

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn Badis  
Mostaganem  
Faculté des Sciences de la  
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد ابن باديس مستغانم  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DES SCIENCES ALIMENTAIRES

## MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par :

**ARBIA NOUR EL HOUDA**

Pour l'obtention du diplôme de

**Spécialité: Production et transformation laitière**

Thème

### **Evaluation de la coagulation lactique des laits par une flore lactique acidifiante**

Devant les membres du jury

<b>Président</b>	Mme TAHLAITI Hafida	Grade MCA	U. Mostaganem
<b>Examineur</b>	Melle MEGHOUFEL Naima	Grade MAB	U. Mostaganem
<b>Encadreur</b>	M DAHOU Abdelkader El Amine	Grade MCB	U. Mostaganem

Travail réalisé au Laboratoire des Sciences et Techniques de Productions Animales

Année universitaire 2020-2021



## **Remerciements**

*Au nom du Grand Dieu; le clément; le miséricordieux*

*Louanges au prophète Mohamed*

*Mes premiers remerciements vont à mon enseignant Monsieur « **DAHOU Abdelkader El Amine** », de la spécialité Production et Transformation Laitière, du département des Sciences Alimentaires, de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université Abdelhamid IBN BADIS de Mostaganem ; d'avoir accepté de diriger et d'orienter ce travail de master ; je le remercie aussi pour ses orientations , son accompagnement tout au long de ma formation, son accueil à la réalisation de ce projet de fin d'études, son aide et ses conseils très précieux dans l'exploitation des résultats. Il est agréable d'exprimer ma pleine gratitude pour votre simplicité et votre générosité preuve de votre qualité humaine et scientifique.*

*Je tiens à exprimer mes remerciements à **Mme TAHLAITI.H enseignante** de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université Abdelhamid IBN BADIS de Mostaganem qui a accepté d'évaluer ce travail et de présider ce jury, qu'il soit ici remercier de l'intérêt qu'il a porté à ce travail.*

*Mes sincères remerciements à **Mme MEGHOUFEL.N** d'avoir accepté de faire partie du jury et d'examiner mon travail.*

*Mes remerciements s'adressent au chef du département des Sciences Alimentaires, à tous les enseignants qui ont contribué à notre formation, à notre épanouissement dans ce parcours et pour leurs aides et encouragements au cours de nos études.*

*Mes remerciements vont à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.*

**MERCI A TOUS...**



## *Dédicaces*

*C'est avec immense fierté et respect que je dédie ce modeste travail :*

*A ceux qui donnent un sens à mon existence, à la lumière de mes yeux en témoignage de votre affection et de votre amour, pour votre patience et votre soutien pendant les moments que j'ai traversé, Ma très chère mère pour ses sacrifices, ses aides, ses conseils et sa patience, ma 2eme mère qui a été à mes côtés et ma soutenu durant toute ma vie.*

*Mon très cher père pour tous ce qu'il a fait pour moi durant toutes mes études.*

*« Je vous exprime toute ma tendresse et ma reconnaissance mes chères parents ».*

*Je vous souhaite une longue vie pleine de bonheur et de santé.*

*A mes très chers frères : Azize , Ahmed*

*A mes meilleures amies qui m'ont toujours ouvert les portes de l'espoir :*

*kaoutar, Amina, Asma ,yassemine , Narimen , soumia.*

*A toute ma famille.*

*A mes ami(e)s de la promotion de master production et transformation laitière .*

*A tous ceux qui ont pris place dans mon cœur et à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin.*

***Houda***

## **Résumé**

Le présent travail vise la mise en évidence des aptitudes technologiques de deux souches lactiques une mésophile (*Lactococcus*) et l'autre thermophile (*Streptococcus*). Les souches ont été revivifiées et contrôlées par une re-caractérisation phénotypique par la détermination des caractéristiques morphologiques physiologiques. L'étude a porté sur le suivi du pouvoir acidifiant, la production de l'acide lactique, la coagulation lactique avec ses temps technologiques, la détermination du rendement fromager en pourcentage (%) et du rendement fromager en extrait sec total. La souche de *Lactococcus* est la plus performante avec un pouvoir acidifiant élevé (acidité 105°D et pH 4.87) par rapport à la souche thermophile avec une acidité 99°D et un pH qui a atteint 4.60. Par leur activité acidifiante ces souches révèlent de bonnes aptitudes technologiques (coagulation, rendement fromager, rendement en extrait sec total) qui peuvent être utilisés pour la fabrication des 02 caillés fromagers « lactique et mixte ».

**Mots clés :** Pouvoir acidifiant, Coagulation, *Lactococcus*, *Streptococcus*, Rendement fromager.

## ملخص

يهدف هذا العمل إلى إظهار القدرات التكنولوجية لسلاطين من البكتيريا اللاكتيكية ، إحداهما محبة للحرارة المتوسطة (*Lactococcus*) والأخرى محبة للحرارة العالية (*Streptococcus*). تم إحياء السلالات والتحكم فيها عن طريق إعادة توصيف مظهري عن طريق تحديد الخصائص المورفولوجية الفسيولوجية. ركزت الدراسة على مراقبة القوة الحمضية ، وإنتاج حمض اللاكتيك ، والتخثر اللبني مع أوقاته التكنولوجية ، وتحديد محصول الجبن. بالنسبة المئوية (%). ومن محصول الجبن في الخلاصة الجافة الكلية. تعتبر سلالة *Lactococcus* هي الأفضل أداءً مع قوة حمضية عالية (الحموضة 105 درجة دورنيك ودرجة الحموضة 4.87 pH) مقارنة بالسلالة المحبة للحرارة بدرجة حموضة 99 درجة دورنيك ودرجة حموضة وصلت إلى 4.60 pH. القدرات التكنولوجية الجيدة (التخثر ، إنتاج الجبن ، الإجمالي محصول مستخلص جاف) يمكن استخدامه لتصنيع 02 خثارة جبن "اللبنية والمختلطة".

**الكلمات المفتاحية:** قوة التخمير ، التخثر ، *Lactococcus* ، *Streptococcus* ، محصول الجبن.

## **Abstract**

The present work aims to highlight the technological abilities of two lactic strains, one mesophilic (*Lactococcus*) and the other thermophilic (*Streptococcus*). The strains were revived and controlled by a phenotypic re-characterization by determining the physiological morphological characteristics. The study focused on monitoring the acidifying power, the production of lactic acid, the lactic coagulation with its technological time, the determination of the cheese yield in % and the cheese yield in total dry extract. The strain of lactococcus is the most efficient with a high acidifying power (acidity 105°D and pH 4.87) compared to the thermophilic strain with an acidity 99°D and a pH that reached 4.60. By their acidifying activity these strains reveal good technological aptitudes (coagulation, cheese yield, yield in total dry extract) that can be used for the manufacture of 02 cheese curds "lactic and mixed".

**Key words:** Acidifying power, Coagulation, *Lactococcus*, *Streptococcus*, Cheese yield.

## **Abréviations, sigles, acronymes et symboles**

**Ac** : Aerococcus .

**BL** : bactérie lactique

**°C** : Degré Celsius .

**CO<sub>2</sub>** : dioxyde de carbone.

**D°** : degré dornic.

**En** : Enterococcus.

**EPS** : exopolysaccharides.**EST** : Extraie Sec Total.

**FAO** : Food and Agriculture Organization of the United Nations .

**FIL** : Fédération Internationale du Lait .

**g** : gramme.

**h** : heure .

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : hydroxyde d'hydrogène .

**ISO** : International Organization for Standardization.

**JORA** : Journal Officiel de la République Algérienne.

**l** : litre.

**Lb** : lactobacille.

**Lc** : Lactococcus .

**min** : minute.

**ml** : millilitre.

**MRS** : Man Rogosa Sharp .

**Na Cl** : chlorure de sodium.

**Na OH** : hydroxyde de sodium .

**OMS** : Organisation mondiale de la santé.

**%** : pourcentage.

**pH** : potentiel d'hydrogène.

**pKa** : constante d'acidité d'un équilibre acido-basique

**St**: Streptococcus.

**s**: Seconde .

**T°** : température .

**µm** : micromètre.

**V** : volume.

## Liste des Tableaux

N°	Titres	Page
1	Milieux d'isolement des bactéries lactiques.	22
2	Critères différentiels des trois groupes de lactobacilles (SHARPE,1981 ; KANDLER et WEISS1986).	29
3	Quelques caractéristiques des bactéries lactiques (d'après AXELSSON, 2004).	36
4	Matériel et produits utilisés lors de cette expérimentation.	54
5	Evolution du pH –Acidité Dornic en fonction du temps d'incubation pour chaque souche.	70
6	Les analyses physico-chimiques du lait préparé partiellement écrémé.	73
7	Résultats obtenus en rendement fromager pour nos caillés égouttés.	77
8	Résultats obtenus du rendement fromager en extrait sec total (g) pour nos échantillons après dessiccation.	78



## Liste des Figures

<b>Figure 1.</b> (a) la <i>Lactobacillus Rosell-11</i> observé au microscope électronique à transmission (M.E.T.) (x 10000) , (b). <i>Leuconostoc lactis</i> observé au M.E.T. (x10000 ) (Makhloufi, 2011).....	21
<b>Figure 2.</b> Arbre phylogénétique des principaux genres de bactéries lactiques, incluant quelques genres aérobie et anaérobie facultatif de Firmicutes (Lahtinem et al, 2012)..	25
<b>Figure 3.</b> Dendrogramme illustrant les relations phylogénétiques d'ordre Lactobacillales basé sur la comparaison des séquences du gène de 16S d'ARNr (Bergey's manual of systematic bacteriology ,2009).....	26
<b>Figure 4.</b> Morphologie de <i>Lactobacillus casei</i> observé au microscope électronique à transmission (M.E.T.) (x 10000) (Corrieu & Luquet, 2008) .....	29
<b>Figure 5.</b> Morphologie de <i>Lactococcus lactis</i> observé au microscope électronique à transmission (M.E.T.) (x 10000) (Teubeur et Geis ,2006) .....	30
<b>Figure 6.</b> Fixation des <i>Leuconostocs</i> sur les moules en grès-vernisé. ( <a href="https://www.researchgate.net/figure/Figure-L-6-Fixation-des-Leuconostocs-sur-les-moules-en-gres-vernise_fig4_338454567">https://www.researchgate.net/figure/Figure-L-6-Fixation-des-Leuconostocs-sur-les-moules-en-gres-vernise_fig4_338454567</a> ).....	31
<b>Figure 7.</b> Morphologie de <i>Pediococcus pentosaceus</i> en microscopie électronique à transmission (wallace et al ,2003) .....	32
<b>Figure 8.</b> Morphologie de <i>Streptococcus thermophilus</i> observé au microscope électronique à transmission (M.E.T.) (x 10000) (Liebefeld, 2002) .....	33
<b>Figure 9.</b> Morphologie de <i>Enterococcus faecalis</i> observé au microscope électronique à transmission (M.E.T.) (x 10000)( <a href="https://fr.wikipedia.org/wiki/Enterococcus_faecalis">https://fr.wikipedia.org/wiki/Enterococcus faecalis</a> ) .....	34
<b>Figure 10.</b> Morphologie de <i>Bifidobacterium longum</i> observé au microscope électronique à transmission (M.E.T.) (x10000) ( <a href="https://fr.wikipedia.org/wiki/Bifidobacterium_longum">https://fr.wikipedia.org/wiki/Bifidobacterium longum</a> ) .....	35
<b>Figure 11.</b> Principales voies cataboliques du glucose chez les bactéries lactiques (Matamoros, 2008). .....	36

<b>Figure 12.</b> Le métabolisme de citrate chez les bactéries lactiques (Cogan, 1981).....	43
<b>Figure 13.</b> Voie métabolique de la fermentation lactique homofermentaire (Tessier,2007) .....	44
<b>Figure 14.</b> voie métabolique de la fermentation lactique hétérofermentaire (Tessier,2007) .....	46
<b>Figure 15 .</b> Un acide aminé dans sa forme zwitterionique( $pH = pI$ ) et ionisée ( $pH < pI$ ) .....	47
<b>Figure 16 .</b> Equilibres de déprotonation de la lysine .....	49
<b>Figure 17 .</b> Courbe de titration de lysine .....	50
<b>Figure 18 .</b> Souches lactiques une mésophile et l'autre thermophile.....	56
<b>Figure 19 .</b> Dilutions décimales préparées pour chaque souche .....	56
<b>Figure 20 .</b> Mesure de l'acidité Dornic .....	59
<b>Figure 21 .</b> Etapes de préparation du lait. ....	61
<b>Figure 22 .</b> Image représentative de lactoscan. ....	63
<b>Figure 23 .</b> Les colonies de la souche Streptococcus thermophilus obtenues après 48 heures d'incubation à 42 °C .....	66
<b>Figure 24 .</b> Les colonies de la souche Lactococcus obtenues après 72 heures d'incubation à 37 °C.....	67
<b>Figure 25 .</b> Observation microscopique de la souche Streptococcus thermophilus après coloration de Gram ( $G \times 100$ ) .....	68
<b>Figure 26 .</b> Observation microscopique de la souche Lactococcus après coloration de Gram ( $G \times 100$ ) .....	68
<b>Figure 27.</b> Evolution de L'acidité en °D des souches utilisées en fonction du temps d'incubation.....	69
<b>Figure 28.</b> Evolution du pH des souches utilisées en fonction du temps d'incubation.. .....	70
<b>Figure 29.</b> Mesure du pH du coagulum obtenu suite à une fermentation mésophile ....	71
<b>Figure 30.</b> Mesure du pH du coagulum suite à une fermentation thermophile .....	72

<b>Figure 31 . Résultats des analyses physico-chimiques du lait préparé partiellement écré­mé établies par Lactoscan SP.....</b>	<b>72</b>
<b>Figure 32. Le chauffage du coagulum obtenu .....</b>	<b>76</b>
<b>Figure 33. Caillé fromager obtenu de la préparation thermophile après caillage et égouttage.....</b>	<b>76</b>
<b>Figure 34. Caillé fromager obtenu de la préparation mésophile après caillage et égouttage.....</b>	<b>77</b>
<b>Figure 35 . Evaluation du rendement fromager % sur nos échantillons .....</b>	<b>78</b>
<b>Figure 36 . Le rendement fromager en fonction de la variation de l'EST.....</b>	<b>79</b>
<b>Figure 37 . Extrait sec total obtenu de la préparation mésophile après dessiccation.....</b>	<b>79</b>
<b>Figure 38. Extrait sec total obtenu de la préparation thermophile après dessiccation....</b>	<b>80</b>

## **Liste des annexes**

<b>Annexe A :</b> Composition des milieux de culture .....	85
<b>Annexe B :</b> Coloration de Gram (Singleton,1999) .....	86
<b>Annexe C:</b> Test de catalase.....	87

## Sommaire

Abréviations, sigles, acronymes et symboles

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des annexes

**Introduction** ..... 16

### Partie 1. Étude bibliographique

**Chapitre I.** Bactéries lactiques..... 20

**Chapitre II.** Rôle des bactéries lactiques..... 40

### Partie 2. Recherche Expérimentale

**Chapitre I.** Matériel et méthodes ..... 54

**Chapitre II.** Résultats et discussion..... 67

**Conclusion** ..... 82

Annexes ..... 85

Liste des références ..... 89

Table des matières ..... 99

# Introduction

## Introduction

---

Les bactéries lactiques sont des micro-organismes de catégorie GRAS qui jouent un rôle essentiel dans la fermentation des matières premières animales et végétales. Elles occupent des niches écologiques extrêmement variées. Leur capacité à fermenter les hydrates de carbone et, à un moindre degré de dégrader les protéines et les lipides, mène à la synthèse d'une large gamme de composés, tels que les acides organiques, les peptides, les composés antimicrobiens et aromatiques et les exopolysaccharides. Ces métabolites peuvent contribuer aux caractéristiques organoleptiques, technologiques et nutritionnelles des aliments fermentés. La caractérisation des bactéries lactiques a favorisé le développement de souches bactériennes définies, connues sous le nom de levains ou de cultures starters. Elles remplacent de plus en plus depuis quelques décennies les mélanges non définis traditionnellement employés en industrie laitière (**Crow *et al.*, 1994; Soomro *et al.*, 2002**).

Les ferments lactiques jouent un rôle technologique fondamental en transformation laitière et la recherche de nouvelles souches possédant des activités biologiques particulières est en pleine expansion dans le secteur de l'industrie laitière (**Zadi Karam *et al.*, 2004; Hassaine *et al.*, 2008; Roudj *et al.*, 2009; Belkheir *et al.*, 2016; Boublenza *et al.*, 2018**).

Dans l'industrie alimentaire, ces microorganismes permettent la conversion d'une grande variété de matières premières, conduisant ainsi à de nombreux produits : les laits fermentés, les fromages, les olives fermentées, les divers produits fermentés par les ferments lactiques commerciaux (**Axelsson, 2004**).

Les bactéries lactiques sont également utilisées dans l'industrie chimique (production d'acide lactique), dans le domaine médical (notamment pour le traitement de dysfonctionnements intestinaux) et dans l'industrie des additifs alimentaires (production d'exopolysaccharides). Elles sont aussi utilisées pour la production de bactériocines et des protéines thérapeutiques. Ces bactéries inhibent la prolifération de micro-organismes par la production de composés inhibiteurs tels que les bactériocines et en abaissant le pH par la production d'un produit majeur, l'acide lactique (**Ameen et Caruso, 2017 ; Dahou *et al.*, 2015**).

## Introduction

---

Cette étude a pour objectif de faire la revivification et la re-caractérisation phénotypique d'une bactérie lactique mésophile (*Lactococcus* ) et d'une autre thermophile (*Streptococcus*), d'étudier leurs aptitudes technologiques (aptitude à la coagulation, rendement fromager, rendement en extrait sec total ) en utilisant des laits préparées au niveau du Laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animales (LSTPA), de Hassi Mamèche, affilié à l'Université de Mostaganem.

Le travail élaboré selon le plan suivant et qui comprend :

-Une première partie relative une étude bibliographique qui met l'accent sur la présentation des bactéries lactique et les caractéristiques des principaux genres des bactéries lactiques , et leurs rôles

- Une deuxième partie reporte la description du protocole expérimental en plusieurs étapes en exposant les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail : revivification des souches lactiques et l'étude de quelques aptitudes technologiques (la cinétique d'acidification , pouvoir acidifiant , coagulation lactique avec la caractérisation de ses temps technologiques , rendement fromager en % et rendement fromager en extrait sec total (g)).

L'expérimentation est suivie d'une interprétation et discussion des résultats obtenus dans cette étude

-Une troisième partie est réservée à la conclusion générale de notre étude réalisée.



# ***Partie 1***

## ***Étude bibliographique***

# **Chapitre I**

## **Les bactéries lactiques**

## 1. Présentation des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont des microorganismes largement utilisés en industrie alimentaire, dans une grande variété de fermentations. En effet, ces bactéries participent à la transformation de produits animaux tels le lait et certains produits carnés ainsi qu'à l'élaboration de produits végétaux. Elles sont aussi connues pour leur rôle probiotique (**Braegger, 2002**).

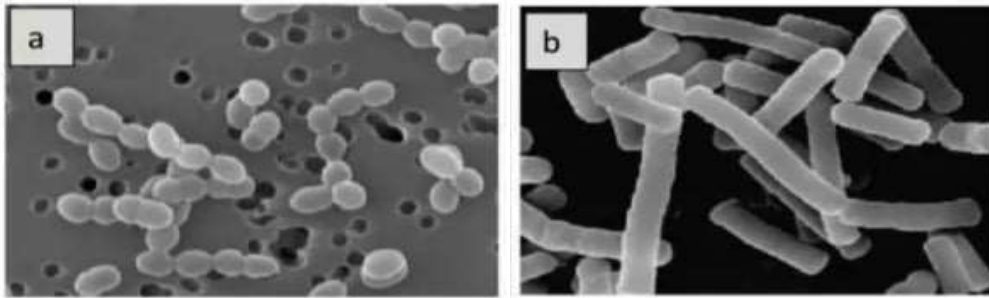
Ce groupe bactérien regroupe un ensemble d'espèces hétérogènes dont le trait commun est la production d'acide lactique suite à la fermentation des glucides. La fermentation est dite homofermentaire si l'acide lactique est pratiquement le seul produit formé, et hétérofermentaire si d'autres composés sont aussi présents (acide acétique, éthanol, CO<sub>2</sub>, etc...) (**Larpent, 1996**).

Ce sont des microorganismes hétérotrophes et chimio-organotrophes, non sporulés, habituellement aéro-anaérobies et catalase négatives. Acido-tolérantes et capables de croître à des températures comprises entre 10°C et 45°C et à des pH allant de 4,0 à 5,5 ces bactéries sont généralement immobiles. Elles peuvent avoir différentes formes: sphériques (coques/genre *Streptococcus*, *Lactococcus*,...), en bâtonnets (bacilles/genres *Lactobacillus*) ou encore ovoïdes (*Leuconostoc ssp.*) (**Corrieu et Luquet, 2008; Galvez et al., 2011**).

Les nombreux genres et espèces qui constituent ce groupe présentent une grande diversité de caractéristiques physiologiques. Cela se traduit par l'existence entre genres, espèces et au sein des espèces, de nombreuses souches possédant des propriétés technologiques différentes (**Salminen et al., 2004; Fröhlich et König, 2009; Pringsulaka et al., 2011**).

Les bactéries lactiques ont des exigences nutritionnelles complexes pour les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels, les acides gras et les glucides fermentescibles (**Dellaglio et al., 1994**). Elles sont très fréquentes dans la nature, ubiquistes, et on les trouve donc dans différentes niches écologiques.

Elles se trouvent généralement associées à des aliments riches en sucres simples. Elles peuvent être isolées des produits laitiers, de la viande, des fruits en décomposition, du poisson fermenté, des eaux usées et des cavités (buccale, les organes génitaux, les voies intestinales et respiratoires) des humains et des animaux (**König et Fröhlich, 2009**).



**Figure 1.** (b) *Lactobacillus* observé au microscope électronique à transmission (M.E.T.) (x 10000) , (a) *Leuconostoc lactis* observé au M.E.T. (x10000 ) (Makhloufi, 2011)

## 2. Habitat et origine des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques ont pour habitat de nombreux milieux naturels, des végétaux (Plantes et fruits), des animaux et des humains (cavités buccales et vaginales, fèces et dans le lait). Mais certaines espèces semblent s'adapter à un environnement spécifique et ne sont guère trouvées ailleurs que dans leurs habitats naturels (De Roissart., 1986).

Les espèces du genre *Lactococcus* sont isolées du lait ou des végétaux qui sont les réservoirs naturels de la plupart de ses espèces. L'espèce *Lactococcus lactis subsp. lactis* est isolée pour la première fois à partir du lait fermenté par Lister en 1873 et reconnue comme agent primaire de l'acidification du lait caillé). (Bergey's manual., 2009) Parmi les espèces du genre *Streptococcus*, *Streptococcus thermophilus* est isolée du lait pasteurisé, du matériel de laiterie et de levains artisanaux. Les espèces du genre *Leuconostoc* sont isolées du lait, des produits laitiers, des fruits, des légumes (en particulier la betterave), des végétaux en fermentation (comme la choucroute), des produits de la panification et des solutions visqueuses de sucre dans les sucreries

Les espèces du genre *Pediococcus* sont présentes surtout dans les végétaux en décomposition, parfois dans les boissons alcoolisées, le lait, les différents fromages (Parmesan et autres fromages italiens) et les préparations culinaires (Saucisses, anchois salés ou sauce de soja). (Bekhouche., 2006).

Les espèces du genre *Lactobacillus* sont présentes dans plusieurs milieux différents : dans le lait et les fromages (*Lb. casei subsp. casei*, *Lb. plantarum*, *Lb. curvatus* et *Lb. brevis*), dans les laits fermentés (*Lb. kefir*, *Lb. brevis* et *Lb. fermentum*), dans les produits végétaux fermentés, les marinades, l'ensilage, le vin et les viandes fraîches ou fermentées (*Lb. brevis*, *Lb. Curvatus*, *Lb. buchneri* et *Lb. san francisco*) (Demazeaud., 1996).

Tableau 1. Milieux d'isolement des bactéries lactiques (Lahtinem et al, 2012).

Bactéries lactiques	Habitat ou milieu d'isolement.
<b>Lactobacillus</b>	
<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>delbrueckii</i>	Végétaux
<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	Yaourt, fromage
<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i>	Lait, fromage
<i>Lb. acidophilus</i>	Bouche, tractus intestinal
<i>Lb. gasserii</i>	Bouche, tractus intestinal
<i>Lb. helveticus</i>	Fromage
<i>Lb. casei</i> subsp. <i>casei</i>	Rumen
<i>Lb. casei</i> subsp. <i>pseudopantarum</i>	Fromage, fourrage
<i>Lb. casei</i> subsp. <i>tolerans</i>	Bouche
<i>Lb. casei</i> subsp. <i>rhamnosus</i>	Tractus intestinal
<i>Lb. sake</i>	Végétaux, produits carnés
<i>Lb. curvatus</i>	Végétaux, produits carnés, lait
<i>Lb. bavaricus</i>	Végétaux
<i>Lb. plantarum</i>	Végétaux, fromage, produits carnés, bouche
<i>Lb. bif fermentans</i>	Fromage
<i>Lb. brevis</i>	Végétaux, lait, fromage, tractus intestinal
<i>Lb. buchneri</i>	Végétaux, lait, fromage, bouche
<i>Lb. kefir</i>	Kéfir
<i>Lb. reuteri</i>	Tractus intestinal, produits carnés
<i>Lb. fermentum</i>	Végétaux, fromage, bouche
<i>Lb. confusus</i>	Végétaux
<i>Lb. viridescens</i>	Produits carnés
<i>Lb. sanfrancisco</i>	Pain
<b>Lactococcus</b>	
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	Lait cru, laits fermentés, végétaux
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis biovar diacetylactis</i>	Végétaux, lait
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	Lait
<i>Lc. raffinolactis</i>	Lait caillé
<i>Lc. garviae</i>	Lait de mammité
<b>Leuconostoc</b>	
<i>Ln. oenos</i>	Lait, produits laitiers, fruits, légumes, végétaux en fermentation (choucroute), produits de panification, Solutions visqueuses de sucres Vin (absent dans le lait)
<b>Pediococcus</b>	
<i>Pc. pentosaceus</i> , <i>Pc. acidilactici</i>	Végétaux, boissons (bière, cidre et vin)
<i>Pc. halophilus</i>	Matières végétales, lait et produits laitiers Produits de pêche, anchois salé
<b>Streptococcus thermophilus</b>	Lait, produits laitiers, yaourt, levains artisanaux

### 3. Taxonomie des bactéries lactiques

Décrites pour la première fois par Orla-Jensen au début du XXe siècle (1919), les bactéries lactiques constituent un groupe hétérogène, qui n'est pas clairement défini du point de vue taxonomique (**Lahtinem et al, 2012**).

Selon (**FELIS et al., 2015**) ; du point de vu taxonomique, les bactéries lactiques sont un vaste ensemble de microorganismes procaryotes qui se rattache au phylum des Clostridium. Elles appartiennent à la lignée des Firmicutes, à la classe des Bacilli et à l'ordre des Lactobacillales (**GARRITY et al., 2007**).

Les critères utilisés (morphologie cellulaire, types fermentaire, les températures de croissance et l'utilisation des sucres) sont toujours très importants pour la classification des BL, bien que l'avènement d'outils taxonomiques plus modernes, les méthodes biologiques en particulier moléculaires, ont considérablement augmenté le nombre de genres de BL a partir des quatre initialement reconnue par Orla-Jensen (*Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Streptococcus*) (**Lahtinem et al, 2012**).

Une importante étape a été franchie en 1977 par Woese et Fox qui ont introduit la phylogénie moléculaire basée sur la séquence des ARN ribosomiques. Cette méthode a révolutionné la taxonomie des bactéries et la classification des BL a été profondément modifiée. D'autres méthodes génotypiques (basés sur les acides nucléiques) sont aussi utilisées en classification, comme le pourcentage en GC de l'ADN ou l'hybridation ADN: ADN. (**Salminen et al., 2004**). I Les réorganisations effectuées ont contribué à fusionner des espèces en une seule, ou identifier une espèce comme un nouveau genre (**Pot, 2008**).

L'ancien genre *Streptococcus* était divisé au début en trois groupes: *Enterococcus*, *Lactococcus* et *Streptococcus* sensu stricto, mais aujourd'hui, certaines bactéries lactiques qui étaient mobiles, ressemblant aux *Lactococcus*, ont formé un autre genre séparé; c'est les *Vagococcus*. Les genres *Lactobacillus*, *Leuconostoc* et *Pediococcus* sont globalement restés inchangés, mais quelques bactéries lactiques, auparavant incluses dans le genre *Lactobacillus*, forment maintenant le genre *Carnobacterium* qui regroupe des lactobacilles atypiques isolés de différents produits carnés. De plus, des souches de l'ancienne espèce *Pediococcus halophilus* ont été

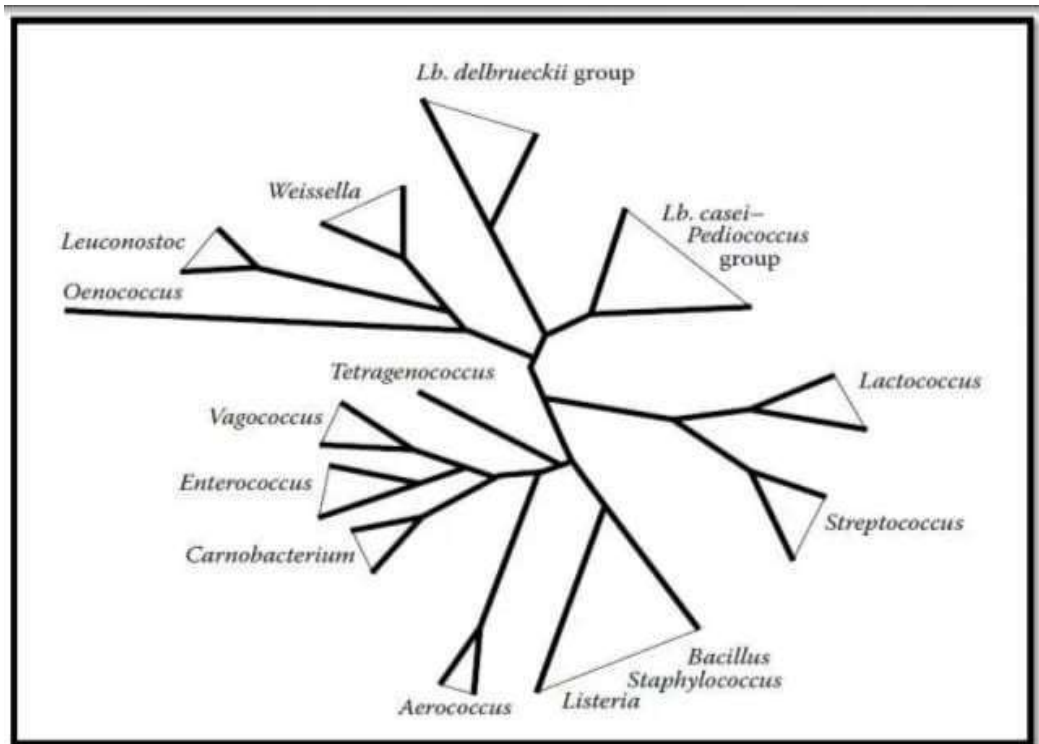
incluses dans le genre *Tetragenococcus* du fait de leur insensibilité à la Vancomycine. Quelques espèces de *Lactobacillus* et *Leuconostoc* ont formé un nouveau genre, les *Weissella*, en raison de leurs différences phylogénétiques avec les autres lactobacilles hétérofermentaires. Les *Leuconostoc oenos*, les « *Leuconostoc* du vin », ont formé le genre *Oenococcus* (Axelsson, 2004).

Le genre *Bifidobacterium* est considéré comme appartenant aux bactéries lactiques (du fait de son effet probiotique sur l'organisme et son utilisation dans les aliments) mais il est phylogénétiquement sans rapport avec ces dernières (Vandamme et al, 1996; Gevers 2002 ; Patrignani et al. 2006).

Les bactéries lactiques peuvent être divisées arbitrairement du point de vue morphologique en bacilles (*Lactobacillus* et *Carnobacterium*) et coques (tous les autres genres). Le genre *Weissella* est le seul genre qui comporte à la fois des bacilles et des coques (Collins et al, 1993; Ho et al. 2007) . Selon la dernière édition de Bergey's manual of systematic bacteriology (2009), les bactéries lactiques sont classées dans le Phylum des Firmicutes, la Classe des Bacilli et l'Ordre des *Lactobacillales* renfermant trente cinq genres (*Aerococcus*, *Alloiococcus*, *Atopobium*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* et *Weissella*) (Pot, 2008) répartis sur six familles (tab.1) (Fig.3). Parmi ces genres, seulement douze sont importants d'un point de vue biotechnologique (Fig.2) (Axelsson, 2004; Guiraud et al, 2003).

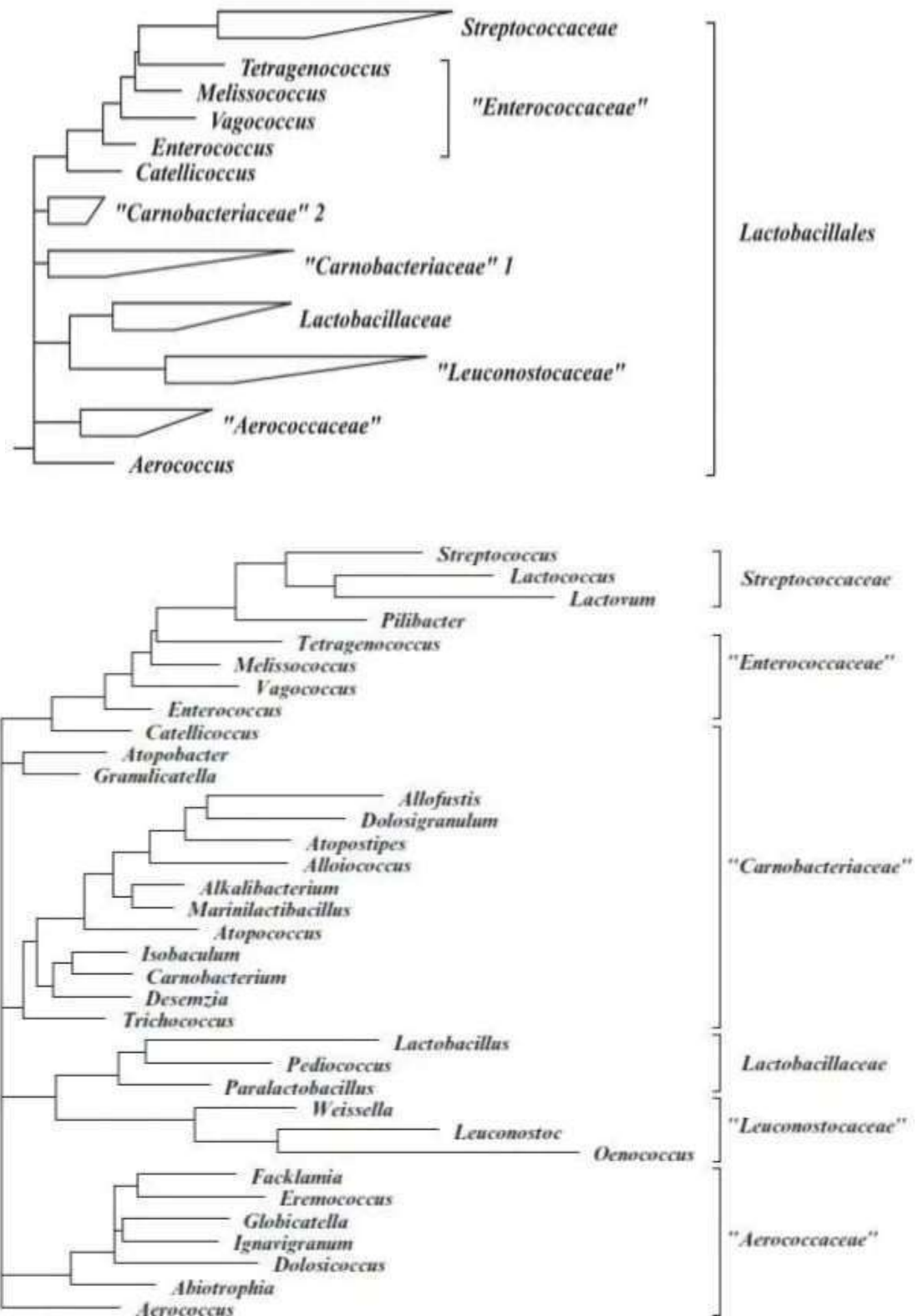
D'autres genres, par exemple: *Dolosicoccus*, *Dolosigranulum*, *Eremococcus*, *Facklamia*, *Globicatella*, *Helococcus*, *Ignavigranum* et *Lactosphaera*, ont également été décrits, comportant des souches qui montrent des liens physiologiques et phylogénétiques avec les bactéries lactiques (Broadbent, 2001; Axelsson, 2004).

Les nombreux genres et espèces qui constituent ce groupe présentent une grande diversité de caractéristiques physiologiques. Cela se traduit par l'existence entre genres, espèces et au sein des espèces, de nombreuses souches possédant des propriétés technologiques différentes.



**Figure 2.** Arbre phylogénétique des principaux genres de bactéries lactiques, incluant quelques genres aérobie et anaérobie facultatif de Firmicutes (Lahtinen et al, 2012).





**Figure 3.** Dendrogramme illustrant les relations phylogénétiques d'ordre *Lactobacillales* basé sur la comparaison des séquences du gène de 16S d'ARNr ( **Bergey's manual of systematic bacteriology ,2009**)

#### 4. Caractéristiques des principaux genres des bactéries lactiques:

Six genres de bactéries lactiques sont associés au lait et aux produits laitiers (**voire le tableau**); il s'agit de *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus* et *Enterococcus* (**Bulut, 2003**).

##### . *Lactobacillus* :

C'est l'un des plus importants genres de bactéries lactiques. Il appartient à la famille des *Lactobacillaceae* contenant aussi les genres *Paralactobacillus* et *Pediococcus*. Il comprend 96 espèces et 16 sub-espèces qui sont adaptées à des endroits spécifiques et ne sont pas trouvées généralement en dehors de leurs habitats (**De Vos et al., 2009**).

Elles exigent toutes de nombreux facteurs nutritionnels pour leur croissance. Pour cela, tous les milieux de culture utilisés pour l'isolement sélectif ou semi sélectif des *lactobacilli* (MRS, le milieu APT et le milieu SL...) doivent contenir des facteurs de croissance adéquats, une source de vitamines représentée généralement par l'extrait de levure, les peptones, le manganèse, l'acétate et le tween 80. Leurs colonies sont souvent petites (2-5mm), convexes, brillantes, généralement opaques et parfois pigmentées (**De Vos et al., 2009**).

Toutes les espèces de *Lactobacillus* ont une morphologie caractéristique en bâtonnet. Leurs cellules peuvent être longues et minces, courtes, courbées, *coccobacilli* ou *coryneformes*. Elles sont arrangées, généralement, en chaînes. Elles sont immobiles à l'exception de certaines souches qui sont motiles grâce aux flagelles péritriches. Elles ne peuvent pas dégrader les caséines ni liquéfier la gélatine. La réduction des nitrates est rare, elle peut avoir lieu quand le pH terminal égal à 6 ou lorsque l'hème est ajouté au milieu de croissance. Elles ne peuvent pas produire l'indole ni l'H<sub>2</sub>S (**De Vos et al., 2009**).

Les *lactobacilles* sont des bactéries acidophiles qui croissent généralement à un pH égal à 5 ou moins avec un optimum compris entre 5.5 et 6.2 (**De Vos et al., 2009**). La plupart des espèces croissent mieux à des températures mésophiles jusqu'à 40°C,

celles thermophiles ne peuvent pas se développer à une température inférieure à 15°C avec une limite maximale de 55°C (**De Vos et al., 2009**)

En se basant sur le caractère fermentaire, **Kandler et Weiss (1986)** ont proposé une classification des lactobacilles en trois groupes:

**Groupe I:** anciennement appelé *Thermobacterium*. Il regroupe les lactobacilles homofermentaires stricts et thermophiles, ils sont incapables de fermenter les pentoses et le gluconate. Ces bactéries fermentent les hexoses par la voie d'Embden-Meyerhof, en produisant exclusivement de l'acide lactique, elles se développent à 45°C mais pas à 15°C. Leurs cellules sont longues, droites souvent en palissades (**Bottazzi, 1988**).

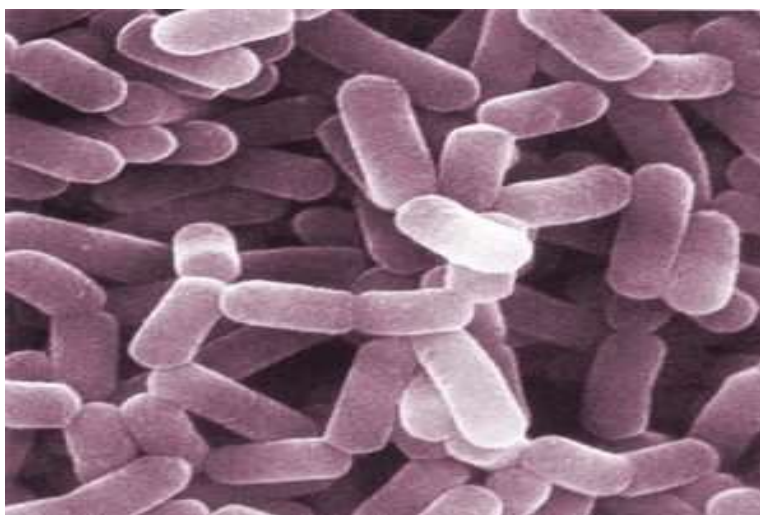
**Groupe II:** anciennement appelé *Streptobacterium*. rassemble les lactobacilles hétérofermentaires facultatifs et mésophiles qui se développent à 15°C. Les hexoses sont fermentés par la voie d'Embden-Meyerhof, en produisant exclusivement de l'acide lactique (mais pour certaines souches du lactate, de l'acétate, de l'éthanol et du formiate), celle des pentoses et du gluconate peuvent être dégradés par la voie hétérofermentaire avec une production d'acide lactique et d'acide acétique par une phosphokétolase inductible. Leurs cellules sont courtes, souvent arrangées en filaments (**Bottazzi, 1988**).

**Groupe III:** anciennement appelé *Betabacterium*. Ces espèces ont un métabolisme strictement hétérofermentaire, la fermentation des hexoses produit de l'acide lactique, de l'acide acétique (ou de l'éthanol) et du CO<sub>2</sub> celle des pentoses, de l'acide lactique et de l'acide acétique. ces bactéries possèdent une phosphokétolase (tableau 2). c'est un groupe qui rassemble des espèces relativement hétérogènes, surtout mésophiles. les cellules sont courtes, droites et séparées (**Bottazzi, 1988**).

**Tableau 2.** critères différentiels des trois groupes de *Lactobacillus* (Sharpe, 1981 ; Kandler et Weiss, 1986)

Caractéristiques	Group I, homofermentaires Obligatoires	Group II, hétérofermentaires Facultatifs	Group III, hétérofermentaires Obligatoires
Fermentation des pentoses	-	+	-
CO <sub>2</sub> à partir du glucose	-	-	+
CO <sub>2</sub> à partir du gluconate	-	+	+
FDP aldolase	+	+	-
Phosphokétolase	-	+	+
	<i>Lb. acidophilus</i> <i>Lb. delbrueckii</i> <i>Lb. helveticus</i> <i>Lb. salivarius</i>	<i>Lb. casei</i> <i>Lb. curvatus</i> <i>Lb. plantarum</i> <i>Lb. sakei</i>	<i>Lb. brevis</i> <i>Lb. buchneri</i> <i>Lb. fermentum</i> <i>Lb. reuteri</i>

Notes : + : Positif ; - : négatif ; FDP : Fructose 1-6 diphosphate aldolase .



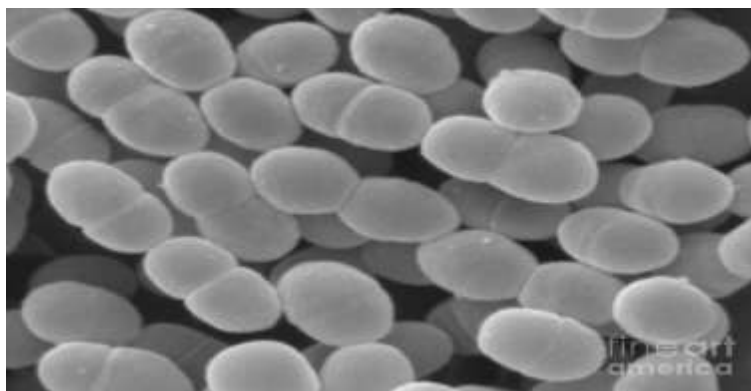
**Figure 4.** Morphologie de *Lactobacillus casei* observé au microscope électronique à transmission (M.E.T.) (x 10000) (Corrieu & Luquet, 2008).

Le genre *Lactococcus* fait partie de la famille des *Streptococcaceae* comprenant aussi *Streptococcus* et *Lactovum*. Il rassemble cinq espèces dont les exigences nutritionnelles sont complexes et variables: *Lc. graviae*, *Lc. lactis*, *Lc. raffinolactis*, *Lc. piscium* et *Lc. plantarum*. Elles sont des habitantes typiques des plantes, des animaux et des produits dérivés de ces organismes (De Vos et al., 2009).

Pour leur isolement, une variété des milieux complexes est utilisée (gélose au sang, le milieu Elliker, M17...). Après une incubation qui dure de 1 à 2 jours, des colonies petites, translucides à blanchâtres, lisses et circulaires sont formées (De Vos et al., 2009; Dahou et al., 2021). Les cellules de *Lactococcus* sont sphériques ou ovoïdes, isolées, en paires ou en chaînes. Elles sont non hémolytiques, aéro anaérobies facultatives à microaérophiles. Elles sont toutes mésophiles, la température optimale de croissance varie de (10 à 40°C), certaines peuvent croître à une température inférieure à 7°C après une incubation de 10 à 14 jours.

Elles se développent, généralement, à 4% d'NaCl à l'exception de *Lc. lactis* subsp. *cremoris* qui tolère seulement 2% de sel (De Vos et al., 2009).

Les *lactococci* sont des bactéries homofermentaires qui produisent de l'acide lactique L(+) à partir de glucose. Ils croissent bien à des valeurs proches de la neutralité dans les milieux tamponnés, mais ils s'arrêtent de croître lorsque le pH atteint 4.5 (De Vos et al., 2009).



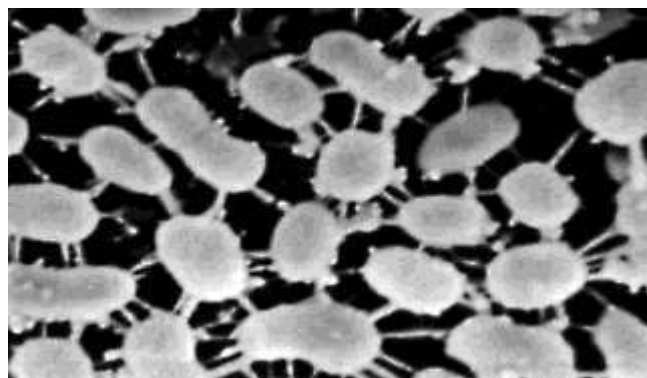
**Figure 5.** Morphologie de *Lactococcus lactis* observé au microscope électronique à transmission (M.E.T.) (x 10000) (Teubeur et Geis ,2006).

*Leuconostoc, Oenococcus et Weissella*

Ils rassemblent les coques lenticulaires en paires ou en chainettes mésophiles, qui possèdent un caractère hétérofermentaire marqué, avec production d'acide lactique (isomère D), de CO<sub>2</sub> et d'éthanol. Les caractéristiques telles que l'hydrolyse de l'esculine, la formation de dextrans, les conditions de croissance, la capacité à croître à différents pH et à température, l'assimilation de citrate et/ou malate permettent la différenciation entre les genres *Leuconostoc* et *Weissella* (Pilet et al., 1998 ; Ho et al., 2007).

Actuellement, le genre *Leuconostoc* comprend quatorze espèces, ils sont également anaérobies facultatifs et exigeants au point de vue nutritionnel et leur croissance est toujours lente. Le développement des *leuconostoc* entraîne souvent l'apparition d'une viscosité dans le milieu grâce à la production des exopolysaccharides. Les *leuconostoc* principalement *Ln. Mesenteroides* ssp. *cremoris* et *Ln. Lactis* sont utilisés en association avec les lactocoques dans l'industrie laitière pour produire en plus de l'acide lactique et le CO<sub>2</sub>, des substances aromatiques telles que le diacétyl et l'acétoïne à partir des citrates du lait (Hassan et Frank, 2001 ; Guiraud, 2003 ; Ogier et al., 2008).

Récemment, l'espèce *Leuconostoc oenos* isolée de vins a été classée dans un nouveau genre *Oenococcus oeni* et certaines espèces de *Lactobacillus* hétérofermentaires ont été groupées avec *Leuconostoc paramesenteroides* dans le nouveau genre *Weissella* (Stiles et Holzappel, 1997).



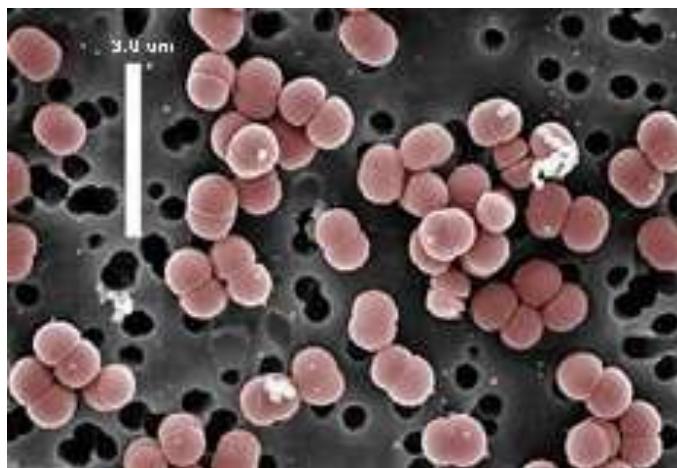
**Figure 6.** Fixation des *Leuconostocs* sur les moules en grès-vernisé. (

<https://fr.wikipedia.org/>).

*Pediococcus et Tetragenococcus*

Les *Pediococcus* sont des coques homofermentaires dont la particularité est le regroupement entétrade. Ils sont mésophiles, le plus souvent incapables d'utiliser le lactose, et leur développement nécessite la présence de divers facteurs de croissance. Certaines espèces se distinguent par leur capacité à se développer à des teneurs en sels très élevées, comme *Pediococcus halophilus*, renommé *Tetragenococcus halophilus* et *Tetragenococcus muriaticus* qui tolère jusqu'à 18% de NaCl (Pilet *et al.*, 2005).

Les espèces de *Tetragenococcus* ont un rôle crucial dans la fabrication des produits alimentaires à concentration élevée en sel comme les sauces de soja, alors que les *pediocoques* sont parfois utilisés comme levains lactiques pour les charcuteries (Guiraud et Rosec, 2004 ; Tosukhowong *et al.*, 2005).



**Figure 7.** Morphologie de *Pediococcus pentosaceus* en microscopie électronique à transmission (wallace *et al.*, 2003)

*Streptococcus*

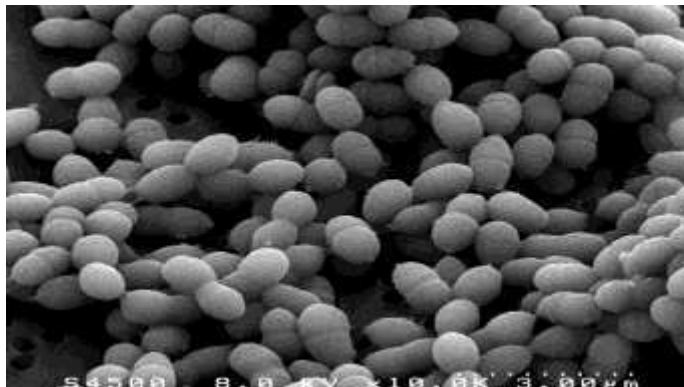
Ce genre est associé à de nombreuses maladies humaines et animales et la seule espèce qui est adaptée à l'environnement laitier est *Streptococcus thermophilus* (Chandan *et al.*, 2008).

Cette espèce rassemble des cellules ovoïdes ou sphériques, d'un diamètre variant de 0.7 à 1µm, arrangées en paires à longues chaînes, aéro anérobie facultatives. Elles croissent à 45°C mais non à 15°C et la plupart des souches survivent après un chauffage à 65°C



pendant 30 minutes. Elles ne peuvent pas résister à une concentration de 0.1% de bleu de méthylène ni à un pH de 9.6. Leur croissance est variable à 2% d'NaCl mais aucune souche ne peut se développer à 3% (De Vos *et al.*, 2009).

Toutes les souches de *S. thermophilus* exigent les vitamines de groupe B et quelques acides aminés pour leur développement. Elles sont incapables d'hydrolyser l'esculine, les caséines, la gélatine, l'hippurate et l'arginine. Certaines souches peuvent hydrolyser l'amidon. Elles produisent de l'acétoïne (réaction de Voges-Proskauer), la  $\beta$ . galactosidase et la leucine arylamidase. Mais elles ne peuvent pas synthétiser plusieurs enzymes comme l'uréase, DNase,  $\alpha$ . galactosidase, etc. (De Vos *et al.*, 2009).



**Figure 8.** Morphologie de *Streptococcus thermophilus* observé au microscope électronique à transmission (M.E.T.) (x 10000) (Liebefeld, 2002).

### *Enterococcus*

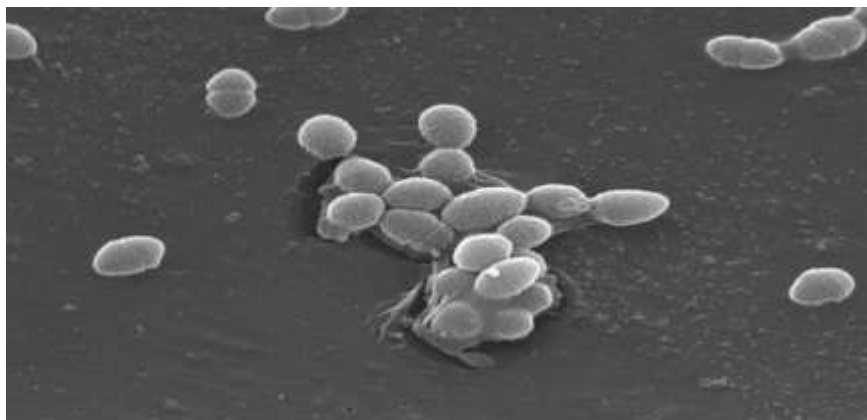
Il appartient à la famille des *Enterococcaceae* qui renferme trois autres genres (*Melissococcus*, *Tetragenococcus* et *Vagococcus*). *Enterococcus* est séparé du genre *Streptococcus* sur la base des résultats d'hybridation (ADN-ADN et ADN-ADNr) qui sont confirmés par les analyses phylogénétiques de l'ARN 16S (De Vos *et al.*, 2009).

Plusieurs espèces font partie de la flore intestinale des mammifères et des oiseaux; d'autres sont isolées à partir des plantes, des eaux et des denrées alimentaires (lait, viande...). Il s'avère que leur présence dans l'eau résulte d'une contamination fécale. Les *enterococci* croissent dans une variété de milieux de culture riches (Todd-Hweitt, trypticase soja, BHI...). Néanmoins, il apparaît que l'MRS défavorise la croissance de quelques espèces. Leurs colonies sont toujours circulaires, régulières et lisses ayant un



diamètre qui peut atteindre 5µm. Certaines espèces produisent un pigment caroténoïde jaune sur un milieu solide. Les cellules des *entérocoque* sont ovoïdes, isolées, en paires ou en courtes chaînes. La présence des flagelles rudimentaires rendent certaines espèces mobiles (De Vos *et al.*, 2009).

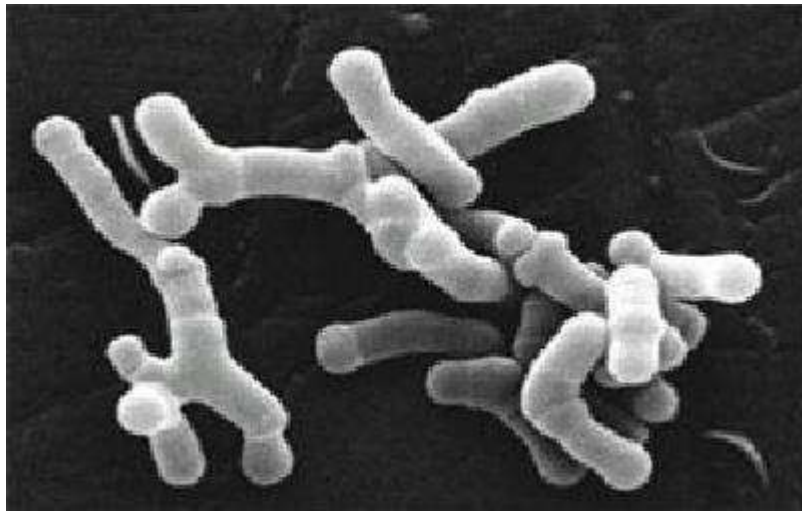
Elles sont toutes dépourvues de la catalase, mais certaines espèces révèlent une *pseudocatalase* lorsqu'elles sont cultivées sur les milieux de culture contenant l'hème. La température optimale de croissance de la plupart des espèces varie de 35°C à 37°C, plusieurs sont capables de croître à 42°C et même à 45°C mais lentement à 10°C. De plus, les *entérocoques* sont très résistantes au séchage. Toutes les espèces sont des homofermentaires, elles fermentent le glucose en L(+) Ac lactique via la voie d'Embden-Meyrehof. En présence d'oxygène, le glucose est métabolisé en acide acétique, acétoïne et CO<sub>2</sub>. En cas de déficience en nutriments, le pyruvate est converti en éthanol et en acide acétique. Elles peuvent avoir de l'énergie en dégradant les acides aminés (arginine, tyrosine, serine, agmatine, phénylalanine et canavanine). Il est à noter que certaines caractéristiques traditionnellement considérées d'être typiques pour le genre, tels que: la résistance à 6.5% d'NaCl, à pH: 9.6, la croissance à 10°C et à 45°C, ne peuvent pas être appliquées pour plusieurs espèces décrites récemment qui ne possèdent pas une ou plus de ces caractéristiques (De Vos *et al.*, 2009; Salminen *et al.*, 2004).



**Figure 9.** Morphologie de *Enterococcus faecalis* observé au microscope électronique à transmission (M.E.T.) (x 10000) ( <https://fr.wikipedia.org/>).

*Bifidobacterium*

Le genre *Bifidobacterium* est considéré comme faisant partie du groupe des bactéries lactiques grâce à la similarité de ses propriétés physiologiques et biochimiques et à sa présence dans le même habitat écologique, tel que le tube gastro-intestinal. Ces microorganismes sont phylogénétiquement sans rapport avec ces dernières. Ils sont davantage liés au phylum Actinobacteria (anciennement Actinomycètes) des bactéries Gram positif dont l'ADN est à haut pourcentage de G + C. Les bifidobactéries se caractérisent par leur forme très irrégulière souvent en forme V mais pouvant être coccoïdes, la présence d'une enzyme, la fructose-6-phosphate phosphocétolase, celle-ci leur permet de fermenter les hexoses en produisant de l'acide acétique et de l'acide lactique. Leur température de croissance varie de 36°C à 43°C (Axelsson *et al.*, 2004 ; Pilet *et al.*, 2005 ; Ho *et al.*, 2007).



**Figure 10.** Morphologie de *bifidobacterium longum* observé au microscope électronique à transmission (M.E.T.) (x 10000) (<https://fr.wikipedia.org>).

Tableau 3: Quelques caractéristiques des bactéries lactiques (d'après Axelsson, 2004)

Caractéristiques	Bacilles				Coques			
	Camobacterium	Lactobacillus	Aerococcus	Enterococcus	Lactococcus Vagococcus	Leuconostoc Oenococcus	Pediococcus	Streptococcus
Formation des tétrades								
Production de gaz <sup>b</sup>	+ <sup>c</sup>	±	+	+	+	+	-	-
Croissance à 10°C	-	±	-	+			±	
Croissance à 45°C		±			-	-	±	±
Croissance dans 6.5% NaCL	ND <sup>d</sup>	±	-	-	-	±	±	-
Croissance dans 18% NaCL			-	+	-	-	±	-
Croissance à pH 4,4	ND	±	+	+	±	±		-
Croissance à pH 9,6					-	-	-	
Acide lactique	L	D,L,DL <sup>e</sup>	L	L	L	D	L,DL <sup>e</sup>	L

**Notes :**

+ : Positif ; - : négatif ; ± : réponse variable selon les espèces ; ND : non déterminé. a : Weissella peuvent être également sous forme de bacille. b: Type de fermentation du glucose : homofermentaire (-) ou hétérofermentaire (+). c :Faible quantité de CO<sub>2</sub> produite selon le milieu. d :Peuvent ne pas se développer dans 8% NaCL. e: Production d'acide lactique D, L, ou DL acide variable selon les es .

**5. Les exigences des bactéries lactiques en nutriments**

Si les bactéries lactiques sont considérées comme un des groupes bactériens les plus exigeants du point de vue nutritionnelle, c'est parce qu'elles requièrent non seulement des substrats complexes carbonés, azotés, phosphatés et soufrés, mais aussi des facteurs de croissance comme les vitamines et les oligo-éléments (**Luquet, 1986**).

**Glucides**

Pour croître, les bactéries lactiques ont besoin d'un apport de nutriments comportant au moins un sucre fermentescible comme source d'énergie. La fermentation des sucres s'effectue essentiellement en trois étapes. (**Desmazaud, 1983**).

Premièrement, le transport du sucre à travers la barrière hydrophobe de la membrane cellulaire. Deuxièmement, le catabolisme intracellulaire du sucre et enfin la formation et l'expulsion extracellulaire des métabolites terminaux généralement acides (**Desmazaud, 1983**). Deux types de métabolismes fermentaires sont rencontrés. Un métabolisme aboutit de façon quasi-exclusive à la production d'acide lactique (caractère homofermentaire). L'autre peut produire de l'acide lactique, mais également de l'éthanol et de l'acide acétique suivant les conditions de cultures (caractère hétérofermentaire) (**Ghaly et al., 2005**).

### **Azote**

Les bactéries lactiques exigent aussi l'apport exogène d'acides aminés pour leur croissance car elles sont incapables, pour la plupart, d'en effectuer la synthèse à partir d'une source azotée plus simple (**Desmazaud, 1983**). Elles ne peuvent absorber et utiliser que des acides aminés libres, ou des peptides courts (peptidases, dipeptidases). Leur nutrition azotée exige donc l'hydrolyse des grandes protéines du lait, et notamment les caséines, par des enzymes (les protéases) situées dans la paroi extérieure de la cellule (**Desmazaud, 1998**).

### **Vitamines**

Les vitamines jouent dans le métabolisme cellulaire le rôle irremplaçable de coenzyme. Les bactéries lactiques sont, à quelques exceptions près, incapables de synthétiser des vitamines (**Dellaglio et al., 1994**), d'où l'importance d'un apport exogène de vitamines au milieu de culture (**Holzappel et al., 2001**).

### **Minéraux**

La nécessité des ions dans le métabolisme s'explique d'abord par leur fonction de cofacteur pour de nombreuses enzymes (**Novel, 1993**). Du point de vue transport, le fer est un élément important puisqu'il a des affinités pour un grand nombre de molécules chelatrices. Il augmente la croissance et la production d'acide lactique pour les lactocoques et une carence en cet élément donne lieu à une diminution de ce même acide (**Boyaval, 1988**). Le potassium, quant à lui, est un cofacteur pour plusieurs enzymes bactériennes et un niveau élevé de K<sup>+</sup> dans le cytoplasme est requis pour la

synthèse protéique. De plus, le système du K apparaît être très important pour contrôler le pH cytoplasmique (**Desmazaud, 1983**).

### Oxygène

Les bactéries lactiques sont communément appelées micro aérophiles. Ainsi, elles tolèrent de petites quantités d'oxygène, mais de trop grandes teneurs en ce gaz peuvent leur être néfaste. La relation des bactéries lactiques avec l'oxygène a probablement un lien avec le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) produit dans la cellule en présence d'air. Il faut éliminer le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, car son accumulation devient toxique (**Vignola, 2002**).

# **Chapitre II**

## **Rôle des Bactéries Lactiques**

**1. Rôle des bactéries lactiques****Rôle technologique**

La fermentation des aliments par les BL est la conversion des hydrates de carbone en acides organiques (acide lactique notamment) et dioxyde de carbone dans des conditions d'anaérobiose en utilisant des intermédiaires organiques comme donneurs d'électrons et accepteurs d'électrons (**Von Wright et Axelsson, 2012**).

Dans la fabrication des aliments, ces bactéries sont utilisées comme agents aromatisants et texturants. Elles produisent plusieurs composants tels que les exopolysaccharides, l'acétate, l'éthanol, le diacétyle et acétaldéhyde qui peuvent améliorer la texture, l'arôme et la saveur des produits alimentaires fermentés (**Badel et al., 2011**). Elles acidifient l'aliment, ce qui entraîne un goût d'acide lactique acidulé, elles exercent souvent des activités protéolytiques et lipolytiques, et produisent des composants aromatiques à partir des acides aminés (**van Kranenburg et al., 2002**). En outre, les polysaccharides augmentent la viscosité et la fermeté, améliorent la texture et réduisent la sensibilité à la synérèse (**Leroy et De Vuyst, 2004**).

**Production d'arômes**

Certaines bactéries lactiques sont capables de produire des composés d'arômes qui participent aux qualités organoleptiques des fromages. La plupart des composés d'arôme est issu du métabolisme du citrate : l'acétoïne et le diacétyle sont les plus importants (**Desmazeaud et al., 1992**).

**Production d'exopolysaccharides**

Certaines souches de bactéries lactiques ont la capacité de synthétiser et d'excréter, au cours de leur croissance, des polymères de sucre appelés polysaccharides exocellulaires ou EPS, qui permettent d'améliorer la texture et la viscosité du produit fini (**Thompson et al., 1994**).

En général, la présence de polysaccharides dans des produits fermentés, tels les yogourts, permet d'augmenter l'homogénéité du produit et rend sa présentation plus agréable (**Desmazaud, 1983**).

**Rôle métabolique**

Toute croissance nécessite la production d'énergie et les bactéries lactiques ne font pas exception à la règle. Hétérotrophes, elles tirent leurs énergies de la fermentation des substrats.

carboniques. Les carbohydrates fermentés en acide lactique par les bactéries lactiques peuvent être des monosaccharides tels que des hexoses (glucose, galactose), des pentoses (xylose, ribose, arabinose), hexitols et pentitols (mannitol, sorbitol, xylitol) ou des disaccarides (lactose, saccharose, cellobiose, tréhalose). La fermentation des sucres s'effectue essentiellement en trois étapes : le transport du sucre à travers la membrane cellulaire, le catabolisme intracellulaire du sucre et la formation et l'expulsion extracellulaire des métabolites terminaux. Selon les genres ou les espèces, les bactéries lactiques utilisent principalement l'une des deux voies majeures du métabolisme des sucres. Il s'agit des voies homofermentaires (Embden Meyerhof-Parnas, EMP) et hétérofermentaires (voie des pentoses phosphate) (**Atlan *et al.*,2008**).

**Métabolisme des sucres**

Les bactéries lactiques homofermentaires transforment tout le glucose en excès en acide lactique. Le transport du glucose ou du lactose vers les cellules diffèrent selon les espèces. Elles utilisent la voie EMP dans la dernière étape de la glycolyse, convertissent le pyruvate en lactate et régénèrent ainsi du NAD à partir du NADH formé auparavant. Dans cette dernière étape les bactéries font intervenir une lactate-déshydrogénase.

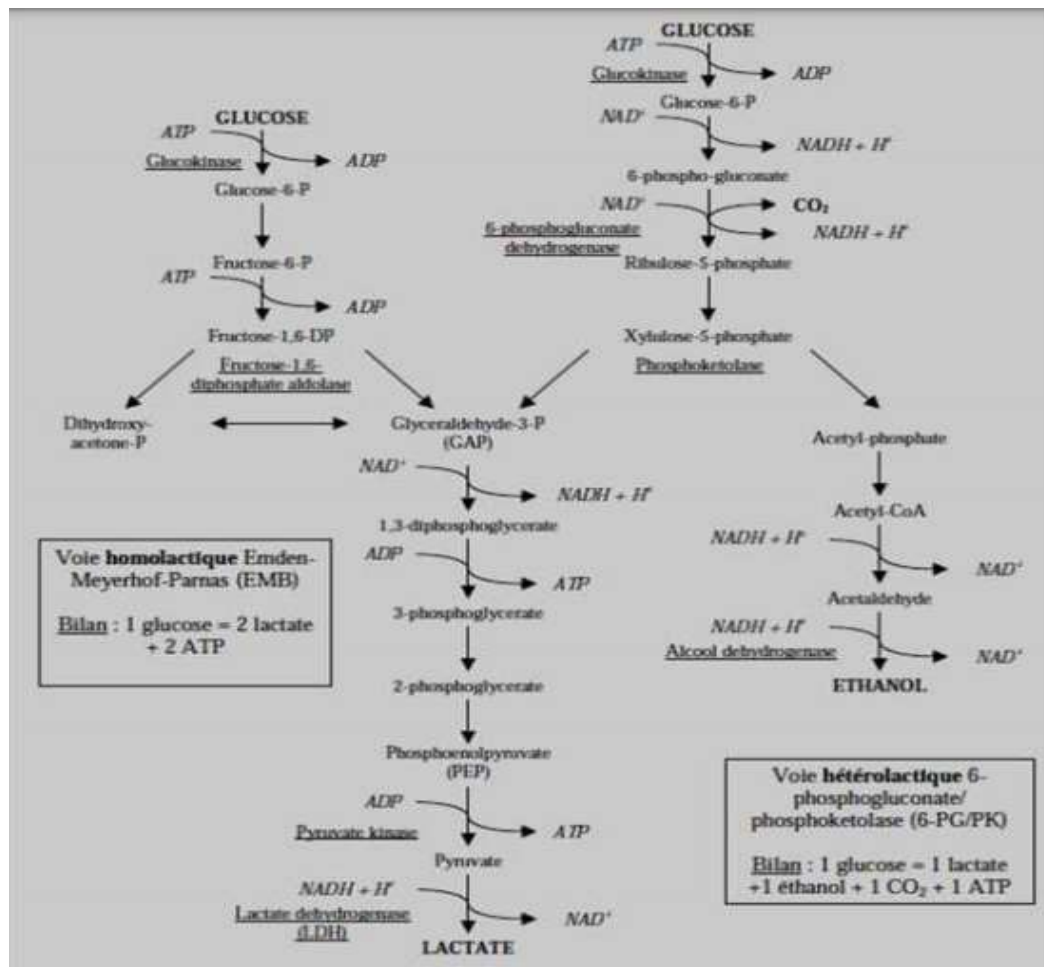
Les bactéries lactiques hétérofermentaires utilisent les voies du galactose-6-phosphate, de la glycolyse et des pentoses phosphates. Le résultat de la fermentation lactique aboutit à la formation de quantité équimolaire de lactate, d'éthanol et de gaz carbonique. Une production de formate et d'acétate peut avoir lieu, notamment en aérotuose (**Kandler, 1983; Desmazeaud, 1996**).

- **Chez les lactocoques**, les sucres sont transportés par un système actif mettant en jeu une phosphotransférase (PTS) qui phosphoryle les sucres aux dépend du phospho-énolpyruvate (PEP). Le PEP dans ce cas intervient surtout dans le métabolisme des sucres transportés. Le lactose (dans le cas du lait), apparait dans



la cellule sous forme de glucosyl- $\beta$ -(1-4)-galactoside 6-P (ou lactose-P) et prêt à être hydrolysé par une  $\beta$ -D-phosphogalactosidase (**Lee et al, 1973; Molskness et al, 1973; Thompson, 1979**).

- **Chez les lactobacilles et les leuconostocs**, le transport du lactose se fait librement par l'intermédiaire d'une perméase, puisque la présence systématique d'une  $\beta$ -galactosidase a été démontrée dans 28 souches (**Somkuti et Steinberg, 1979**). Le glucose et le galactose, issus de la dégradation du lactose sont transformés respectivement en glucose-6-P selon la voie d'Embden-Meyerhof-Parnas et en galactose-6-P selon la voie du D-tagatose-6-P.
- **Chez les streptocoques thermophiles**, le même système enzymatique de transport, que celui des lactobacilles et des leuconostocs, est utilisé mais seul le glucose est rapidement dégradé par la voie de la glycolyse (**Tinson et al., 1982A; Hutkins et Morris, 1987**).



**Figure 11.** Principales voies cataboliques du glucose chez les bactéries lactiques (Matamoros, 2008).

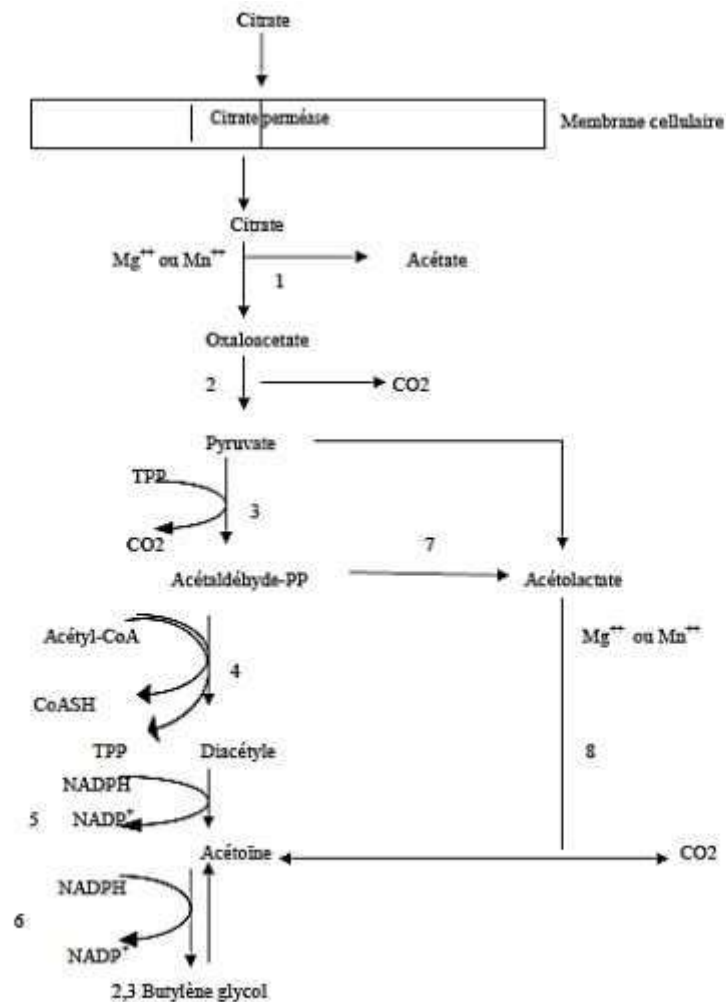
### 1.2.2 Métabolisme du citrate

L'acide citrique est utilisé par de nombreuses espèces des genres *Streptococcus* (*Streptococcus thermophilus*), *Lactococcus* (*Lc. Lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*), *Enterococcus* (*Ec. faecium*), *Pediococcus*, *Leuconostoc* (*Ln. lactis*, *Ln. cremoris*) et *Lactobacillus* (*Lb. plantarum*, *Lb. casei*). Cependant il ne peut être dégradé qu'en présence d'un substrat fermentescible et d'une source d'azote (Leveau et Bouix, 1993).

Le citrate est transporté à l'intérieur des cellules par une citrate-perméase, où il est scindé en acétate (en majeure partie excrétés) et en oxaloacétate par le complexe enzymatique citrate lyase.

L'oxaloacétate est ensuite converti en pyruvate et en CO<sub>2</sub> par une oxaloacétate décarboxylase.

Des transformations successives du pyruvate aboutissent à la formation de composés aromatisants et le produit fini est le 2,3-butylen-glycol (2,3-butanediol) (Cogan, 1981 et 1982).

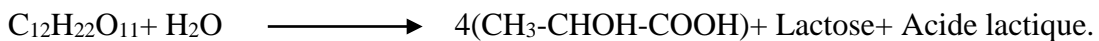


TPP : thiamine pyrophosphate ; 1 : citrate lyase (citritase) ; 2 : oxaloacétate décarboxylase ; 3 : pyruvate décarboxylase ; 4 : diacétyle synthétase ; 5 : diacétyle réductase ; 6 : acétoïne réductase ; 7 : acétolactate synthétase ; 8 : acétolactate décarboxylase

Figure 12. Le métabolisme de citrate chez les bactéries lactiques (Cogan, 1981).

**2. Fermentation lactique et acidification****2.1. fermentation lactique**

La fermentation est un procédé biologique utilise des sources d'hydrate de carbone et donnée comme résultat l'alcool, l'acide lactique, A acétique, A acétone et co2 pour obtenir des aliments des boisson ou des produits susceptibles d'améliorer sa condition.(**Kandler, 1983**).

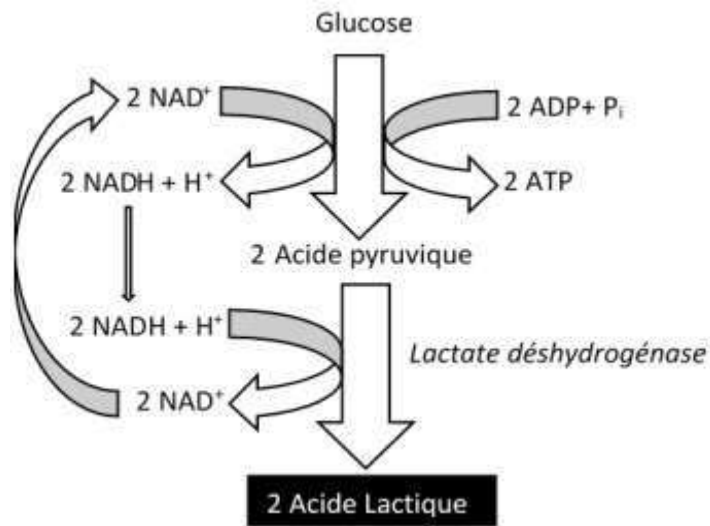
**Les deux voix de fermentation**

La fermentation est divisée en deux grandes groupes:

**Voie Homofermentation**

Les bactéries lactiques en trouvent dans la glycolyse pour dégrader les hexoses (glucose) qui est subi une déférent étape de transformation pour donné le pyruvate qui est réduit en acide lactique qui est le produit unique. Dans les conditions défavorables ces bactéries produisent également l'acide fornique, l'acide acétique, l'éthanol et/ou le CO<sub>2</sub> par la voie de fermentation des acides mixtes (**Mozzi et al., 2010**).



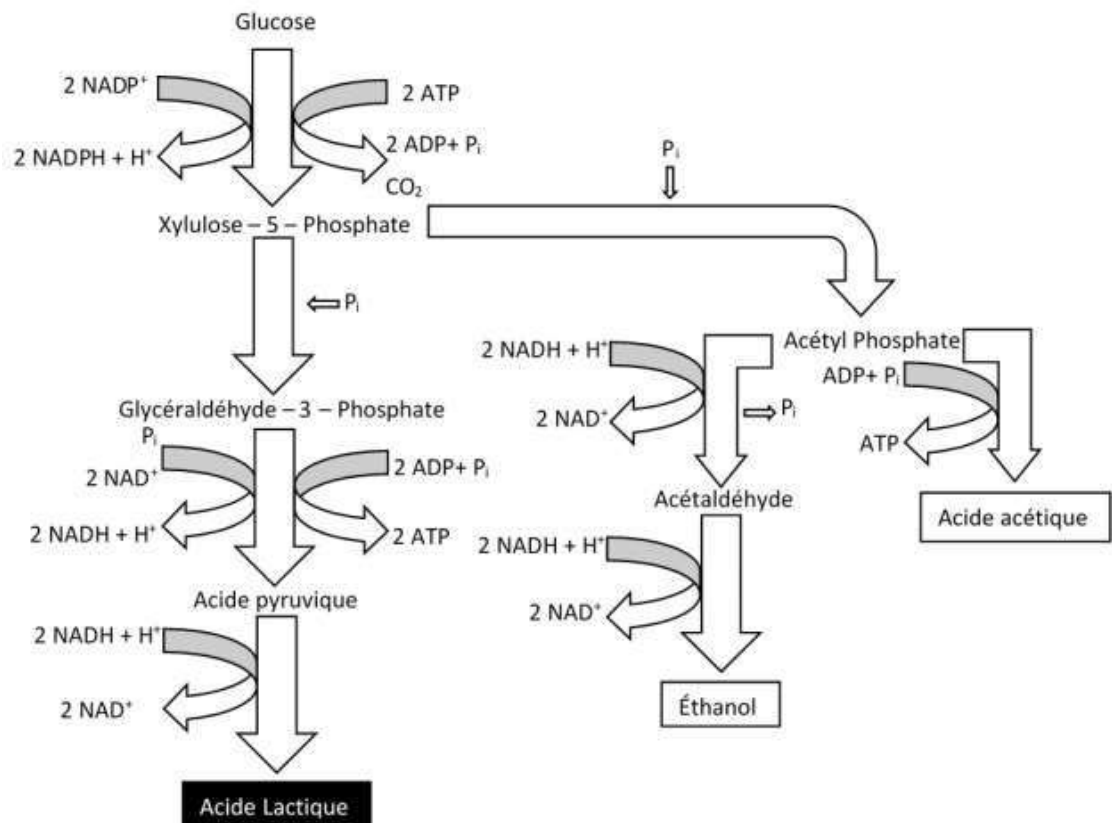


**Figure 13.** Voie métabolique de la fermentation lactique homofermentaire (Tessier,2007).

### Voie Hétérofermentation

Les bactéries lactiques qui fermentent le glucose en produisant, en plus de l'acide lactique, de l'éthanol et du CO<sub>2</sub> sont dites hétérofermentaire. Les groupes principaux de bactéries présentant ce type de métabolisme sont les *Leuconostoc* et certains lactobacilles. Ces microorganismes sont dépourvus d'une FBA et le système de transport PTS (Thompson et Gentry-Weeks, 1994; Hadeif, 2012).

1 glucose + 1 Pi + 1 ADP  $\longrightarrow$  1 lactate + 1 éthanol (acétate) + 1 CO<sub>2</sub> + 1 ATP (hétérofermentation).



**Figure14.** voie métabolique de la fermentation lactique hétérofermentaire (Tessier,2007).

### La production de l'acide lactique

La production de l'acide lactique, est l'une des principales fonctions des bactéries lactiques en technologies laitières, car cet acide organique permet de concentrer et de conserver la matière sèche du lait, en intervenant comme coagulant et antimicrobien (Schmidt et al., 1994).

L'acidification résulte de la dégradation d'une partie du lactose du lait en acide lactique. En effet en présence de B-galactosidase, enzyme sécrété par les bactéries lactiques, le lactose est hydrolysé en glucose et galactose (Bourgois et al., 1996).

Le galactose s'accumule et le glucose est transformé en acide pyruvique par l'ensemble des réactions de glycolyse de la cellule. Enfin l'acide pyruvique est transformé en acide lactique (Alias et Liden, 1997). La production de l'acide lactique a pour effet de diminuer le pH du lait, dès que celui-ci atteint le point isoélectrique de la caséine

(pH =4,6) : il y a formation d'un caillé dont la fermeté et la viscosité dépendent du pH final et de l'activité protéolytique des souches (**Mahout et al., 2000**).

### **L'acidification**

L'acidification et le rôle principal des bactéries utilisées comme ferments celle-ci a différents buts :

- La coagulation du lait (en facilitant l'action de l'enzyme de la présure) et l'augmentation de la synérèse du caillé.
- La participation aux propriétés rhéologiques du produit final.
- L'inhibition de la croissance des bactéries nuisibles (**Larsen et Anon, 1989 et 1990**).

### **3.Coagulation lactique et pH isoélectrique**

#### **Coagulation acide**

La coagulation par voie acide est provoquée par l'acide lactique d'origine bactérienne, qui transforme le lactose en acide lactique. Le pH du lait de fromagerie diminue avec la production d'acide. Ce qui provoque une solubilisation du phosphate et du calcium colloïdal, un élément important dans la stabilité des micelles de caséine. Ces dernières vont se lier entre elles et former un gel cassant très friable et peu élastique (**Mietton, 1995**).

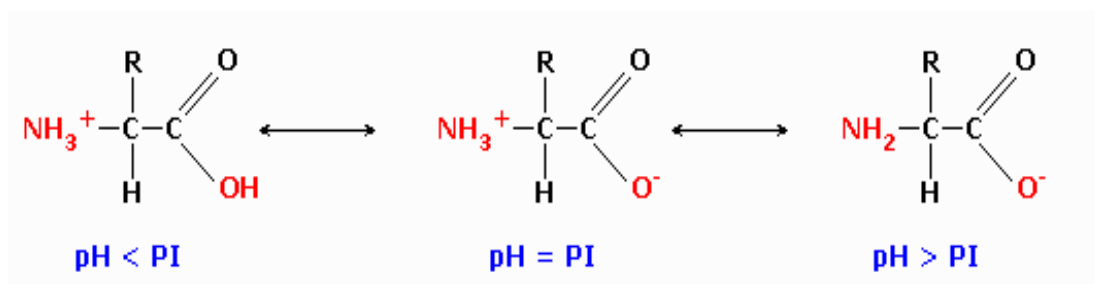
Si l'acidification est rapide par addition d'un acide minéral ou organique, il y a floculation des caséines à pH 4,6 sous la forme d'un précipité plus ou moins granulé dispersé dans le lactosérum. Par contre, une acidification progressive, obtenue soit par fermentation lactique, soit par hydrolyse de la gluconolactone, conduit à la formation d'un gel lisse homogène qui occupe entièrement le volume initial du lait (**Mietton et al., 1994**). La teneur en protéines agit sur la coagulation acide. Un lait riche en protéines formera un caillé lactique plus ferme (**Vignola carole , 2002**).

**pH isoélectrique**

Un enchaînement protéique est composé des radicaux (R) sous forme ionisée. Il existe des radicaux acides et basiques. Ces radicaux sont caractérisés par une valeur de pKa.

Le pH isoélectrique (pHi), est le pH dont la molécule est sous sa forme zwitterionique et neutre électriquement, le nombre des radicaux aminés chargés positivement égale au nombre des radicaux carboxyliques chargés négativement. Dans le cas d'une modification dans le nombre de radicaux de même signe la valeur de pHi varie. Par exemple, une diminution du nombre de radicaux chargés négativement fait augmenter le pHi.

- Si  $\text{pH} < \text{pHi}$  (PI), la charge globale est positive, car la molécule a tendance à conserver ses protons ou à en capter du milieu acide.
- Si  $\text{pH} > \text{pHi}$  (PI), la charge globale est négative, car la molécule a tendance à céder ses protons au milieu basique. (<https://fr.wikipedia.org/>).



**Figure 15.** Un acide aminé dans sa forme zwitterionique (  $\text{pH} = \text{pI}$  ) et ionisée (  $\text{pH} < > \text{pI}$  ).

(<https://www.scientecal.com/cours/prot>)



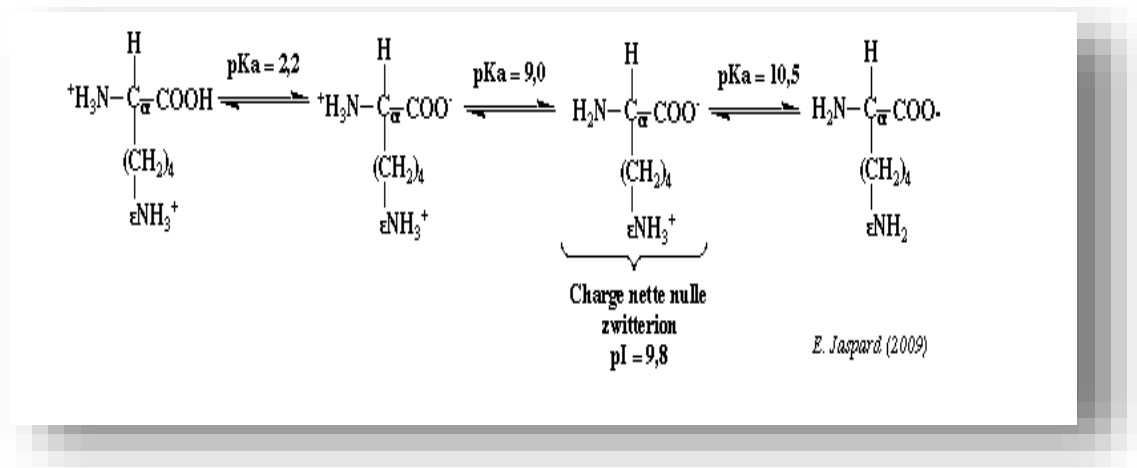


Figure 16. Equilibres de déprotonation de la lysine

(<http://biochimej.univangers.fr>).

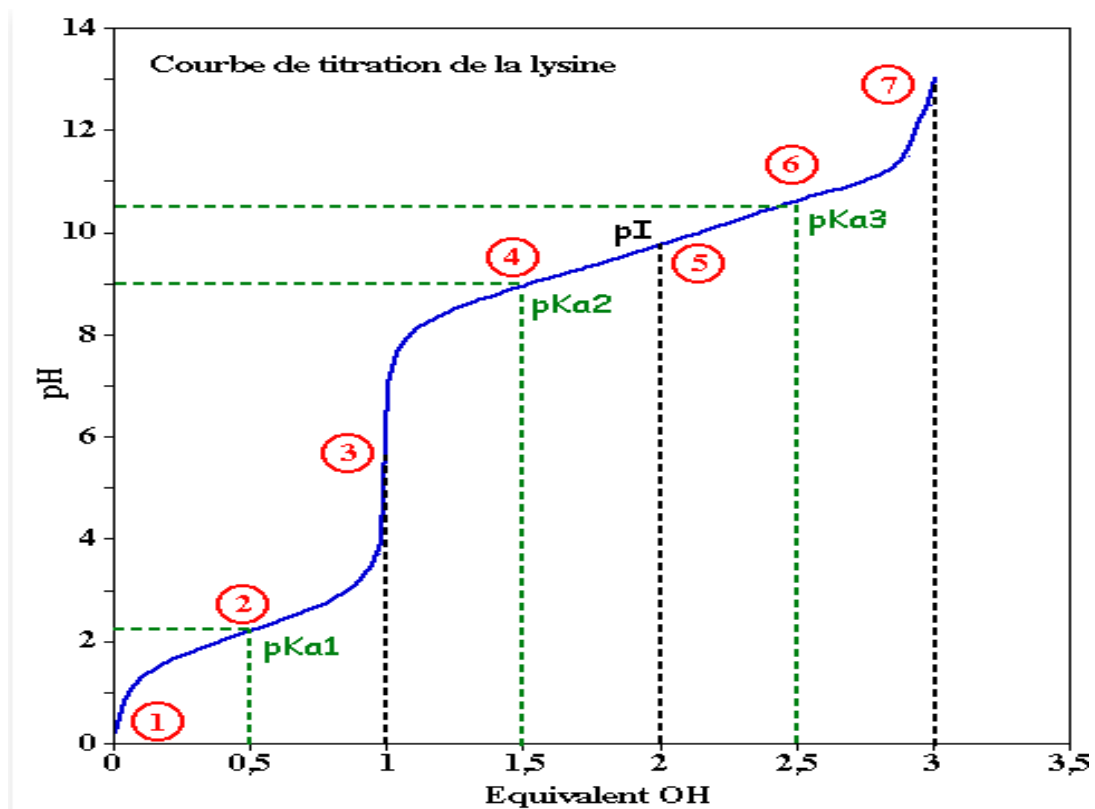


Figure 17. Courbe de titration de lysine (<http://biochimej.univangers.fr>).

**4. Ferments mésophiles**

Les bactéries lactiques qui constituent ces ferments ont une température optimale de croissance qui varie selon les souches entre 25°C et 30°C et peuvent atteindre une température maximale de fermentation de 38°C à 40°C. **(Chamba.,2008 ; Carminati et al.,2010).**

Ils sont constitués essentiellement des espèces acidifiantes (*Lactococcus lactis ssp. lactis*, *Lc. lactisssp. cremoris*) et des espèces aromatisantes (*Lc. Lactis ssp. lactisbiovar. diacetyllactis*, *Leuconostoc mesenteroides ssp. cremoris*) **(Chamba.,2008 ; Carminati et al.,2010).**

Les ferments mésophiles sont habituellement utilisés dans la fabrication de plusieurs variétés de fromages, en particulier les fromages frais, de certains laits fermentés et du beurre **(Chamba.,2008 ; Carminati et al.,2010).**

**5. Ferments thermophiles**

Ils comprennent les lactobacilles, les *bifidobactéries* et l'espèce *Streptococcus thermophilus*. Leur température optimale de croissance se situe entre 40°C et 50°C. Les ferments thermophiles sont souvent utilisés pour la fabrication des yaourts, certains laits fermentés et quelques fromages à pâte cuite tels que l'Emmental et le Gruyère **(Mayra Makinen et Bigret., 2004 ; Carminati et al.,2010).**

# **Partie 02**

# **Recherche Expérimentale**

# **Chapitre I**

## **Matériel et Méthodes**

## 1. Lieu et objectif de l'étude

### 1.1. Objectif de l'étude

Cette étude a pour objectif d'étudier les aptitudes technologiques (aptitude à la coagulation avec la caractérisation des temps technologiques, le rendement fromager en % et rendement fromager en extrait sec total) de 02 souches de bactéries lactiques du soucheur du laboratoire LSTPA utilisées sur des laits normalisés préparées.

### 1.2. Lieu de l'étude

Cette étude a été réalisée du 27/06/2021 au 01/07/2021 au niveau du Laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animales LSTPA de Hassi-Mamèche Mostaganem.

## 2. Origine des souches lactiques utilisées

Nous avons travaillé sur 02 souches lactiques ; une mésophile du genre *Lactococcus* et une autre thermophile du genre *Streptococcus* du soucheur appartenant au laboratoire de la collection du Dr DAHOU.A isolée des fromages du terroir algérien de type J'ben.

## 3. Matériel et milieux de culture

Le matériel et produits utilisés sont définies sur le tableau 4.

**Tableau 4.** Matériel et produits utilisés lors de cette experimentation.

Produit utilisé	Matériel utilisé
- Eau distillée	-Agitateurs
- violet de gentian (colorant).	-Autoclave
- Lugol (eau iodée).	-Bain Marie
- Alcool	-Balance
- Fuschine (colorant).	-Incubateur
- Phénolphtaléine	-Microscope optique
- Solution de NaOH	-pH mètre
- Gélose	-Réfrigérateur
- Poudre de lait	-Lactoscan SP Ultrasonic
	-Bécher
	- Flacon
	- Pipette
	- Burette graduée
	- Fiole jaugée
	- Thermomètre
	- Tubes à essai

Le milieu de culture utilisé dans cette étude pour la croissance des souches lactiques est le milieu MRS (De Man et al.,1960) (Voir annexe A) .

#### **4. Méthodes**

##### **Revivification des souches lactiques**

##### **Préparation des échantillons (Dilutions décimales)**

###### **➤ Technique**

Les cultures bactériennes récupérées de la congélation ont été décongelées à température ambiante. Il a été établi ce qui suit pour les utiliser.

- Agiter pendant 10 secondes les flacons contenant les souches
  
- Prélever 1 ml de la souche à l'aide d'une pipette graduée stérile.
  
- Introduire aseptiquement le volume prélevé dans un tube contenant 9 ml d'eau physiologique pour obtenir la dilution décimale  $10^{-1}$ . Pour passer aux autres dilutions on poursuit comme suit :
  
- Agiter puis transférer 1 ml de ce premier tube dans le deuxième.
  
- De la même façon, des dilutions décimales successives sont effectuées (jusqu'à  $10^{-6}$ ).
  
- Cette démarche est établie pour les 02 souches utilisés, une mésophile et l'autre thermophile.



**Figure 18.** Souches lactiques une mésophile et l'autre thermophile.



**Figure 19.** Dilutions décimales préparées pour chaque souche .

#### 4.1.2. Purification des souches

Les souches lactiques revivifiées ont été purifiées par ensemencement sur gélose PCA et incubées à 37°C pendant 48 à 72 heures pour la souche mésophile et 42°C pendant 48 heures pour la souche thermophile. Cette opération a permis de confirmer leur pureté de point de vue morphologique, sur un aspect macroscopique et microscopique concernant leur taille, forme et couleur. L'observation de la pureté a été complétée par un test de la catalase.

**Etude de caractères morphologiques****Caractérisation macroscopique**

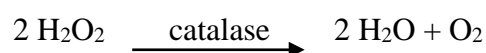
En se basant sur l'observation à l'œil nu des colonies de *Lactococcus* et *Streptococcus* afin de déterminer l'aspect, la taille, la forme, et la couleur des colonies des cultures bactériennes obtenues sur gélose PCA.

**Caractérisation microscopique**

L'examen microscopique a été effectué après coloration de Gram établie sur une culture, Elle permet de décrire la forme des cellules, leur mode d'association, après réalisation des frottis colorés (voire annexe B).

**Test de production de catalase**

La catalase est une enzyme respiratoire capable de dégrader l'eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en eau et O<sub>2</sub> selon la réaction suivante :



Sur une lame et à l'aide d'une pipette pasteur, on dépose une colonie bactérienne à laquelle on ajoute de l'eau oxygénée H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (à 10 volumes). La présence d'une catalase est révélée par l'apparition immédiate de bulle de gaz qui correspondent à l'oxygène dégagé (Tortora et al., 2003) ( voire annexe C) .

**Etude de quelques aptitudes technologiques des bactéries lactiques****La cinétique d'acidification des bactéries lactiques**

L'acidification du lait est essentiellement due à la production d'acide lactique qui est plus ou moins importante selon la souche lactique. Ce caractère est très recherché en industrie laitière; il dépend de l'aptitude de la souche à fermenter le lactose et à résister, à l'acidité du milieu. (Guiraud, 1998).

**Dosage de l'acidité**

Les souches étudiées indépendamment sont les suivantes: Une souche lactique mésophile « *Lactococcus* » et une autre thermophile « *Streptococcus* » .

Chaque souche lactique pour le contrôle de sa viabilité a étéensemencée d'abord sur MRS liquide et incubée à température de croissance optimale.

1- Pour la souche *Lactococcus* à 37°C pendant 24 heures .



2- pour la souche *Streptococcus* à 45°C pendant 24 heures.

Après 24 heures un trouble de croissance a été observé sur les milieux MRS des 02 cultures.

1ml de la culture mésophile et de la culture thermophile a été ajouté séparément dans un tube contenant 10 ml de lait préparé. Le tube contenant la culture mésophile a été incubé à 37°C, celui contenant la thermophile a été incubé à 45°C pendant 24h, Après fermentation 2.5ml de chaque levain obtenu mésophile et thermophile a été additionné dans 02 flacons séparés contenant 100ml de lait préparé. Une Incubation a été établie à 37°C pour la préparation mésophile pendant 24h et une autre à 45°C pour la préparation thermophile.

Ces préparations ont été faites dans le but de déceler d'une part la croissance bactérienne et la cinétique d'acidification (acidité et pH).

- **Mesure du pH**

A l'aide d'un pH mètre, on détermine le pH ( de chaque culture) chaque 2 heures.

- **La mesure de l'acidité titrable**

Dans le lait et les produits laitiers, l'acide lactique provient de la dégradation du lactose par les bactéries. Plus un lait est frais, moins il contient d'acide lactique. La concentration en acide lactique dans un lait s'exprime en degré Dornie (°D): 1 °D correspond à 0.1 g d'acide lactique par litre de lait. Un lait frais contient de 15 à 18°D, il caille à 60-70°D (Shirai et al., 2001; Papamanoli et al., 2003; Ammor et al., 2006).

- **Technique**

- On a introduit 10ml de lait dans un bécher .
- On a ajouté 2 gouttes de phénolphtaléine.
- puis on titre (on ajoute goutte a goutte a l'aide d'une burette) du NaOH N/9 tout en remuant le bécher, jusqu'à l'apparition d'un virage au rose.

- On note alors le volume de la soude écoulee, et les résultats sont exprimés en °D. Sachant que :

$$1^{\circ}\text{D} = V_{\text{NaOH}} \times 10$$

$V_{\text{NaOH}}$  : Volume de NaOH utilisé pour titrer l'acide lactique contenu dans les 10ml de lait.

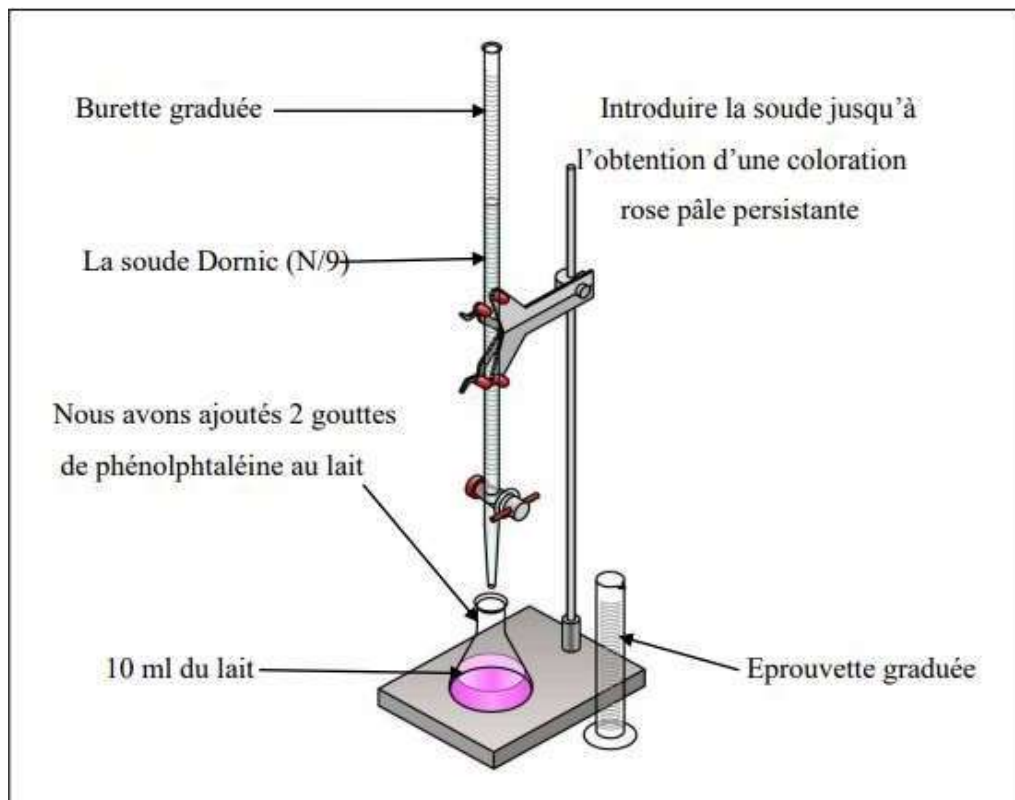


Figure 20. Mesure de l'acidité Dornic .

**. Pouvoir acidifiant des bactéries lactiques**

La mesure de l'activité acidifiante consiste à suivre d'une part l'évolution du pH des différentes cultures en fonction du temps et d'autre part à doser simultanément l'acidité totale par la soude.

On commence par la répartition du lait écrémé dans des flacons stériles à raison de (V/100V).

Après incubation à 37°C, à un intervalle du temps 2h, 4h, 6h, 8h et 24h ; 10ml du lait sont prélevés stérilement puis titrer par la soude Dornic (N/9) en ajoutant préalablement 2 à 3 gouttes de phénolphtaléine à 1% (alcool), jusqu'au virage de la couleur au rose pâle persistante au moins 10 secondes.

L'acidité est déterminée par la formule : **Acidité (°D) =  $V_{\text{NaOH}} \times 10$**  Où :

**$V_{\text{NaOH}}$** : Volume de NaOH utilisé pour titrer l'acide lactique contenu dans les 10ml de lait.

La mesure de pH est faite directement par le pH-mètre , en plongeant l'électrode dans le volume du lait. Le pH a été déterminé à chaque fois qu'on procède au dosage de l'acide lactique.

1°D =0,1g d'acide lactique dans 1litre de lait.

### **Coagulation lactique et pH isoélectrique**

#### **Préparation de lait reconstitué à l'aide d'une poudre LOYA partiellementécramé**

Pour la préparation du lait reconstitué , il a été établi ce qui suit :

On chauffe l'eau à 35 °C est on laisse réhydrater la poudre de lait mélangée cela va permettre une meilleure dissolution et une meilleure homogénéisation.

Le dosage utilisé est comme suit :

- 120 g du lait en poudre dans 870ml l'eau.
- Une pasteurisation a été faite à 85°C et avec un refroidissement et une réfrigération à 10°C pendant 10 heures pour une bonne hydratation des micelles de caséines.



Figure 21. Etapes de préparation du lait .

**Analyses physico-chimiques par lactoscan SP Ultrasonic**

Le lactoscan est un analyseur moderne qui convient à l'analyse de tout type de lait. Grâce à la technologie à ultrasons qu'il utilise, il n'est pas nécessaire de procéder à son calibrage à intervalles réguliers. Il est automatiquement calibré, sans utilisation d'ordinateur.

Dans sa version de base, lactoscan est proposé réglé pour l'analyse de lait reconstitué .

**On cite les paramètres d'analyses physico-chimiques suivants :**

**F** : Matière grasse

**D** : Densité

**C** : Taux de cendre

**S** : Matière sèche

**P** : Protéines

**T** : Température

**pH** : Potentiel hydrogène

**FP** : Point de congélation

**S** : Taux de salinité

**W** : Activité de l'eau

**L** : Lactose

**Méthode d'utilisation**

On introduit une quantité de lait à analyser dans un flacon, puis on trompe l'électrode du Lactoscan dans flacon et on appuie sur le bouton « Start ».

**Expression des résultats**

Les résultats de l'analyse sont affichés dans les 60 secondes sur l'écran, mais peuvent être imprimés sur papier à l'aide d'une imprimante intégrée.



**Figure 22.** Image représentative de l'équipement lactoscan SP utilisé

### Coagulation du lait

Le principe de la coagulation lactique est le changement d'état du lait de liquide à demi-solide qui est appelé gel ou coagulum. Le produit se sépare alors en deux phases : le lactosérum et le coagulum. Le lait possède des caséines responsables de la coagulation puisqu'elles sont responsables de la stabilité de la micelle.

#### Coagulation acide

Grâce à un élément chargé positivement et contenant des ions  $H^+$ , les charges négatives des caséines sont neutralisées. L'acide va déshydrater la micelle, ces micelles vont donc se rapprocher. Elles se soudent entre elles avec des liaisons fortes et irréversibles. Ces liaisons sont le résultat d'interactions hydrophobes contenant dans ce réseau des globules gras, des micro-organismes, des vitamines, du calcium, etc... On obtient un gel grâce à ces interactions.

On note également que le sel diminue les répulsions électrostatiques. Les particules peuvent donc entrer en contact, ce qui donne lieu à la floculation, et au mieux à la coagulation. La floculation est un rassemblement sous forme de petits flocons des particules d'une suspension colloïdale. Ce sont donc dans notre cas le rassemblement des micelles de caséine.

**Caractéristiques de coagulation**

La coagulation du lait se caractérise par trois paramètres essentiels :

- temps de floculation : phase primaire

-Le temps de prise : temps de floculation  $\times$  2

-La coagulation totale : phase finale = déterminer par le fromager après un temps de raffermissement en obtenant une coupe franche du caillé au tranchage manuel

**La préparation du coagulum « caillé lactique »**

Pour la préparation du coagulum on a établi la démarche suivante :

Dans un flacon contenant 100 ml de lait préparé on a ajouté 2.5 ml de la culture mésophile.

La même démarche a été établie pour la culture thermophile.

L'incubation a été à 37°C pour la préparation mésophile et à 45°C pour la préparation thermophile pendant 24 heures .

**Determination le pH isoélectrique**

Cette incubation nous a permis de déterminer les pH à différents temps technologiques de coagulation (temps de floculation, de prise et de coagulation totale) avec le pH isoélectrique nécessaire au raffermissement « coagulation totale ». Ce suivi du pH et de l'acidité a été établi chaque 2 heures.

**Rendement fromager**

Pour pouvoir suivre l'évolution du rendement fromager, il est nécessaire de toujours peser les caillés obtenus après la filtration au même stade et de comparer les caillés fromagers issus de chaque souche et de la même technologie.

**Calcul du rendement fromager**

Le rendement est généralement exprimé en kg de fromage obtenu à partir de 100 litres de lait .

$$\text{Rendement} = \frac{\text{Poids de caille fromagerie}}{\text{Nombre de litre de lait}} \times 100$$

**Détermination du Rendement en extrait sec total (EST)**

Cette méthode consiste à une évaporation de l'eau de la prise d'essai dans une étuve (Memmert) à une température de 103°C et la pesée du résidu, selon la méthode AOAC 926.08 (F.I.L .,2018). Dans une capsule métallique préalablement séchée, En prendre 10g du caillé lactique issu de la culture mésophile et de le sécher dans une étuve pendant 3 heures à 103°C. La même démarche est établie pour le caillé lactique issu de la culture thermophile.

Après dessiccation une pesée est effectuée pour pouvoir déterminer l'EST du caillé issu de chaque culture

L'extrait sec total est déterminé en utilisant la formule suivante :

$$\text{EST \%} = \frac{\text{C2-C0}}{\text{C1- C0}} \times 100$$

C0 : poids de la capsule (g).

C1 : poids de la prise d'essai avant dessiccation (g).

C2 : poids de la prise d'essai après dessiccation (g).



# **Chapitre II**

## **Résultats et Discussion**

### 1.Revivification et purification des souches lactiques

Initialement il a été établi la revivification des 02 souches lactiques , leur culture sur le milieu gélosé PCA, leur observation microscopique et la caractérisation de leur appartenance aux bactéries lactiques par le test de catalase et une coloration de Gram.

### 2.Examen macroscopique

L'observation à l'œil nu des cultures sur gélose PCA a révélé des colonies visibles, de tailles similaires pour chaque genre (environ 2 mm de diamètre pour *Streptococcus* et 1,5 mm de diamètre pour *Lactococcus* ), de forme ronde avec une couleur blanchâtre pour les Streptocoques et de petites tailles lenticulaires blanchâtres pour les Lactocoques (**voir figure 23 et 24**) Le test de catalase négatif confirme que nos 02 souches sont des bactéries lactiques.



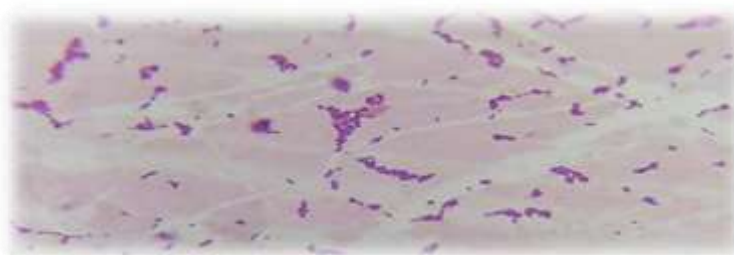
**Figure 23.** Les colonies de la souche *Streptococcus thermophilus* obtenues après 48 heures d'incubation à 42 °C.



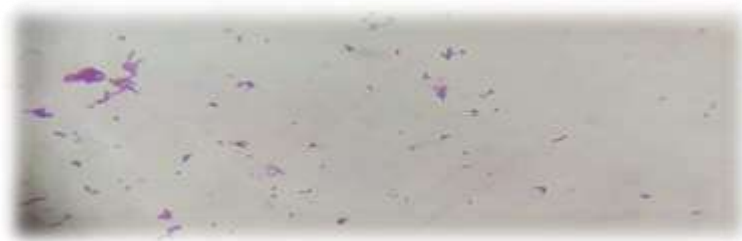
**Figure 24.** Les colonies de la souche *Lactococcus* obtenues après 72 heures d'incubation à 37 °C.

### 3. Examen microscopique

La caractérisation microscopique après une coloration de Gram a donné une coloration de Gram positif, des bactéries de forme cocci, diplocoques et en chaînettes pour les Streptocoques lactiques et de forme cocci ovoïde pour les Lactocoques (voir figures 25 et 26). Cette description confirme les résultats donnés par Carr et al., 2002 et Dahou et al., 2017 .



**Figure 25.** Observation microscopique de la souche *Streptococcus thermophilus* après coloration de Gram ( G × 100).



**Figure 26.** Observation microscopique de la souche *Lactococcus* après coloration de Gram ( G  $\times$  100).

#### 4. Test catalase

Les 02 souches examinées ont présenté une catalase négative (absence de bulles gazeuses).

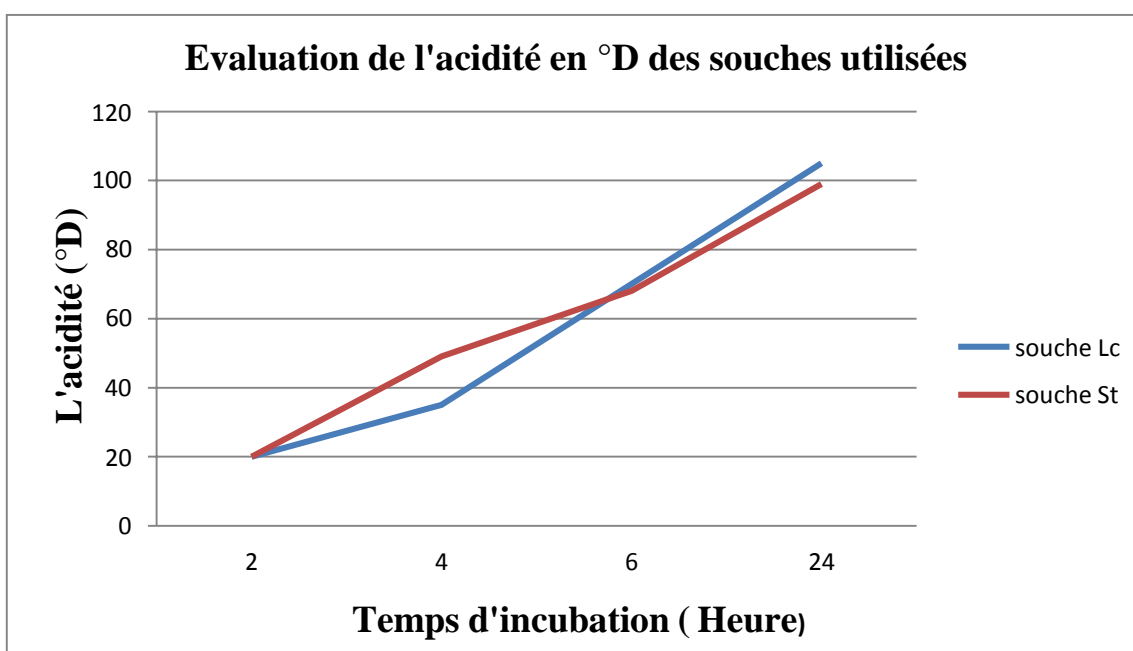
#### 5. Résultats d'étude des aptitudes technologiques

##### 5.1. Pouvoir acidifiant et évolution du pH

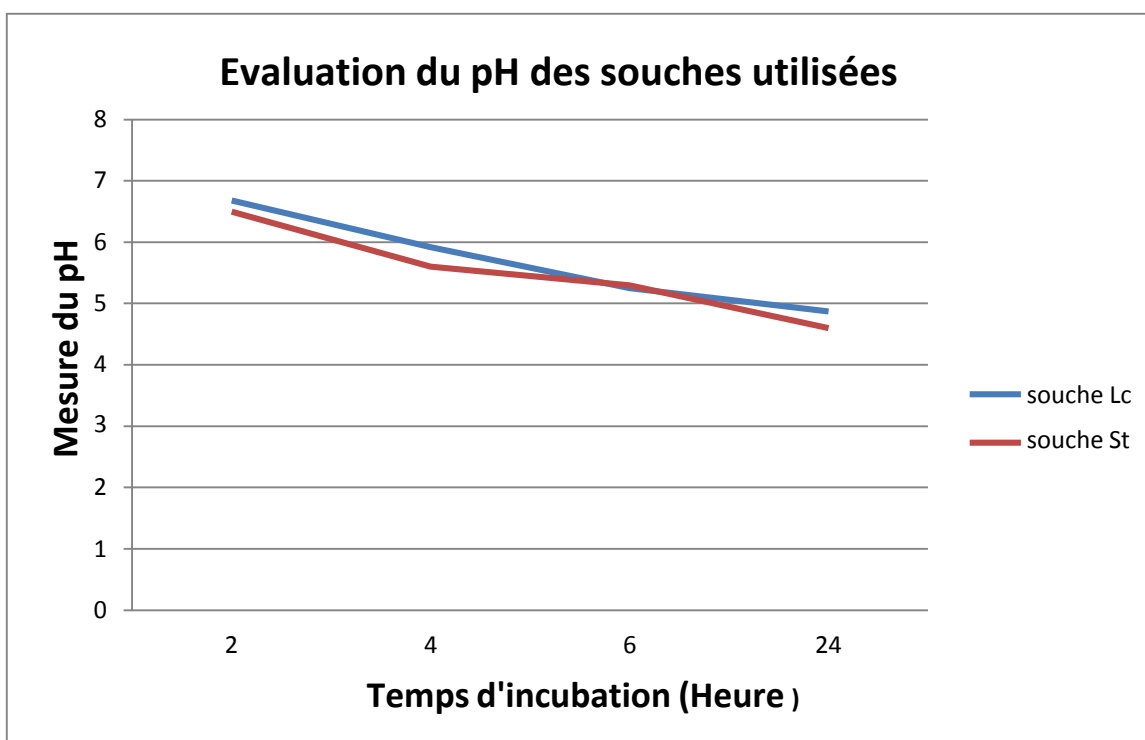
Les bactéries lactiques sont reconnues par leur pouvoir acidifiant .Dans le présent travail, nous avons testé les 02 souches lactiques étudiées appartenant au genre *Lactococcus* et *Streptococcus*, en suivant l'évolution du pH et de l'acidité Dornic en fonction du temps. Les résultats obtenus sont résumés dans **le tableau 5** et représentés sur **les figures 27 et 28**. D'après les résultats obtenus, nous remarquons que les deux souches étudiées ont un pouvoir acidifiant appréciable en produisant de l'acide lactique progressivement en fonction du temps. Cette acidité produite accompagnée d'un abaissement du pH du lait provoque une coagulation lactique.

**Tableau 5.** Evolution du pH –Acidité Dornic en fonction du temps d’incubation pour chaque souche.

Souches	0H		2H		4H		6H		24H	
	Acidité D° Initiale	pH initial	Acidité D°	pH	Acidité D°	pH	Acidité D°	pH	Acidité D°	pH
Lc	19	7.16	20	6.68	35	5.92	70	5.25	105	4.87
St	19	7.16	20	6.50	49	5.60	68	5.30	99	4.60



**Figure 27.** Evolution de L’acidité en °D des souches utilisées en fonction du temps d’incubation .



**Figure 28.** Evolution du pH des souches utilisées en fonction du temps d'incubation.

Les résultats obtenus en fonction du temps d'incubation de nos laits préparés partiellement écrémé etensemencés par nos souches lactiques ont donné une nette diminution du pH accompagnée d'une évolution progressive de l'acidité Dornic .

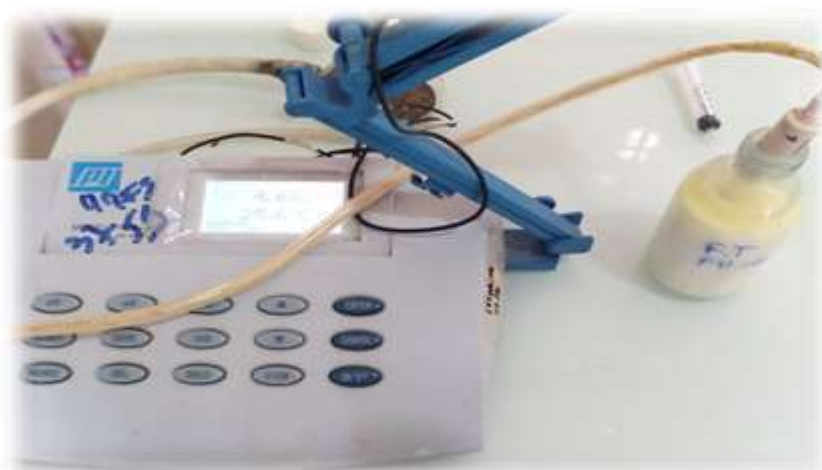
Un phénomène dû à la production de l'acide lactique suite à la fermentation du lactose par les bactéries lactiques mises en culture.

Selon Bourgeois et Larpent, 1996, l'acidité titrable est une expression de l'acidité développée dans le lait par la fermentation du lactose en acide lactique. Après 24 heures d'incubation, la souche Lc est la plus performante avec une acidité de 105°D et un pH qui a atteint 4.87 par rapport à St avec une acidité de 99 °D et un pH qui a atteint 4.60.

Dans cette étude, les conditions de fermentation étaient les mêmes pour toutes les souches, par conséquent, la différence des propriétés acidifiantes dépend de la spécificité de chaque souche comme il a été rapporté dans les recherches de **Badis et al.,2004**.



**Figure 29.** Mesure du pH du coagulum obtenu suite à une fermentation mésophile.



**Figure 30.** Mesure du pH du coagulum suite à une fermentation thermophile.

## **5. 2. Résultats des analyses physico-chimiques du lait préparé partiellement écrémé**

Les résultats relatifs aux analyses physico-chimiques du lait partiellement écrémé objet de l'étude, à savoir le pH, la densité, la matière grasse, le taux de cendre, la matière sèche, les protéines, la température, le potentiel hydrogène, le point de congélation, le taux de salinité, l'activité de l'eau et le lactose sont illustrés dans le tableau 6.

**Tableau 6.** Les analyses physico-chimiques du lait préparé partiellement écrémé.

Analyses Réalisées	Essai	Les normes
Température (°C)	27.8	/
pH	6.46	6.6-6.8
Matière sèche %	11.67	11 à 12
Matières grasses%	1.02	1.5-2
La densité	1.040,60	1.036-1.042
Protéines %	3.45	3.2 à 3.6
Lactose %	4.76	4.1-5.2
Taux de cendre %	5.75	/
Le points de congélation (°C)	-0.548	(-0,54 - -0,55)
Taux de salinité %	0.67	/
L'acidité (°D)	19	16-19

Globalement, la valeur du pH enregistrée lors de la présente étude est de 6.46. Cette valeur est en étroite relation avec la variation du niveau de lactate dans le milieu. Le lait a présenté une acidité titrable de 19°D. Ces résultats sont conformes aux normes admises rapportés par **(Mathieu., 1998)** s'inscrivant dans la fourchette variable de 16 à 19 °D. Ce lait peut ainsi être orienté soit vers la consommation et/ou à la transformation sans conséquences néfastes sur la santé humaine et adaptable à la transformation laitière.

Concernant la densité, la valeur moyenne des échantillons est estimée à 1.040 g/l. Cette valeur reste conforme à la norme requise dans **le Journal Officiel de la République** ; axillant entre 1.036 à 1.042 g/l.

Pour la matière grasse, la valeur moyenne de l'échantillon est estimée à 1.02%. Ces valeurs sont en dessous des normes technologiques (1.5-2%).

De même pour les mesures du point de congélation, les résultats trouvés avec une moyenne de -0.548°C sont conformes aux normes de (-0,54°C et - 0,55°C) rapportées par **le Journal Officiel de la République Algérienne.**



On conclut donc que la qualité physico-chimique du lait préparé partiellement écrémé est satisfaisante.



**Figure 31.** Résultats des analyses physico-chimiques du lait préparé partiellement écrémé établies par Lactoscan SP .

### Résultat de la coagulation lactique

La coagulation lactique est déterminée après une incubation de 24 h ; du lait préparé ensemencé avec la culture mésophile et la culture thermophile.

A pH iso-électrique on détermine la coagulation lactique totale.

La coagulation lactique ou acide se fait grâce à un élément chargé positivement et contenant des ions H<sup>+</sup>, les charges négatives des caséines sont neutralisées. L'acide va déshydrater la micelle, ces micelles vont donc se rapprocher. Elles se soudent entre elles avec des liaisons fortes et irréversibles. On obtient un gel grâce à ces interactions.

On note également que le sel diminue les répulsions électrostatiques.

Les particules peuvent donc entrer en contact, ce qui donne lieu à la floculation, et au mieux à la coagulation. La floculation est un rassemblement sous forme de petits flocons des particules d'une suspension colloïdale. Ce sont donc dans notre cas le rassemblement des micelles de caséine.

### **Caractéristiques de coagulation**

La coagulation lactique du lait se caractérise par trois paramètres essentiels :

- Le temps de floculation : phase primaire en coagulation lactique se fait à pH 5,30 à 5,40.

- Le temps de prise : temps de floculation x 2 (en coagulation lactique se fait à pH 4,8 à 5,0).

- Le temps de coagulation totale (ou vitesse de raffermissement) :

Phase secondaire= temps de prise x 4 (en coagulation lactique se fait à pH isoélectrique 4,5 à 4,6) .

Nos résultats concordent avec les normes FIL destinées à la transformation fromagère.

### **Résultats de la préparation du coagulum (du caillé lactique)**

Après incubation de 37°C pour la préparation mésophile et à 45°C pour la préparation thermophile pendant 24H, on mesure l'acidité et le pH pour chaque coagulum obtenu (voir les figures 29 et 30) et ( le tableau 5). On chauffe légèrement le coagulum obtenu pour assurer la synérèse et séparer le caillé fromager lactique du lactosérum.



**Figure 32.** Le chauffage du coagulum obtenu .

### Résultats du rendement fromager

Après égouttage de chaque caillé, le caillé obtenu de la préparation mésophile était ferme et celui de la préparation thermophile friable.



**Figure 33.** Caillé fromager obtenu de la préparation thermophile après caillage et égouttage.

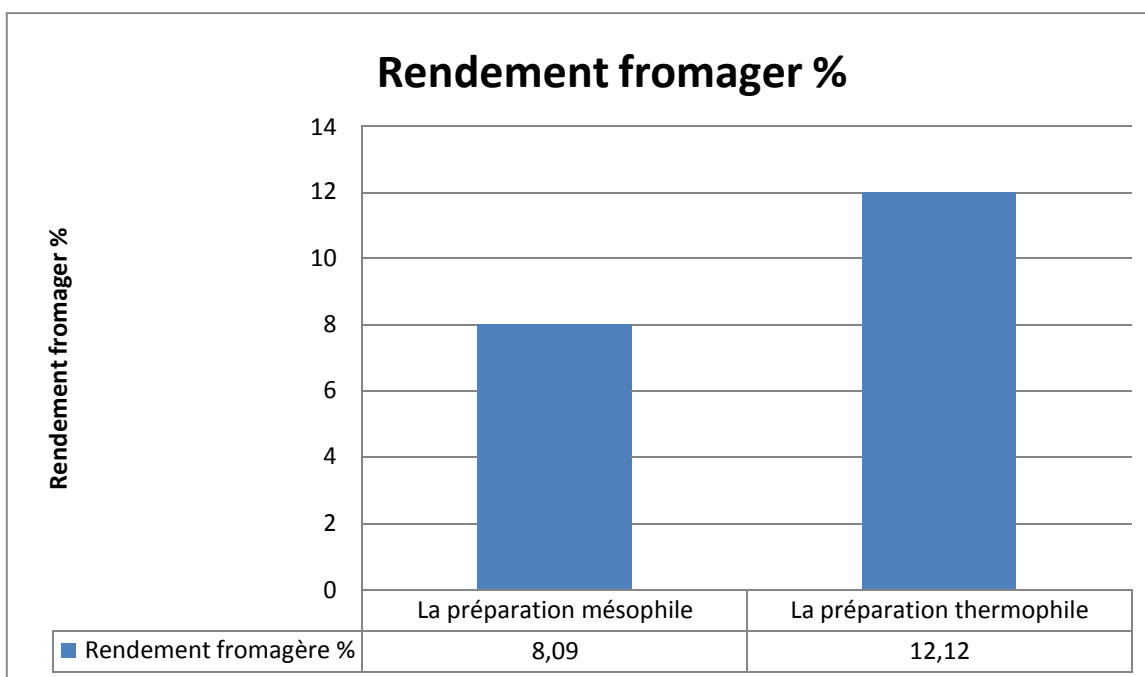


**Figure 34.** Caillé fromager obtenu de la préparation mésophile après caillage et égouttage.

Après avoir pesé chaque échantillon du caillé, nous avons obtenu les résultats suivants :

**Tableau 7.** Résultats obtenus en rendement fromager pour nos caillés égouttés.

Caillé fromager	Quantité
De la préparation mésophile	16.39 g
De la préparation thermophile	24.24 g



**Figure 35.** Evaluation du rendement fromager % sur nos échantillons .

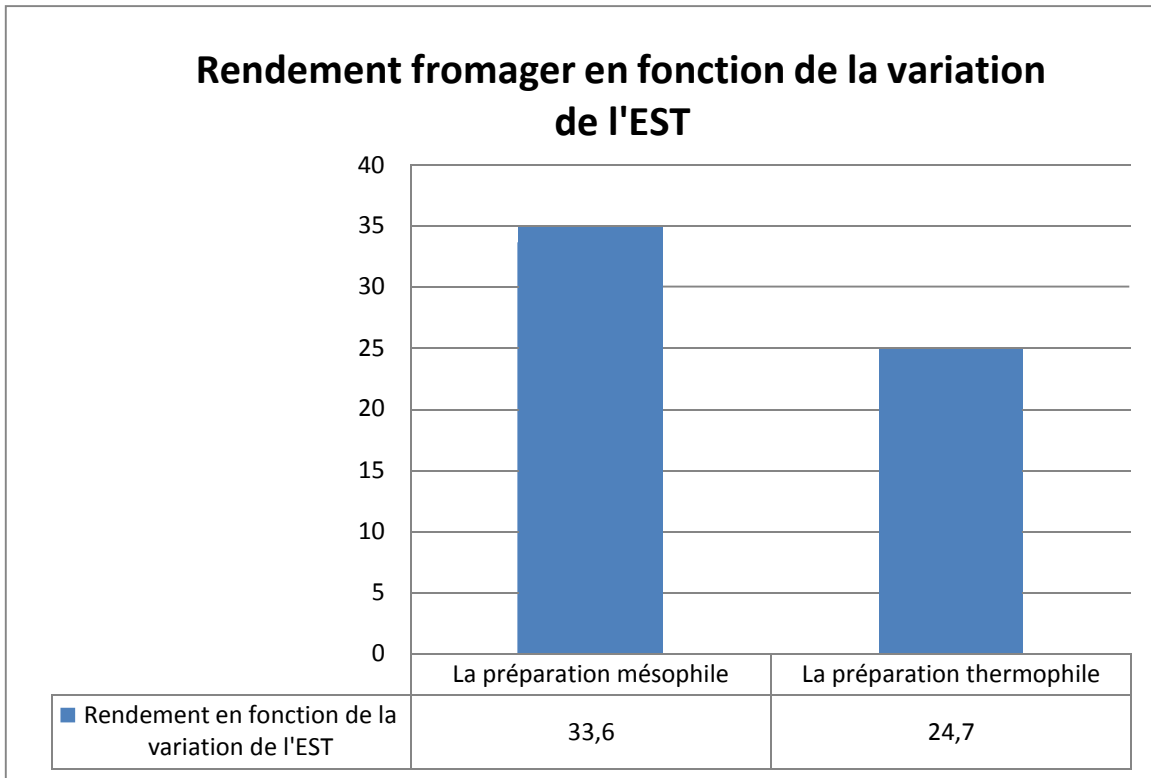
Nos échantillons de lait partiellement écrémé présentent un rendement fromager en % avec une moyenne de 8.09 % pour la préparation mésophile et de 12,12% pour la préparation thermophile.

**Résultat de rendement en extrait sec total**

Après dessiccation de 3H dans l'étuve de dessiccation à 103°C, nous avons obtenu un extrait sec total pour chaque échantillon comme suit :

**Tableau 8.** Résultats obtenus du rendement fromager en extrait sec total (g) pour nos échantillons après dessiccation.

Extrait sec total	Quantité
Caillé fromager de la préparation mésophile	3.36g
Caillé fromager de la préparation thermophile	2.47g



**Figure 36.** Le rendement fromager en fonction de la variation de l'EST.



**Figure 37.** Extrait sec total obtenu de la préparation mésophile après dessiccation.



**Figure 38.** Extrait sec total obtenu de la préparation thermophile après dessiccation.

Après 3 heures de dessiccation à 103°C, nous avons décelé que le rendement fromager en extrait sec total pour la préparation mésophile est de 33.6 % supérieure à celle thermophile avec seulement 24.7 %.

Nos résultats sont conformes à la norme FIL, 2018 : en effet le rendement fromager pour la préparation mésophile est de 8.09% (norme 7 à 14%) et celui de la préparation thermophile est de 12.12% (norme 7 à 14 %).

Pour la faiblesse du rendement en extrait sec totale de la préparation thermophile (24.7% : Norme 30 à 35%) celle-ci est due, tenant compte des normes FAO du codex alimentaires, 1996 et de la (FIL, 2018), aux déperditions des protéines sériques constatées sur le lactosérum lors de l'égouttage du caillé obtenu d'où nécessité d'amender le lait reconstitué par un apport minéral avant sa transformation. En effet, la fraction minérale du lait joue un rôle important en technologie laitière et plus précisément fromagère (coagulation-synérèse et texture du caillé fromager). En effet toute fluctuation dans la répartition minérale se répercute sur les propriétés technologiques des laits et les propriétés rhéologiques du coagulum : agglomération des micelles de caséines entraînant leur déperdition au niveau du lactosérum lors de la synérèse (Desmasures, 1995 ; Eck *et al.*, 2006).



***Conclusion***



Les bactéries lactiques sont utilisées empiriquement depuis des siècles dans la fabrication de nombreux aliments fermentés comme les produits laitiers. Elles ont un intérêt industriel tout particulier, où elles sont utilisées pour améliorer les caractères organoleptiques de différents produits alimentaires (le goût, la saveur, la texture, l'arôme de produits comme par exemple le lait fermenté, le yaourt, le fromage, le pain et les produits carnés...etc.)

Au cours de cette étude, deux souches lactiques mésophiles et thermophiles appartenant au genre *Lactococcus* et *Streptococcus thermophilus* ont fait préalablement l'objet d'une évaluation in vitro de leurs aptitudes technologiques à savoir: Le suivi du pouvoir acidifiant, de la production d'acide lactique, le rendement fromager et rendement en extrait sec total.

Toute cette évaluation sur la base d'une application de ces souches lactiques dans un essai de fabrication de 02 caillés fromagers.

Les souches ont été revivifiées et purifiées et identifiées phénotypiquement par la détermination des caractéristiques morphologiques et physiologiques.

L'étude des caractères morphologiques nous a permis de confirmer que les souches *Lactococcus lactis* et *Streptococcus thermophilus* sont des Gram positif et catalase négative .

D'après les résultats de l'étude des caractères technologiques, nous avons distingué :

La coagulation lactique du lait se caractérise par trois paramètres essentiels :

- Le temps de floculation : phase primaire en coagulation lactique se fait à pH 5,30 à 5,40
- Le temps de prise : temps de floculation x 2 (en coagulation lactique se fait à pH 4,8 à 5,0)
- Le temps de coagulation totale (ou vitesse de raffermissement) : Phase secondaire= temps de prise x 4 (en coagulation lactique se fait à pH iso-

électrique 4,5 à 4,6) . Nos résultats concordent avec les normes FIL destinées à la transformation fromagère

La production d'acidité est fonction de la souche bactérienne. Nos résultats ont permis de distinguer des souches fortement acidifiantes à 105°D, abaissant le pH du milieu à pH 4,87. La souche *Lactococcus lactis* est la plus acidifiante par rapport à la souche *Streptococcus thermophilus* avec une acidité de 99°D et un pH qui a atteint 4.60.

- La diminution du pH est due à la production d'acide lactique résultant de la fermentation du lactose (**Thomson 1994**).

Concernant le dosage du degré Dornic dans le lait partiellement écrémé, nous avons enregistré une augmentation dans les valeurs avec le temps.

Par leurs activités acidifiantes , on a obtenu un coagulum ferme et un lactosérum clair avec un rendement fromager à 8.09 % pour la préparation mésophile et à 12.12% pour la préparation thermophile et un rendement en extrait sec total pour la préparation mésophile de 33.6% plus que celle de la préparation thermophile de 24.7%.

La maîtrise des préparations fromagères passe initialement par la conformité de la qualité du lait, des bonnes aptitudes technologiques des souches lactiques utilisées et l'adaptation des techniques de transformation fromagère à l'obtention du caillé fromager escompté.

# **Annexes**

---

**Annexe A : Composition des milieux de culture**
**➤ Milieu MRS (pH 6.5)**

- Peptone.....	10g
-Extrait de viande .....	10g
-Extrait de levure .....	5g
-Glucose .....	20g
-Tween 80.....	1ml
-Phosphate bipotassique.....	2g
-Acétate de sodium.....	5g
- Citrate d'ammonium.....	2g
-Sulfate de magnésium, 7 H <sub>2</sub> O .....	0.2g
-Sulfate de manganèse, 4 H <sub>2</sub> O .....	0.5g
-Agar.....	15g
-Eau distillée qsp.....	1000ml
-Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant .....	15min

**➤ Milieux solides**
**1. Gélose (PCA)**
**Composition en g/l :**

- Tryptone.....	5,0g
- Extrait autolytique de levure .....	2,0g
-Glucose .....	1,0g
- Agar agar bactériologique .....	12,0g
- PH du milieu prêt-à-l' emploi à 25°C : 7,0 ± 0,2.	

**Annexe B : Coloration de Gram (Singleton,1999)**

- ✓ Déposer une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame bien propre.
- ✓ Prélever un échantillon de colonie et mélanger avec la goutte d'eau, et sécher par passage rapide sur la flamme d'un bec benzène Couvrir le frottis par du cristal violet pendant 60 secondes.
- ✓ Laver l'excès du colorant avec de l'eau distillée.
- ✓ Couvrir de lugol pendant 30 secondes.
- ✓ Laver à l'eau distillée pendant 5 secondes.
- ✓ Rincer immédiatement le frottis avec le mélange alcool - acétone en inclinant la lame et par goutte à goutte jusqu'à disparition complète de la coloration violette Rincer avec l'eau distillée pendant 5 secondes.
- ✓ Couvrir avec de la fuschine pendant 15 secondes.
- ✓ Laver avec l'eau distillée pendant 10 secondes.
- ✓ Déposer une goutte d'huile à immersion sur le frottis et observer au microscope à un fort grossissement.

**Lecture :** Les cellules Gram+ absorbent la couleur du cristal violet et demeurent violettes en apparence, contrairement aux cellules Gram- qui apparaissent distinctement rosâtres.

**Annexe C : Test de catalase**

- ✓ Préparer une lame propre et stérile .
- ✓ Déposer 2 à 3 gouttes d'eau oxygénée à 10 volume sur la lame .
- ✓ A l'aide d'une pipette stérile prélevé quelques cellules de la colonie .
- ✓ Mélanger soigneusement les cellules avec de l'eau oxygénée.

**Lecture :** dégagement de gaz signifie que la souche est catalase +, l'absence de dégagement de gaz signifie que la souche est catalase négative (**Leveau et al., 1991 ; Delaras, 2007**).

# **Liste des références**

**A**

**Alias, C., et Liden, G., 1997** : Lait et produits laitiers in « abrégé de biochimie alimentaire » Ed. MASSO (4<sup>ème</sup> édition), pp162-260.

**Ameen, S.M., Caruso, G. (2017)**. Lactic Acid in the Food Industry, Chemistry of Foods. Springer International Publishing.

**Ammor S., Taveron G., Dufor E., et Chevalier L., 2006** .Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility 1-screening and characterization et antibacterial compound food control 17:454-461.

**Atlan, D., Béal C., Champonier-Vergès M.C., Chapot-Chartier M.P., Chouayekh H., Coccagn-Bousquet M., Deghorain M., Gadu P., Gilbert C., Goffin P., Guédon E., Guillouard I., Guzzo J., Juillard V., Ladero V., Lindley N., Lortal S., Loubière P., Maguin E., Monnet C., Monnet V., Rul F., Tourdot-Maréchal R. et Yvon M., 2008**. Métabolisme et ingénierie métabolique. In :Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). Tec & Doc, Lavoisier.Paris. 271-447.

**Axelsson,L.(2004)** .Lactic Acid Bacteria :Classification and Physiology.In :Salminen,S.Von Wright,A.and Ouwehand A.(Eds),Lactic acid bacteria :microbiological and functional aspects.3rd rev. And exp.ed.Marcel Dekker,Inc.,New York,pp.1-66.

**B**

**Badel, S., Bernardi, T. et Michaud, P. 2011**. New perspectives for lactobacilli exopolysaccharides. Biotechnology Advances 29(1): 54-66.

**Badis, A., Guetarni, D., Moussa-Boudjema, B., Henni, D.E., Tornadijo, M.E., Kihal, M. (2004)**. Identification of cultivable lactic acid bacteria isolated from Algerian raw goat's milk and evaluation of their technological properties. Food Microbiology,21: 343–349.

**Bekhouche Farida. (2006)**. Bactéries lactiques du lait cru de vache et Microorganismes pectinolytiques des olives noires et vertes : 1. Isolement et Identification biochimique. 2. Evaluation et Optimisation de la production d'enzyme polygalacturonase. Thèse de doctorat d'état en microbiologie et enzymologie option : génie alimentaire. Université De Mentouri Constantine Institut De La Nutrition De L'alimentation Et Des Technologies .



**Belkheir, K., Centeno, J.A., Zadi-Karam, H., Karam, N.-E. et Carballo, J. (2016).** Potential technological interest of indigenous lactic acid bacteria from algerian camel milk. *Ital. J. Food Sci.*, 28: 598-610.1.

**Bergy's manual.,2009** . Systematic of bacteriology. Second Edition. Volume three the fermicutes. Edition springer.

**Boublenza, F., Baghdad Belhadj F, Z., Zadi Karam, H., Karam, N, E.,2018.** The effects of thermal, osmotic and acid stress on *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus brevis*. *Int. J. Biosci.* 12 (1):51-64.

**Bourgeois. C. M, et Larpent. J. P.,1996.** La fermentation alimentaire. Tome 2. Ed .Tec et Doc Lavoisier, Paris, pp 4-202.

**Boyaval P., Terré S et Corre C., 1988** - Production d'acide lactique à partir de permeat de lactosérum par fermentation continu en réaction à membrane lait : 1: pp 65-84.

**Braegger C., (2002).** Le rôle des probiotiques dans la prévention et le traitement de la gastro-entérite .

### C

**Carminati D., Giraffa G., Quiberoni A., Binetti A., Suárez V. et Reinheimer J., 2010.** Advances and trends in starter cultures for dairy fermentations. In: *Biotechnology of lactic acid bacteria : Novel Applications* (Mozzi F., Raya R.R. et Vignolo G.M.). 177-192.

**Chamba F.J., 2008.** Application des bactéries lactiques lors des fabrications fromagères. In: *Bactéries lactiques de la génétique aux ferments* (Corrieu G. et Luquet F.M.). Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 787-813. \_Cholet O, (2006). Etude de l'écosystème fromager par une approche biochimique et moléculaire. Institut National Agronomique Paris-Grignon. Ecole Doctorale ABIÉS. UMR de Génie et Microbiologie des Procédés Alimentaires INRA, INA.16.

**Chandan, R. C., Kilara, A., Shah, N. P. (2008).** Dairy processing and quality assurance. John Wiley & Sons, Inc., USA.

**Cogan, T.M. (1981).** Constitutive nature of the enzymes of citrate metabolism in *Streptococcus lactis* subsp. *diacetylactis*. *Journal of Dairy Research*, 48, pp: 489-495.

**Cogan, T.M. (1982).** Acetoin production and citrate metabolism in *Streptococcus lactis* subsp. *lactis*. *Journal of Food Science and Technology*, 6, pp: 69-78.

**Corrieu, G. & Luquet, F. M. (2008)** .Bactéries lactiques : De la génétique au ferment. Paris: Édition Tec et Doc p. 849.

**Crow, V.L., Holland, R., Pritchard, G.G., Coolbear, T. (1994)**. The diversity of potential cheese ripening characteristics of lactic acid starter bacteria: 2. The levels and subcellular distributions of peptidase and esterase activities. *Int. Dairy J.* 4: 723-742.

## D

**Dahou .A, Homrani .A, Bensaleh .F et Medjahed .M.(2015)**.  
**La microflore lactique d'un fromage traditionnel Algérien « type j'ben » : connaissance des écosystèmes microbiens laitiers locaux et de leurs rôles dans la fabrication des fromages.** *Afrique Science* 11(6) (2015) 1 - 13 1 ISSN 1813-548X, <http://www.afriquescience.info>.

**Dahou .A, Bekada .A, Homrani. A, Latreche. B and Ait Saada. D. (2017)**.Effect of processing technology on the biodiversity of the bacterial flora of an industrial cheese camembert soft type. *ADVANCES IN BIORESEARCH*. Vol. 8 [6] 2017.Online ISSN 2277-1573 Print ISSN 0976-4585.

**Dahou .A, Bekada. A et Homrani. A. (2021)**.Identification of a *Lactococcus lactis* isolated from a fresh local cheese of the western Algerian steppe « J'ben of Naama ». *Journal : Asian Journal of Dairy and Food Research* / <https://arccjournals.com/online-First-Articles>. Vol 40, Issue 1 : 40-44, March 2021.

**Dellaglio F., De Roissard H., Torriani S., Curk M.C. Et Janssens D., 1994** ; .caractéristiques générales des bactéries lactiques. In : bactéries lactiques (de roissard h. Et luquet f.m.). *Lorica*, uriage. 1 : 25-116.

**De Man, JC, Rogosa M, Sharpe, ME (1960)**. A medium for the cultivation of lactobacilli. *J. App. Bacteriol.* 23 (1): 130-135.

**De Roissart H.B. (1986)**. Les bactéries lactiques. Dans : le lait et les produits laitiers. Luquet F. M., 3, Ed. Techniques et Documentations Lavoisier. Paris, pp: 343-407.

**Desmaures, 1995**. Etude des laits de haute qualité: caractéristiques et aptitudes microbiologiques à la transformation en camembert au lait cru.Thèse, Université de Caen.

**Desmazeaud, M.(1983)** L'état des connaissances en matière de nutrition des bactéries lactiques. *Le lait.* 63 : 267-316.

**Desmazeaud, M. (1996)**. Les bactéries lactiques dans : L'alimentation humaines : utilisation et innocuité. *Cahiers Agricultures*, 5, pp: 331-343.

**Desmazaud, M., 1998.** Bactéries lactiques et qualité des fromages. Lab. de recherches laitières INRA. 1-3.

**Desmazeaud M.J. et De Roissard H.1992.** Métabolisme général des bactéries lactiques, aspects fondamentaux et technologiques. Ed. Loriga Uriage. 1, 169-207.

**De Vos, P., Garrity, G. M., Jones, D., Krieg, N. R., Ludwig, W., Rainey, F. A., Schleifer, K. H., Whitman, W. B. (2009).** Bergey's manual of Systematic Bacteriology Second Edition Volume Three: The Firmicutes. Springer Dordrecht Heidelberg, USA.

**Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K. H., Stackebrandt, E. (2006).** The prokaryotes "third edition": A handbook on the Biology of bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria. Springer, Singapore.

### E

**Eck et Gillis, 2006.** Le fromage. 3eme edition : Tec et Doc, Lavoisier. Paris. 891p.

Entrée consulté .In *wikipédia, Bifidobacterium longum* [en ligne ]. [consulté le 15/07/2021]. Disponible à l'adresse : [https://fr.wikipedia.org/wiki/Bifidobacterium\\_longum](https://fr.wikipedia.org/wiki/Bifidobacterium_longum).

Entrée consulté .In *wikipédia, Enterococcus faecalis* [en ligne ]. [consulté le 15/07/2021]. Disponible à l'adresse : [https://fr.wikipedia.org/wiki/Enterococcus\\_faecalis](https://fr.wikipedia.org/wiki/Enterococcus_faecalis).

Entrée consulté .In *wikipédia, point isoélectrique* [en ligne ]. [consulté le 15/07/2021]. Disponible à l'adresse : [https://fr.wikipedia.org/wiki/Point\\_iso%C3%A9lectrique](https://fr.wikipedia.org/wiki/Point_iso%C3%A9lectrique).

### F

**FAO/OMS. 1996, Codex Alimentarius. N°A-6-1978.** Code de principes concernant le lait et les produits laitiers. Rome, 258p.

**Felis, G. E., Salvetti, E., & Torriani, S. (2015).** Systematics of Lactic Acid Bacteria. Biotechnology of Lactic Acid Bacteria, 25-31. doi:10.1002/9781118868386.ch2.

**FIL Référence ISO 707/ F.I.L octobre 2018** Normes définies pour les analyses microbiologiques et chimique des produits laitiers.

**Frohlich, J et König, H. (2009).** Biology of microorganisms on grapes, in must and in wine. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.

## G

**Galvez, A., Abriouel, H., Ben Omar, N., Lucas, R. (2011).** Food Applications and Regulation In: Drider D., et Rebuffat S. (eds). Prokaryotic Antimicrobial Peptides: From Genes to Applications. Springer Verlag. 253-390.

**Garrity G.M., Timothy G.L., James R.C., Scott h.H., Euzéby J. and Tindall B.J. (2007).** Taxonomic Outline of Bacteria and Archeae. Part 9- The Bacteria : phylum “ Firmicutes” : class “ Bacilli”. Release 7.7 march 6.

**Guiraud, J.P (1998).** Microbiologie alimentaire. Technique et Ingénierie. Série Agroalimentaire, Eds. Dunod Paris, 652 p.

**Guiraud, J.P. 2003.** Microbiologie Alimentaire. Tec & Doc, Dunod. Paris. 90-292.

**Guiraud, J.P. et Rosec J.P., 2004.** Pratique des normes en microbiologie alimentaire. AFNOR. 237- 251.

**Ghaly A. E., Kamal M. and Correia L. R. 2005.** Kinetic modelling of continuous submerged fermentation of cheese whey for single cell protein production. Bioresource Technology 96(10): 1143-1152.

## H

**Hadef, S. (2012).** Évaluation des aptitudes technologique et probiotiques des bactéries lactiques locales, Kasdi merbah-ouargla. Magister: 135.

**Hassaine, O. (2008).** Caractéristiques d'intérêt technologiques de souches de bactéries lactiques isolées du lait camelin du sud Algérien. Thèse de Doctorat. Université d'Oran. Algérie.

**Hassan, A.N. et Frank J.F. 2001.** Starter Cultures and their use. In: Applied Dairy Microbiology (Marth E.H. et Steele J.L.) 2e Ed., Marcel Dekker, Inc. New York. 151-205.

**Holzappel et al., 2001 W.H., Haberer, P., Geisen, R., Björkroth, J., Schillinger, U. 2001.** Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. Am. J. Clin. Nutr, 73(suppl): 365S–73S.

**Ho, T.N.T., Tuan N., Deschamps A. et Caubet R.2007.** Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) of the Nem Chua fermented meat product of Vietnam. Int. Workshop on FoodSafety and Processing Technology. 134-142.

### **K**

**Kandler O., 1983 .** Carbohydrate metabolism in: lactic acid bacteria. *Antonie. Van. Leeuwenhoek*: 49: pp 209-224.

**Konig, H., Frohlich, J. (2009).** Lactic Acid Bacteria, in: *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*. Springer, Berlin, Heidelberg. 3-29.

### **L**

**Larpent, J.P. (1996).** les bactéries lactiques In Bourgeois, C.M., *Microbiologie alimentaire : aliments fermentés et fermentation alimentaire*. Tec et Doc Lavoisier.4.

**Larsen raul F. et Anon maria C. 1989-1990.** Interaction of Antibiotics and Water Activity on *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*. *J. Food Sci.* 54:4. p.922-924.

**Lee, D.R., Molskness, T.A., Sandine, W.E. and Elliker, P.R. (1973).** Carbohydrate metabolism in lactic streptococci: fate of galactose s.

**Leroy, F. et De Vuyst, L. 2004.** Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation Industry. *Trends in Food Science & Technology* 15: 67–78.

**Leveau JY, Boiux M et De Roissart HB. (1993).** La flore lactique : technique d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires. 2e Ed., Tec & Doc. Lavoisier. Paris. 3, 2-40.

**Liebefeld, 2002.** *Microbiologie des cultures*. Unité de recherche « lait, fromage ».

**Luquet, F M., (1986) .**Lait et produits laitiers (vache, brebis, chèvre, T3., qualité, énergie et tables décomposition). Ed .Technique et Documentation. Paris : pp 343- 442.

### **M**

**Mahout. M, 2000 :** Les produits industriels laitiers. Ed Tec et Doc, Lavoisier. Paris, pp1-10.

**Makhloufi, K. M. (2011).** Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolée du boza. Thèse de doctorat de l'université pierre et marie curie. Spécialité : microbiologie, biochimie (école doctorale iviv) Mc Auliffe.

**Matamoros, S., Pilet, M. F., Gigout, F., Prevost, H., Leroi, F. (2009).** Selection and evaluation of sea food-borne psychrotrophic lactic acid bacteria as inhibitors of pathogenic and spoilage bacteria. *Food Microbiol*, 26(6), 638-644.

**Mäyrä-Mäkinen A Et Bigret M. (2004).** Industrial use and production of lactic acid bacteria. In : *Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects* (Salminen S., Wright A.V. & Ouhanchi A.). 3e ed., Marcel Dekker, Inc. New York, 73-102.

M. EL ATYQY . *Protéines, peptides et acides aminés* . 23/10/2018. [consulté le 15/07/2021]. Disponible à l'adresse : <https://www.scientecal.com/cours/prot%C3%A9ines-peptides-et-acides-amin%C3%A9s>.

Micheline Rousseau , Christiane Le Gallo. *Fixation des Leuconostocs sur les moules en gres vernisse*. C.R Jouy en Josas. [consulté le 15/07/2021]. Disponible à l'adresse : [https://www.researchgate.net/figure/Figure-I-6-Fixation-des-Leuconostocs-sur-les-moules-en-gres-vernisse\\_fig4\\_338454567](https://www.researchgate.net/figure/Figure-I-6-Fixation-des-Leuconostocs-sur-les-moules-en-gres-vernisse_fig4_338454567).

**Mietton B., 1995** : La typologie des fromages, Symposium organisé par la fondation des Gouverneurs et le centre de recherche et de développement sur les aliments d'agriculture et Agroalimentaire Canada, octobre, 245p.

**Mietton B., Weber F., Desmazeaud M. & De Roissart H. (1994).** Transformation des produits animaux Transformation du lait en fromage. In *Bactéries lactiques: Aspects fondamentaux et technologique*. Vol 2. De Roissart, H. & Luquet, F. M. (Eds), Loriga, Uriage, 55-133.

**Molskness, T.A., Lee, D.R., Sandine, W.E. and Ellike, P.R. (1973).**  $\beta$ - phosphogalactoside galactohydrolase of lactic streptococci. *Journal of Applied Microbiology*, 25, pp: 373-380

**Mozzi F., Raya R.R. et Vignolo G.M., 2010.** *Biotechnology of lactic acid bacteria: Novel applications*. Blackwell. Publishing. Iowa, USA.

N

**Novel G., (1993).** Les bactéries lactiques in « Microbiologie industrielle » les microorganismes d'intérêt industriel. Ed. LE VEAU, G. V., BOUIX, M. Techniques et Documentation Lavoisier. Paris. PP. 171-215.

O

**Ogier, J.C., Casalta E., Farrokh C. et Saihi A., 2008.** Safety assessment of dairy microorganisms: The Leuconostoc genus. *Int. J. Food Microbiol.* 126 : 286-290.

P

**Papamanoli, E., Tcanctakis, N., Litopoulou-Tzanctaki, E., Kotzekidou, P., 2003.** Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Greek dry-fermented sausage in respect of their technological and probiotic properties. *Meat Sci.* 859-867p.

**Pilet, M.F., Magras C., Federighi M., 1998.** Bactéries lactiques. In : Manuel de bactériologie alimentaire (Sutra L., Federighi M., Jouve J.L.). Polytechnica. Paris. 235-260.

**Pilet, M.F., Magras C. et Federighi M., 2005.** Bactéries lactiques. In : bactériologie alimentaire (Federighi M.). 2e Ed., Economica. Paris. 219-240.

**Pringsulaka, O., Thongnam, N., Suwannasai, N., Atthakor, W., Pothivejkul K., Rangsiruji A. (2011).** Partial characterization of bacteriocins produced by lactic acid bacteria isolated from Thai fermented meat and fish products. *Food Control*, 23: 547-551.

R

**Roudj, S., Belkheir, K., Zadi-Karam, H., Karam, N.-E. (2009).** Protéolyse et autolyse chez deux lactobacilles isolés de lait camelin du Sud Ouest algérien. *Euro J Sci Res.* 34(2): 218-227.

S

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

**Schmidt. J. L, Tourneur. C, et Lenoir. J, 1994 :** Fonction et choix des bactéries lactique laitières in « bactéries lactique ». Vol II. Ed. Loriga, paris, pp 37.

**Shirai, K, Guerrero. I, Huerta. S, Saucdo. G, Castillo. A, O Gonzalez. R, George M. (2001).** Effect of initial glucose concentration and inoculation level of lactic acid bacteria in shrimp emulsion Hall Enzyme and Microbial Technology 446-452p.

**Somkuti, G.A., and Steinberg, D.H. 1979.** Adaptability of *Streptococcus thermophilus* to lactose, glucose and galactose. *Journal of Food and Protection*, 11, pp: 885-887.

**Soomro, A.H., Masud, T. et Anwaar, K. 2002.** Role of Lactic Acid Bacteria (LAB) in Food Preservation and Human Health-A Review. *Pakistan Journal of Nutrition* 1: 20-24.

**Stiles, M.E. et Holzapfel W.H. 1997.** Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int. J. Food Microbiol.* 36 : 1-29.

### T

**Tessier, L., 2007.** Technologies des procédés industriels, Centre Col. ed. Montréal.

**Teuber Michael, Geis Arnold, 2006.** The Genus *Lactococcus*. *Prokaryotes* 4: 205-228.

**Thieulin et Vuillaume. (1967).** Eléments pratiques d'analyse et d'inspection du lait de produits laitiers et des œufs-revue générale des questions laitières 48 avenue, Président Wilson, Paris : 71-73.388p.

**Thompson, J. (1979).** Lactose metabolism in *Streptococcus lactis*: phosphorylation of galactose and glucose moieties in vivo. *Journal of Bacteriology*, 140, pp: 774-785.

**Thompson J., Gentry-Weeks C R., 1994** -Métabolisme des sucres par les bactéries lactiques. In: *Bactéries lactiques* (De Roissart H. et Luquet F M.). *Lorica. Uriage*: 1: pp 239-290

**Thunell, R. K. (1995).** Symposium: The dairy *Leuconostocs*. *Journal of Dairy Science*, 78: 2514-2522

**Tortora. G..J ; B.R. Funk ; C.L. Case. (2003).** Introduction à la microbiologie. Edition du Renouveau Pédagogique Inc. Pp. 945.

**Tosukhowong, A., Nakayama J., Mizunoe Y., Sugimoto S., Fukuda D. et Sonomoto K., 2005.** Reconstitution and function of *Tetragenococcus halophilus* chaperonin 60 tetradecamer. *J. Biosci.Bioengin.* 99: 30-37.



V

**van Kranenburg, R., Kleerebezem, M., van Hylckama Vlieg, J., Ursing, B. M., Boekhorst, J., Smit, B. A., Ayad, E. H. E., Smit, G., et Siezen, R. J. 2002.** Flavour formation from amino acids by lactic acid bacteria: predictions from genome sequence analysis. *International Dairy Journal* 12: 111–121.

**Vignola Carole L, 2002.** Science et technologie du lait transformation du lait. Ecole Polytechnique de Montréal, 2002.

**Von Wright, A. et Axelsson, L. 2012.** Lactic acid bacteria: An introduction. In Lahtinne, S., Salminen, S., Von Wright, A. et Ouwehand, A., Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects. CRC Press: 1-17.

Z

**Zadi-Karam, H. et Karam, N-E. (2007).** Cinétique de croissance et d'acidification de souches de *Lactobacillus* isolées de lait de chamelle. (Growth and acidification kinetics of strains of *Lactobacillus* isolated from camel milk). 14ème Congrès 3R, 6-17.

**Site web**

<http://biochimej.univangers.fr/Page2/TexteTD/7ModuleS6BG3/ZSuite/5HenderHassel/1HenderHassel.htm>

## Table des matière

Remerciements

Dédicaces

Résumé

ملخص

Abstract

Abréviations, sigles, acronymes et symboles ..... I

Liste des Tableaux ..... II

Liste des Figures ..... III

Liste des annexes ..... IV

Sommaire

Introduction ..... 16

### PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

#### Chapitre I : Les bactérie lactiques

1. Présentation des bactéries lactiques ..... 20
2. Habitat et origine des bactéries lactiques ..... 21
3. Taxonomie des bactéries lactiques ..... 23
4. Caractéristiques des principaux genres des bactéries lactiques ..... 27
  - Lactobacillus ..... 27
  - Lactococcus ..... 30
  - Leuconostoc, Oenococcus et Weissella ..... 31
  - Pediococcus et Tetragenococcus ..... 32
  - Streptococcus ..... 32

Enterococcus .....	33
Bifidobacterium.....	35
5. Les exigences des bactéries lactiques en nutriments .....	36
Glucides.....	36
Azote .....	37
Vitamines .....	37
Minéraux .....	37
Oxygène .....	38

## **Chapitre II : Rôle des Bactéries Lactiques**

1. Rôle des bactéries lactiques .....	40
Rôle technologique.....	40
Rôle métabolique.....	41
2. Fermentation lactique et acidification.....	45
Fermentation lactique.....	45
Les deux voix de fermentation .....	45
La production de l'acide lactique .....	47
L'acidification.....	48
3. Coagulation lactique et pH isoélectrique .....	48
Coagulation acide .....	48
PH isoélectrique .....	49
4. Ferments mésophiles.....	51
5. Ferments thermophiles.....	51

## **ETUDE EXPERIMENTALE**

### **Chapitre I : Matériel et Méthodes**

1. Lieu et objectif de l'étude .....	54
Objectif de l'étude .....	54
I.1.2 Lieu de l'étude.....	54

2.	Origine des souches lactiques utilisées .....	54
3.	Matériel et milieux de culture .....	54
4.	Méthodes.....	55
	Revivification des souches lactiques .....	55
	Etude de caractères morphologiques .....	57
	Test de production de catalase .....	57
	Etude de quelques aptitudes technologiques des bactéries lactiques .....	57

## **Chapitre II : Résultats et Discussion**

1.	Revivification et purification des souches lactiques .....	67
2.	Examen macroscopique .....	67
3.	Examen microscopique.....	68
4.	Test catalase .....	69
5.	Résultats d'étude des aptitudes technologiques .....	69
	Pouvoir acidifiant et évolution du pH .....	69
	Résultats des analyses physico-chimiques du lait préparé partiellementécramé	
	72	
	Résultat de la coagulation lactique.....	74
	Résultats de la préparation du coagulum (du caillé lactique).....	75
	Résultats du rendement fromager.....	76
	Résultat de rendement en extrait sec total .....	78
	<b>Conclusion.....</b>	<b>82</b>
	<b>Annexes.....</b>	<b>85</b>
	<b>Liste des références.....</b>	<b>89</b>