

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 :

**DJAHED SOUMIA**

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN SCIENCES ALIMENTAIRES**

**Spécialité: Production et Transformation Laitières**

Thème

**Cinétique de croissance et d'acidification de souches  
lactiques autochtones**

Devant les membres du jury

		<b>Grade</b>	
<b>Président</b>	Dr TAHLAITI Hafida	MCA	U. Mostaganem
<b>Examineur</b>	Dr MEDJAHED Mostefa	MAA	U. Mostaganem
<b>Encadreur</b>	Dr DAHOU Abdelkader Elamine	MCB	U. Mostaganem

Travail réalisé au Laboratoire des Sciences et Techniques de Productions Animales

Année universitaire 2020-2021



# Remerciements

Je remercie en premier lieu le **Créateur** des cieux et des terres, notre **Grand ALLAH** Tout Puissant qui m'a guidé sur le droit chemin et m'a donné le courage et la volonté d'affronter les difficultés rencontrées et aboutir à la réalisation de ce travail.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à ma directeur de mémoire Monsieur : **Dahou Abdelkader El-Amine**, Maitre de conférence B à l'Université de Mostaganem, pour ses judicieux conseils et sa constante disponibilité. C'est grâce à sa compétence et son indulgence que ce travail a pu être réalisé.

Je tiens à remercier Mme **TAHLAITI Hafida**, d'avoir accepté de présider le jury de cette soutenance.

Je tiens aussi à remercier M **MEDJAHED Mostefa** , l'examineur de ce mémoire

L'ensemble des enseignants de ma promotion en production et transformation laitière ,pour leur enseignement.

Un remerciement à l'ingénieur de laboratoire **Mr. BENHARRAT** pour les soutiens et leurs infini gentillesse.

**Merci à tous et à toutes.**



# *Dédicaces*

*C'est avec un énorme plaisir que je dédie ce modeste travail à mes parents qui ont été d'un dévouement exemplaire et d'un réconfort inestimable.*

*Mes chaleureuses dédicaces aux personnes qui croient en moi et que je chéris de m'avoir soutenu durant toutes mes années d'études.*

*A mes chers sœurs et mon frère: Khadidja , Fatima ,Meriem , Zakaria.*

*A mon cher mari : Ayoub.*

*A mes chères copines : Malika ,Houda , Yasmine ,Rania*

*A mes deux grandes familles "Djahed" et Benanteur"*

*A ma belle-famille "Allami".*

*A tous mes professeurs qui m'ont formé pendant tout mon cursus.*

*Soumia*

# Liste des abréviations

# Liste des abréviations

**ADP** : L'adénosine diphosphate.

**BL** : bactérie lactique.

**C°** : Degré Celsius .

**D°** : Acide Dornic.

**EMP** : Embden-Meyerhof-Parnas.

**EPS** : exopolysaccharide .

**Fe** : fer.

**K** : potassium.

**MCD** : milieu chimiquement défini.

**Mg** : Le magnésium.

**Mn** : Manganèse .

**Na** : sodium.

**pH** : Potentiel Hydrogène

**Zn** : Zinc .

# Liste des figures

## Liste des figures

N° de la figure	Le titre de la figure	Page
<b>la figure 01</b>	le PH metre	<b>35</b>
<b>la figure 02</b>	la mesuration de l'acidité Dornic	<b>36</b>
<b>la figure 03</b>	Evolution du pH en fonction du temps des souches de <i>Lb. Lactis</i> et <i>Strp.thermophilus</i> .	<b>41</b>
<b>la figure 04</b>	Evolution du l'acidité Dornic en fonction du temps des souches de <i>Lb. Lactis</i> et <i>Strp.thermophilus</i> .	<b>42</b>

# Liste des tableaux



## Liste des tableaux

N° du tableau	Titre du tableau	Page
<b>Tableau 01</b>	Les différents genres de bactéries lactiques et leurs principales caractéristique	<b>21</b>
<b>Tableau 02</b>	Besoins en acides aminés des lactobacilles	<b>22</b>
<b>Tableau 03</b>	Correspondance entre certaines vitamines, coenzymes, et réactions métaboliques chez les bactéries lactiques	<b>23</b>
<b>Tableau 04</b>	Caractère des souches de <i>Lb lactis</i> et <i>Strp thermophilus</i> .	<b>39</b>
<b>Tableau 05</b>	Représente la cinétique de l'évolution du pH des souches de <i>Streptococcus thermophilus</i> et <i>Lb lactis</i>	<b>41</b>
<b>Tableau 06</b>	Représente la cinétique de l'évolution de l'acidité Dornic (°D) des souches de <i>Lb lactis</i> et <i>S therophilus</i> .	<b>42</b>

# **Liste des Annexes**

## Liste des Annexes

N° d'annexe	Titre d'annexe	Page
<b>Annexe 01</b>	Préparation du lait (LOYA)	<b>48</b>
<b>Annexe 02</b>	Coloration de Gram	<b>49</b>
<b>Annexe 03</b>	Détermination de l'acidité Dornic	<b>50</b>

# **Sommaire**

## Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des annexes

Introduction..... 14

### PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

**Chapitre I** : Bactéries lactiques ..... 17

**Chapitre II** : Rôle des bactéries lactiques..... 28

### PARTIE PRATIQUE

**Chapitre I** : Matériel et Méthodes .....33

**Chapitre II** : Résultats et Discussion..... 39

CONCLUSION.....46

Annexes..... 48

Références Bibliographiques.....52

# **Introduction**

## ***Introduction***

---

Les bactéries lactiques appartiennent à un groupe de bactéries bénéfiques, sont largement impliquées dans la fabrication des produits laitiers fermentés du fait de leurs activités métaboliques particulières. La production d'acide lactique est essentielle à la production des produits laitiers fermentés et leur confère une saveur typique (Labaoui et al.,2005).

Ces bactéries contribuent par leurs activités enzymatiques variées, à la production de composés volatils qui participent au développement de l'arôme, de la saveur, et de la texture de plusieurs produits laitiers. Certaines bactéries lactiques produisent des exopolysaccharides qui jouent un rôle important dans le développement de la texture de plusieurs produits laitiers (Labaoui et al.,2005 ; Dahou et al., 2015).

Actuellement, on définit les ferments lactiques comme étant des cultures pures ou des mélanges de bactéries lactiques sélectionnées et utilisées pour la fabrication de produits fermentés comme les yaourts, et les fromages.

Depuis une dizaine d'année, un intérêt considérable s'est développé autour de l'utilisation de cultures lactiques à effets bénéfiques pour la santé ou "probiotiques" pour des applications alimentaires, pharmaceutiques ou encore en alimentation animale.

Parmi leur utilisation, les bactéries lactiques présentent un grand intérêt dans l'industrie laitière. Elles sont parmi les plus importants groupes de micro-organismes utilisés dans la fermentation alimentaires (Hikmate et al.,2012).

C'est dans ce contexte d'activité que nous nous sommes fixés comme objectif dans cette étude de caractériser l'activité acidifiante de certaines souches lactiques autochtones issus du lait de vache, appartenant au genre *Lactococcus lactis* et *Streptococcus thermophilus* pour l'élaboration d'un ferment à haute aptitude fromagère .

La première partie de ce manuscrit, consacrée à l'étude bibliographique est divisée en deux chapitres, portant sur des généralités sur les bactéries lactiques, l'activité acidifiante et le rôle des bactéries lactiques. La partie expérimentale, sera quant à elle, traitée par l'introduction d'un protocole expérimental dans la partie matériel et méthodes, suivi des résultats et discussion et enfin d'une conclusion.

# **Partie bibliographique**



# **Chapitre I : Bactéries lactiques**

## **I.1. Présentation des bactéries lactiques**

### **Définition des bactéries lactiques :**

Les Bactéries lactiques sont de très anciens microorganismes dont les ancêtres ont pu voir le jour il y a trois milliards d'années. A la fin du 19<sup>e</sup> siècle Robert Koch eu des retombées sur la connaissance, le rôle et l'utilisation des BL .Donc, le concept des BL comme un groupe d'organismes mis au point au début des 1900, précédée d'avant-garde scientifique et développements techniques au cours de la dernière partie du 19<sup>ème</sup> siècle (Stiles et Holzapfel, 1997).

Les BL sont des cellules procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes. Elles sont Gram positive non sporulantes, à oxydase négative, catalase négative, et immobiles. Elles 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).

Les BL utilisées dans les fermentations lactières peuvent être divisées en deux groupes sur la base de leur croissance optimale. Les bactéries mésophiles avec une température optimum de croissance entre 20° C et 30°C et les thermophiles entre 30°C et 45°C. Alors que la majorité de souches se développent à pH 4,0-4,5, certaines sont en activité à pH 9,6 et d'autres à pH 3,2 (Jozala, 2005).

Les différentes BL utilisées en fromagerie appartiennent principalement à trois genres : Lactobacillus, Lactococcus et Streptococcus. Ces trois genres microbiens se différencient particulièrement par leur température optimale de croissance et leur propriété acidifiante (Drider et Préost, 2009).

Elles sont ubiquistes, se trouvent dans différentes niches écologiques (lait, les produits laitiers, viande, le poisson, les végétaux...), mais d'autres sont aussi membres de la flore normale de la bouche, les muqueuses humaines et animales, dans le tractus digestif, et le vagin des mammifères (Drouault et Corthier, 2001). (Salminen, 2004);( Carina Audisio et al., 2010).

## I. 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 (SANDINE, 1988).

Parmi les espèces du genre **Streptococcus**, *Streptococcus thermophilus* est isolée du lait pasteurisé, du matériel de laiterie et de levains artisanaux (JONES, 1978).

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 (SUHIGARA, 1985). et des solutions visqueuses de sucre dans les sucreries (DEVOYOD et POUILLAIN, 1988).

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) (CHAPMAN et SHARPE, 1981; DELLAGLIO et al.; UCHIDA, 1982.; BACUS et BROWN, 1985B; VILLAR et al., 1985).

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*) (DESMAZEAUD, 1996).

## Taxonomie des bactéries lactiques

L'approche classique de la taxonomie bactérienne est fondée sur les caractéristiques morphologiques et physiologiques auxquelles s'est ajoutée la composition de la paroi; les acides gras (Alexandre et al., 2008). La première classification des BL a été établie en 1919 par Orla-Jensen sur divers critères morphologiques et physiologiques (activités catalase et nitrite réductase, type de fermentation) (Stiles et Holzapfel, 1997).

Les bactéries lactiques appartiennent au phylum des Firmucutes, à la classe des bacilli et à l'ordre des Lactobacillales (De vos et al., 2009).

Cet ordre comporte 33 genres répartis entre six famille qui sont : *Lactobacillaceae*, *Aerococcaceae*, *Carnobacteriaceae*, *Enterococcaceae*, *Enterococcaceae*, *Leuconostococcae* et *Streptococcaceae*, classées en se basant sur les analyses phylogénétiques des séquences de l'ARNr 16S (Ludwig et al., 2009).

## Caractéristiques des principaux genres des bactéries lactiques

- **Genre *Lactobacillus*** Le genre *Lactobacillus* a été créé en 1901 par Beijerinck. Les bactéries de ce genre sont des bacilles ou des coccobacilles regroupées souvent en chainettes, aérotolérantes et leur pH optimal de croissance est compris entre 5,5 et 6,5 (Pot, 2008) .

Le genre lactobacillus a été subdivisé par ORLA-JENSEN en trois groupes :

Groupe I ( *Thermobacterium* ) : comprend les lactobacilles homofermentaires thermophiles à température 45 °C .

Groupe II : ( *Streptobacterium* ) : regroupe les lactobacilles homofermentaire mésophile et peuvent être hétérofermentaire en fonction du substrat .

Groupe III : ( *Betabacterium* ) : ce sont des lactobacille hétérofermentaires .

- **Genre *Lactococcus***

La première description de *Streptococcus lactis* fut faite par Lister en 1873 lorsqu'il l'isola du lait et lui donna à cette époque le nom de *Bacterium lactis* [Sherman 1937]. Ce n'est qu'en

1985 que Schleifer et ses collègues ont reclassé la bactérie *S. lactis* dans le genre *Lactococcus* (Schleifer, et al. 1985).

une bactérie à Gram positif, non mobile, non sporulante, homofermentaire, son métabolisme est hétérotrophe, anaérobie aérotolérante. Sa température optimale de croissance se situe aux environs de 30 °C.

- **Genre Streptococcus.**

Le genre *Streptococcus* appartient au phylum des Firmicutes et regroupe des bactéries à Gram positif, dépourvues d'activité catalase, homofermentaires et à bas pourcentage en bases GC (Farrow et Collins, 1984). Les streptocoques sont divisés en cinq groupes :

le groupe Mitis

*Anginosus Sanguinis* .

Mutans. ( Facklam,2002 )

- **Genre Leuconostoc.**

Les leuconostoc sont des microorganismes procaryotes, mésophile, saprophytes, asporulés, habituellement non mobiles, dépourvus d'oxydase et de catalase, à Gram positif. Sont définis pour la 1ere fois par Vantieghem (1878 ).

Les cellules de *Leuconostoc* sont des cocci, souvent allongées, en paires ou en chaînes. Elles sont toutes des hétéro-fermentaires obligatoires produisant de l'acide D(-) lactique de l'éthanol et du CO<sub>2</sub>. Elles sont mésophiles avec une température optimale comprise entre 20-30°C (Guiraud, 2003).

j'ai résumé dans un tableau les différents genres de BL .

**Tableau 01:** Les différents genres de bactéries lactiques et leurs principales caractéristique( Carina Audisio et al., 2010) .

Genre	Morphologie	Fermentation	Caractéristiques	Habitats
<i>Lactobacillus</i>	Bacilles	Homofermentaire Hétérofermentaires	Themophiles Mésophiles	Homme, carnés Produits laitiers, végétaux ....
<i>Streptococcus</i>	Coques	Homofermentaires	Thermopholes	Produit laitiers
<i>Lactococcus</i>	Coques	homofermentaires	Mésophiles	le lait cru, les laits fermentés ou des fromages les végétaux et les animaux.
<i>Leuconostoc</i>	Coques	Homofermentaires	Mésophiles	Produit végétaux

### Les exigences des bactéries lactiques en nutriments

Les BL ont une faible aptitude biosynthétique et sont très exigeantes au point de vue nutritionnel. Elles requièrent pour leur croissance non seulement des substrats azotés, carbonés et phosphatés mais aussi des facteurs de croissance telle que les vitamines et les oligoéléments (Desmazeaud, 1983).

**I-5-1- Exigences en acides aminés**

Les BL exigent la fourniture exogène d'acides aminés pour leur croissance, car elles sont incapables d'en effectuer la synthèse à partir d'une source d'azotée simple (Desmazeaud, 1992).

Les exigences nutritionnelles des bactéries lactiques ont été déterminées par leur aptitude à croître dans un milieu chimiquement défini (MCD). Ces besoins en acides aminés (Tableau 3) sont cependant variables d'une souche à une autre. D'une manière générale *Streptococcus thermophilus* est l'espèce la moins exigeante (6 acides aminés au maximum) Synthèse bibliographique 11 alors que les lactobacilles sont auxotrophes pour un très grand nombre d'acides aminés (Monnet et al., 2008).

**Tableau 02:** Besoins en acides aminés des lactobacilles (Monnet et al., 2008)

Lactobacille homofermentaire	<i>Lb. acidophilus</i>		<i>Lb. delbrueckii</i>			<i>Lb. helveticus</i>			Lactobacille hétérofermentaire obligatoire		
	NCTC 1899	ATCC 11506	NCDO 213	ssp bulgaricus CNRZ.397	ssp bulgaricus NCFB 2772	CRL 1062	CRL 974 ATCC 15009	CNRZ 32	<i>L. brevis</i> NCTC 8107	<i>L. buchneri</i> NCDO 110	<i>L. fermentum</i> ATCC 9338
L-Acide aspartique	ND	+	ND	-	S	-	-	ND	ND	ND	-
L-Acide glutamique	+	+	+	+	S	+	+	ND	+	+	+
DL/L-Alanine	-	S	-	+	+	-	S	ND	-	-	-
L-Arginine	S	+	+	+	+	+	+	ND	+	-	+
L-Asparagine	S	-	+	-	S/+	-	-	ND	-	-	-
L-Cystéine	-	+	+	-	+	-	S	ND	-	+	-
L-Glutamine	-	-	-	-	S	-	-	ND	-	-	-
Glycine	-	S	+	-	S	-	S	ND	-	-	-
L-Histidine	-	+	+	+	+	+	+	ND	S	-	S
L-Isoleucine	S	+	-	+	+	+	+	+	+	S	+
L-Leucine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-Lysine	-	S	-	-	+	-	+	ND	-	-	-
L-Méthionine	-	+	+	+	+	+	+	+	S	-	+
L-Phénylalanine	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
L-Proline	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-
L-Sérine	-	+	-	+	+	+	S	ND	-	-	-
L-Thréonine	-	+	-	-	S/+	+	+	+	-	-	-
L-Tryptophane	S	+	+	+	+	+	+	ND	+	-	+
L-Tyrosine	S	+	+	+	+	+	+	ND	+	-	+
L-Valine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Auxotrophie totale	3	15	11	13	16	13	13	14*	8	5	9

+ : essentiel ; - : non essentiel ; ND : non déterminé ; S : effet stimulant ;

\* :détermination incomplète .

**I-5-2- Exigences en vitamines :**

Elles sont incapables de synthétiser certaines vitamines indispensables à leur croissance. Celles-ci doivent être fournies par le milieu de culture. Les exigences sont très variables, y Synthèse bibliographique 12 compris au sein d'une même espèce. On distingue les vitamines dont le besoins est absolu, celles qui stimulent la croissance et celles ayant peu d'effet sur la croissance. Généralement, les exigences des BL portent souvent sur des vitamines du groupe B tel que la niacine, la riboflavine et l'acide panthothénique.

Le **tableau 03** indique les coenzymes correspondants aux vitamines ainsi que leur rôle dans le métabolisme des bactéries.

**Tableau 03 :** Correspondance entre certaines vitamines, coenzymes, et réactions métaboliques chez les bactéries lactiques (Monnet et al., 2008)

Vitamine	Coenzyme	Réaction faisant intervenir le coenzyme
Thiamine (vitamine B <sub>1</sub> )	Thiamine pyrophosphate (TPP)	Décarboxylation, transfert de groupements carbonés
Riboflavine (vitamine B <sub>2</sub> )	Flavine mononucléotide (FMN) et flavine adénine dinucléotide (FAD)	Oxydoréductions
Niacine (vitamine B <sub>3</sub> ou PP)	Nicotinamide adénine dinucléotide (NAD) et nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADP)	Oxydoréductions
Acide pantothénique (vitamine B <sub>5</sub> )	Coenzyme A (CoA)	Transfert de groupements carbonés
Pyridoxine (vitamine B <sub>6</sub> )	Pyridoxal phosphate (PLP)	Transamination, désamination et décarboxylation d'acides aminés
Biotine (vitamine B <sub>8</sub> ou H)	Biotine	Carboxylations
Acide folique (vitamine B <sub>9</sub> )	Acide tétrahydrofolique (THF)	Transfert de groupements monocarbonés
Cobalamine (vitamine B <sub>12</sub> )	Coenzyme B <sub>12</sub>	Réactions de réarrangements moléculaires



**I-5-3- Exigence en bases azotés :**

Les bases azotées peuvent être stimulantes pour la croissance des BL. De telles exigences proviennent de l'absence d'enzymes impliquées dans le métabolisme des pyrimidines et des purines (Monnet et al., 2008). Les streptocoques thermophiles présentent une exigence absolue pour les bases : adénine, guanine, uracile et xanthine tandis que les lactobacilles exigent la présence d'adénine, de cytidine, de désoxyguanosine, de guanine, de thymidine et d'uracile. En général, chez les lactobacilles, les exigences en bases azotées sont très variables selon les souches ; l'addition de ces composés peut même, chez certaines souches, entraîner des phénomènes d'inhibition de la croissance (Desmazeaud, 1992).

**I-5-4- Influence des cations :**

Les BL ont un besoin en ion remarquable. En effet, les éléments minéraux jouent un rôle essentiel dans la croissance des BL et précisément dans les activités enzymatiques bactériennes. Certaines espèces telles que *Leuconostoc mesenteroides* ne peuvent pas croître en absence d'ions minéraux, ce qui indique l'exigence absolue pour ces éléments (Foucaud et al., 1997).

Le magnésium est le principal cation divalent des cellules vivantes. C'est un activateur des différentes réactions métaboliques : division cellulaire, stabilisation des acides nucléiques ou hydrolyse peptidique. Cet ion est indispensable pour la croissance de *Lb helveticus* (Desmazeaud, 1992).

Le manganèse est essentiel pour la croissance de quelques souches lactiques. En plus de son rôle de cofacteur de réactions enzymatiques, il permet chez certaines espèces de mieux tolérer l'oxygène par l'élimination de l'ion superoxyde. Le potassium est un cofacteur de nombreuses enzymes. Une concentration élevée de potassium est nécessaire pour la synthèse des protéines et la régulation du pH intracellulaire (Monnet et al., 2008). Les exigences en ions minéraux peuvent varier d'une espèce à autre.  $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Na^{+}$ ,  $K^{+}$  et  $Cl^{-}$  ont été des composants essentiels dans le milieu de culture de *L. plantarum*.

Tandis que  $Zn^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$  et  $Mg^{2+}$  avait un effet significatif sur la croissance de *Lactococcus lactis* (Zhang et al., 2009).

**Aptitudes technologiques des bactéries lactiques .****Activité acidifiante :**

L'acide lactique est le principal métabolite produit au cours de la croissance des bactéries lactiques thermophiles et mésophiles. Il s'agit d'un acide faible dont le pKa est égal à 3,9. Dans le lait et dans certains de ses dérivés, tel que le lactosérum et la crème, la production d'acide lactique s'effectue essentiellement à partir du lactose.

La majorité des bactéries lactiques utilisées dans les produits laitiers ont un métabolisme homofermentaire, c'est-à-dire qu'elles produisent presque exclusivement de l'acide lactique à partir des sucres. Le bilan de la réaction est alors de quatre moles d'acide lactique produit par un mole de lactose consommé. Cependant, les bactéries lactiques thermophiles sont souvent incapables de métaboliser le galactose issu de la scission du lactose, qui s'accumule alors dans le milieu de culture. Dans ce cas seules deux moles d'acide lactique sont produites à partir du lactose (Georges et François, 2008 et Dahou et al., 2017).

Les espèces hétérofermentaires produisent des quantités équimolaires d'acide lactique, de dioxyde de carbone et d'éthanol (ou d'acide acétique) (Dellaglio, 1989) ; De vuyst, 2000).

**Activité protéolytique :**

Les bactéries lactiques ont des capacités limitées pour la synthèse des acides aminés, elles possèdent un système protéolytique complexe capable d'hydrolyser les protéines alimentaires en peptides et acides aminés contribuant à la texture, le goût et l'arôme des produits fermentés. Le système protéolytique comprend des protéases associé à l'enveloppe cellulaire qui dégradent les protéines en oligopeptides et des peptidases intracellulaires hydrolysant les peptides en acides aminés Savijoki et al., 2006). Elles peuvent être classées selon trois critères différents :

- A) La nature de leur site catalytique,
- B) la spécificité du clivage .
- C) leur besoin en ATP (Lopez, 2008).

Comparativement aux espèces du genre *Bacillus* et *Pseudomonas*, les bactéries lactiques sont faiblement protéolytiques (Antoine, 2011).

**Activité texturant :**

La capacité des bactéries lactiques à synthétiser des exopolysaccharides (EPS) joue un rôle important pour la consistance et la rhéologie des produits transformés (WELMAN et MADDOX.;RUAS- MADIEDO *et al.*.,2002) .

Ces composés polymères sont généralement considérés comme des agents épaississants naturels en industrie alimentaire.

Les *Lb. delbrueckii* ssp . *bulgarius* et *Streptococcus thermophilus* produisant des EPS sont utilisés en tant que starters fonctionnels dans la fabrication des yaourts, ceci afin d'améliorer la texture, éviter la synérèse et augmenter la viscosité des produits finis (DURLU-ÖZKAYA et al., 2007) . ; AMATAYAKUL *et al.*, 2006 ).L'utilisation des EPS produits par les souches *Lactococcus lactis* ssp. *Cremoris* est très prometteuse pour la structure et la viscosité des produits laitiers éperlenté (RUAS-MADIEDO *et al.*,2005).

# **Chapitre II : 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, 2011).

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).

**Rôle métabolique**

Les bactéries lactiques sont des microorganismes capables de fermenter les sucres (principalement le glucose) en acide. Le principal produit de la réaction est l'acide lactique. Elles sont à Gram positif, ne forment pas de spores, se présentent sous forme de coques, de bacilles ou de bacilles arrondis et possèdent dans leur ADN une faible proportion de bases guanine – cytosine (GC % < 50). Les bactéries lactiques sont généralement catalase négative, mais certaines possèdent une pseudo-catalase. Elles sont anaérobies mais aéro-tolérantes. Elles requièrent la présence d'acides aminés, d'acides gras, de vitamines et de minéraux pour leur croissance. Elles fermentent différents types de substrats : lait, fruits, légumes, céréales, poisson, viandes etc. Elles peuvent être retrouvées dans l'estomac et les intestins d'animaux et des êtres humains ou dans l'environnement. Leur capacité d'adaptation et de survie à une grande variété d'environnement est sans doute à l'origine de leur grande diversité de métabolismes. Elles sont classées en deux catégories selon leur voie de métabolisation des glucides : homo-fermentaire (ou homolactique) ou hétéro-fermentaire (ou hétéro-lactique).

### **La voie homo-fermentaire**

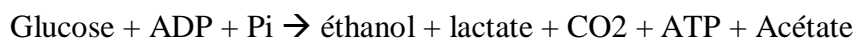
Dans la voie homo-fermentaire, le principal produit final est le lactate. La voie homofermentaire emprunte la voie de la glycolyse ou voie de Embden-Meyerhof-Parnas (EMP). Lors de cette étape, le glucose est converti en deux molécules de pyruvate, avec phosphorylation de deux molécules d'ADP en ATP. Le pyruvate est ensuite converti en lactate par la lactate déshydrogénase, ce qui permet la réoxydation des cofacteurs. La réaction bilan est la suivante :



Les genres *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* et *Pediococcus* constituent quelques genres de bactéries lactique homo-fermentaires [46,47]. Selon l'espèce, les *Lactobacillus* peuvent être soit homo-fermentaires soit hétéro-fermentaires. Par exemple, *Lb. delbrueckii*, *Lb. acidophilus* et *Lb. helveticus* sont quelques espèces *Lactobacillus* homofermentaires.

### **La voie hétéro-fermentaire**

Dans la voie hétéro-fermentaire, en plus de l'acide lactique, du dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>), de l'éthanol ou de l'acétate peuvent être également produits. La voie hétéro-fermentaire emprunte la voie des pentoses phosphate pour convertir le glucose. Le bilan de la réaction est le suivant :



Parmi les bactéries hétéro-fermentaires, on retrouve les genres *Leuconostoc*, *Weissella*, *Oenococcus* et certaines espèces de *Lactobacillus*. *Lb. brevis*, *Lb. hilgardii* sont parmi les espèces *Lactobacillus* hétéro-fermentaires. *Lb. plantarum*, *Lb. paraplantarum* et *Lb. pentosus* sont hétéro-fermentaires facultatives. L'éthanol est le composé le plus important pour l'obtention de boissons alcoolisées, telles que le vin ou la bière. La production de dioxyde de carbone apporte des caractéristiques sensorielles particulières au produit, comme un effet pétillant ou rafraichissant. Le CO<sub>2</sub> participe également à la levée de la pâte à pain pendant la fermentation et permet d'obtenir une texture aérée. Certaines bactéries lactiques sont capables de produire une part d'acide acétique également. (Amandine FESSARD.2017).

### **Les bactéries mésophiles**

Un organisme mésophile est une forme de vie qui prospère au mieux dans des conditions de température modérée. Classiquement, on parle de bactéries mésophiles lorsqu'elles vivent à des températures comprises entre 20 et 40 °C .

Une flore mésophile nombreuse indique que le processus d'altération des aliments est fortement engagé. En effet, la plupart des bactéries responsables des intoxications alimentaires : salmonelles, staphylocoques, etc. ont une croissance optimale entre 18 et 40 °C. Leur présence en grand nombre en cuisine ou sur des aliments traduit une mauvaise conservation des aliments (rupture de la chaîne du froid) et est annonciatrice d'une intoxication alimentaire, si les aliments sont consommés. En ce sens, une flore mésophile abondante lors des prélèvements bactériologiques de contrôle, traduit un processus actif d'altération lié à une contamination, et généralement à une rupture de la chaîne du froid. ( Willey , et *al.*2008)

### **Les bactéries thermophiles**

Les starters lactiques thermophiles sont composés de streptocoques et de lactobacilles ayant une température optimale de croissance autour de 45 C° , ils sont utilisés soit pour la préparation de yaourts et soit pour la fabrication de divers types de fromages.

les levains *streptococcus thermophilus* sont également utilisés ou certains types de fromages à pâte molle à la place ou en complément des levains mésophiles en raison des propriétés acidifiantes et protéolytiques de cet organisme , ce qui confère aux produits des caractéristiques particulières.

les ferments lactiques thermophiles contiennent généralement un ou plusieurs lactobacilles (*Lactobacillus bulgaricus*, *L.lactis* et *L. helveticus*) et un *Streptococcus*, *Strptococcus*, *Str.* thermophile. (J. P. Accolas et al , 1983 ).

# **Partie pratique**



# *Chapitre I* : Matériel et Méthodes

## **1-Lieu et objectif de l'étude**

Cette étude a été réalisée au niveau du laboratoire des sciences et techniques de production animales (LSTPA), au niveau de l'exploitation agricole de Hassi Mamèche, affilié à l'Université de Mostaganem.

L'objectif de l'étude est d'étudier la cinétique de croissance et l'activité acidifiante de deux souches de bactéries lactiques autochtones;

*Streptococcus thermophilus* -> souche thermophile.

*Lactococcus lactis* → souche mésophile.

## **2- Origine des souches lactiques utilisées**

Les souches ont été récupérées du souchier du Dr DAHOU.A du laboratoire LSTPA de l'université Mostaganem .

- *Streptococcus thermophilus* .
- *Lactococcus lactis* .

## **3- Matériel et milieu de culture**

- Le milieu MRS en bouillon et solide a été utilisé pour la revivification, la conservation et la préparation des différentes souches isolées
- Le lait utilisé est reconstitué à partir d'une poudre de lait 26% MG de marque LOYA.  
(Annexe 01 )

## **4. Méthodes**

### **Revivification des souches lactiques**

Les souches lactiques récupérées du souchier du laboratoire auparavant conservées sur milieu MRS glycérolé sont revivifiées d'une part sur bouillon MRS et d'une autre part sur du lait demi écrémé stérile.

La technique consiste à prendre un volume de 100 µl de la souche conservée et de l'ensemencer dans un tube à essai stérile contenant 5 ml de bouillon MRS déjà préparé, après

une incubation à 30°C, température optimale de croissance de l'espèce *Lactococcus lactis* et à 42°C pour l'espèce *Streptococcus thermophilus* pendant 24 à 48 heures la croissance est appréciée par l'apparition d'un trouble sur le milieu. MRS et une coagulation du lait demi-écrémé.

## **4.2 Réalisation de la dilution pour le dénombrement et le contrôle de la viabilité des bactéries lactiques**

- Le lait écrémé coagulé est homogénéisé (ferment mésophile et ferment thermophile) pour prélever une suspension bactérienne homogène.
- On ouvre le flacon après avoir flamber l'ouverture.
- On prélève 1mL de suspension à l'aide d'une pipette plastique stérile
- On flamber et on referme le flacon.
- Pour les dilutions on ouvre le tube de 9 mL contenant le diluant, l'eau physiologique, après avoir flambé l'ouverture et on y introduit le volume prélevé. On re-flambe et on referme le tube. Ainsi on obtient la dilution  $10^{-1}$ .

La dilution suivante s'effectue comme la dilution décrite ci-dessus mais en partant du tube de la dilution  $10^{-1}$ . On termine l'opération jusqu'à  $10^{-6}$

**\*La même démarche est établie pour la souche thermophile.**

## **Purification des souches lactiques**

Cette étape se fait après la revivification et consiste à réaliser un ensemencement par stries à partir du bouillon d'enrichissement sur gélose MRS ; L'incubation est réalisée à 37°C pour les BL mésophiles et à 42° C pour les BL thermophiles pendant 72 heures.

## **4.3.-Etude des caractères morphologiques**

### **Caractérisation macroscopique**

L'examen macroscopique permet d'observer visuellement sur gélose MRS : la forme, la taille, l'aspect ainsi que la couleur des colonies de bactéries lactiques.

**Caractérisation microscopique:**

Après coloration de Gram (**Annexe 02**), les colonies sont observées au microscope au grossissement X100 avec immersion.

**Test de production de catalase:**

Ce test met en évidence la présence de l'enzyme catalase qui élimine le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> toxique pour les bactéries et le transforme en H<sub>2</sub>O tout en dégageant de l'oxygène. Une souche est dite catalase positive lorsqu'on remarque un dégagement des bulles en présence d'eau oxygéné.

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

Le pouvoir acidifiant des bactéries lactiques est l'un des caractères les plus importants en industrie laitière. Le pouvoir acidifiant des deux souches de BL est étudié par le suivi du pH et la mesure de l'acidité Dornic dans le lait entier ( lait LOYA).(Annexe01).

**- Méthode de mesure du pH :**

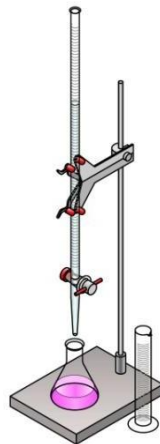
La mesure de l'activité acidifiante consiste à suivre d'une part l'évolution du pH des différentes cultures pures en fonction du temps (0h, 2h, 4h, 6h, 8h,...24h) et d'autre part à doser simultanément l'acidité Dornic. Le pH du lait est mesuré à intervalle de 2 heures par le pH-mètre.



**Figure(01) :** le PH mètre .

**- Méthode de mesure de l'acidité Dornic :**

Pour une prise de 10 ml de l'échantillon à analyser, on ajoute une à deux gouttes de phénophtaléine à 1%. L'acidité est titrée à l'aide de soude N/9 contenue dans une burette de Mohr à robinet et versée goutte à goutte en agitant constamment jusqu'au virage vers une couleur rose pâle persistante au moins pendant 10 secondes. (**Annexe 03**).



**Figure (02) :** la mesuration de l'acidité Dornic.

Les résultats sont exprimés selon la relation : Acidité (°D) =  $V_{NaOH} \times 10$

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

- Acidité (°D) : L'acidité est exprimée en degré Dornic où  $1^{\circ}D = 0,1g/l$  d'acide lactique.

**Le pouvoir aromatisant par la production d'acétoïne**

Une prise de 5 ml de lait préparé ( **Annexe01** ), après incubation à 37°C pour le tube de la culture mésophile et à 45 C° pour la culture thermophile pendant 24h, une à deux gouttes des réactif VP1 et VP2 sont ajoutées. Après 10min l'apparition d'anneau rose en surface signifie que la bactérie est productrice d'acétoïne.

**Coagulation lactique**

La coagulation lactique est déterminée après une incubation de 24 h ; du lait préparé ( **Annexe01** ) 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. 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 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).

# *Chapitre II : Résultats et Discussion*

## 1-Resultats d'étude des caractères morphologiques :


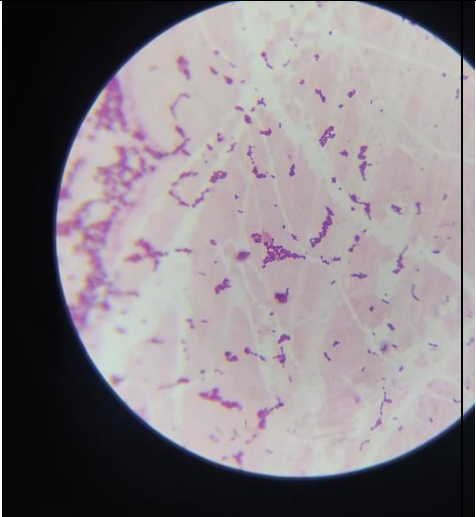
### 1.1- Caractérisation macroscopique :

Après une revivification des deux souches. L'étape de purification qui a été suivie et réalisée a permis de décrire les colonies des souches visibles obtenues sur milieu solide MRS .On a observé sur milieu solide des colonies de tailles variables (environ 1,5 à 6 µm) de diamètre, en coques avec différentes tailles et avec une couleur blanchâtre et une surface lisse. (**Tableau 04**).

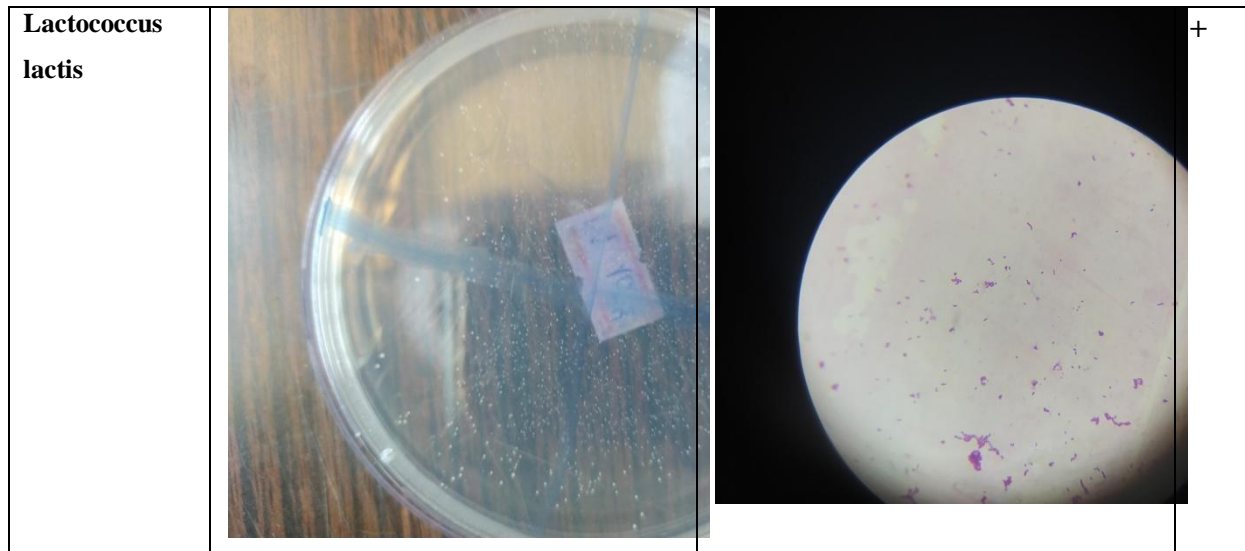
### Caractérisation microscopique:

coloration en violet donc , elles sont les deux à Gram positives (**tableau 04** )

**Tableau 04:** Caractère des souches de *Lc. lactis* et *St. thermophilus* .

Caractères/ Souches	Aspect des colonies sur gélose	Observation microscopique	Gram
<b>Streptococcus thermophilus</b>			+





### Test de production de catalase:

Le test de catalase a donné un résultat négatif confirmant l'appartenance de ces souches aux bactéries lactiques cela concorde avec les résultats de (Badis *et al.* , 2005.)

## 2. Etude de quelques aptitudes technologiques des bactéries lactiques:

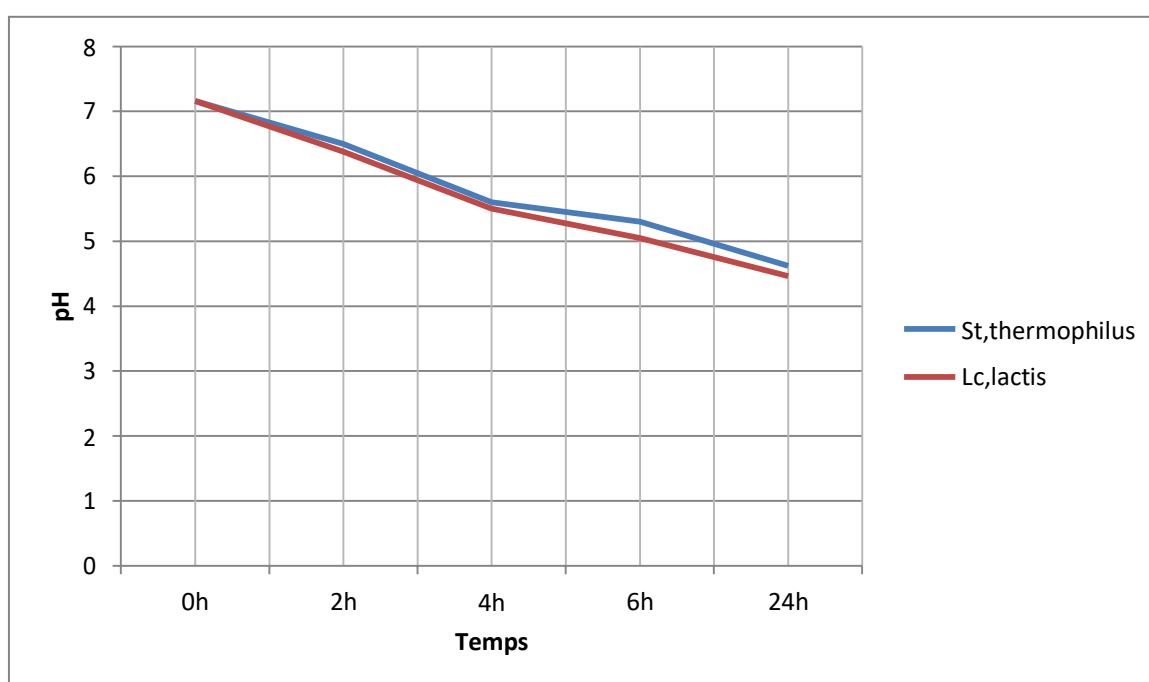
### La cinétique d'acidification des bactéries lactiques

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 études de **Badis *et al.*(2005) ; Dahou *et al.*,2021.**

Les bactéries lactiques sont connues par leurs pouvoir acidifiant , les résultats obtenus sont présentés dans **les tableaux (05)/(06)**, et l'évolution du PH et l'acidité sont résumé sur **les figures (03)/(04)**.

**Tableau 05 :** Cinétique de l'évolution du pH des souches de *Streptococcus thermophilus* et *Lc lactis*.

Temps(h) / Souches	0 h	2h	4h	6h	24h
<i>St.thermophilus</i>	7,16	6,50	5,60	5,30	4,62
<i>Lc.lactis</i>	7,16	6,38	5,50	5,05	4,46



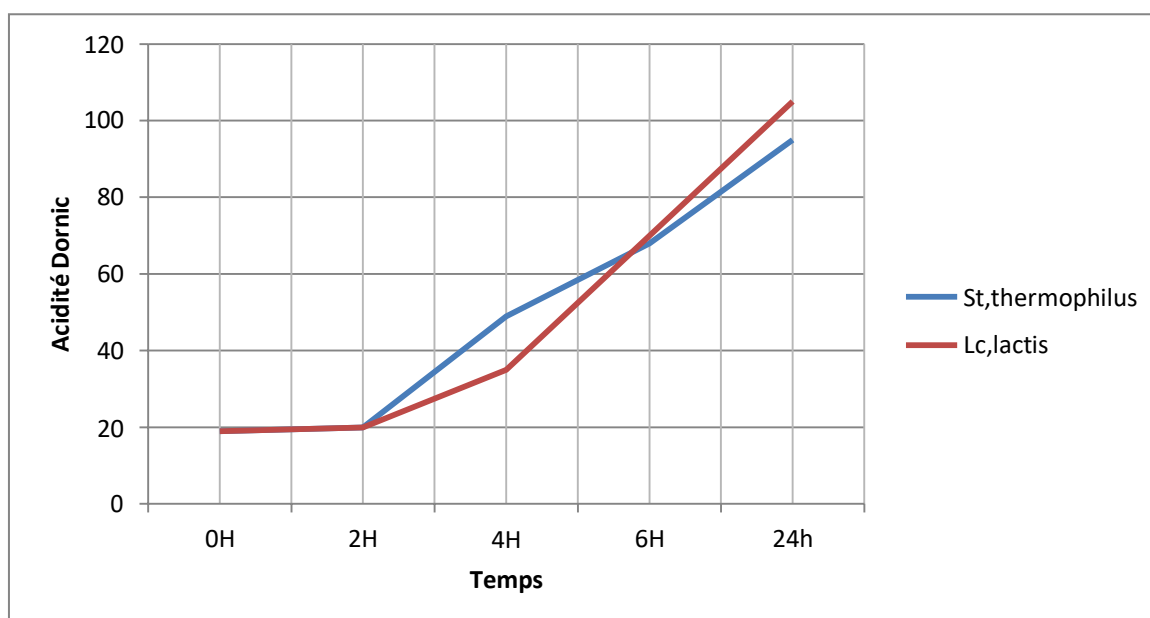
**Figure(03):** Evolution du pH en fonction du temps des souches de *Lc. Lactis* et *St.thermophilus* .

Après 2 heures d'incubation, les valeurs du pH des souches de *Lc lactis* et *St thermophilus* sont de l'ordre 6,50 à 6,38 respectivement ; après 6 heures d'incubation les valeurs sont nettement différentes, elles diminuent jusqu'à 5,30- 5,05 respectivement. Au bout de 24heures d'incubation, ces valeurs du pH diminuent jusqu'à 4,62 et 4,46 respectivement.

On note que le pH du laitensemencé avec *St thermophilus* diminue plus vite que celui de *Lc lactis*.

**Tableau (06) :** Cinétique de l'évolution de l'acidité Dornic (°D) des souches de *Lc lactis* et *St thermophilus*.

Temps(h) / souches	0h	2h	4h	6h	24h
<i>Str .thermophilus</i>	19°D	20°D	49°D	68°D	95
<i>Lc lactis</i>	19°D	20°D	35°D	70°D	105



**Figure (04):** Evolution de l'acidité Dornic en fonction du temps des souches de *Lc.lactis* et *St thermophilus*.

Les valeurs portées sur le **tableau(06)** représentent la quantité de l'acide lactique produit par les souches; La souches *Lc lactis* produit la quantité la plus élevée d'acide lactique en 24 heures .

On note que *Lc lactis* produit une quantité d'acide lactique la plus élevée par rapport à *St. thermophilus* .

- Au cours de cette étude et d'après les résultats obtenus, nous remarquons une diminution progressive du pH en fonction du temps, accompagnée d'une augmentation plus élevée de l'acidité Dornic. Cette activité acidifiante est variable d'une souche à l'autre.

Généralement, les souches étudiées ont montré un pouvoir acidifiant remarquable, mais on note que *Lc lactis* est une souche très acidifiante, cette acidité produite stimule la coagulation du lait et même, elle joue un rôle important dans la conservation des nombreux aliments.

### **Pouvoir aromatisant par la production d'acétoïne**

La production de composés d'arômes par les souches étudiées est une fonctionnalité technologique importante lors de l'élaboration des produits laitiers fermentés.

Nos espèces étudiées n'arrivent pas à produire des arômes (acétoïne) par la non formation de l'anneau rouge caractéristique.

Certaines études établies par Leroy et DeVuyst, (2004) et Raynaud et *al.*, (2016), ont montré que l' $\alpha$ -acétolactate est un composé instable (responsable de l'anneau rouge caractéristique), il peut se transformer spontanément en diacétyle. Dans notre étude les 02 souches testées n'ont pas développé d'anneau de présence d'acétoïne par la transformation de l' $\alpha$ -acétolactate en diacétyle. Cette dernière est l'une des molécules aromatiques du catabolisme des acides aminés (acide aspartique), elle peut avoir comme origine la dégradation totale ou partielle de l'acide citrique pendant la fermentation lactique.

Les bactéries lactiques qui métabolisent le citrate jouent un rôle important dans de nombreux procédés laitiers car, chez ces bactéries, le métabolisme du citrate et du lactose entraîne la production de diacétyle, d'acétoïne et de CO<sub>2</sub>, participant aux qualités aromatiques et texturales des laits fermentés et des fromages (Raynaud et *al.*, 2016).

### **Coagulation lactique :**

Les résultats de ce test qui sont résumés dans la **figure (04)** ont montrés que la souche *Lc. lactis* donne le grand volume de lactosérum et présente un aspect coagulant et une odeur appréciable, et le flacon de *St thermophilus* présente une faible production de lactosérum.

*Lc lactis* présente une bonne coagulation du lait avec un aspect ferme et non friable, cette souche est appropriée pour servir comme un ferment lactique en technologie fromagère et des

produits fermentés (production de fromage, yaourt...etc.), comme il est rapporté par Martely (1983). qui a constaté que la sélection et l'utilisation des ferments lactiques sont basées sur leurs propriétés acidifiantes.

La fonction principale de ces bactéries est de dégrader le lactose pour produire de l'acide lactique. Ce dernier est libéré lors de la croissance des microorganismes et neutralise progressivement les charges électronégatives des caséines  $\kappa$  (Kappa). La répulsion électrostatique entre les micelles de caséine diminue au fur et à mesure de l'enrichissement du milieu en ions  $H^+$ , puis disparaît provoquant ainsi un rapprochement et une agrégation des micelles de caséine (Walstra, 1990).

# *Conclusion*

## CONCLUSION GENERALE

---

Les bactéries lactiques sont parmi les bactéries à Gram-positif les plus étudiées, en particulier à cause de leur importance dans l'industrie agro-alimentaire, elles colonisent de nombreux produits alimentaires comme les produits laitiers, la viande, les végétaux, céréales...etc.

L'étude des aptitudes technologiques a montré que les deux souches possèdent un pouvoir acidifiant important avec un degré d'acidité qui se varie de 95°D à 102°D après 24 h d'incubation.

Les deux souches ont une bonne activité acidifiante dont les valeurs du pH varient entre 4,62 et 4,46.

La diminution du pH est due à la production d'acide lactique résultant de la fermentation du lactose.

Les souches ayant un profil d'acidification rapide se révèlent comme étant de bonnes candidates pour l'industrie des aliments fermentés, et pourront être utilisées comme cultures starters.

La souche de *Lactococcus lactis* est la plus performante en production d'acide lactique ; cette acidité produite stimule la coagulation du lait et en même temps la bioconservation du produit laitier fabriqué, ce lactocoque présente aussi un pouvoir protéolytique très important, une hydrolyse des caséines (par des protéases) ; ce qui contribue à l'aromatisation des produits laitiers et des fromages.

La souche de *Streptococcus thermophilus* est moins performante en production d'acide lactique et en activité protéolytique coagulante, cette dernière doit être utilisée en symbiose pour pouvoir obtenir les aptitudes technologiques escomptées en transformation laitière.

Les résultats obtenus dans cette étude, nous permettent de proposer ces principales perspectives :

- Etude des profils biotechnologiques, tels que l'activité acidifiante, aromatisante, et coagulante.
- Etude des cinétiques de croissance de *strp thermophilus* , *Lc lactis* qui peuvent être utilisés en industrie laitière.

# *Annexes*



### **Annexe 01** : Préparation du lait (LOYA)

Lait en poudre ..... 120 g

L'eau distilé .....870 ml

Chauffer l'eau a 35 C° sur une plaque chauffante

Ajouter 120 g de lait en poudre dans l'eau avec une agitation jusqu'à une température de 95 C° , après en laisse le lait refroidi .

### **Annexe 02** : Coloration de GRAM

#### **Mode opératoire**

A partir des boîtes de pétri: Vous recevez 2boîtes de pétri contenant 2 souches de bactéries différentes Lb lactis et Strp thermophilus, Observer l'aspect, la couleur et la forme des colonies.

- Déposer une goutte d'H<sub>2</sub>O sur la lame.
- Toucher une colonie à l'aide d'une pipette de pasteur stérile pour prélever des bactéries.
- Frotter la pointe dans la goutte d'eau.
- Laisser sécher à l'air.
  
- Passer 3 fois la lame dans la petite flamme du bec Bunsen pour fixer l'échantillon à la chaleur.

#### **Coloration :**

Déposer quelques gouttes de solution de violet de gentiane sur le frottis fixé.

- Laisser agir 1 minute. Le violet de gentiane colore le cytoplasme des bactéries.
- Jeter l'excès de colorant dans un bécher.
- Rincer très brièvement en faisant couler de l'H<sub>2</sub>O sur la lame au-dessus du frottis (pas• directement sur le frottis).

Déposer quelques gouttes de lugol sur le frottis. Le Lugol (composé iodé) est un mordant qui permet de fixer le violet dans les bactéries. Laisser agir 1 minute.

- Jeter la solution de Lugol dans un bécher .

Après quelque seconde ajouter l'alcool après une minute ,

- Rincer à l'H<sub>2</sub>O.
- Ajouter le fushine , pendant une minute rincer a l'eau et laisser sécher à l'air.
- • Observer au microscope (grossissement 400x ou, avec une goutte d'huile à immersion, au grossissement 1000x) .

### Annexe 03: Détermination de l'acidité Dornic

#### 1. Matériels :

- Burette graduée
- Bécher de 50ml
- Pipettes de 10ml

#### 2. Produits :

- Lait
- Solution d'Hydroxyde de Sodium N/9
- Phénolphtaléine à 1%

#### 3. Mode opératoire :

- Prendre 10 ml du lait dans un bécher de 50ml en présence 4 gouttes de phénolphtaléine
- Le titrage est effectué par la solution NaOH à N/9 jusqu'à virage de la couleur rose pale.
- Effectuer des répétitions sur le même échantillon préparé.
- La valeur de l'acidité du lait est obtenue par la formule suivante :

$$A=10(V/V') (g/l)$$

Où :

A : Quantité d'acide lactique

V : Volume de la solution de NaOH utilisé

V' : Volume de l'échantillon

- La valeur en acidité titrable exprimée en degré dornic ( $D^\circ$ ), est donnée par l'expression suivante :

$$1D^\circ=0,1\text{ml de NaOH à N/9}$$

# *Références Bibliographiques*

### A

- **Amandine FESSARD.** Recherche de bactéries lactiques autochtones capables de mener la fermentation de fruits tropicaux avec une augmentation de l'activité antioxydante.thèse.de27Novembre2017.23-24p ).
- **AMATAYAKUL T., HALMOS A.L., SHERKAT F. and SHAH N.P., 2006.** Physical characteristics of yoghurts made using exopolysaccharide-producing starter cultures and varying casein to whey protein ratios. International Dairy Journal. Vol. 16, 40-51..
- Alexandre, H., Grandvalet, C., Guillouxs-Bénatier, M., Remize-Barnavon, F. et Tourdot-Marechal, R. 2008. Les bactéries lactiques en œnologie. Lavoisier. p 9.
- **Antoine JM. 2011.** Current challenges for probiotics in food. In: Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects.CRC Press London, UK.220-221.

### B

- **BACUS, J.N. and BROWN, W.L. (1985b).** The pediococci: meat products. In: Bacterial Starter Cultures for foods. Gilliland S. E., 7, pp: 86-96. CRC Press Inc. Boca Baton. Florida.;
- **Badel, S., Bernardi, T. et Michaud, P. 2011.** New perspectives for lactobacilli exopolysaccharides. Biotechnology Advances 29(1): 54-66.
- **Badis A.,Laouabdia-Sellami N., Guetarni D., Kihal M.et Ouzrout R.2005.**caractérisation phénotypique des bacterues lactiques isol&es a partir de lait cru de chevre de deux poblulations capribes locales « Arabia et kabyle ». *Sci et technol.*23 :30-37

### C

- **CHAPMAN, H.R. and SHARPE, M.E. (1981).** Microbiology of cheese. In: Dairy Microbiology, Robinson R.K., Eds., Vol. 2, The microbiology of milk products, Applied Sciences Publishers LTD, London, pp: 157-243.;

**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 Roissart H, Torriani S, Curk M, Janssens D. 1994.** Caractéristiques générales des bactéries lactiques. In: *Bactéries lactiques, De Roissard H. and Luquet F. M. Loric: Uriage. 1: 25-116.*
- **DELLAGLIO, F., SARRA, P.G. and VESCOVO, M. (1981A).** DNA-DNA homology of *Pediococcus* strains isolated from some Italian cheeses. *Zentralbl. Bakteriologie, Mikrobiologie, Hygiene, 1. Abt. Origin. C2*, pp: 278-281.;
- **Dellaglio F. 1989.** Characteristics of thermophilic lactic acid bacteria. *Les laits fermentés. Actualité de la recherche*. pp. 11-18.
- **de ROISSART, H.B. et LUQUET, F.M. (1994).** Bactéries lactiques, I, II. Loric  
Chemin saint Georges, F-38410 France.
- **Desmazeaud, M. 1983.** l'état de connaissance en matière de nutrition des bactéries lactiques. *Le lait*. p 271, 286-290
- **Desmazeaud, M. 1992.** Les bactéries lactiques in Hernier, J., Lenoir, J. et Webert ,  
*Les groupes microbiens d'intérêt laitier*. Lavoisier. p 9-57.
- **DESMAZEAUD, M. (1996).** Les bactéries lactiques dans : *L'alimentation humaine : utilisation et innocuité*. Cahiers Agricultures, 5, pp: 331-343.

- **De Vos P. Garrity GM. Jones D. Krieg NR. Ludwig W. Rainey FA. Schleifer KH. Whitmanet WB. (2009).** Genus Lactobacillus, Bacillus and Listeria. In : « Bergey's manual of systematic bacteriology - The Firmicutes » Vol 3. Springer éd., New York. pp. 19-511..
- **DEVOYOD, J.J. et POUILLAIN F. (1988).** Les Leuconostocs propriétés : leur rôle en technologie laitière. Revue Le lait, 68 (3), pp: 249-280.
- **De Vuyst L. 2000.** Technology Aspects Related to the Application of Functional Starter Cultures. Food Technol. Biotechnol. 38(2):105.
- **Drider D et Préost H. (2009).** Bactérie lactique Physiologie Métabolisme Génomique et application industrielles. Edition : Economica. Paris. 320 - 324p.
- **Drouault S. et Cortheir G. (2001).** Effects des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés sur la santé. Veterinary Research, Bio Med Central. 32(2), 201-117.-;
  
- **DURLU-ÖZKAYA F., ASLIM B. and TAHA OZKAYA M., 2007.** Effect of exopolysaccharides (EPSs) produced by Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus strains to bacteriophage and nisin sensitivity of the bacteria. LWT -Food Science and Technology. Vol. 40, 564-568.

### F

- **Facklam R ..2002** What Happend to the streptococci : Overview o taxonomic and nomenclature changes , *Clinical Microbiology Reviews* .15m613-630.
- **Farrow, J.A.E., Collins, M.D., 1984.** DNA Base Composition, DNA-DNA Homology and Longchain Fatty Acid Studies on Streptococcus thermophilus and Streptococcus salivarius. Journal of General Microbiology. 130(2), 357 -362.
- **Foucaud, C., Francois, A., et Richard, J. 1997.** Development of a chemically defined medium for the growth of Leuconostoc mesenteroides. Applied and Environmental Microbiology, 63(1), 301-304.

### G

- **Guiraud, J,P, Microbiologie Alimentaire. Tec et Doc ,Dunod. Paris ,2003.**

## H

- **Hikmate A, Benour N, Antonio C, Caballero N, Miguel AFF,Prévez-Pulido R, Galvez A. (2012).** Characterization of lactic bacteria from naturally fermented Manzanilla Alorena green table olives. *Food Microbiology*. 32, 308-316.

## J

- **JONES, D. (1978).** Composition and differentiation of genus *Streptococcus*. In: *Streptococci*. Skinner, F. A., Quesnel, L.B., Eds. Academic Press, London, pp: 1-49.
- **Jozala, A.F., de Lencastre Novaes, L.C., Cholewa, O., Moraes, D., et Penna, T.C.V., 2005.** Increase of nisin production by *Lactococcus lactis* in different media. *Afr. J. Biotechnol.* P. 4-3, pp: 262- 265.
- **J. P. Accolas and J. Auclair., 1983.** Thermophilic Lactic Starters. *Irish Journal of Food Science and Technology* .p27.

## L

- **Labaoui H, Elmoualdi L, El yahiaoui M et Ouhssine M. (2005).** Sélection de souches des bactéries lactiques antibacterienne. *Bal doc Dparm. Bordeaux*, 144, 237-250.
- **Leroy, F. et De Vuyst, L. 2004.** Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentationIndustry. *Trends in Food Science & Technology* 15: 67–78.
- **Lopez Liliana Kleine,2008.** Détermination du rôle de certaine peptidase Bactériennes par inférence a partir de donnes hétérogène et incomplètes. Thèse De Doctorat, L'Institut Des Sciences Et Industries Du Vivant Et De l'Environnement(Agro Paris Tech).
- **Looijesteijn, P et al. (2001).** *International journal of Food microbiology*, 64:2147-2151.



- **Ludwig W. Schleifer K-H et Whitman X B. (2009).** Order: Lactobacillale. In: Devos P, Garrity G M, Jones D, Krieg NR, Ludwig W, Rainey F A, Schleifer K-H et Whitman W B.(2009). *Bergey's manual of Systematic bacteriology*, second Edition Volume Three: The Firmicutes. Springer Dordrecht Heidelberg London New York. 464p.

### M

- **Martley FG. (1983).** Temperature sensitivities of thermophilic starter strains. *New Zealand J. Dairy Sci. Technol.* 18, 191-196.,
- **Monnet, C., Latrille, E., Béal, C. et Corrieu, G. 2008.** Croissance et propriétés fonctionnelles des bactéries lactiques In Corrieu, G. et Luquet, F.M., *bactéries lactiques de la génétique aux ferments*. Tec & Doc, Lavoisier. p : 511, 593.

### P

- **Pot, B. 2008.** The taxonomy of lactic acid bacteria In Corrieu, G. et Luquet, F.M., *bactéries lactiques de la génétique aux ferments*. Tec & Doc, Lavoisier. p : 42.

### R

- **Raynaud S., Morge S., Pétrier M., Allut G., Barral J., Enjalbert V., Reynaud C., Michel A., 2016.** Caractérisation des conduites d'affinage à la ferme et étude des liens avec les paramètres d'ambiance des locaux et la qualité des fromages : Projet sur la qualité des fromages lactiques fermiers locaux. Rapport de fin d'étude sur la collection des résultats de l'institut d'élevage Idele France. 185p.
- **RUAS-MADIEDO P., ALTING A.C. and ZOON P., 2005.** Effect of exopolysaccharides and proteolytic activity of *Lactococcus lactis* subsp. *Cremoris* strains on the viscosity and structure of fermented milks. *International Dairy Journal*. Vol. 15, 155-164.
- **RUAS-MADIEDO P., HUGENHOLTZ J. and ZOON P., 2002.** An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*. Vol. 12, 163-171..

## S

- **SANDINE, W.E. (1988).** New nomenclature of the non-rod-shaped lactic acid bacteria. *Biochimie*, 70, pp: 519-522.
- **Salminen S. Wright. A. et Ouwerhand. A. (2004).** Lactic acid bacteria. Microbiological and Functional Aspect. Third Edition. Marcel Dekker
- **Schleifer K. H., Kraus J., Dvorak C., Kilpper-Balz R., Collins M. D. & Fischer W.,** "Transfer of *Streptococcus lactis* and related streptococci to the genus *Lactococcus* gen. nov.", *Systematic and applied microbiology*, 1985, 6 (2), 183-195.
- **Savijoki K, Ingmer H, Varmanen P. 2006.** Proteolytic systems of lactic acid bacteria. *Applied microbiology and biotechnology*, 71(4): 394-406..
- **Sherman J. M.,** "The Streptococci." *Bacteriol Rev*, 1937, 1 (1), 3-97.
  
- **Stiles, M.E. et Holzapfe, W.H. 1997.** Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy *International. Journal of Food Microbiology* 36: 1-29.
  
  
- **SUHIGARA, T.F. (1985).** The Lactobacilli and Streptococci: bakery products. In: *Bacterial Starter Cultures for Foods*. Gilliland S.E. Eds. CRC Press Boca Raton. Florida, 9, pp: 120-125.

## U

- **UCHIDA, K. (1982).** Multiplicity in soy pediococci carbohydrate fermentation and its application for analysis of their flora. *Journal of General and Applied Microbiology*, 28, pp: 215-223.;

## 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.

- **VILLAR, M., DE RUIZ HOLGADO, A., SANCHEZ, J.J., TRUCCO, R.E. and OLIVER, G. (1985).** Isolation and characterization of *Pediococcus halophilus* from salted anchovies (*Engraulis anchoita*). *Applied and Environmental Microbiology*, 49, pp: 664-666.
  
- **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.

### W

- **Walstra P,**Effect of chymosin on the hydrodynamic diameter of casein micelles.*Bioch. Biophys. Acta.* 990; 669: 258.
  
- **WELMAN A.D. and MADDOX I.S., 2003.** Exopolysaccharides from lactic acid bacteria, perspectives and challenges. *Trends in Biotechnology*. Vol. 21, 269-274
- Willy ,Joanne M , Linta Sherwood , Christopher J .Woolverton , and Lansing M . Prescott. Prescott,Harley , and Klein’s *Microbiology*.New York : McGraw-Hill Higher Education,2008.

### Z

- **Zhang, G., Mills, D.A. et Block, D.E. 2009.** Development of chemically defined media supporting high-cell-density growth of Lactococci, Enterococci, and Streptococci. *Applied and environmental microbiology* 75 (4): 1080–1087.

# **Table des matières**

**Remerciements**

**Dédicaces**

**Liste des abréviations**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Liste des annexes**

**Introduction.....14**

## **PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

### **Chapitre I : Bactéries lactiques**

I.1. Présentation des bactéries lactiques ..... 17

I. 2. Habitat et origine des bactéries lactiques..... 18

    Taxonomie des bactéries lactiques ..... 19

    Caractéristiques des principaux genres des bactéries lactiques ..... 19

Les exigences des bactéries lactiques en nutriments..... 21

### **Chapitre II : Rôle des bactéries lactiques**

    Rôle technologique ..... 28

    Rôle métabolique ..... 28

    Les bactéries mésophiles ..... 30

    Les bactéries thermophiles ..... 30

## **PARTIE PRATIQUE**

1-Lieu et objectif de l'étude.....33

2- Origine des souches lactiques utilisées.....33

## ***Table des matières***

---

3- Matériel et milieu de culture .....	33
<b>4. Méthodes</b> .....	<b>33</b>
Revivification des souches lactiques .....	33
Réalisation de la dilution pour le dénombrement et le contrôle de la viabilité des bactéries lactiques .....	34
4.3.-Etude de caractères morphologiques .....	34
Caractérisation macroscopique .....	34
Caractérisation microscopique .....	35
4.4. Test de production de catalase.....	35
4. 5. Etude de quelques aptitudes technologiques des bactéries lactiques .....	35
4.5.1. La cinétique d'acidification des bactéries lactiques.....	35
Le pouvoir aromatisant par la production d'acétoïne.....	36
Coagulation lactique.....	36
<b>RESULTATS ET DISCUSSION</b>	
1-Resultats d'étude des caractères morphologiques.....	39
2- Etude de quelques aptitudes technologiques des bactéries lactiques .....	40
<b>CONCLUSION</b> .....	<b>46</b>
<b>Annexes</b> .....	<b>48</b>
<b>Références Bibliographiques</b> .....	<b>52</b>

**ملخص ,Résumé, Abstract**

## ملخص

تعتبر بكتيريا اللاكتيك ذات أهمية كبيرة في صناعة الألبان والأغذية. لها أهمية كبيرة في تخمير الألبان. في صناعة الألبان ، تكون بكتيريا حمض اللاكتيك هي أصل عمليات التحول التي تعمل على الحفاظ على الحليب وإنتاج المنتجات المشتقة. دراستنا هي جزء من تحديد القدرات التكنولوجية لبكتيريا حمض اللاكتيك الأصلية المعزولة من المنتجات المحلية الجزائرية والمستعادة من سلالة المختبر. كانت التجربة التي أجريت لغرض محدد. إنعاش وتحديد نشاط التخمير لسلاسلتين محليتين من بكتيريا حمض اللاكتيك وهما *Lactococcus lactis* و *Streptococcus thermophilus*. تشير النتائج التي تم الحصول عليها إلى أن سلالة *Lactococcus lactis* هي الأكثر كفاءة في إنتاج حمض اللاكتيك. هذه الحموضة الناتجة تحفز التخثر اللبني للحليب وفي نفس الوقت الحفظ البيولوجي لمنتج الحليب المصنوع "خثارة الجبن" علاوة على ذلك يكشف عن كفاءات تكنولوجية جيدة تضمن الأداء في معالجة صناعة الألبان والأغذية المخمرة. الكلمات المفتاحية: بكتيريا حمض اللاكتيك ، *Lactococcus lactis* ، *Streptococcus thermophilus* ، نشاط التخمير ، تخثر اللاكتيك.

## Résumé :

Les bactéries lactiques présentent un grand intérêt en industrie laitière et alimentaire. Elles sont d'une grande importance dans la fermentation laitière. En industrie laitière, les bactéries lactiques sont à l'origine des processus de transformation conditionnant la conservation du lait et la production de produits dérivés. Notre étude s'inscrit dans le cadre de la détermination des aptitudes technologiques des bactéries lactiques autochtones isolées des produits du terroir algérien et récupérées du souchier du laboratoire. L'expérimentation réalisée a été dans un but déterminé ; la revivification et la détermination de l'activité acidifiante de deux souches autochtones de bactéries lactiques qui sont *Lactococcus lactis* et *Streptococcus thermophilus*. Les résultats obtenus indiquent que la souche *Lactococcus lactis* est la plus performante en production d'acide lactique ; cette acidité produite stimule la coagulation lactique du lait et en même temps la bioconservation du produit laitier fabriqué « le caillé fromager » de plus celle-ci révèle des bonnes aptitudes technologiques assurant des performances à la transformation pour l'industrie laitière et celle des aliments fermentés.

**Mots clés :** Bactéries lactiques, *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, activité acidifiante, coagulation lactique.

**Abstract :**

Lactic acid bacteria are of great interest in the dairy and food industry. They are of great importance in dairy fermentation. In the dairy industry, lactic acid bacteria are at the origin of the transformation processes conditioning the conservation of milk and the production of derived products. Our study is part of the determination of technological capabilities of indigenous lactic bacteria isolated from products of the Algerian soil and recovered from the laboratory strain. The experimentation carried out was in a determined goal; the revival and the determination of the acidifying activity of two autochthonous strains of lactic bacteria which are *Lactococcus lactis* and *Streptococcus thermophilus*. The results obtained indicate that the strain *Lactococcus lactis* is the most efficient in the production of lactic acid; this acidity produced stimulates the lactic coagulation of milk and at the same time the bioconservation of the manufactured dairy product "cheese curd". Moreover, this strain reveals good technological aptitudes assuring performances in the transformation for the dairy industry and that of the fermented foods.

Key words: Lactic bacteria, *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, acidifying activity, lactic coagulation.