céréale. Résultant du broyage de la partie centrale de l'amande du grain de blé.

2.1 Qualité de la semoule destinée à la fabrication du couscous

La qualité des semoules utilisées n'est guère différente de celle requise pour fabriquer des pâtes alimentaires, si ce n'est une granulométrie souvent plus élevée (ABECASSIS, 1991 ; FEILLET, 2000).

2.2 Composition chimique des semoules :

La semoule de blé dur utilisée dans la fabrication de notre couscous témoin a présenté la composition chimique suivante :

12 à 13% d'eau, au moins 12% de protéides, 1,2% de lipides et moins de 73% de glucides, principalement sous forme d'amidon mettant en évidence les particularités du blé dur (Elisabeth, 1998).

3. Le couscous :

3.1 Historique :

Le couscous n'est pas le fait du hasard. Il est réellement né là où il devait naître. Le couscous est un plat d'Afrique du Nord, d'origine berbère, populaire dans de nombreux pays. Il est ce plat de convivialité qui a gardé son histoire millénaire.

L'origine du mot couscous est moins sûre. Il vient de l'arabe classique KOUSKOUS et du berbère K'SEKSU, qui désigne à la fois la semoule de blé dur et le plat populaire dont elle est l'ingrédient de base.

Il y a de multiples manières d'accommoder ce plat. La partie invariante reste le grain qui en est la base. Pour le reste en général il s'accompagne d'un bouillon de viande et de légumes appelé « *Marka* » (Fiche techniques « MARKAL », 2008).

3.2 Définition du couscous :

La présente norme s'applique au couscous, c'est-à-dire le produit composé de semoule de blé dur (*Triticum durum*) dont les éléments sont agglomérés en ajoutant de l'eau potable et qui a été soumis à des traitements physiques tels que la cuisson et le séchage. (**Projet de norme Marocaine, 2008**).

La graine de couscous est faite avec de la semoule de blé dur, de l'eau et éventuellement du sel et de la farine soit à la main selon une méthode qui demande beaucoup de travail et de temps soit de plus en plus de manière industrielle (**Yanis. A, 2007**).

3.3 Les dérivés du couscous :

Le terme générique de couscous englobe deux produits dérivés :

- a) **Le couscous humide** : tel qu'il résulte de l'agglomération de quelques grains de semoule de blé dur par un procédé industriel ou artisanal et que l'on emploie tel quel.
- b) **Le couscous sec** : résultant des mêmes procédés de fabrication mais qui a subi un séchage avant son utilisation (**Salselet, 1991**).

Les appellations différentes rencontrées en Afrique du Nord pour désigner le couscous, sont liées au mode de préparation et aux ingrédients qui y sont ajoutés lors de la préparation (**Feillet, 2000**).

3.4 La fabrication industrielle du couscous :

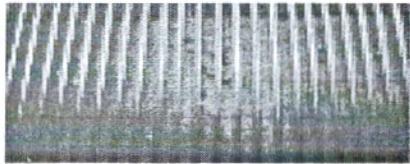
Les procédés industriels les plus connus de fabrication du couscous sont: BRAIBANTI, BASSANO et BUHLER. Les étapes de fabrication sont semblable mais la technologie de leurs modules et les conditions opérationnelles sont différentes (**Yousfi, 2002**).

La fabrication industrielle du couscous met en œuvre les six étapes suivantes : Mélange de semoule de blé dur (100 kg), d'eau (30 l) et parfois de sel (0.3-0.5 kg). Cette opération dure environ 15 à 25 min (**Feillet, 2000**).

3.4.1 Les étapes de fabrication des grains de couscous

Les étapes de fabrication des grains de couscous sont :

1. Réception des semoules de blé dur dans les silos, 250 tonnes par jour soit 7 à 8 citernes. Les différentes qualités de semoule permettent d'obtenir différentes qualités de couscous.



1
EXTRACTION
DES SEMOULES



2
MOUILLAGE
MÉLANGE

2. La semoule est ensuite "**mouillée**" avec de l'eau. Le savoir-faire est essentiel à cette étape du process et conditionne largement la qualité du couscous.

3. La pâte grossièrement fragmentée passe dans des "**rouleurs**" pour obtenir des grains de couscous formés de plusieurs grains de semoule agglomérés



3
ROULAGE



4
CUISSON

4. Le couscous est alors **cuit** à la vapeur sur un tapis en inox. Dès lors, les grains de couscous garderont leur forme définitive sans se désagréger.

5. Le **séchage** ramène l'humidité du couscous à 12,5%, permettant ainsi une parfaite conservation.



5
SÉCHAGE



6
REFROIDISSEMENT

6. Les **refroidisseurs** ramènent les grains à température ambiante.

7. Le couscous passe alors à travers des **tamis** qui permettent de séparer les grains fins et moyens.



7
CALIBRAGE



8
STOCKAGE
PRODUIT SEMI-FINI

8. Stocké dans des silos il sera ensuite **conditionné** pour être enfin expédié en France et dans 45 pays.

Figure 01 : Les étapes de fabrication du couscous (<http://www.ferico.fr/fabrication.php>)

3.5 Les propriétés physico-chimiques du couscous industriel :

Les propriétés physico-chimiques du couscous industriel diffèrent de celles de la semoule par une perte de la viscoélasticité du gluten (consécutif aux traitements thermique subis par les protéines au cours du séchage) et une oxydation des pigments caroténoïdes au cours du roulage (Feillet, 2000).

3.5.1 Valeurs couscoussière :

Pour le consommateur, bien que l'importance qu'il leur accorde soit différente selon les pays, deux critères sont essentiels. (Doumandji.A et al, 2003).

1. Il y a d'abord l'aspect du couscous sec.
2. Et le comportement de cet couscous au cours de la cuisson « la qualité culinaire ».

➤ Aspect du couscous sec :

Pour l'aspect du couscous sec, on peut étudier les paramètres suivant :

- **Granulométrie** : elle doit être uniforme, que ce soit pour le couscous gros ou le fin, car le consommateur accorde une grande importance à la régularité et à l'homogénéité de la taille du grain du couscous.
- **La couleur** : la couleur du couscous est uniforme, variant du jaune ambré au brun clair, l'aspect de la couleur est un critère qui attire l'attention du consommateur.
- **L'état de surface** : le consommateur algérien préfère un couscous rond et lisse. La rugosité des granules et la présence de particules de semoules témoignent d'un roulage très mal effectué (Maarouf- Merzoughi, 2002).
- **Piqures** : on distingue différents types de piqures :

Piqures Blanches : elles proviennent de mauvaises conditions de pastification (hydratation, malaxage, séchage).

Piqures noires : elles peuvent provenir de blés ergotés, charbonnés ou encore mouchetés non éliminés au cours du nettoyage.

Piqures brunes : elles proviennent des sons non éliminés au cours de la mouture.

➤ **Qualité culinaire :**

Des comportements à la cuisson caractérisés par un indice de gonflement dans un bain-marie à 25 et à 100°C (**Guezlane et Abecassis,1991**) comparable et une tendance à l'agglutination des particules de couscous entre elle (collant) et à leur désagrégation partielle (perte d'intégrité des particules, Délitescence « le degré de délitescence des couscous c'est le degré de désagrégation des grains de couscous cuits ») plus marquée pour le couscous industriel (**Feillet, 2000**).

• **Le temps de cuisson :**

Le temps optimum de cuisson du couscous selon les enquêtes de **Yousfi (2002)** et **Derouiche (2003)** est le temps nécessaire pour que les grains soient tendres sans qu'ils soient collants ou pâteux.

La méthode la plus utilisée pour définir un temps optimum de cuisson pour le couscous est d'enregistrer le temps nécessaire pour l'apparition d'un flux de vapeur à la surface du lit de couscous pour la première et la deuxième cuisson.

3.5.2 Les bienfaits nutritionnels de la graine de couscous :

Issus de blés durs rigoureusement sélectionnés, la graine de couscous est naturellement source de :

- ❖ **Protéines végétales**, indispensables au bon fonctionnement de l'organisme.
- ❖ **Vitamine B3 (=PP)**, utile à la production d'énergie.
- ❖ **Phosphore**, nécessaire à l'équilibre général de notre organisme.

Par l'intermédiaire des glucides complexes, la graine de couscous apporte tout au long de la journée l'énergie dont nous avons besoin. Elle peut d'autre part être consommée dans le cadre d'une alimentation pauvre en sel.

Tableau 05 : les valeurs nutritionnelles de graines de couscous sec

VALEURS NUTRITIONNELLES MOYENNES POUR 100G DE GRAINES DE COUSCOUS SEC		
Valeurs énergétiques	350 Kcal/ 1487 KJ	
Protéines	12,8 g	
Glucides	72,9 g	Dont sucres : 4,8g
Lipides	2,0 g	Dont acides gras saturés : 0,4g
Fibres alimentaires	3,4 g	
Sodium	< 0,02 g	
Vitamines B3	4,5 mg	Soit 25% des AJR (Apports Journaliers Recommandés)
Phosphore	200 mg	Soit 25% des AJR

3.6 Critères microbiologiques :

Comme tous les aliments fabriqués dans l'industrie alimentaire, le couscous industriel passe par une chaîne de fabrication, et dans chaque étape il y'a un risque de contamination. C'est pour ça le couscous n'est pas totalement sain (absence totale des bactéries) mais il ya des normes interdites à dépassés comme suit :

Flore Aérobie Mésophile.....	< 500 000 germes/g
Coliformes totaux.....	< 10 000 germes/g
Levures.....	< 5 000 germes/g
Moisissures.....	< 5 000 germes/g
Salmonelles.....	Absence dans 25g

3.7 Facteurs influents sur la qualité du couscous :

La qualité du couscous dépend d'une part, de la matière première mise en œuvre et d'autre part de la technologie de fabrication utilisée.

3.7.1 matière première :

a) Semoule :

Elle doit posséder certaines caractéristiques afin de répondre aux exigences du consommateur d'une part et faciliter le processus de fabrication d'autre part.

- **Teneur en protéines :** Le couscous demande des semoules ayant des teneurs en protéines et en gluten qui varient entre 11 et 15% (plus le couscous contient une forte teneur en protéines, plus sa qualité culinaire est meilleure).
- **Granulation :** Elle influe sur la capacité d'hydratation, le rendement en couscous, le temps de réhydratation, la couleur et le collant du couscous.
- **Coloration :** La semoule destinée à la fabrication du couscous doit contenir un indice de jaune élevé et indice de brun faible.

b) Eau :

L'eau doit être potable, limpide, incolore et inodore et de pH neutre, possédant une faible dureté.

c) Sel :

L'addition d'une quantité moyenne de 0,14% de sel dans l'eau de préparation améliore la qualité plastique du gluten et joue un rôle important dans les propriétés rhéologiques du couscous.

3.7.2 Technique de fabrication :

Les opérations unitaires de fabrication concernante : **roulage, cuisson, séchage.**

Chapitre II : La thermorésistance

1. La thermorésistance des cellules bactériennes :

Propriété caractéristique de l'endospore bactérienne probablement liée a plusieurs facteurs dont notamment ;

- La teneur en eau particulièrement faible et l'arrêt du métabolisme par déshydratation et exportation des enzymes vers la périphérie (tunique).
- Les structures riches en acide dipicolinique (et dipicolinate de calcium) et enrichies en soufre.
- La présence d'enveloppe successive comme le cortex amorphe et les tuniques sporales protéique successive et d'orientation croisée.

La thermorésistance est variable : parfois faible comme chez les *Clostridium saturni-rubrum* (5min/70°C) ou extrême comme chez *Plectridium caloritolerans* (8h30/100°C). En moyenne, les spores *Bacillus (stearother mophilus)* ne sont détruites que par un traitement de(15 min/120°C). la propriété est aussi parfois celle de la cellule bactérienne (*Thermus thermophilus*) et acquise par remplacement de l'oxygène par le soufre dans certains ARN de transfert.



I. Matériels et méthodes :

1. Origine des échantillons :

La présente étude porte sur trois (03) marques différentes de couscous Algérien. Treize (13) échantillons de différentes dates ont été prélevés dont le but de leur analyse microbiologique.

Au laboratoire les sachets de couscous sont maintenus dans leur emballage d'origine à la température ambiante.

Tableau N° I: les couscous utilisés pour l'étude

	Couscous «A» DLUO*	Couscous « M » DLUO*	Couscous « S » DLUO*
1	05/03/2011	01/11/2010	21/12/2010
2	15/03/2011	27/12/2010	26/01/2011
3	23/03/2011	24/06/2010	10/02/2011
4	//	25/02/2011	09/03/2011
5	//	16/03/2011	04/04/2011

* : Date Limite d'Utilisation Optimale

2. Analyse physique des échantillons de couscous

2.1 Humidité

Le couscous n'est pas un aliment très favorable aux microorganismes, mais l'augmentation d'humidité peut faire apparaître des conditions favorables à leur développement.

Les étapes de la technique:

- ❖ Peser à la balance analytique « P₀ » (P₀= poids de la tare).
- ❖ Peser exactement environ 10 g de couscous dans chaque boîte (P₁ = P₀ + P échantillon).
- ❖ Mettre la boîte sans couvercle (ouverte) dans l'étuve réglée à 104°C ± 2°C.
- ❖ Après 2 heures agiter l'échantillon dans l'étuve.
- ❖ Après encore 1 heure sortir la boîte fermée, la mettre dans un dessiccateur.
- ❖ Peser les boîtes « P₂ » (P₂ = poids de la boîte + échantillon sec).
- ❖ Remettre les boîtes à l'étuve (ouverte) au moins 1 heure.
- ❖ Peser les boîtes « P₃ » (P₃ = poids de la boîte + échantillon sec).

$$\text{Humidité \%} = \frac{P_1 - P_3}{P_1 - P_0} \times 100$$

3. Analyse microbiologique des échantillons de couscous

3.1. Préparation des dilutions décimales

➤ Revivification : un échantillon de 10 g est placé dans un récipient stérile avec 90 ml de diluant. Cette revivification est assurée par 1h de contact à 25°C.

➤ La suspension mère (10^{-1}) ainsi réalisé permet de préparer d'autres dilutions dans le même milieu

➤ On mélange très bien pendant quelques secondes, puis on transfère 1 ml du 1^{er} tube (suspension mère) dans le 2^{ème}, puis du 2^{ème} dans le 3^{ème} (contenant chacun 9 ml du liquide de dilution) réalisant ainsi des dilutions au 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} ...etc (Senouci B. M *et al.*, 2010).

3.2. Dénombrement des colonies de la flore totale « FAMT »

Il est réalisé par ensemencement dans la masse de milieu PCA à l'aide de 1 ml de chaque dilution et 48h d'incubation à 37°C.

3.2.1 La technique d'ensemencement :

✓ Prélever 1ml de dilution (généralement les 3 dernières dilutions) et l'introduire dans une boîte de pétri vide (2 boîtes pour chaque dilution).

✓ Couler le milieu maintenu en surfusion a la température la plus basse possible (45°C).

Dès que le milieu est solidifié dans les boîtes, l'incubation est effectuée à 37°C pendant 48 heures.

3.2.2 Lecture des boîtes après l'incubation

➤ Examiner les boîtes, et choisir celles contenant entre 30 et 300 colonies (si possible...)

➤ Compter avec soin les colonies en les marquant au fur et à mesure, à l'aide d'un marqueur, sur le fond extérieur de la boîte.

➤ Interpréter les résultats en faisant la moyenne des résultats obtenus pour les deux boîtes de la même dilution.

3.3. Purification des souches dominantes

A partir des boîtes de dénombrement et à l'aide d'une anse de platine, de chaque type de colonie, une colonie est ensemencée dans un bouillon nutritif, incubée 24h puis réensemencée dans une boîte de Pétri contenant la gélose nutritive.

3.4 Conservation des souches

Les souches isolées sont ensemencées en doubles exemplaires dans des tubes de gélose nutritive inclinée, puis incubées à 30°C pendant 24heures. La conservation se fait à 4°C.

4. Identification de la flore dominante

4.1 Examen des caractères morphologiques

❖ L'Aspect macroscopique :

Il est effectué à partir d'une culture de 24h de la souche purifiée sur la gélose nutritive. Les caractères utilisés pour cette description macroscopique sont : la taille, la forme, l'aspect de la surface, l'opacité, la consistance, la couleur ou la pigmentation et l'odeur.

❖ Aspect microscopique :

Les souches ont été examinées au microscope à l'état frais puis après coloration de Gram, ce qui permet d'observer la morphologie, la taille et le mode de groupement des cellules.

❖ Mobilité :

Entre une lame et une lamelle, on dépose une goutte de la suspension et une goutte d'une solution aqueuse de bleu de méthylène à 1% puis on procède à un examen microscopique.

❖ Recherche des spores

Chaque dilution est introduite dans un bain-marie à 80°C pendant 10 mn. Les tubes sont retirés et refroidis rapidement à température ambiante pendant 10 mn et ensemencés en surface par platage sur Gélose fortifiée pour la recherche de *Bacillus spp* et en profondeur dans la Gélose "Reinforced Clostridial Medium" pour la recherche de *Clostridium spp*.

4.2 Isolement des souches de la flore dominante

A partir des boîtes de dénombrement, une colonie est ensemencée dans une boîte de pétri contenant le milieu « Mossel de base », l'incubation à 30°C pendant 24 heures.

4.3 Caractères biochimiques

❖ Oxydase :

Un disque d'oxydase est placé sur une lame et imbibé d'une goutte d'eau. Une parcelle de la culture est déposée à sa surface.

❖ Catalase :

Un petit inoculum bactérien est introduit dans un tube contenant 2 à 3 mL de H₂O₂.

❖ Test d'hémolyse :

A l'aide d'une anse de platine, une colonie est étalée en stries sur gélose à base de sang de mouton ; puis incubé à 30°C pendant 24 à 48 heures.

❖ **Dégradation du Mannitol :**

Les bactéries Mannitol (+) acidifient le milieu qui vire au jaune (teinte du rouge de phénol en milieu acide).

5. Identification des autres flores présentes dans le couscous :

5.1 Identification de La flore (morphotype N° 2)

Pour identifier les souches de la flore morphotype N° 2, on passe par tous les tests utilisés pour identifier la flore dominante.

❖ **Recherche de lécithinase :**

La recherche de lécithinase en bactériologie consiste à l'ensemencement d'une gélose au jaune d'œuf.

➤ Zones opaques entourées d'un halo transparent, la lécithine du jaune d'œuf a été dégradée, la bactérie possède une lécithinase.

➤ Pas de zones opaques entourées d'un halo transparent, la lécithine du jaune d'œuf n'a pas été dégradée, la bactérie ne possède pas de lécithinase.

5.2 Identification de La flore (morphotype N° 3)

5.2.1 Isolement des souches de la flore :

La technique comprend deux temps : le premier temps permet d'enrichir le milieu, le deuxième temps assure une identification grossière à partir d'un milieu riche en bactéries.

➤ **1^{er} temps présomptif :** Ensemencer 1 tube de Rothe simple concentration (S/C) avec 1cm³ de chaque dilution, l'incubation à 37°C pendant 48 heures.

➤ **2^e temps confirmatif :** Après agitation des tubes de **Rothe** positifs, à l'aide d'une pipette Pasteur prélever quelques gouttes et les reporter dans des tubes du milieu de **Litsky**. Incuber à 37 °C pendant 24-48 heures.

5.2.2 Caractère physiologique

❖ **Aptitude à croître en milieu alcalin (pH= 9,6) :**

Ce test a été effectué dans le bouillon nutritif ajusté à pH =9,6 à l'aide de la soude 0.1 N.

❖ **Aptitude à croître en milieu hostile (hyper salé) :**

Ce test a été effectué dans le bouillon nutritif additionné de 6,5% de NaCl.

5.3 Identification de La flore (morphotype N° 4)

5.3.1 Isolement des souches de la flore

L'isolement de cette bactérie à partir de prélèvements plurimicrobiens s'effectue en utilisant le milieu de Chapman (milieu sélectif) qui contient du Mannitol et une forte concentration en NaCl.

5.3.2 Test de coagulase :

Quelques gouttes de culture en bouillon des souches à étudier sont ajoutées à du plasma dilué au 1/10 dans du sérum physiologique. Une coagulase pourra être observée par une prise en masse du liquide, ce résultat est observé en 3 à 4 heures à 37 °C.

6. Etude de la thermorésistance de la flore dominante :

6.1 Préparation des suspensions sporales :

Pour cette partie, une souche de la flore dominante à partir de couscous a été utilisée.

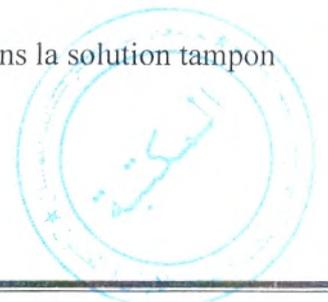
Des colonies isolées à partir du milieu Mossel sont repiquées dans un tube contenant du bouillon nutritif. On incube 18-24 h à 30°C. On effectue un deuxième passage dans des tubes contenant le B.N et on incube à 30° C/18-24h.

Après l'incubation, on ensemence 0,3 à 0,5 mL sur des boîtes de pétri contenant la gélose nutritive fortifiée (enrichie avec du MnSO₄ 3mg/L), on incube 4 à 5 jours à 30°C. Les spores formées sont examinées au microscope. Les cellules sporulées après coloration apparaissent avec un centre incolore.

Après 80-90 % de sporulation, les spores récoltées par raclage à l'aide d'une pipette en râteau et ce après avoir aspergé la surface de la culture avec une solution tampon phosphate.

Les spores raclées sont mises en solution et centrifugées à 600 g pendant 5 minutes. Le culot contenant les débris du milieu de culture est jeté. Le surnageant est repris et est centrifugé à 2500 g pendant 20 mn. Le culot contenant les spores est récupéré et lavé 03 fois avec la solution tampon phosphate ou suivi à chaque fois par des centrifugations 2500 g pendant 20 minutes.

Après la dernière centrifugation, les spores sont re-suspendues dans la solution tampon phosphate et stockées à 4°C jusqu'à leur utilisation.



6.2 Traitement thermique des suspensions sporales :

6.2.1 Gamme de températures testées

Se basant sur les données relatives au mode de préparation du couscous, les traitements thermiques des suspensions sporales (flore dominante) ont été fixés à 80°C, 85°C, 90°C et 95°C.

6.2.2 Numération des spores de *Bacillus spp* (flore dominante):

Avant les traitements thermiques, on procède à la numération des spores de la flore dominante. Un nombre de spores initial de l'ordre de 10^7 à 10^8 spores/ml est choisi.

6.2.3 Méthode de traitement thermique :

A l'aide d'une pipette Ependorf à embout stérile, on introduit 0,1 mL de la suspension sporale dans une série de 13 tubes à essai contenant chacun 10 mL de bouillon nutritif (B.N), ajustés au préalable à la température d'étude de la thermorésistance. Après des intervalles de temps, à l'aide micropipette on prélève 0,1ml qu'on introduit dans un tube contenant l'eau distillée. On réalise trois dilutions centésimales (0,1mL/10 mL d'eau distillée). On inocule de chaque dilution un tube de Gélose nutritive maintenu en surfusion à 45°C. Le tube est homogénéisé et coulé sur les boîtes de pétri. On incube à 30° C pendant 24 à 48 h.

Le nombre de spores qui survivent à l'inactivation par la température, est exprimé en log (ufc/mL) après le dénombrement par plaque des dilutions appropriées (annexe).

II. Résultats et interprétations :

1. Résultats d'analyse physique des échantillons de couscous :

1.1 Résultats de mesure du taux d'humidité :

Les grains de couscous ne sont pas un substrat très favorable aux micro-organismes, mais l'augmentation d'humidité et l'élévation de température peuvent faire apparaître des conditions favorables à leur développement.

La teneur en eau des échantillons de couscous est donnée dans le (**tableau N°II**). Elle varie de 9,61% pour la marque « M » à 10,45% pour la marque « A ». Selon le codex alimentaire, la teneur en eau du couscous ne doit pas dépasser 13,5% (**Codex Standard 202-1995**).

Le critère « teneur en eau » ne permet cependant pas de conclure quant à l'altérabilité d'un produit : un amidon de pomme de terre avec une teneur en eau de 20%, ou un blé de 14% sont stables ; cependant qu'une poudre de lait à 12% ou un sucre à 4% s'altèrent rapidement (**Multon, 1982**).

En fait, la teneur en eau, est insuffisante pour rendre compte des propriétés fonctionnelles de l'eau, en particulier sa « disponibilité biochimique » et de son rôle dans les mécanismes d'altérations microbiennes. En effet, l'état de l'eau dans le couscous a autant d'importance que la teneur en eau. Afin de mieux exprimer cet état de l'eau en relation avec la conservation du produit, on doit donc définir un autre concept plus qualitatif celui de « l'activité de l'eau » (a_w).

En effet, à la température constante, il existe pour un produit et une atmosphère qui l'entoure, une relation entre la teneur en eau du produit d'une part, et l' a_w de ce produit ou l'H.R. de l'atmosphère d'autre part. Cette relation est la traduction macroscopique des affinités et des interactions moléculaires (**Alais et Linden, 1997**).

Lorsqu'un couscous est placé dans une atmosphère riche en vapeur d'eau, il absorbe de l'eau et se ré-humidifie jusqu'à ce que l'équilibre thermodynamique s'établisse. Sa teneur en eau augmente légèrement mais son a_w peut augmenter de manière plus importante rendant le produit facilement altérable.

D'une manière générale, une augmentation de l'humidité entraîne une accélération des réactions d'altérations. La notion d'activité biologique de l'eau est donc primordiale en technologie alimentaire. Elle permet de mettre en œuvre une stratégie de protection des aliments en contrôlant les altérations physico-chimiques, les activités enzymatiques et la multiplication microbienne.

Tableau N° II: les taux d'humidité des trois marques du couscous

Poids (g) \	Couscous « M »	Couscous « S »	Couscous « A »
Humidité (%)	9,61	10,39	10,45

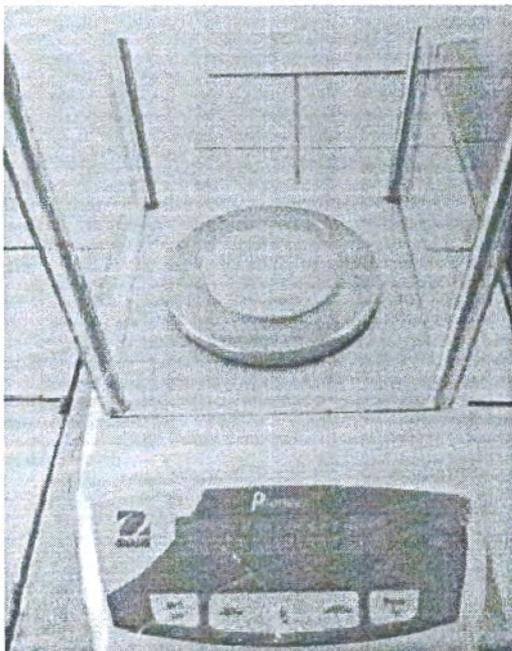


Figure 02 : Le poids de couscous « M » + boîte avant le traitement thermique



Figure 03 : Les échantillons dans un dessiccateur après le traitement thermique

2. Résultats d'analyse microbiologique des échantillons de couscous :

2.1 Résultats de dénombrement de la flore totale :

Le couscous est un aliment traditionnel des pays d'Afrique du nord (Algérie, Egypte, Maroc, Tunisie, Libye) qui a progressivement gagné d'autres pays du pourtour méditerranéen, par exemple la France en particulier. C'est un plat préparé avec des semoules de blé dur agglomérées (Feillet, 2000).

En Algérie, le couscous est un plat principal servi aux occasions ainsi qu'aux repas quotidiens. Par le passé la préparation du couscous était effectuée uniquement à domicile, actuellement on trouve au marché différentes marques de couscous fabriquées industriellement.

Pour la marque « A », les résultats montrent que le nombre des bactéries dans un gramme de couscous (UFC/g) présentent une charge bactérienne classée selon la qualité microbiologique (hygiénique) dans le (tableau N°III) et la (figure03) qui dépassent les normes de qualité microbiologique qui exigent un nombre de la flore totale mésophile ne dépassant pas (10^6 UFC/g) (Norme FAO/OMS).

Tableau N°III: Résultats de dénombrements de la flore totale de Couscous « A » :

Dates	05/03/2011 A ₁	15/03/2011 A ₂	23/03/2011 A ₃
(UFC/g)	$4,7 \cdot 10^7$	$5,5 \cdot 10^7$	$4,8 \cdot 10^7$

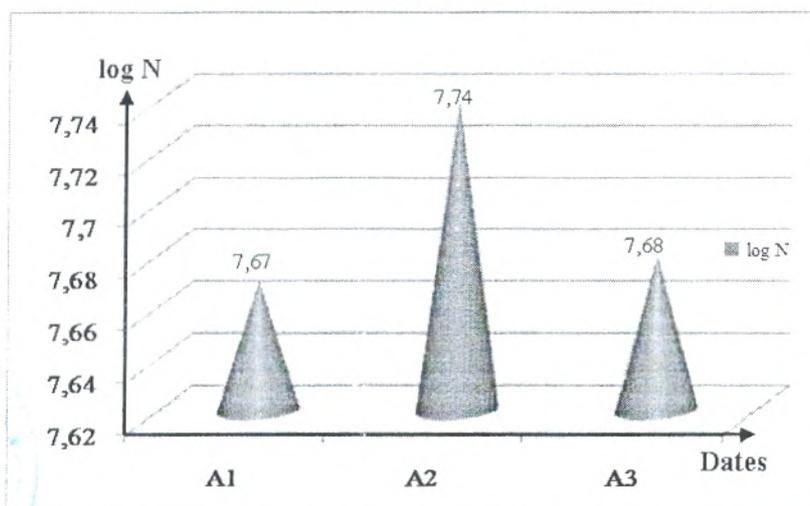


Figure 04 : Résultats du dénombrement de la flore totale des différentes dates de couscous « A »



Les résultats du dénombrement microbien du couscous « M » illustrés par le (tableau N° IV) et la (figure 04) présente une charge microbienne plus élevée que la marque « A » (moyenne de $1,2 \cdot 10^7$ UFC/g) qui révèle une forte contamination bactérienne.

Tableau N° IV: Résultats de dénombrements de la flore totale de Couscous « M »

Dates	01/11/1010 M ₁	27/12/2010 M ₂	24/06/2010 M ₃	25/02/2011 M ₄	16/03/2011 M ₅
(UFC/g)	$1,9 \cdot 10^8$	$1,4 \cdot 10^8$	$1,3 \cdot 10^8$	$9,4 \cdot 10^7$	$4,8 \cdot 10^7$

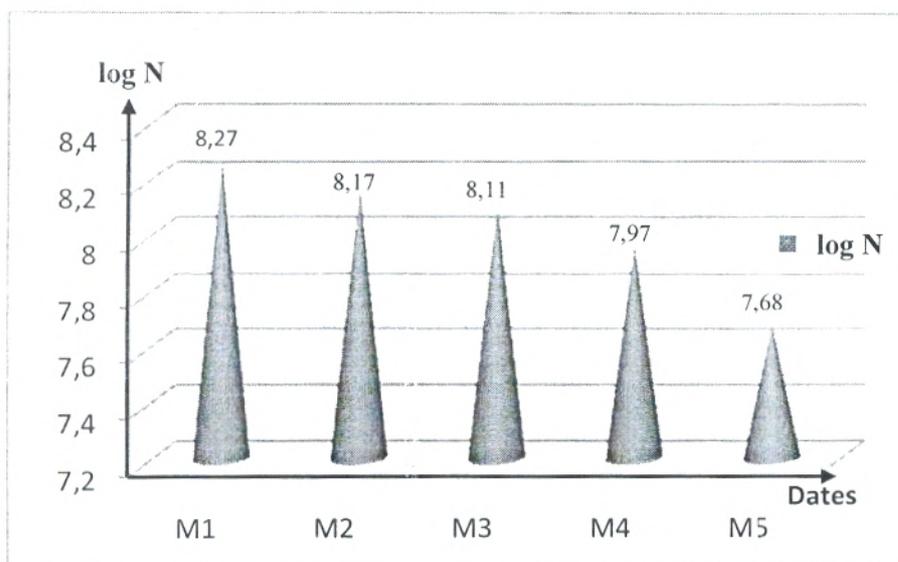


Figure 05 : Résultats du dénombrement de la flore totale de différents dates de couscous « M »

Malgré le nombre élevé des bactéries dans la marque « M » aux autres marques, le risque d'intoxication alimentaire par le couscous est rare dans l'Algérie car la méthode de cuisson du couscous chez les algériens exige un traitement thermique à la vapeur répétée 02 à 03 fois.

Tableau N°V : Résultats de dénombrements de la flore totale de Couscous « S » :

Dates	21/12/2010 S ₁	26/01/2011 S ₂	10/02/2011 S ₃	09/03/2011 S ₄	04/04/2011 S ₅
(UFC/g)	2,4.10 ⁸	1,8.10 ⁸	1,2.10 ⁸	9,5.10 ⁷	8.10 ⁷

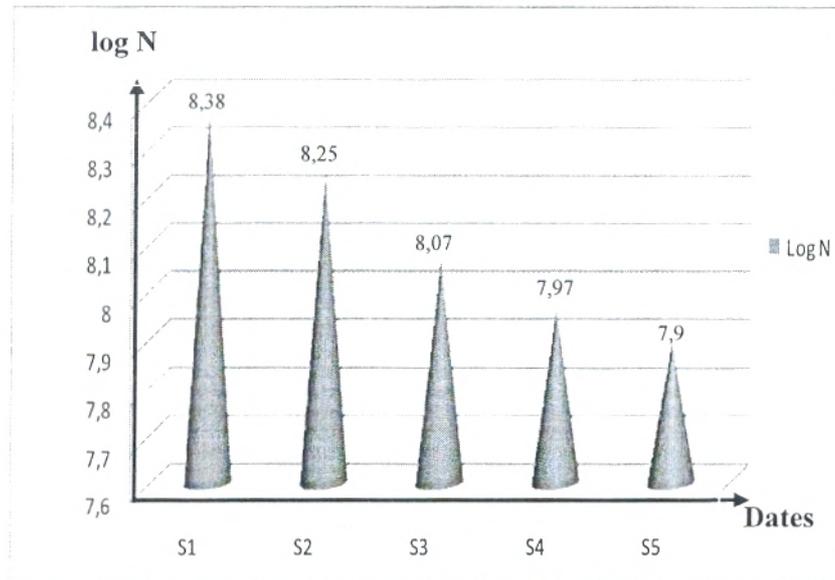


Figure 06 : Résultats du dénombrement de la flore totale de différentes dates de couscous « S »

A partir des figures (03, 04,05) en peut juger que le nombre des bactéries augmente avec le temps dans les trois genres de couscous sous l'influence d'un ensemble de facteurs, on peut citer :

- Contamination au cours de la chaîne de fabrication (matière première, le matériels, les opérateurs.....) ;
- la technologie de fabrication utilisée ;
- La qualité de l'emballage utilisé pour la mise en sachets du produit (couscous);
- Les conditions de stockage (étalage, température, aération du local,...).

3. Résultats d'examen des caractères macroscopiques des colonies de la flore totale mésophile (FMAT) de couscous :

Dans tous les boîtes de dénombrement de la flore totales, on remarque qu'il ya 4 types des colonies. Les caractères des colonies sont présentés dans (le tableau N° VI) et la (figure 06).

Tableau N° VI: caractères macroscopiques des colonies de la flore totale de couscous :

	La taille	La forme	La couleur	L'aspect
Colonie 1	Moyenne	Ronde	Blanche	Lisse
Colonie 2	Grande (2 à 5 mm)	Irrégulière	Blanche	Granuleuses
Colonie 3	Petite	Ronde	Blanche	Lisse
Colonie 4	Petite	Ronde	Blanche	Lisse

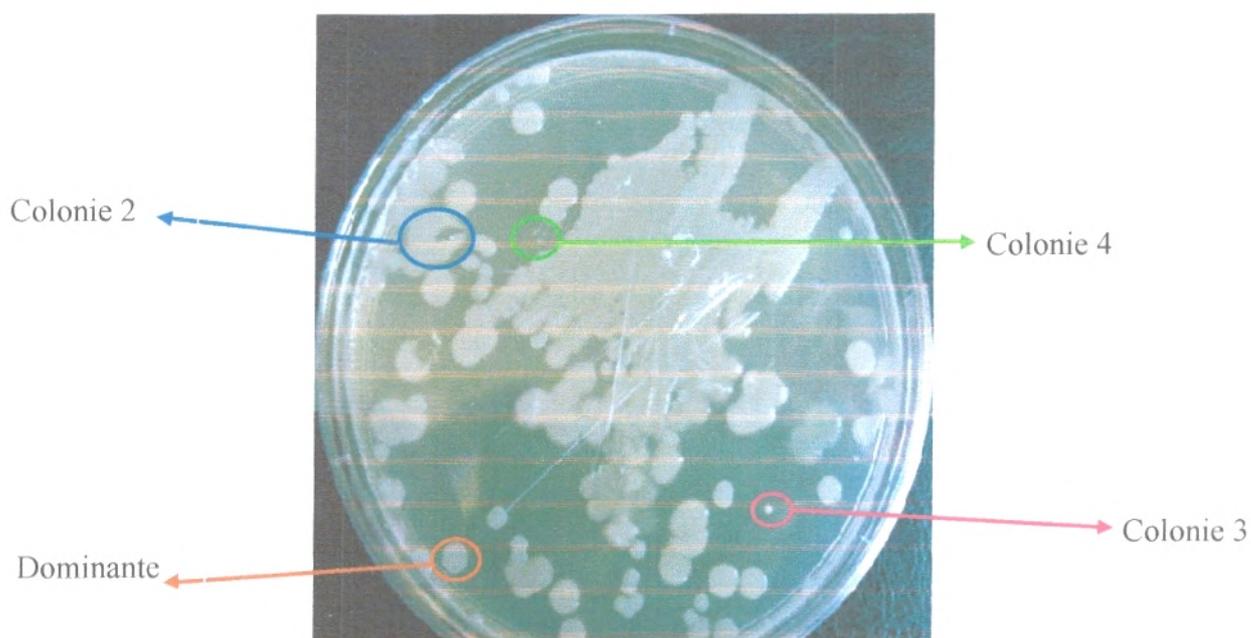


Figure 07: les types des colonies de la flore totale



4. Résultats de Purification des colonies sur la gélose nutritive :

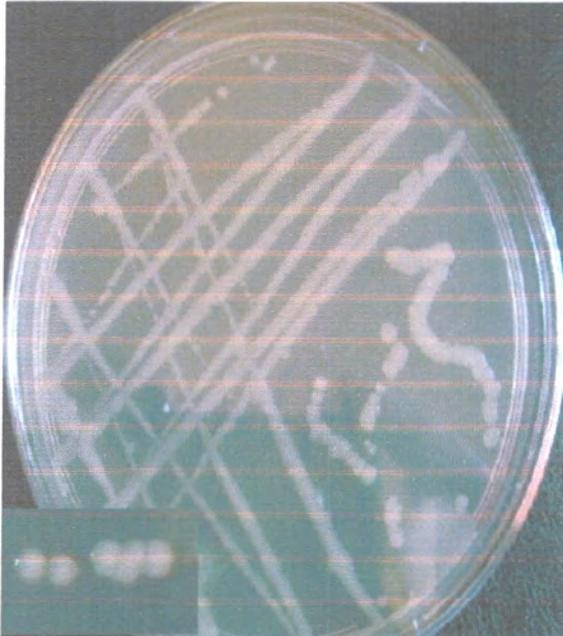


Figure 08 : Purification de la flore dominante du morphotype N° 1

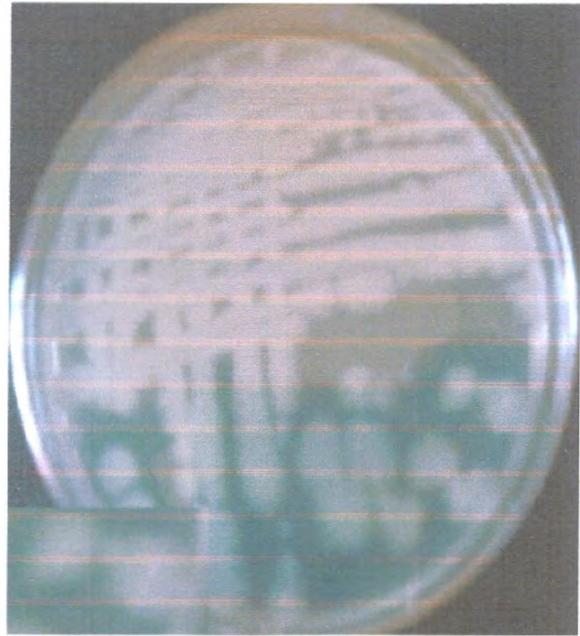


Figure 09 : Purification de colonie du morphotype N° 2

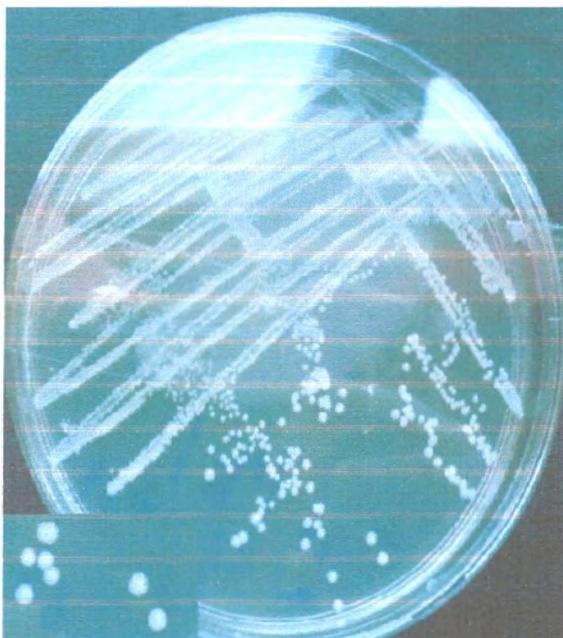


Figure10 : Purification de colonie du morphotype N° 3

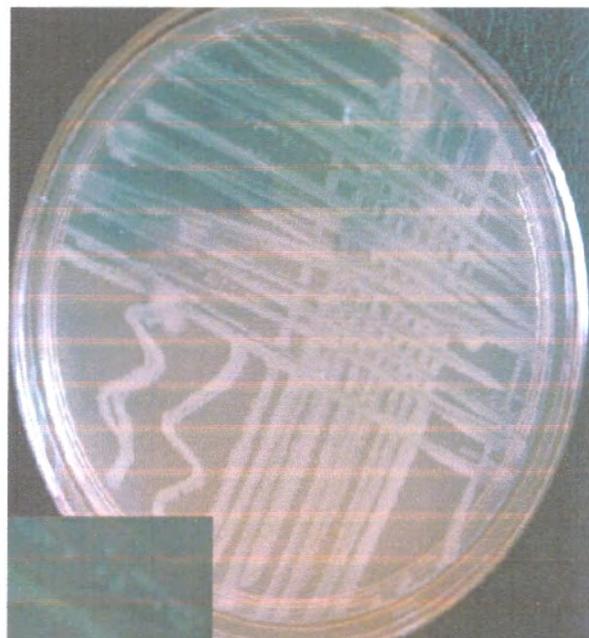


Figure 11 : Purification de colonie du du morphotype N° 4

5. Résultats d'identification de la flore totale de couscous :

5.1 Résultats d'identification des souches de la flore dominante :

Les cellules de la flore dominante apparaissent en violet avec une forme bâtonnets examinées à partir d'une culture d'une nuit sur bouillon nutritif. Il s'agit de bacilles à Gram (+) (**figure 11**). L'observation microscopique a montré que les cellules de cette flore sont mobiles et capable de sporuler.

Cette flore bactérienne dominante pousse sur la Gélose glucosée au Pourpre de Bromocrésol. Elles sont catalase (+) et oxydase (+).

Sur la base de ces résultats, les tests relatifs à la fermentation du mannitol, de la production d'hémolysine et de lécithinase ont été effectués sur cette flore et les résultats sont illustrés par (**le tableau N°VII**) et la **figure (12)**.

La fermentation du Mannitol se traduit par un virage de la couleur du milieu « Mossel de base » au jaune.

Tableau N°VII : les résultats des tests d'identification de la flore dominante

Tests	Gram	sporulation	Catalase	Oxydase	Lécithinase	Mannitol
Flore						
flore dominante	Bacille G+	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)



Figure 12 : observation microscopique de la flore dominante après coloration de Gram

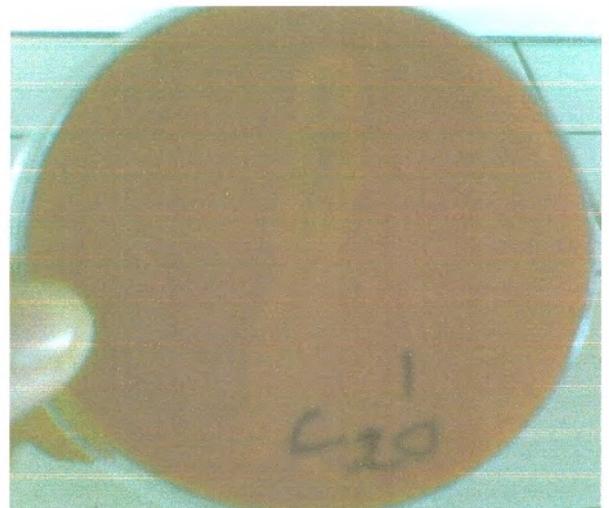


Figure 13 : résultat de test d'hémolyse sur gélose au sang de la flore dominante

5.2 Résultats d'identification des autres flores isolées des échantillons de couscous :

5.2.1 Résultats d'identification de La flore (morphotype N° 2):

Les souches de colonie du type 1 sont constituées de bacilles à Gram positif ayant des extrémités carrées (**figure 13**), et mobiles. Elles possèdent une catalase et produisent une hémolysine (**figure 15**).

Cette flore peut pousser sur un milieu sélectif au mannitol, jaune d'œuf, rouge de phénol et polymyxine (Mossel complet) et hydrolyse la lécithine de ce milieu.

Cette bactérie ne fermente pas le Mannitol de milieu Mossel « de base » Mannitol (-) (pas de virage du couleur de milieu) (**figure 16**).

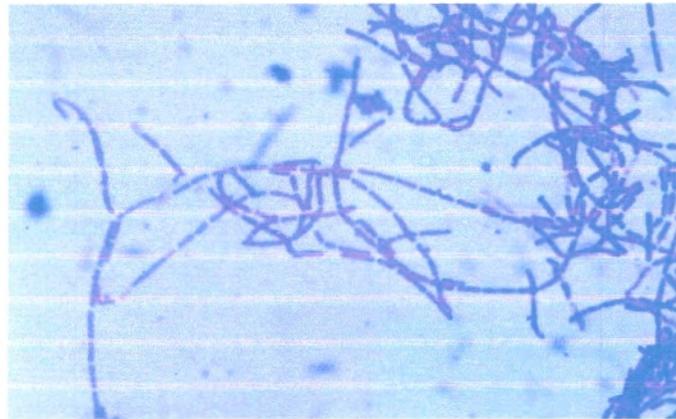


Figure 14: observation microscopique de colonie du type 2 après coloration de Gram



Figure 15 : Aspect des colonies du type 2 sur gélose nutritive

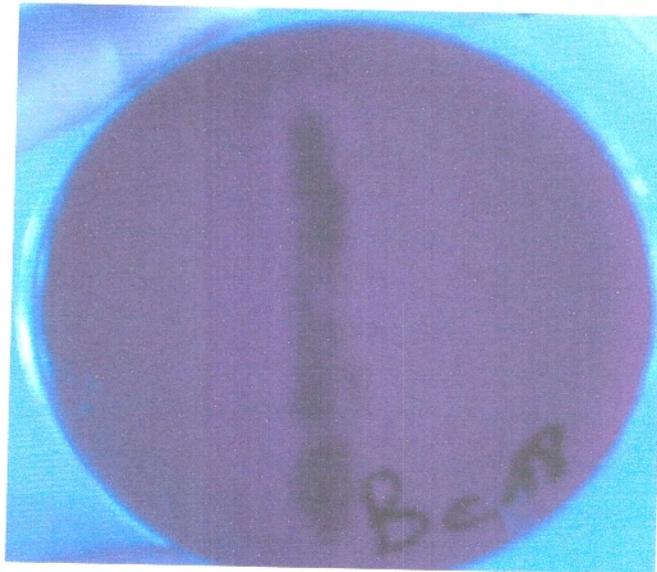


Figure 16 : résultat de test d'hémolyse sur gélose au sang de colonie du type 2



Figure 17 : résultat d'isolement de colonies du type 2 sur milieu Mossel de base

5.2.2 Résultats d'identification de La flore (morphotype N° 3):

Une série de tests à été effectuée sur la flore du type 3 , les résultats montrent que les cellules de cette flore sont des cocci a Gram positif, groupés en paires ou en courtes chaînes (figure 17), qui peuvent pousser dans deux milieux sélectifs (Rothe et Litsky) (figure 18,19), et qui croissent en un milieu alcalin (pH= 9,6) et hypersalé (bouillon nutritif à 6,5% de NaCl) (figure 20),

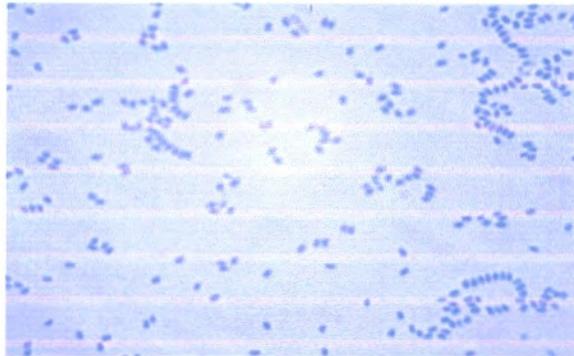


Figure 18 : observation microscopique de colonie du type 3 après coloration de Gram



Figure19 : Croissance sur milieu de Rothe

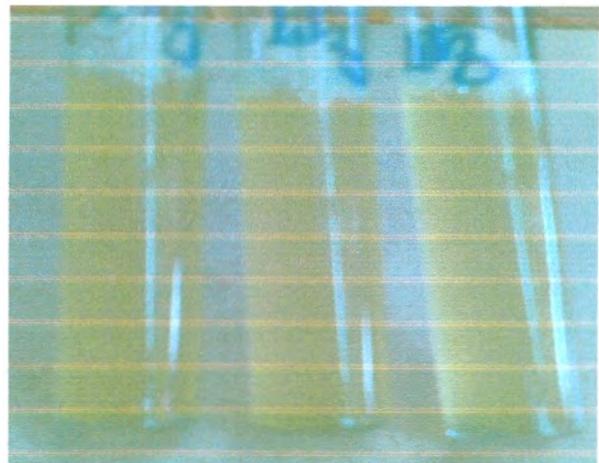


Figure 20 : Croissance sur milieu de Litsky

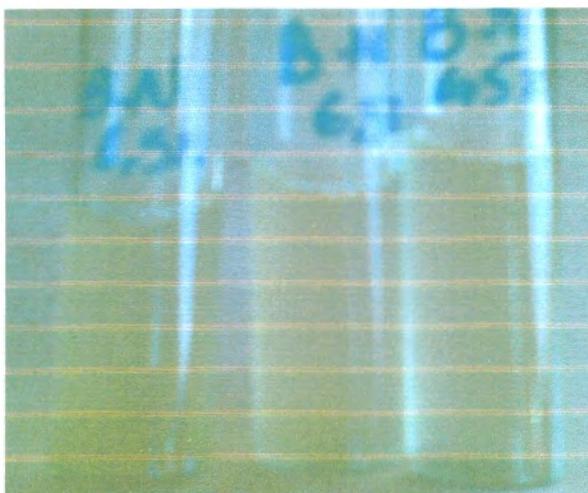


Figure 21 : Croissance sur bouillon nutritif à 6.5% de NaCl et pH 9.6



Figure 22 : résultat de test d'hémolyse sur gélose au sang de colonie du type 3

5.2.3 Résultats d'identification de La flore (morphotype N° 4):

Les souches de colonie du type 4 sont des coques à Gram positif, regroupés en amas (figure 22). Elles poussent aisément sur les milieux usuels, donnant des colonies rondes, lisses, blanches, opaques, atteignant 2 à 3 mm de diamètre sur milieu solide. Ils sont catalase positifs et oxydase négatifs. Elles apparaissent en jaune, surmontant une zone jaune du milieu de Chapman (milieu sélectif), par suite de la fermentation du mannitol (figure 23) produit une coagulase capable de faire coaguler le plasma (coagulase positive) (figure 24). Ces caractères nous suggèrent de rapprocher ce type de colonies au genre staphylococcus.

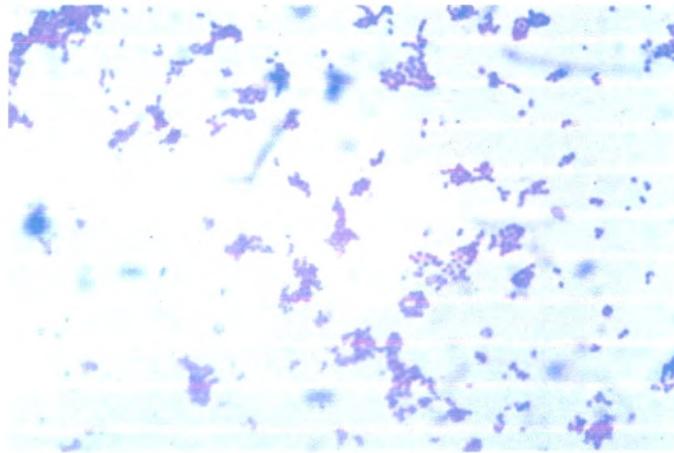


Figure 23 : observation microscopique de colonies du type 4 après coloration de Gram

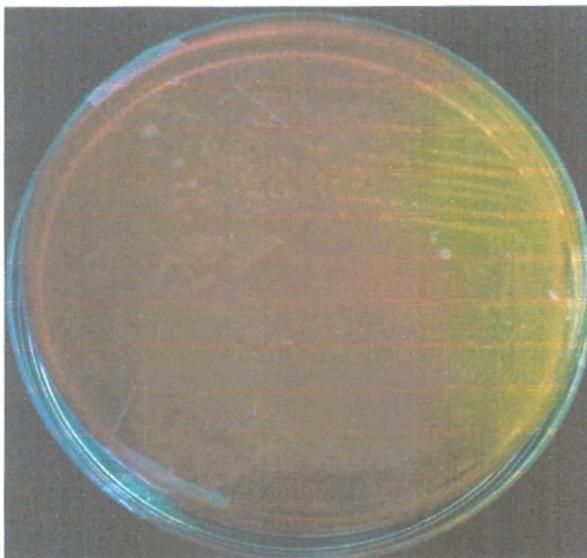


Figure 24 : Aspect de colonies N°4 sur milieu Chapman

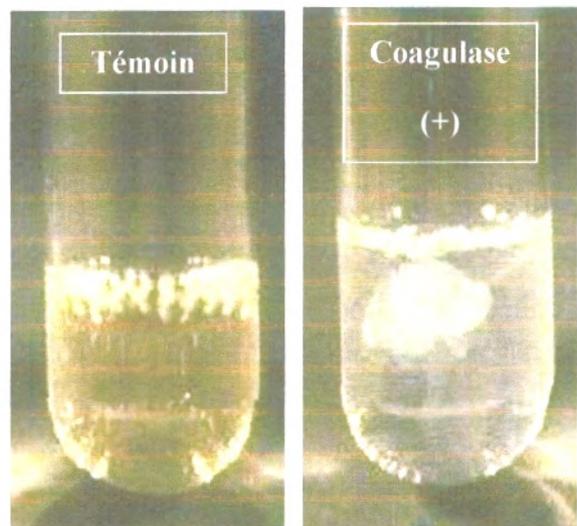


Figure 25 : Résultat du test de coagulase

5.3 Synthèse générale des résultats d'identification de la flore totale de couscous :

Les résultats d'identification de la flore d'identification de la flore de couscous sont illustrés dans le tableau N° VIII.

Tableau N° VIII : Synthèse des résultats d'identification de la flore totale de couscous

Flore Tests	Flore dominante	Flore (morphotype 2)	Flore (morphotype 3)	Flore (morphotype 4)
Gram	Bacille G+	Bacille G+	Cocci G+	Cocci G+
Sporulatin	(+)	(+)	(-)	(-)
Catalase	(+)	(+)	(-)	(+)
Oxydase	(+)	(-)	(-)	(-)
Lécithinase	(-)	(+)	//	//
Mannitol	(+)	(-)	//	(+)
Coagulase	//	//	//	(+)
hémolyse	(+)	(+)	(+/-)	(+)
Identification	<i>Bacillus sp</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Enterococcus sp</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>

G : Gram, (+) : résultat positive, (-) : résultat négative



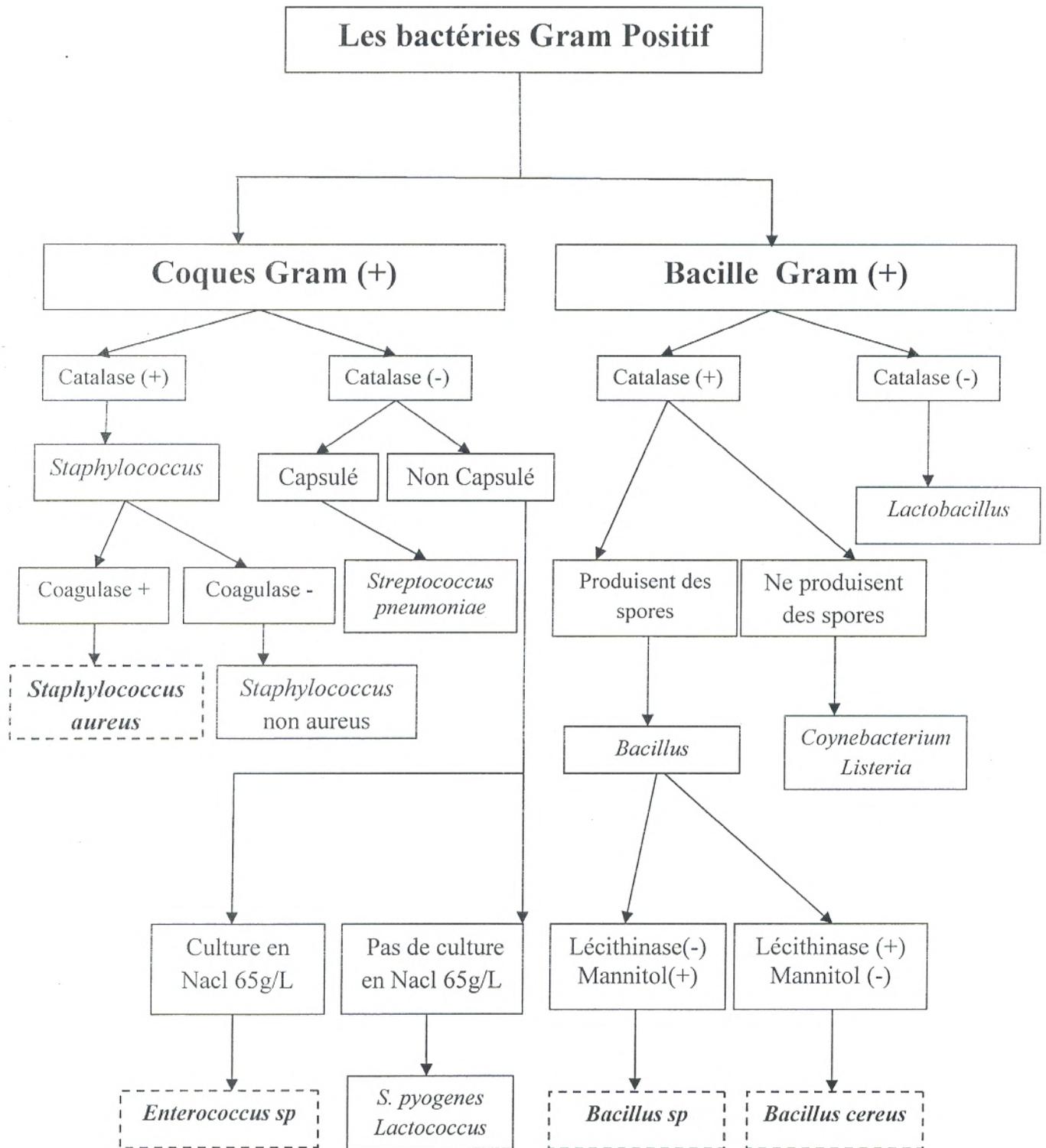


Figure 26 : organigramme propre à l'identification des Bactéries Gram Positif (BGP)

6. Résultats de la thermoresistance de la flore dominante :

Les résultats du traitement thermique à 80°C, 85°C, 90°C, 95°C appliqué sur des spores de la flore dominante sont portés sur les figures (26, 27, 28,29),

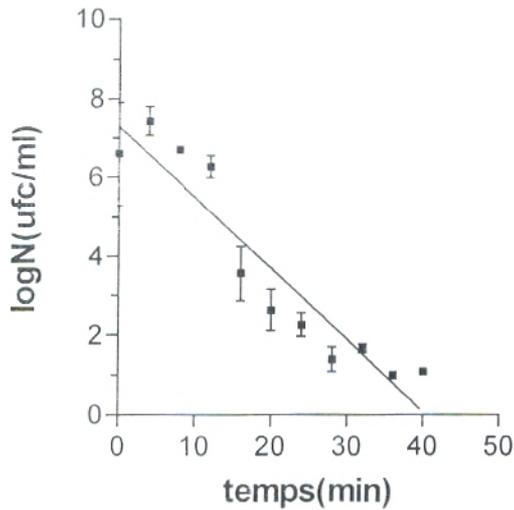


Figure 27: Courbe de survie de la flore dominante (*Bacillus spp*) à 80 °C

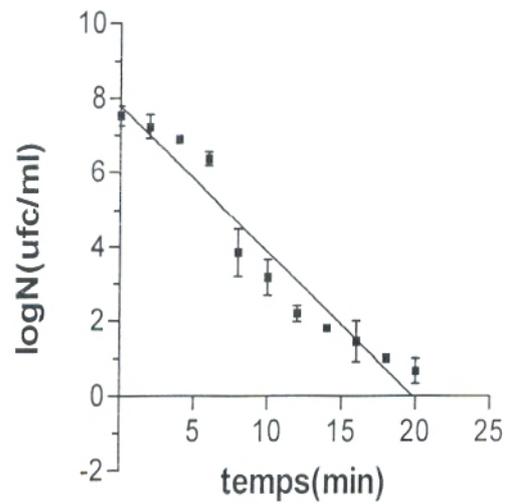


Figure 28 : Courbe de survie de la flore dominante (*Bacillus spp*) à 85 °C

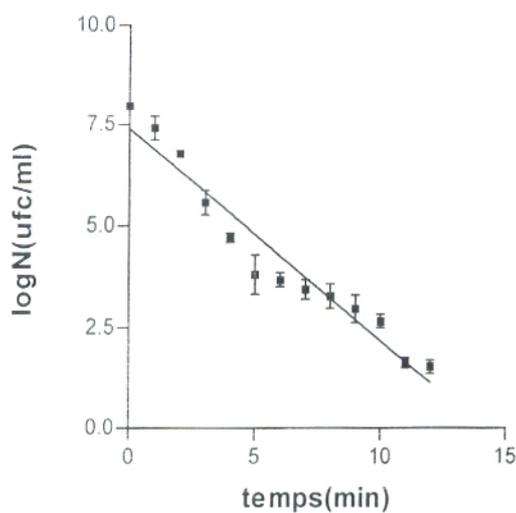


Figure 29: Courbe de survie de la flore dominante (*Bacillus spp*) à 90 °C

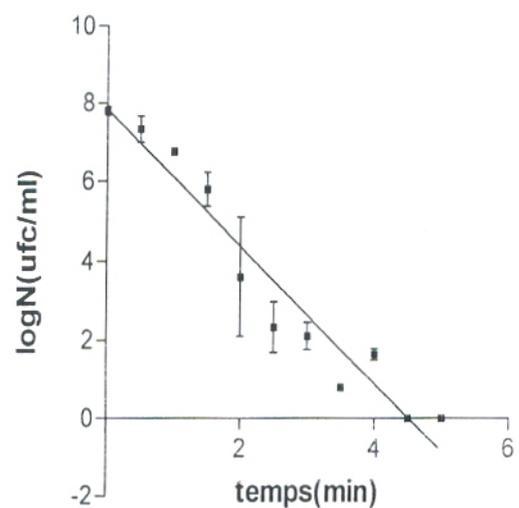


Figure 30: Courbe de survie de la flore dominante (*Bacillus spp*) à 95 °C

D'après ces résultats, on constate que le nombre de spores pour une température donnée, est inversement proportionnel au temps.

Les courbes de survie de la flore dominante du couscous nous ont permis d'extraire la valeur D, pour chaque température, à l'aide d'un logiciel GraphPad Prism. La valeur D est définie comme le temps de réduction décimale d'une suspension bactérienne à une température donnée. Ce temps est constant pour une température donnée (par exemple 121°C), et diminue lorsque la température augmente (Leyral, et al 2007).

Les valeurs D pour les différentes températures sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau N° IX : Les valeurs D de la flore dominante du couscous

La température (°C)	80	85	90	95
La valeur D (mn)	5,54	2,54	1,91	0,57

Plusieurs chercheurs ont étudié la thermorésistance de différentes espèces du genre *Bacillus*. Pour *Bacillus cereus* Brice Mvou Lekogo *et al.*, (2010) ont trouvé des valeurs D estimées à 4,78 min à 90°C et 3,55 min à 100°C.

Par contre Aguirre *et al.*, (2011) ont testé la destruction thermique de *Bacillus cereus* dans le lait entier à 94°C, les résultats obtenus donnent une valeur D de l'ordre de **9,26 min**.

Dans les travaux de Membré *et al.*, (2008), les valeurs de D pour une souche de *Bacillus cereus* de type psychrotrophe et mésophile, sont estimées respectivement à 0,04 à 1.28 min et 0.2 à 2.02 min à une température de 90°C.

Conesa *et al.*, (2009) ont enregistré une valeur D à 100°C de 6,5 pour *Bacillus subtilis*.

La thermorésistance d'une autre espèce, *Bacillus pumilus*, a été étudiée par Ruiz *et al.*, (2009) dans l'eau distillée à 104°C. Ces derniers ont trouvé une valeur D qui est de l'ordre de 0.15 min.

Le milieu peut ainsi être identique du traitement, en passant par les dilutions, jusqu'aux milieux d'incubation qu'ils soient solides ou liquides (Gaillard., 2003). Ce qui correspond bien aux résultats des travaux de Jagannath *et al.*, (2003) qui ont utilisé deux types de lait UHT pour *B. subtilis* : le lait écrémé et le lait entier à 95°C, D₉₅=5.76 min pour le lait écrémé et D₉₅=5.13 min pour le lait entier.

Les milieux utilisés dans l'expérience sont : le bouillon nutritif et la gélose nutritive. Ceci évite les changements de composition en nutriments dans les différentes parties de l'étude ce qui peut influencer sur les résultats (Gaillard., 2003).

L'activité de l'eau (a_w) est un facteur qui influe aussi sur la thermorésistance des micro-organismes mais cela dépendait de la nature de l'agent dépressur utilisé. Cela a été expliqué par Coroller *et al.*, (2001) qui ont rapporté que l'addition de saccharose, glycérol et glucose comme dépresseurs induisait une augmentation de la résistance des spores.

Bhothipaksa et Busta (1978) ont présenté que les a_w réduites pourraient provoquer une déshydratation plus poussée de la spore, ce qui aurait pour conséquence une augmentation de la thermorésistance.

Staack *et al.* (2008), dans son travail sur la thermorésistance de *Bacillus subtilis* à 90, 95 et 100°C, ont trouvé les résultats illustrés par (le tableau N°X)

Tableau N° X : Influence de l' a_w sur les valeurs D de *Bacillus subtilis*. Staack *et al.* (2008),

a_w \ Température (°C)	90	95	100
$a_w = 0.84$	9.4	4.1	2.8
$a_w = 0.88$	4.1	1.3	1.6

A partir des valeurs D, on peut tracer une courbe représentant $\log D$ en fonction de la température. Cela nous permet de retirer la valeur Z. Cette dernière est une mesure du pouvoir de destruction de la température du traitement, il s'agit de la différence de température nécessaire pour réduire la valeur D d'un log (Richardson, 2001),

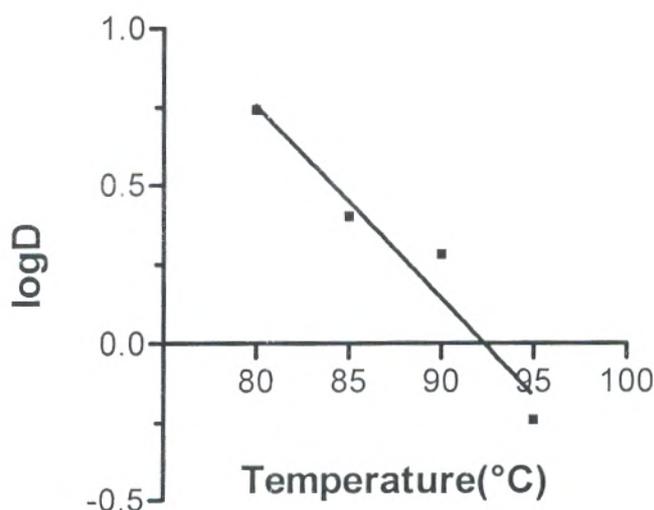


Figure 31: courbe des valeurs de $\log(D)$ en fonction de la température.

Dans le cas de notre travail, la valeur Z est de l'ordre de 16,34°C. La courbe précédente nous a permis de prévoir la valeur D pour différentes températures sans avoir recours à réaliser l'expérience.

Valero et al., (2005), ont testé la destruction thermique de *Bacillus cereus* avec une irradiation de 3,1 (kGy). Les résultats obtenus donnent une valeur Z de l'ordre de 7,88°C.

Baril et al., (2011) ont mesuré la survie de 3 genres de *Bacillus*. Ils ont enregistré des valeurs Z de 9°C pour *B. weihenstephanensis* (pH=8), 7,3 °C pour *B. licheniformis* (pH=8,5), et 7,8°C pour la souche *B. cereus*.

Mathys et al., (2006), dans son travail sur l'agglomération des spores de *B. stearothermophilus*, ont trouvé une valeur Z= 6,65°C.

En comparant nos résultats avec les différents travaux cités précédemment, on peut dire que la valeur z trouvée dans ce travail est en général supérieure à celles trouvées par les différents auteurs précédents.

L'effet des faibles valeurs de pH semble avoir des conséquences variables sur la valeur du paramètre Z. **Santos et al., (1992)** observent une augmentation de Z quand le pH diminue, les spores seraient donc moins sensibles à la température pour les bas niveaux de pH.

Ainsi, **Moussa-Boudjemaa et al., (2006)** ont remarqué également cette influence du pH, après traitement thermique sur la souche *Bacillus cereus*, au travers de la valeur Z(°C) de 7,7 °C pour pH = 5,2 et 8°C pour pH = 7.

Les autres facteurs comme la nature de milieu de culture de récupération, a_w pourrait également agir aussi.

Conclusion générale

Le couscous peut contenir des germes microbiens dangereux responsables des toxico-infections. Ces microorganismes à majorité bactérienne sont soit présents initialement dans la matière première, soit apportés par les manipulations ou par le matériel.

Dans cette étude la flore totale de trois marques de couscous sec commercialisées en Algérie a été évaluée. La flore dominante a été mise en évidence et caractérisée sur le plan morphologique, biochimique, physiologique et sécuritaire.

La flore dominante est constituée par *Bacillus spp.* *Bacillus cereus* (morphotype N° 2), *Enterococcus spp.* (morphotype N°3) et *Staphylococcus aureus* (morphotype N° 4).

L'étude de la thermorésistance de *Bacillus spp.* à des différentes températures, a révélé une résistance des spores de cette flore, aux traitements thermiques équivalents aux traitements habituels que subit le couscous lors de sa préparation. Il existe donc un risque de germination des spores ayant résisté à la destruction et pouvant être à l'origine d'intoxications alimentaires.

Pour améliorer la qualité microbiologique de cette denrée et sauvegarder la santé publique les mesures suivantes doivent être respectées.

- La qualité microbiologique doit être surveillée dès la matière première à savoir le blé dur.

Il est recommandé de préparer le produit conformément au Code d'usages international recommandé – Principes généraux d'hygiène alimentaire de la Commission du Codex Alimentaire. Ainsi les bonnes pratiques d'hygiène et le système HACCP doivent être mis en œuvre.

- Au niveau de la commercialisation : un marketing et une large sensibilisation du personnel des points de vente relatives aux problèmes de conservation doivent être inculqué (manière de stockage : humidité...).
- La préparation de grandes quantités de couscous lors de fêtes ou dans la restauration collective est à surveiller particulièrement. Si le couscous préparé doit subir un refroidissement, celui-ci doit être le plus rapide possible pour éviter que le couscous séjourne trop longtemps aux températures à risque (20 à 40°C). et ce afin d'éviter des intoxications dues à la germination des spores de *Bacillus cereus* et de *Clostridium perfringens*.

Références Bibliographiques :

1. **ABECASSIS J, (1991).** La mouture de blé dur. *In, GODON B.* Biotransformation des produits céréaliers. APRIA/INRA. Lavoisier Tec et Doc. Paris. 221p.
2. **Aguirre Juan S., Ordóñez Juan A, García de Fernando Gonzalo D, (2011).** A comparison of the effects of E-beam irradiation and heat treatment on the variability of *Bacillus cereus* inactivation and lag phase duration of surviving cells. Madrid, Spain. *International Journal of Food Microbiology*; 153 :444–452
3. **Alais C,Linden G, (1997).** Biochimie alimentaire, 4^{ème} édition, Masson, Paris, 248 p.
4. **Baril E, Coroller L, Couvert O, Leguérinel I, Postollec F, Boulais C, Carlin F, Mafart P, (2011).** Modeling heat resistance of *Bacillus weihenstephanensis* and *Bacillus licheniformis* spores as function of sporulation temperature and pH. *Food Microbiology* 30 : 29-36.
5. **Bhothipaksa K, Busta F, (1978).** Osmotically induced increase in thermal resistance of heat sensitive,dipicolinic acid less spores of *Bacillus cereus* ht-8. *Applied and Environmental Microbiology* 35 (4), 800_808.
6. **Brice Mvou Lekogo, Louis Coroller, Anne Gabrielle Mathot, Pierre Mafart, Ivan Leguerinel, (2010).** Modelling the influence of palmitic, palmitoleic, stearic and oleic acids on apparent heat resistance of spores of *Bacillus cereus* NTCC 11145 and *Clostridium sporogenes* Pasteur 79.3. Université Européenne de Bretagne, France. *International Journal of Food Microbiology* 141 :242–247.
7. **Codex Standard 202-1995.** NORME CODEX POUR LE COUSCOUS.
8. **Conesa, Periago P.M, Esnoz A, Lopez A, Palop A, (2009).** Prediction of *Bacillus subtilis* spore survival after a combined nonisothermal- isothermal heat treatment. *European food research and technology*; 217:319-234.
9. **Coroller L, Leguerinel I, MAFART P, (2001).** Effet of water activity of heating and recovery media on apparent haet resistance of *Bacillus cereus* spores . *App Environ Microbiological* 2001 .N° 17. P.317



10. **Derouiche M, (2003).**Couscous – Enquête de consommation dans l’est algérien, fabrication traditionnelle et qualité. Thèse de Magister.DNATAA. Université de constantine.125 p.
11. **Doumandji A, Doumandji S, Doumandji B, (2003).** Technologie de transformations des blés et problèmes dus aux insectes au stock. Office des publications universitaires. P 11,22.
12. **Elisabeth V, (1998).** Aliment et boisson, technologie et aspect réglementaires. doin éditeurs, Europe.
13. **Feillet P, (2000).** Le grain de blé, composition et utilisation. INRA. Paris. 308p.
14. **Feillet P, (2000).** Le grain de blé, composition et utilisation. INRA. Paris. 308p.
15. **Gaillard S, (2003).** « Modélisation de la thermorésistance, de la viabilité et du comportement à la recroissance de *Bacillus cereus*, en fonction de la température, du pH et de l'activité aqueuse ». Thèse doctorat en microbiologie Université de bretagne occidentale.
16. **Guezlane L, Abecassis J. (1991).** Méthodes d’appréciation de la qualité culinaire du couscous de blé dur. IAA Novembre. 966-71.
17. <http://www.ferico.fr/fabrication.php>.
18. **Jagannath A, Nakamura I, Tsuchido T, (2003).** Modelling the combined effects of pH, temperature and sodium chloride stresses on the thermal inactivation of *Bacillus subtilis* spores in a buffer system. *Journal of applied microbiology*; 95:135-141.
19. **Les variétés de blé dur recommandé en France en (1998)** par les industries utilisatrices sont les suivantes: Armet, Auroc, Brindur, Duriac, Exeldur, Lioyd, néodur, Orjaune, Primadur et Tétradur.
20. **Leyral G, Joffin JN, (2007).** Microbiologie et toxicologie des aliments. 4^e édition. Ed Dunod, Paris.
21. **Maarouf , Merzoughi, (2002).** Etude de la variabilité physico-chimique de quelque variété de blées durs cultivées dans la région de S.B.A. thèse d’ingénieur d’état en biologie, Mascara.
22. **Marie Membré J, King-Yu D, Blackburn W, (2008).** Use of sensitivity analysis to aid interpretation of a probabilistic *Bacillus cereus* spore lag time model applied to heat-treated chilled foods (REPFEDs). *International Journal of Food Microbiology* 128 :28–33.

23. **Mathys A, Heinz V, Herbert Schwartz F, Knorr D, (2006).** Impact of agglomeration on the quantitative assessment of *Bacillus stearothermophilus* heat inactivation. *Journal of Food Engineering* 81 :380–387.
24. **Moussa-Boudjemaa B, Gonzalez J, Lopez M, (2006).** Heat resistance of *Bacillus cereus* spores in carrot extract acidified with different acidulants. *Food Control* 17:819–824.
25. **Multon J.L, (1982).** Conservation et stockage des gains et graines et produits dérivés. Edition : Technique et documentation. Lavoisier. Paris. 425 p.
26. **Philip Richardson., (2001).** Thermal technologies in food processing. Published by CRC Press LLC, USA ; p :78.
27. **Ruiz P, Ocio MJ, F. Cardona, A. Fernandez, M. Rodrigo, A. Martinez, (2009).** Nature of the inactivation curves of *Bacillus Pumilus* spores heated using non-isothermal and isothermal treatments. *Journal of food science*; 67:776-779.
28. **Santos M.S, Kalasic H, Goti A, Enguidanos M, (1992).** The effect of pH on the thermal resistance of *Clostridium sporogenes* (PA 3679) in asparagus puree acidified with citric acid and glucono-delta-lactone. *International Journal of Food Microbiology* 16, 275_281.
29. **Selselt.Attou, (1990).** Technologie des céréales et des produits dérivés. Mostaganem.
30. **Senouci Bereksi M, Abdelouahid D, (2010).** Méthodes et technique en bactériologie. Office des publications universitaires.
31. **Staack N, Ahrné L, Borch E, Knorr D, (2008).** Effects of temperature, pH, and controlled water activity on inactivation of spores of *Bacillus cereus* in paprika powder by near-IR radiation. University of Technology of Berlin, Germany. *Journal of Food Engineering* 89: 319–324.
32. **Valero M, Sarrias J.A, Ivarez D. A, Salmeron M.C, (2005).** Modeling the influence of electron beam irradiation on the heat resistance of *Bacillus cereus* spores. University of Murcia, Spain. *Food Microbiology* 23 :367–371.
33. **Yanis A, (2007).** ART culinaire, Le couscous ou l'histoire ancestrale d'un grain magique. Algérie.
34. **Yousfi L, (2002).** Influence des conditions de fabrication sur la qualité du couscous industriel et artisanal. Thèse de Magister.DNATAA. Université de constantine. 141 p.

Annexe 01 :

Diluants et solutions

Eau physiologique :

NaCl.....8,5 g
Eau distillée.....1000 mL qsp

Gélose Nutritive :

Extrait de viande.....5g
Peptone.....10g
NaCl.....5g
Agar-Agar.....18-20g
Eau distillée.....1000 mL qsp

Bouillon nutritif :

Extrait de viande.....5 g
Peptone.....10 g
NaCl.....5 g
Eau distillée.....1000 mL qsp

Milieu PCA (Plate Count Agar):

Tryptone5g
Extrait de levure.....2,5g
Glucose1g
Agar15-18g
Eau distillée.....1000 mL qsp
pH final.....7

Gélose fortifiée pour la sporulation :

Extrait de viande.....	5g
Peptone.....	10g
Nacl.....	5g
CaCl ₂	0.056g
Mn SO ₄	0.003g
Agar-Agar.....	18-20g
Eau distillée.....	1000 mL qsp

Milieu de Rothe (S/C) :

Hydrolysat tryptique de caseine	12,6g
Peptone bactériologique.....	8g
Glucose.....	5g
Chlorure de sodium.....	5g
Phosphate dipotassique.....	2,7g
Phosphate monopotassique.....	2,7g
Azide de sodium.....	0.2g
Eau distillée.....	1000 mL qsp

Milieu de Litsky :

Peptone.....	20g
Glucose.....	5g
Chlorure de sodium.....	5g
Phosphate dipotassique.....	2,7g
Phosphate monopotassique.....	2,7g
Azohydrate de sodium.....	0.3g
Ethyl-violet.....	0,0005g
Eau distillée.....	1000 mL qsp
pH final.....	6,6 - 7

Annexe 02:**Résultats de la thermoresistance de la flore dominante****Résultats de la thermoresistance de la flore dominante à 80 °C**

Temps (min)	log N (UFC/mL)		
0	8	7,8	4
4	7,8	6,7	7,8
8	6,7	6,7	6,7
12	6,5	6,6	5,7
16	4,5	4	2,2
20	2,5	3,6	1,8
24	2,2	2,8	1,77
28	1,8	1,6	0,8
32	1,8	1,45	1,8
36	0,8	1,1	1,1
40	1	1,2	1,1

Résultats de la thermoresistance de la flore dominante à 85 °C

Temps (min)	log N (UFC/mL)		
0	7,8	7,8	7
2	7,8	6,7	7,2
4	7	7	6,7
6	6,6	6,5	6
8	//	4,5	3,2
10	3,2	4	3,2
12	2,3	2,5	1,77
14	1,8	1,7	1,9
16	2	//	0,9
18	0,8	1,1	1,1
20	1	00	1

Résultats de la thermoresistance de la flore dominante à 90 °C

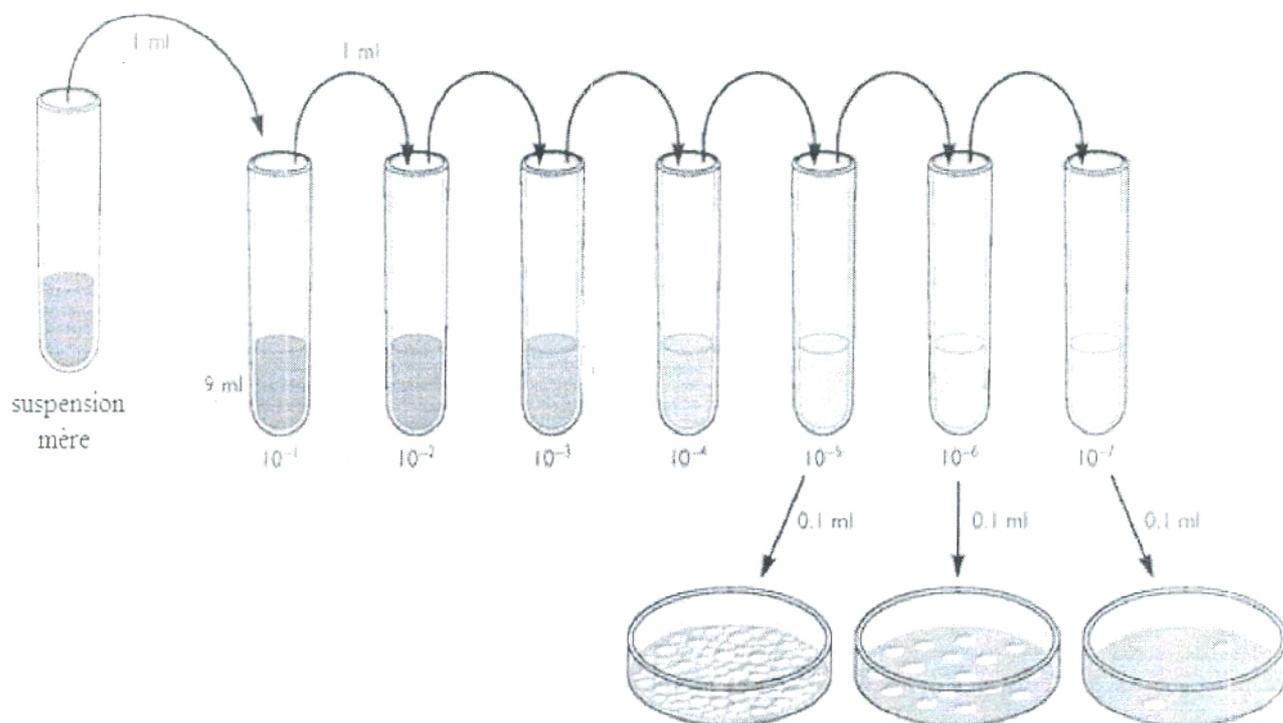
Temps (min)	log N (UFC/mL)		
0	7,8	8	8,1
1	6,83	7,6	7,8
2	6,74	6,8	6,8
3	5	6	5,7
4	4,83	4,83	4,5
5	4,7	3,74	3
6	3,64	3,4	4
7	3,5	3	3,83
8	3,4	2,7	3,74
9	3,21	2,3	3,4
10	2,5	2,5	3
11	1,8	1,7	1,4
12	1,7	1,7	1,2

Résultats de la thermoresistance de la flore dominante à 95 °C

Temps (min)	log N (UFC/mL)		
0	7,8	8	7,6
0,5	6,7	7,8	7,5
1	6,9	6,7	6,7
1,5	6,6	5,7	5,1
2	5,1	/	2,1
2,5	3,6	1,8	1,6
3	2,8	1,77	1,77
3,5	/	0,8	0,8
4	1,5	1,8	/
4,5	0	0	0
5	0	0	0

Annexe 03:

Dénombrement par plaque des dilutions:



Protocole expérimental :

