

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:

Ali MEFLAH

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN SCIENCES ALIMENTAIRES

Spécialité: Production et transformation laitières

Thème

**Effet du supplément de miel sur la Croissance et
la viabilité des bactéries lactiques dans les laits fermentés**

La date de dépôt 25/10/2022

Devant les membres du jury

Président	F. TAHLAITI	M.C.A	U.Mostaganem
Examineur	A.E.A. DAHOU	M.C.A	U.Mostaganem
Directrice de mémoire	M.HOMRANI	M.C.B	U.Mostaganem

Travail réalisé au Laboratoire des Sciences et Techniques de Productions Animales

Année universitaire 2021-2022



REMERCIEMENTS

Avant tout je remercie ALLAH le tout puissant, de m'avoir donné la force, le courage, la volonté et la patience pour terminer ce travail.

En second lieu, mes plus vifs remerciements vont à ma directrice de mémoire, Dr HOMRANI Mounia Pour son encadrement, son aide et ses orientations tout long de la réalisation de ce mémoire, Ainsi pour ses conseils judicieux, qui ont contribué à alimenter ma réflexion et surtout le temps qu'elle m'a consacré.

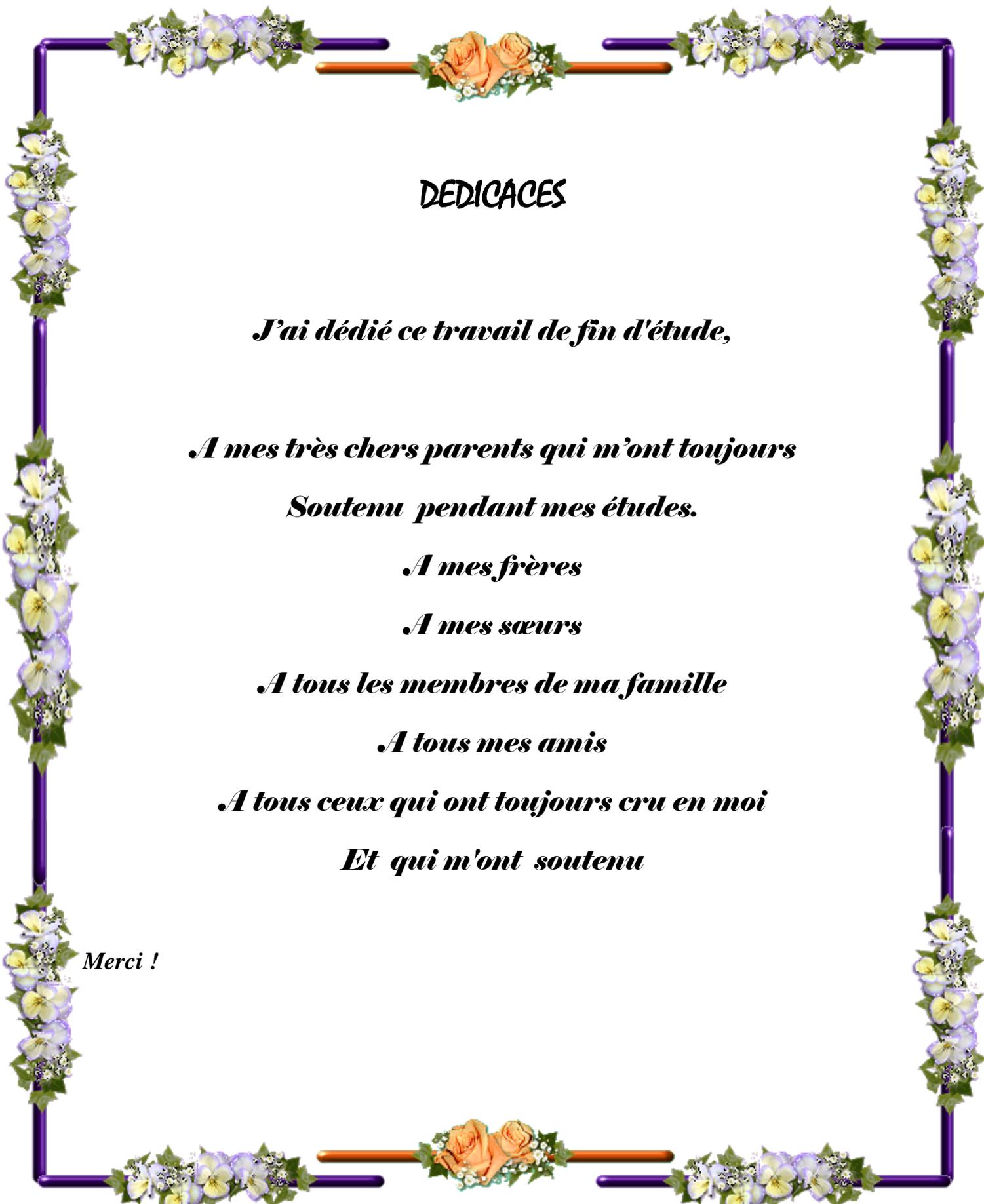
Je tiens également à remercier profondément Dr. TAHLAITI Hafida ET

Dr. DAHOU Abdelkader El-Amine d'avoir accepté de juger ce travail.

Un remerciement très particulier à notre ingénieur de laboratoire BENHARRATE Noureddine pour son Soutien et son infinie gentillesse.

Je remercie mes très chers parents, qui ont toujours été là pour moi. Leurs prières, encouragement et leurs soutiens inconditionnels ont été d'une grande importance

Enfin, à tous ceux qui m'ont donné la force pour réaliser ce travail, je présente mes remerciements, mon respect et ma gratitude.



DEDICACES

J'ai dédié ce travail de fin d'étude,

A mes très chers parents qui m'ont toujours

Soutenu pendant mes études.

A mes frères

A mes sœurs

A tous les membres de ma famille

A tous mes amis

A tous ceux qui ont toujours cru en moi

Et qui m'ont soutenu

Merci !

Résumé

L'objectif de notre étude était d'évaluer l'influence du miel sur les souches lactiques. Par ailleurs, nous avons fait des essais de fabrication de différents variant de laits fermentés à base de miel.

Pour commencer nous avons évalué l'influence de l'ajout de miel à différentes concentration (1%, 5% et 10%) dans le lait sur la croissance, l'activité acidifiante d'une monoculture de souche probiotique « *Lactobacillus plantarum* ». Nous avons ensuite préparé 3 types de levains pour la fabrication de différents variant de lait fermentés fonctionnels enrichi de miel. Et enfin nous avons évalué l'influence du miel sur la viabilité de certaines souches lactiques après fermentation.

L'ajout du miel aux différentes concentrations dans le lait écrémé a entraîné une augmentation de l'acidité de ce dernier et a permis de stimuler la croissance et le pouvoir acidifiant de la souche *Lactobacillus plantarum* au cours la fermentation, tandis qu'il a exercé un rôle protecteur durant l'entreposage en diminuant la vitesse d'acidification. Cependant Le lait additionné de 5% de miel a montré les meilleurs résultats. Nous avons obtenu quatre variant de laits fermentés (un yaourt nature sans miel, un yaourt additionné de miel, un lait fermenté additionné de miel fabriqué à partir d'un levain composé de 2% *Streptococcus thermophilus* et 1% *Lactobacillus plantarum* et enfin, un lait fermenté additionné de miel et fabriqué à partir d'un levain composé de 5% *Lactobacillus plantarum*. Le miel n'a pas influencé négativement sur l'aspect du yaourt. Le miel à permis d'augmenter le taux de viabilité des souches lactiques dans les différents échantillons de laits fermentés.

En conclusion, nous pouvons dire que le miel présente des effets prébiotiques sur les bactéries lactiques lorsqu'il est ajouté dans le lait à des concentrations appropriées, de plus il ne modifie pas l'aspect du produit fini lors de la fermentation ce qui en fait un excellent ingrédient d'intérêt pour l'industrie laitière.

Mots clés : Miel, bactéries lactiques, probiotique, prébiotique, viabilité, pouvoir acidifiant, croissance.

Abstract

The objective of our study was to evaluate the influence of honey on lactic strains. In addition, we have tested the production of different variants of fermented milk based on honey.

To begin with, we evaluated the influence of adding honey at different concentrations (1%, 5% and 10%) to milk on growth, the acidifying activity of a monoculture of the probiotic strain "*Lactobacillusplantarum*". We then prepared 3 types of sourdough for the production of different variants of functional fermented milk enriched with honey. And finally we evaluated the influence of honey on the viability of certain lactic strains after fermentation.

The addition of honey at different concentrations in skimmed milk led to an increase in the acidity of the latter and made it possible to stimulate the growth and the acidifying power of the *Lactobacillusplantarum* strain during fermentation, while it exerted a protective role during storage by reducing the rate of acidification. However Milk with 5% honey added showed the best results. We obtained four variants of fermented milks (a natural yoghurt without honey, a yoghurt with added honey, a fermented milk with added honey made from a leaven composed of 2% *Streptococcusthermophilus* and 1% *Lactobacillusplantarum* and finally, a milk fermented with added honey and made from a leaven composed of 5% *Lactobacillusplantarum*.The honey did not negatively influence the appearance of the yogurt.The honey allowed to increase the rate of viability of the lactic strains in the different samples of fermented milks.

In conclusion, we can say that honey has prebiotic effects on lactic acid bacteria when added to milk at appropriate concentrations, more over it does not change the appearance of the finished product during fermentation, which makes it an excellent ingredient of interest to the dairy industry.

Keywords: Honey, lactic acid bacteria, probiotic, prebiotic, viability, acidifying power, growth.

ملخص

كان الهدف من دراستنا هو تقييم تأثير العسل على سلالات اللاكتيك. بالإضافة إلى ذلك ، اختبرنا إنتاج أنواع مختلفة من الحليب المخمر على أساس العسل.

بداية، قمنا بتقييم تأثير إضافة العسل بتركيزات مختلفة (1% ، 5% و 10%) إلى الحليب على النمو و النشاط الحمضي لمزرعة أحادية من سلالة الكائنات الحية المجهرية "*Lactobacillus plantarum*". ثم قمنا بإعداد 3 أنواع من الخميرة اللبنية لإنتاج أنواع مختلفة من الحليب المخمر وظيفيًا و المخصب بالعسل. وأخيراً قمنا بتقييم تأثير العسل على حيوية بعض سلالات اللاكتيك بعد التخمير.

أدت إضافة العسل بتركيزات مختلفة في الحليب الخالي من الدسم إلى زيادة حموضة هذا الأخير وجعل من الممكن تحفيز النمو و التخمير لسلالة *Lactobacillus plantarum* أثناء التخمير، في حين أنها تمارس دوراً وقائياً أثناء التخزين عن طريق التقليل من معدل التخمير. و كذلك، أظهر الحليب المضاف إليه العسل بنسبة 5% أفضل النتائج. حصلنا على أربعة أنواع مختلفة من الحليب المخمر (زبادي عادي بدون عسل ، زبادي مع عسل مضاف ، حليب مخمر مع عسل مضاف بواسطة خميرة مكونة من *Streptococcus thermophilus* 2% و *Lactobacillus plantarum* 1% وأخيراً حليب مخمر مضاف بالعسل ومصنوع من خميرة مكونة من 5% *Lactobacillus plantarum*. لم يؤثر العسل سلبيًا على مظهر الزبادي، فقد سمح بزيادة معدل حيوية سلالات اللاكتيك في عينات الحليب المخمر.

في الختام يمكننا القول أن العسل له تأثيرات حيوية على بكتيريا حمض اللاكتيك عند إضافته إلى الحليب بتركيزات مناسبة ، كما أنه لا يغير من مظهر المنتج النهائي أثناء التخمير مما يجعله مكوناً ممتازاً ومهما في صناعة الألبان

الكلمات المفتاحية: عسل ، بكتيريا حمض اللاكتيك ، بروبيوتيك ، بريبيوتك ، حيوية ، قدرة التخمير ، نمو

Abréviations, sigles et acronymes

%	Pourcentage
°C	Degré Celsius
AC	Acidité combinée
ALAT	Alanine Aminotransférase
ASAT	Aspartate Aminotransférase
AT	Acidité totale
°B	Degré baumé
BL	Bactérie Lactique
CARI	Le centre apicole de recherche et d'information
Cl	Chlore
Cm	Centimètre
Cu	Cuivre
D	Densité
DL50	Dose létale 50
DO	Densité optique
E	Extrait
<i>En</i>	<i>Enterococcus</i>
EPS	Exopolysaccharides
FAO	Food and Agriculture Organization. (Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture)
FIL	Fédération Internationale de Lait
FOS	Fructo oligo-saccharides
g/l	gramme par litre.
H	Heure
Kg	Kilogramme
<i>Lb</i>	<i>Lactobacillus</i>
<i>Lc</i>	<i>Lactococcus</i>
<i>Ln</i>	<i>Leuconostoc</i>
MRS	Milieu de Man Rogosa et Shap
<i>O</i>	<i>Oenococcus</i>
OMS	Organisation Mondiale de la santé
p/v	poids par volume
pH	Potentiel Hydrogène.
Ssp	sous espèce
<i>St</i>	<i>Streptococcus</i>
UFC	Unité Formant colonie

Liste des figures

Figure 1	<i>Lb Plantarum</i> observé par microscope électronique à transmission.	28
Figure 2	Observation microscopique de <i>Enterococcus Faecium</i> .	28
Figure 3	<i>Streptococcus thermophilus</i> .	29
Figure 4	Observation au microscope électronique des <i>Bifidobacterium sp</i> .	29
Figure 5	Observation microscopique de deux bactéries du yaourt <i>St. thermophilus</i> et <i>Lb. Bulgaricus</i> .	37
Figure 6	Diagramme simplifié de fabrication du yaourt.	40
Figure 7	Résultat de la mesure de l'indice de réfraction du miel.	45
Figure 8	Observation macroscopique des colonies de <i>Lactobacillus plantarum</i> sur milieu MRS.	46
Figure 9	Observation macroscopique des <i>Lactobacillus plantarum</i> dans le milieu MRS liquide.	46
Figure 10	Observation microscopique de <i>Lactobacillus plantarum</i> après coloration de Gram (x1000).	47
Figure 11	Evolution du pH des laits supplémentés de miel au cours de la fermentation par la souche <i>Lactobacillus plantarum</i> .	48
Figure 12	Evolution de L'acidité dornic des laits supplémentés de miel au cours de la fermentation par la souche <i>Lactobacillus plantarum</i> .	48
Figure 13	La croissance de <i>Lactobacillus plantarum</i> dans le lait écrémé reconstitué et additionné de miel au cours de la fermentation.	50
Figure 14	Evolution de la cinétique de croissance de <i>Lactobacillus plantarum</i> dans le lait écrémé fermenté seule et additionnée du miel à 4°C.	51
Figure 15	Evolution du pH dans le lait fermenté seul et additionné du miel au cours du l'entreposage à 4%.	52

Figure 16	Evolution de la cinétique de croissance des souches lactiques pendant une semaine dans le yaourt seul et conditionné de miel au cours de conservation.	54
Figure 17	Yaourt nature (sans miel).	55
Figure 18	Yaourt additionné de miel.	55
Figure 19	Lait fermenté par 5% <i>Lb.</i>	55
Figure 20	Lait fermenté par 2% <i>St</i> + 1% <i>Lb. plantarum</i>	55

Liste des tableaux

Tableau 1	Composition moyenne des miels européens (Rigal, 2012)	19
Tableau 2	pH et température optimale de croissance pour quelques genres des bactéries lactiques.	26
Tableau 3	Fiche de renseignement du miel d'abeille étudié	37
Tableau 4	les essais de préparation du yaourt et leurs contenus	43
Tableau 5	Résultat de l'analyse physico-chimique (pH, Teneur en eau)	45
Tableau 6	Résultats de la pré-identification de la souche <i>Lactobacillus plantarus</i>	47
Tableau 7	Evolution du pH –Acidité dans le milieu « lait supplémenté de miel » en fonction du temps d'incubation	48
Tableau 8	Comparaison de l'aspect des échantillons de différentes variantes de laits fermentés	53

Table des matières

Résumé	I
ملخص.....	II
Abstract	III
Liste des abréviations.....	IV
Liste des figures.....	V
Liste des tableaux.....	VI
Introduction générale.....	12

PARTIE THEORIQUE

CHAPITRE I: Généralités sur Le miel

I.1. Généralités sur le miel	15
I.1.1. Définition	15
I.1.2. Elaboration du miel	15
I.1.2.1. Rôle des abeilles	15
I.1.2.2. Rôle de l'apiculteur.....	16
I.1.3. Différents Types de miel	17
I.1.3.1. Miels issus du nectar	17
I.1.3.1.1. Les miels mono-floraux	17
I.1.3.1.2. Les miels multi-floraux « toutes fleurs »	17
I.1.3.2. Les miels issus du miellat	18
I.1.4. Composition chimique du miel	18
I.2. Propriété Physico-chimique de miel.....	19
I.2.1. Densité	19
I.2.2. Couleur	20
I.2.3. Viscosité	20
I.2.4. Activité de l'eau	20
I.2.5. pH.....	20
I.2.6. Abaissement du point de congélation.....	20
I.2.7. Conductivité électrique	20
I.2.8. Indice de réfraction.....	20
I.2.9. Hygroscopicité	20

I.2.10. Le pouvoir rotatoire	21
I.2.11. Turbidité.....	21
I.2.12. La solubilité.....	21
I.3. Propriété Nutritionnelles	21
I.4. Propriétés antibactériennes du miel.....	22
I.5. Effets prébiotiques du Miel.....	22

CHAPITRE II: Les bactéries lactiques

II.1. Définition des bactéries lactiques.....	25
II.2. Origine et Habitat des bactéries lactiques.....	25
II.3. Propriétés Générales des bactéries lactiques.....	25
II.3.1. La morphologie.....	25
II.3.2. La physiologie.....	25
II.3.2.1. Le type respiratoire.....	25
II.3.2.2. Mobilité.....	26
II.3.2.3. Température de croissance.....	26
II.3.2.4. Le pH.....	26
II.4. Classification phylogénique.....	26
II.5. Les différents Genres de bactéries lactiques.....	27
II.5.1. Le genre <i>Lactobacillus</i>	27
II.5.2. Le genre <i>Pediococcus</i>	28
II.5.3. Le genre <i>Enterococcus</i>	28
II.5.4. Le genre <i>Streptococcus</i>	29
II.5.6. Le genre <i>Bifidobacterium</i>	29
II.6. Rôle des bactéries lactiques.....	30
II.7. Viabilité des Bactéries Lactiques.....	31
II.7.1. Effets du Procédé Technologique sur La Viabilité.....	31
II.7.2. Méthodes d'Amélioration de la Viabilité des Bactéries Probiotiques.....	31
II.7.2.1. Sélection des Souches :.....	31
II.7.2.2. Taux d'Inoculation :.....	31
II.7.2.3. Utilisation des Pièges à Oxygène :.....	32
II.7.2.4. Ajout de prébiotiques :.....	32

Chapitre III: Généralités sur les laits fermentés

III.1. Définition des laits fermentés.....	34
--	----

III.2. Les Yaourts.....	34
III.2.1. Définition	34
III.2.2.1. Selon la technologie	35
III.2.2.1.1. Yaourt étuvé :	35
III.2.2.1.2. Yaourt brassé	35
III.2.2.1.3. Le yaourt à boire :	35
III.2.2.1.4. Le yaourt glacé :	35
III.2.2.2. Selon la teneur en matière grasse (Gosta, 1995) :	35
III.2.2.2.1. yaourt entier : 3% de matière grasse en poids.....	35
III.2.2.2.2. yaourt partiellement écrémé : moins de 3% et plus de 0.5% de matière grasse.	35
III.2.2.2.3. yaourt écrémé : au maximum 0.5% de matière grasse.	35
III.2.2.3. Selon les ingrédients additionnés (additifs) :	36
III.2.2.3.1. Yaourt nature :	36
III.2.2.3.2. Yaourt aromatisé :	36
III.2.2.3.3. Yaourt fruité :	36
III.2.2.3.4. Yaourt light :	36
III.2.3.1 Caractéristiques générales des bactéries du yaourt.....	36
III.2.3.1.1. <i>Streptococcus thermophilus</i>	36
III.2.3.1.2. <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	37
III.2.3.2. Le comportement associatif des deux souches	37
III.2.3.3. Intérêt et fonction des bactéries lactiques	38
III.2.3.3.1. Production d'acides lactique	38
III.2.3.3.2. Activité aromatique	38
III.2.3.3.3. Activité texturant.....	38
III.2.3.3.4. Activité protéolytique	38
III.2.3.3.5. Effet probiotique	38

Partie expérimental

CHAPITRE I: Matériel et méthode

I.1.Lieu et durée de travail.....	43
I.2. Objectif.....	43
I.3. Matériel et produits chimiques.....	43
I.3.1. Matériel non biologique.....	43
I.3.2. Matériel biologique	43

I.3.2.1. Le miel	43
I.3.2.2. Les souches lactiques	43
I.3.2.3. Milieu de culture	44
I.4.1. Analyses physicochimiques du miel	44
I.4.1.1. Taux d'humidité(Bogdanov, 2002).	44
I.4.1.2. Détermination du pH (Codex Alimentaire, 2001).	44
I.4.2. Revivification de la souche « <i>Lactobacillus plantarum</i> » étudiée	45
I.4.3. Confirmation de l'appartenance de la souche au genre <i>Lactobacillus</i>	45
I.4.3.1. Caractéristique macroscopique :	45
I.4.3.2. Caractéristique microscopique :	45
I.4.3.3. Test de la production de la catalase :	45
I.4.4. Effet de l'ajout du miel dans le lait écrémé sur la croissance et la viabilité de la souche <i>Lactobacillus plantarum</i>	46
I.4.4.1. Préparation des milieux « lait enrichi de miel »	46
I.4.4.2. Suivi de l'acidification du milieu lait écrémé reconstitué à 12,5% enrichi de miel par la souche <i>Lactobacillus plantarum</i>	46
I.4.4.3. Suivi de la croissance de la souche <i>Lactobacillus plantarum</i> dans le lait écrémé reconstitué additionné de miel.	47
I.4.4.4. Suivi de la post-acidification du lait fermenté par <i>Lactobacillus plantarum</i> entreposé à 4°C	47
I.4.4.5. Détermination de la survie de la souche <i>Lactobacillus plantarum</i> dans le lait fermenté entreposé à 4°C	47
I.4.5. Fabrication des laits fermentés et de yaourts	48
I.4.5.1. Préparation des levains	48
I.4.5.2. Préparation de lait enrichi de miel	48
I.4.5.3. Ensemencement	48
I.4.5.4. Incubation	49
I.4.5.5. Refroidissement rapide	49
I.4.5.6. Brassage	49
I.4.5.7. Conservation	49
I.4.6. Evolution de la survie des bactéries lactiques dans les différents essais de lait fermenté entreposé à 4°C	49

CHAPITRE II: Résultats et discussion

II.1. Analyse physico-chimique du Miel (pH, teneur en eau)	51
--	----

II.2. Examen macroscopique	52
II.3. Examen microscopique.....	53
II.4. Test de production de catalase	53
II.3. Effet de l'ajout du miel dans le lait écrémé sur l'activité acidifiante de la souche <i>Lactobacillus plantarum</i>	54
II .4. Effet du miel sur la cinétique de croissance de <i>Lactobacillus palantarum</i> au cours de la fermentation.....	56
II.5. Evolution de la survie de <i>Lactobacillus plantarum</i> dans le lait fermenté entreposé à 4°C	57
II.6. Effet du miel sur l'activité post-acidifiante des laits fermentés par <i>Lactobacillus plantarum</i> pendant l'entreposage.	58
II.7. Expérience de fabrication de différents types de laits fermentés.....	60
II.8. Evolution de la survie des bactéries lactiques dans les différents essais de lait fermenté entreposé à 4°C	60

Introduction

Depuis plusieurs années, un intérêt considérable s'est développé autour de l'utilisation des bactéries lactiques à effets bénéfiques pour la santé aussi appelées « probiotiques » pour des applications alimentaires, notamment dans les produits laitiers (yaourts, laits fermentés, fromages...etc) qui ont été choisis comme véhicules privilégiés pour ce type de microorganismes (Doleyres *et al.*, 2002). La majorité des bactéries probiotiques appartiennent aux genres *Bifidobacterium* et *Lactobacillus* (Prasad *et al.*, 1998; Rubio *et al.*, 2014).

Les probiotiques doivent être actifs, abondants et viables dans le produit fini à la date de durabilité minimale. Afin de stimuler et maintenir cette viabilité et croissance *in vivo*, des substances, communément appelée « prébiotiques » sont ajoutées au lait ou les produits laitiers. La majorité des prébiotiques sont des oligosaccharides

Produit par abeilles à partir de nectar et/ou de miellat, le miel est une substance qui a constitué pendant des millénaires en occident, la seule source abondante de matières sucrées dont on pouvait disposer (Canini *et al.*, 2005). En effet les glucides, constituent les composants majeurs de ce produit naturel. Il s'agit en grande partie des monosaccharides représentés par le glucose (31%) et le fructose (38%). D'autres hydrates de carbone ont également été identifiés dans le miel mais en faible quantité, notamment des disaccharides tel que le saccharose et maltose ainsi que les oligosaccharides (erlose, raffinose, mélézitose, isornaltose, nigérose, turanose, kojibiose, dextrantriose, mélibiose, etc..).

Le miel a très souvent été utilisé en industrie laitière uniquement pour optimiser la saveur des yaourts et des crèmes glacées. Cependant, certaines études ont rapporté que la croissance et la survie des bactéries lactiques dans le lait et dans le tractus gastro-intestinal étaient stimulées par la présence du miel d'abeille (Ustunol et Gandhi, 2001 ; H. Chick *et al.*, 2001). La composition très variée et plus particulièrement en glucides, suggère la possibilité d'utiliser cet édulcorant naturel comme prébiotique dans les produits laitiers.

Le présent travail porte sur étude de l'influence du miel à différentes concentrations sur la croissance et la viabilité des souches lactiques dans le milieu « lait écrémé ». Par ailleurs nous avons fait des essais de fabrication de produits laitiers de type fonctionnel à base de miel.

Première partie
Etude bibliographique

Chapitre I

Le miel

I.1. Généralités sur le miel

I.1.1. Définition

Selon le *Codex Alimentarius 1999* « le miel est une substance sucrée naturelle produite par les abeilles à partir du nectar des plantes ou à partir des sécrétions de parties vivantes de plantes, ou d'excrétions d'insectes qui sucent les parties vivantes des plantes et que les abeilles récoltent et transforment en les combinant à des substances spécifiques qu'elles produisent, déposent, déshydratent, et stockent et font mûrir dans les rayons à miel ».

I.1.2. Elaboration du miel

I.1.2.1. Rôle des abeilles

En réalité ce sont les abeilles qui fabriquent le miel. L'objectif n'étant pas de rendre service à l'homme mais plutôt de stocker leurs provisions pour l'hiver. L'élaboration du miel par les abeilles s'effectue en plusieurs étapes.

Tout d'abord, les abeilles butineuses aspirent le nectar des fleurs ou le miellat et les stockent dans leurs jabots. Une fois arrivées à la ruche, elles régurgitent la solution sucrée (Nectar/Miellat) prédigérée et la transfère aux abeilles ouvrières qui elles-mêmes vont la communiquer à d'autres et ainsi de suite. Grâce à ce phénomène appelé « trophalaxie » la teneur en eau s'abaisse en même temps que le liquide s'enrichit de sucres gastriques et de substances salivaires (invertase, diastase, et gluco-oxydase).

Par la suite la solution sucrée transformée (contenant 50% d'eau) va être stockée dans des alvéoles où elle sera déshumidifiée d'un côté par brassage à l'aide de leurs pièces buccales et d'un autre côté par ventilation avec les ailes des ouvrières ventileuses qui créent un courant d'air permettant l'évaporation de l'eau.

Une fois que le miel atteint une teneur en eau aux environs de 20%, il est alors operculé par les abeilles cirières, à l'aide d'une fine couche de cire imperméable à l'air. Ce processus permet à la colonie de disposer d'une réserve d'aliment hautement énergétique, stable, de longue conservation et peu sensible à la fermentation (Balas, 2015).

I.1.2.2. Rôle de l'apiculteur

Le travail de l'apiculteur est d'assurer au consommateur un miel de qualité en préservons ses caractéristiques et en respectant l'ensemble des bonnes pratiques apicoles. Les principales étapes de la production de miel par l'apiculteur sont les suivants :

I.1.2.2.1. Le dépôt des hausses en début de floraison

Une ruche est composée d'un toit, un couvre cadres, un corps, une hausse et un plancher. Le corps est la partie qui contient de hauts cadres dans lesquels les abeilles stockent du miel et du pollen et c'est aussi dans cette section que se trouve le couvain.

Lorsque la floraison commence l'apiculteur dépose la hausse remplie des cadres vides sur le corps de la ruche. La hausse qui est séparée du corps par une grille qui empêche la reine de venir y pondre est placée par l'apiculteur afin recevoir le surplus de miel.

I.1.2.2.2. La récolte

La récolte du miel peut se pratiquer dès la fin de la miellée lorsque les cadres des hausses sont remplis de miel et que les $\frac{3}{4}$ sont operculés (Hoyet, 2005). L'apiculteur ne prélève que le miel entreposé dans la hausse, celui du corps de la ruche y restera et servira de nourriture aux jeunes larves et permettra à la colonie de passer la mauvaise saison.

I.1.2.2.3. L'extraction

Il est important de faire l'extraction du miel rapidement après la récolte. La première étape de l'extraction est la désoperculation. L'apiculteur peut désoperculer les alvéoles des cadres par différents outils manuels et mécaniques (couteau à désoperculer, herse ou la machine caillas). La deuxième étape est la centrifugation, qui consiste à mettre les cadres dans un extracteur. Celui-ci est une sorte de centrifugeuse manuelle ou automatisée qui grâce à la force centrifuge fait sortir le miel des alvéoles. Il sera projeté sur les parois et se retrouvera au fond de la machine (Hoyet, 2005). La dernière étape est celle de la maturation et de la filtration. Le miel est alors, versé dans un maturateur qui est un récipient de décantation surmonté d'un filtre destiné à retenir les impuretés pouvant y être contenues (fragments de cire, bulles d'air, ...). Les impuretés remontent à la surface au bout de deux jours et sont donc éliminées. Le maturateur doit être placé dans un endroit propre et sec. Le miel peut enfin être récupéré et conditionné dans des pots. (Hoyet, 2005).

I.1.2.2.4. La mise en pot et la conservation

La conservation du miel a pour but de garder sa qualité, chose tout à fait possible pendant des années. Mais comme la plupart des denrées alimentaires, il peut subir des transformations au fil du temps, des modifications de ses caractéristiques physico-chimiques.

En général le miel doit être conservé dans un endroit sec et à l'abri de la lumière, à une température constante qui ne dépasse pas 20 degrés, Il se consomme idéalement dans les deux ans, s'il est liquide une température d'environ 25°C est souhaitable consommer rapidement, idéalement dans les 6 mois (Aitlounis, 2012).

Par ailleurs, Il doit garder une teneur en eau inférieur à 21% comme limite, mais seuls les miels dont l'humidité est inférieure à 18% se conservent correctement. Selon le *codex Alimentarius* la présence d'une quantité importante en eau favoriserait la prolifération de microorganismes qui produisent un effet de fermentation. (Hoyet, 2005).

I.1.3. Différents Types de miel

I.1.3.1. Miels issus du nectar

Le nectar est un liquide sucré, produit au niveau des nectaires. Ces Derniers sont situés soit sur les feuilles, appelés nectaires Extra floraux, ou bien sur les fleurs (sépalés, pétales, carpelles) et sont appelés nectaires floraux (karlvonfrisch, 2011). Pour recueillir un litre de nectar, on estime qu'il faut entre 20.000 et 100.000 voyages des abeilles (Gonnet, 1982 ; Donadieu, 1984). Il ya deux types de miels de nectar :

I.1.3.1.1. Les miels mono-floraux

Un miel dit monofloral est issu d'un nectar, collecté par les abeilles, en grande partie sur un végétal unique. Chaque miel monofloral présentent des caractéristiques palynologiques, physico-chimiques et organoleptiques spécifiques (Bogdanov, 2003). Les principaux miels mono-floraux que l'on trouve en Algérie sont ceux de l'eucalyptus, de jujubier, d'agrumes et de carottes sauvages (Homrani, 2020)

I.1.3.1.2. Les miels multi-floraux « toutes fleurs »

Ces Types de miels sont souvent classés suivant les lieux de récolte (miel de montagne, de forêt, etc.), ou encore suivant les saisons (miel de printemps ou d'été). (Donadieu.1984). Ils sont élaborés à partir du nectar provenant de plusieurs espèces végétales sans prédominance particulière et représentent la majorité de la production algérienne (Homrani, 2020).

I.1.3.2. Les miels issus du miellat

Le miellat est un produit plus complexe que le nectar, faisant intervenir un intermédiaire, généralement, des insectes de la famille des Homoptères tel que les pucerons, leurs pièces buccales sont disposées pour piquer et absorber les aliments liquides telle que la sève des végétaux et rejetant l'excédent de matières sucrées sous forme de gouttelettes, que les abeilles récupèrent sur les feuilles des plantes (Prost, 2005). Les principaux végétaux qui Hébergent généralement les pucerons sont les sapins, les Epicéas, les chênes ainsi que les plantes Herbacées comme les blés (Vache et Gonnet, 1985). Les miellats représentent une ressource alimentaire importante pour les abeilles Lorsqu'elles ne trouvent pas des fleurs à leur disposition (Clément, 2000 ; Pham-Délègue, 1999).

I.1.4. Composition chimique du miel

Plusieurs facteurs interviennent dans la composition chimique finale du miel tels que : la nature de la flore visitée et celle du sol sur lequel pousse ces plantes, les conditions météorologiques lors de la miellée, la race des abeilles, l'état physiologique (Guerriat, 2000 ; Makhloufi, 2010 ; Homrani, 2020). Il n'existe donc pas un miel mais des miels. En effet Plus de 200 substances ont été identifiées dans le miel (Raessi *et al.*, 2013) dont les principaux composant sont illustrés dans le **tableau1**.

Les hydrates de carbone constituent la partie la plus importante du miel. Il s'agit en grande partie de monosaccharides (glucose et fructose), du saccharose, du maltose, et d'autres sucres présents à l'état de traces (erlose, mélézitose, isornaltose, nigérose, turanose, maltulose). La présence de glucose et de fructose est le résultat de l'action d'une enzyme sur le saccharose : l'invertase. La présence des autres sucres semble dépendre des plantes qui ont été butinées.

La teneur en eau est en moyenne de 17 %, mais le miel étant un produit biologique ce chiffre peut fluctuer. Les abeilles ferment avec un opercule les alvéoles remplies de miel quand la teneur en eau avoisine les 18%. Il faut noter que certains miels de Bruyères peuvent contenir jusqu'à 22-25% d'eau.

Le miel contient également des composants mineurs notamment des acides l'acide gluconique l'acide acétique, l'acide citrique, l'acide lactique, l'acide malique, l'acide oxalique, l'acide butyrique, l'acide pyroglutamique et l'acide succinique, protéines et aminoacides (peptones, albumines, globulines proline, l'acide aspartique, l'acide glutamique, l'alanine, la cystéine), Les oligo-éléments (Potassium, phosphore, calcium, soufre, magnésium, manganèse, silicium, bore, fer, zinc, cuivre et baryum) Les enzymes telles que l'invertase, l'a-amylase, la-amylase, l'oeglucosidase, la glucose oxydase, une catalase et une phosphatase, Les vitamines (B1, B2 B3, B4 et B5. C, A, K et D), Les pigments qui colorent et aromatisent les miels (des caroténoïdes, des xanthophylles et des

flavonoïdes) ou encore les bactéries lactiques. Bien que ces composant soient présent en faible concentration dans le miel, Ils sont cependant en grande partie responsable des différents propriétés thérapeutiques qui lui sont attribué (Anand *et al.*, 2018).

Tableau 1: Composition moyenne des miels européens (Rigal, 2012)

Composition	Pourcentage total	Type de composés	Principaux composants
Eau	15 à 20% (moyenne 17%)		
Hydrates de carbone	75 à 80 %	Monosaccharides	Glucose (33%), Fructose (39%)
		Disaccharides	Maltose (0,9%), Isomaltose, Saccharose (2,3%)
		Polysaccharides	Erllose, Raffinose, (mélézitose), (kojibiose), (dextrantriose), (mélébiose)
Substances diverses	1 à 5 %	Acides (0,1 à 0,5%)	Gluconique (0,1 à 0,4 %), (maléique), (succinique), (oxalique), (glutamique), (pyroglutamique), (citrique), (glucuronique), formique (0,01 à 0,05%)
		Protéines et acides aminés (0,2 à 2%)	Matières albuminoïdes, matières. azotées, (proline), (tyrosine), (leucine), (histidine), (alanine), (glycine), (méthionine), (acide aspartique)
		Vitamines	B, C, (A,D,K)
		Enzymes provenant des glandes hypopharyngiennes	Amylases a et B, gluee-Invertase, glucose oxydase
		Enzymes provenant du nectar	Catalase), (amylases), (phosphatases du nectar acide)
		Minéraux	K, Ca, Na, Mg, Mn, Fe, Cu, (Co, B, Si, Cr, Ni, Au, Ag, Ba, P, Cs)
Arômes		Esters	Méthylantranlylates, acétates, méthyléthylcétones...
		Aldéhydes et acétones	Formaldéhyde, acétaldéhyde...
		Alcools	Méthanol, éthanol, isobutanol, 2-phényléthanol...
Flavones			Flavanol, catéchine, quercétine
Lipides	Traces	Acides gras	(Acides palmitique, butyrique, caprique, caproïque. valérique)

Les substances indiquées entre parenthèses sont à l'état de traces ; les % sont donnés par rapport au poids total du miel

I.2. Propriété Physico-chimique de miel

I.2.1. Densité

Le miel présente une densité relativement élevée qui varie entre 1,40 et 1,45 g/cm³ (Bogdanov *et al.*, 2003).

I.2.2. Couleur

Le miel peut se présenter sous différentes couleurs, celle-ci peut varier en fonction de son origine florale et géographique. Il existe des miels allant d'une couleur claire, limpide jusqu'à des couleurs plus foncées se rapprochant du noir.

I.2.3. Viscosité

La viscosité du miel est conditionnée essentiellement par sa teneur en eau, sa composition chimique et la température à laquelle il est conservé.

I.2.4. Activité de l'eau

Les valeurs a_w du miel varient entre 0,55 et 0,75. Les miels dont l' a_w est $<0,60$ peuvent être, du point de vue microbiologique, qualifiés de stables. Bien que l'activité de l'eau soit un facteur de qualité important, on ne la détermine que rarement (Bogdanov *et al.*, 2003).

I.2.5. pH

Le pH du miel varie entre 3,2 et 5,5. Il est généralement inférieur à 4 dans les miels de nectar, supérieur à 5 dans ceux de miellat (sapin = max 5,3). Les miels à pH bas se dégradent plus facilement (Gonnet et Vache, 1985)

I.2.6. Abaissement du point de congélation

Il dépend de la proportion en sucres. Il serait de 1,42°C à 1,53°C en solution aqueuse à 15% et 2,75 à 3,15°C en solution aqueuse à 25% (Emmanuelle *et al.*, 1996)

I.2.7. Conductivité électrique

La conductivité électrique est intéressante, car elle permet de distinguer aisément les miels de ceux de nectar, les premiers ayant une conductibilité bien plus élevée que les seconds (Emmanuelle *et al.*, 1996). Cette mesure dépend de la teneur en minéraux et de l'acidité du miel ; plus elles sont élevées, plus la conductivité correspondante est élevée.

I.2.8. Indice de réfraction

L'indice permet de calculer une variable très importante, la teneur en eau, bien plus rapidement que pour les autres méthodes (Emmanuelle *et al.*, 1996). L'indice de réfraction est mesuré à l'aide d'un appareil appelé refractomètre.

I.2.9. Hygroscopicité

Le miel tend à absorber l'humidité de l'air et si on le laisse trop longtemps dans une atmosphère humide, cette absorption peut être considérable. Un miel normal, contenant 18% d'eau, peut

atteindre, au bout de trois mois, une hygrométrie de 55%, son poids a alors augmenté de 84% (Prost, 1979). D'autre part, lorsqu'on veut dessécher le miel, il est nuisible de le maintenir en atmosphère rigoureusement sèche, parce qu'il se forme en surface une pellicule dure qui empêche le reste d'eau de s'évaporer (Emmanuelle *et al.*, 1996).

I.2.10. Le pouvoir rotatoire

Cette propriété est utilisée pour distinguer entre les miels de nectar et les miels de miellat mais aussi pour la détermination de l'origine botanique du miel (Sana, 2017).

I.2.11. Turbidité

Lorsque les miels sont sous forme liquide, ils sont généralement très transparents. Ils contiennent cependant des éléments en suspension qui leur confèrent une certaine turbidité (levures, poussières, grains de pollen, colloïdes, particules de cire et de propolis etc.)

La néphélométrie est une des techniques de mesure de la teneur en particules en suspension ou de la turbidité d'un milieu. Elle fait partie de la photométrie des milieux troubles. (Lequet, 2010)

I.2.12. La solubilité

Le miel est soluble dans l'eau et l'alcool dilué, mais insoluble dans l'alcool fort, l'éther, le chloroforme et le benzène.

I.3. Propriété Nutritionnelles

Le miel était considéré comme l'agent sucrant de choix pour l'alimentation, jusqu'à l'arrivée du sucre de canne. D'après Lecerf. (2009) une même dose de sucre apportée par le miel entrainera une élévation globale de la glycémie trois fois plus faible.

Par ailleurs, le miel est très apprécié par le consommateur en raison de ses propriétés énergétiques (apport énergétique de l'ordre de 300 calories pour 100g de miel) mais également nutritionnels et thérapeutique. Ainsi, elle aurait une action dynamisant, apéritive, antioxydant, facilitent la digestion et l'assimilation des aliments, exerce une action positive sur la croissance des enfants.

Certains miels contiennent du fer et du cuivre nécessaire à la synthèse et à la régénération de l'hémoglobine. Il favorise également l'assimilation du calcium et la rétention du magnésium par l'organisme. Les oligo-éléments contenus dans le miel auraient une biodisponibilité et une absorption plus grande que ceux que l'on ingère sous forme isolée.

De plus, La consommation régulière de miel pourrait venir en aide aux personnes âgées pour pallier leurs déficits (fatigue, carences en vitamines en oligo-éléments, digestion difficile, fonctionnement intestinal perturbé) en augmentant leur appétit et en stimulant les glandes salivaires par les acides et les principes aromatiques qui influencent favorablement la digestion.

I.4. Propriétés antibactériennes du miel

Avec l'augmentation de la prévalence des bactéries résistantes aux antibiotiques, le miel est de plus en plus apprécié pour son activité antibactérienne. On ne connaît pas encore précisément toutes les composantes antibactériennes du miel, cependant Tous les miels n'ont pas la même activité antibactérienne (Molan, 1992 ; Kwakman et Zaat, 2012). Ainsi, Six facteurs principaux sont décrits comme étant impliqués dans ce pouvoir bactéricide : Le pH acide (3,5 et 5,5) ; l'osmolarité, le peroxyde d'hydrogène, Substances non peroxydiques lysozymes (flavonoïdes, des acides aromatiques, le méthylglyoxal, la défensines-1, des substances volatiles (Bogdanov et Blumer, 2001 ; Boulaaba, 2019).

I.5. Effets prébiotiques du Miel

La première définition officielle du terme « prébiotique » a été proposée par Gibson et Roberfroid en 1995 qui l'a défini comme « une substance non digestible qui induit un effet physiologique bénéfique à l'hôte en stimulant de façon spécifique la croissance et/ou l'activité d'un nombre limité de populations bactériennes déjà établies dans le côlon ».

Selon (AFSAA, 2002) les ingrédients prébiotiques étant souvent composés d'un mélange de molécules, les molécules actives doivent être identifiées et caractérisées, et leur concentration dans le produit doit être précisée. Enfin, les microorganismes ciblés par l'ingrédient prébiotique et ses devraient aussi avoir été recherchés et précisés autant que possible.

Les prébiotiques avérés à ce jour, sont tous des glucides et la plupart possède un faible degré de polymérisation, à l'exception des amidons résistants. Grâce à ses sucres complexes ou oligosaccharides, le miel possède une activité prébiotique, stimulant l'accroissement des populations bénéfiques de microorganismes intestinaux dit « probiotiques ». Les sucres complexes du miel sont donc des prébiotiques qui forment une source sélective de nourriture, fournissant ainsi de l'énergie au probiotiques indispensables à l'équilibre de notre flore intestinale (Anonyme, 2020).

Les miels de miellat contenant plus d'oligosaccharides que les miels de nectar, ils se caractériseraient par une plus forte activité prébiotique (par exemple, miel de sapin, de forêts ou de châtaignier quand il contient du nectar et du miellat). Le miel d'acacia et celui de bourdaine, quant à eux, sont conseillés en cas de paresse intestinal chez l'enfant à partir d'un an, et pour lutter contre la constipation passagère (Anonyme, 2020).

Le miel stimule aussi le développement des lactobacilles dans le lait et les produits laitiers. L'associer aux produits laitiers est donc très bénéfique car, en plus de favoriser la croissance des lactobacilles dans le tube digestif et dans les produits laitiers, il rend, grâce à ses acides organiques, les protéines et les graisses contenus dans ces produits plus digestes pour notre organisme (Anonyme, 2020).

Consommer du miel est également très bénéfique en cas d'infections du tube digestif. Il favorise la cicatrisation endodigestive et génère une réduction significative de l'acide gastrique en cas d'ulcères gastro-duodénaux. Grâce à ses mono- et disaccharides, il exerce un effet protecteur gastrique et sa teneur en fructose et glucose contribue à inhiber la croissance d'*Helicobacter pylori*, agent pathogène jouant un rôle majeur dans les ulcères gastriques et duodénaux (Anonyme, 2020).

Chapitre II

Les bactéries lactiques

II.1. Définition des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont un grand groupe des micro-organismes non pathogènes de catégorie alimentaire regroupant un ensemble d'espèces hétérogènes (Labioui et Elmoualdi, 2005). Il s'agit d'un groupe de bactéries à Gram-positif sous forme cocci ou bâtonnet (Ratisbonne, 2009). Ces bactéries exigeantes ne possèdent pas de cycle de Krebs, ni decytochromes, ni porphyrines (composants de la chaîne respiratoire) ni catalase, ni nitrate-réductase et leur croissance requiert des acides aminés, des bases azotées et des vitamines. (Abid, 2015). Elles ont en commun la capacité de fermenter les sucres en acide lactique. Certaines sont dites homofermentaires alors que d'autres sont dites hétérofermentaires.

II.2. Origine et Habitat 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).

II.3. Propriétés Générales des bactéries lactiques

II.3.1. La morphologie

Il existe deux grands groupes morphologiques : Les coques et les bacilles. Les coques (Cocci) sont des sphères plus au moins ovoïdes de 0,5 à 1,5 μm de diamètre dont la division peut engendrer les paires, des tétrades, des tétrades, des chaînettes ou des amas. Ce sont des bactéries non sporulées et immobiles. Les bacilles sont des bactéries en forme de bâtonnets qui peuvent avoir différents aspects. A côté de bâtonnets droits classique, on peut trouver des coccobacilles ou de longues chaînes de bacilles. Le bâtonnet peut s'incurver dans certains cas ou s'allonger en filaments. Ils sont de 0,5 à 0,2 μm de diamètres et 1,5 à environ 10 μm de long.

II.3.2. La physiologie

II.3.2.1. Le type respiratoire

Les bactéries lactiques sont des microorganismes hétérotrophes anaérobies qui tolèrent l' O_2 dans certaines mesures. Cependant, l' O_2 affecte leurs métabolismes mais aussi leur croissance, leur survie et l'intégrité de leur génome (Dawat *et al.*, 1995). Elles ne sont pas particulièrement adaptées à la vie

aérobie mais elles peuvent très bien tirer profit de l'oxygène présent dans un environnement micro-aérobie en présence de faible quantité de substrat carboné.

II.3.2.2. Mobilité

Les bactéries lactiques sont en majorité immobiles.

II.3.2.3. Température de croissance

Généralement l'action de la température intervient à plusieurs niveaux : activation du métabolisme selon la loi d'Arrhenius, stress thermique et dénaturation des constituants cellulaires. Le froid ralentit et bloque le métabolisme microbien, sans tuer la cellule. Pour les bactéries lactiques, la température optimale de croissance est variable selon les genres, comme exemple les lactobacilles, *Streptococcus thermophiles* qui sont thermophiles (**Tableau 2**)

II.3.2.4. Le pH

Il est Variable selon les genres et les espèces comme indiqué dans le tableau (**Tableau 2**)

Tableau 2: pH et température optimale de croissance pour quelques genres des bactéries lactiques.

Genres et espèces	Température optimale de croissance	pH optimal de croissance
<i>Pediococcus acidilactici</i>	40°C	Non identifié
<i>Pediococcus damnosus</i>	22°C	5-5,5
<i>Lactobacillus agilis</i>	30°C	7
<i>Lactobacillus héterohiochii</i>	30°C	5-7
<i>Lactococcus piscium</i>	10° C	7

II.4. Classification phylogénique

Du point de vue phylogénétique, les bactéries lactiques ont un pourcentage de G+C% inférieur à 55% (Federighi *et al.*, 2005). Selon le Bergey's manuel de la taxonomie (2009), les bactéries lactiques sont classées dans le phylum des *Firmicutes*, la classe des *Bacilli* et ordre des *Lactobacillales* et renferment trente-cinq genres. Au sein des bactéries lactiques, les lactobacilles forment un ensemble très disparate (De Vos *et al.*, 2009).

II.5. Les différents Genres de bactéries lactiques

II.5.1. Le genre *Lactobacillus*

Au sein des bactéries lactiques, les lactobacilles forment un ensemble très disparate. Ce sont des bactéries à Gram positif communément trouvés dans divers milieux, elles peuvent se présenter sous forme de bâtonnets longs et fins, ou très courts, ou incurvés ou même ovoïdes (**Figure 1**).

La multiplicité des niches écologiques des lactobacilles se reflète dans la diversité et de l'hétérogène phylogénie du genre. Le genre comprend plus d'une centaine d'espèces différentes. (Lairini *et al.*, 2012).

Les lactobacilles ont été utilisés comme mesure préventive dans la lutte contre l'intolérance au lactose et inhiber la croissance des micro-organismes pathogènes nuisibles à l'aide d'une réduction du pH de l'intestin. Certaines souches sont capables de produire des bactériocines et d'autres produits métaboliques comme le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), le dioxyde de carbone (CO₂) et de diacetyl (Elfahri, 2014).

Les lactobacilles, utilisant le glucose comme source de carbone peuvent être soit homofermentaires, produisant plus de 85% d'acide lactique, soit hétérofermentaires, produisant de l'acide lactique, du CO₂, de l'éthanol (et/ou de l'acide acétique) en quantités équimolaires (Hammes et Vogel, 1995). C'est sur la base de cette fermentation qu'Orla-Jensen, a subdivisé les *Lactobacillus* en trois groupes distincts (Givry, 2006)

Groupe I « *Thermobacterium* » : Comprend des lactobacilles homofermentaires thermophiles, se développant à 45°C mais pas à 15°C. Les espèces les plus fréquentes dans l'alimentation (lait, yaourt, fromage) sont *Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii*, *Lb. acidophilus*.

Groupe II « *Streptobacterium* » : Regroupe des lactobacilles homofermentaires mésophiles et hétérofermentaires facultatifs en fonction du substrat. Les espèces les plus fréquentes dans l'alimentation sont *Lb. casei*, *Lb. curvatus*, *Lb. sake* et *Lb. plantarum*.

Groupe III « *Betabacterium* » : Rassemblant des lactobacilles hétérofermentaires. Le sous-groupe comporte les espèces *Lb. fermentum*, *Lb. brevis* et *Lb. sanfransisco* (Boullouf, 2016).

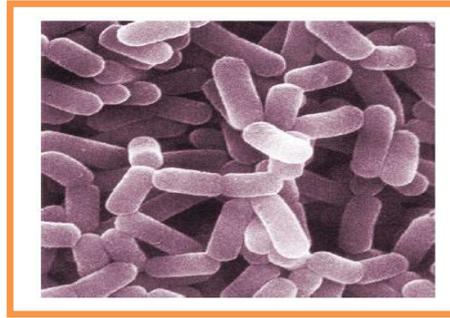


Figure 1: *Lb. plantarum* observé par microscope électronique à transmission (AZHAR, et al., 2015)

II.5.2. Le genre *Pediococcus*

Les pédiocoques sont uniformément sphériques et jamais ovoïdes ou allongés. Ils diffèrent de toutes les autres bactéries lactiques par une division alternée dans deux directions perpendiculaires, ce qui entraîne la formation de tétrades (ils ne forment jamais les chaînes typiques d'autres genres de cellules en forme de cocci telles que *Leuconostoc*, *Lactococcus* ou *Streptococcus* qui forment des chaînes à la suite de la division dans un plan) (Holzapfel et Wood, 2014).

Ces bactéries sont facultativement aérobies (microaérophiles) et produisent de l'acide lactique comme principal produit final de la fermentation du glucose par la voie d'Embden Meyerhof Parnas (Lahtinen *et al.*, 2012). Leur température de croissance optimale est de 25 à 35°C (celle-ci dépend de l'espèce).

II.5.3. Le genre *Enterococcus*

Le genre *Enterococcus* appartient à la famille des *Enterococcaceae*, il comporte actuellement 40 espèces. Ce sont des bactéries à Gram positif, aéro-anaérobies, généralement catalase négative, non sporulées qui se présentent sous forme de coques isolés ou arrangés en paires ou en chaînettes (**figure 2**), homofermentaires, et cultivant avec un optimum thermique de 35°C, à pH 9,6.

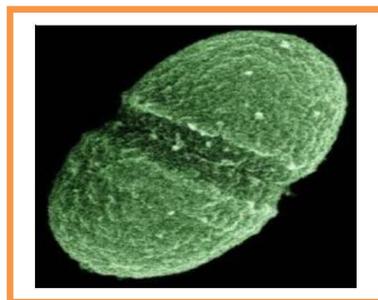


Figure 2: Observation microscopique de l'*Enterococcus Faecium*

<https://www.indiamart.com/proddetail/enterococcus-faecium-probiotics8411604530.html>

II.5.4. Le genre *Streptococcus*

Ce sont des microorganismes appartenant à la famille de *Streptococcaceae*, ils ont une forme ovoïde, sphérique ou quelque fois allongées en fuseaux en paires ou en chaînettes de moins de 2µm de diamètre (**figure 3**). Ce sont des bactéries à Gram positif, catalase négative, anaérobie facultative, sont toujours ou presque immobiles ils se distinguent par leur capacité de croître à 45°C. Les streptocoques sont nutritionnellement fastidieux avec une demande de variabilité nutritionnelle (Davido, 2010).



Figure 3 : Observation microscopique des *Streptococcus thermophilus*. (Fatma., 2015).

II.5.5. Le genre *Bifidobacterium*

Traditionnellement, le genre *Bifidobacterium* a été associé aux bactéries lactiques. Par la suite, il a été séparé en raison du contenu G+C supérieur à 50% et affecté au phylum des *Actinobacteria*. 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. (Klein *et al*, 1998). Elles ont généralement un pH optimal de croissance autour de 6,5 à 7 et une température de croissance comprise entre 37°C et 41°C. Elles ont la forme irrégulière d'un V ou une morphologie bifide en forme de Y. Elles ont hétérofermentaires et dégradent les hexoses en produisant de l'acide lactique et acétique.



Figure 4: Observation au microscope électronique des *Bifidobacterium sp.*

II.6. Rôle des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont considérées comme « probiotique ». Ce dernier, dérive de deux mots grecs “pros” et “bios” qui signifient « pour la vie » (Bernier, 2010). La définition actuelle des "probiotiques" est celle adoptée par le comité mixte d'experts FAO/WHO (2002) qui les définit comme "des microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, exercent un effet bénéfique sur la santé de l'hôte". Ce sont des préparations microbiennes vivantes utilisées comme additifs alimentaires et qui ont une action bénéfique sur l'hôte en améliorant la digestion et l'hygiène intestinale.

Les effets probiotiques des bactéries lactiques sont de plus en plus étudiés, certains sont bien établis d'autres restent encore contre versés. Ces bactéries jouent un rôle inhibiteur contre les bactéries pathogènes et améliorent la digestion, dont l'effet bénéfique est su à plusieurs mécanismes; La production d'acide organique (acide lactique, acétique), de peroxyde d'hydrogène, et de bactériocines limitent le développement des entérobactéries. Certaines souches peuvent présenter une activité anti-cancérogène (Mami, 2013), améliorent la digestion de lactose et diminuent le cholestérol sérique et dé-conjugaison des sels biliaires. Ils ont également été utilisés dans l'élaboration des vaccins (Carol, 2002). Des études ont également démontré leur capacité d'améliorer la fermentation microbienne dans le côlon par un accroissement de la production d'acides gras à courte chaîne, réduction du pH et production d'ammoniac. En conséquence de tout cela, un fonctionnement intestinal plus régulier, moindres risques de diarrhée ou de constipation et aussi prévention et évitement des maladies cardiovasculaires et le cancer de l'intestin (Dacosta, 2001)

En outre, ces bactéries lactiques sont très utilisées en industrie agroalimentaire et plus particulièrement laitière. En effet, elles ont plusieurs rôles dans la production d'aliments fermentés. Elles modifient la saveur et la texture de l'aliment par la libération d'exopolysaccharides (EPS) (yaourt), acidification par production d'acide lactique, produisent des composés aromatiques comme l'acétaldéhyde (fromages). De plus, les probiotiques sont généralement associés aux produits laitiers de culture. La gamme de produits probiotiques comprend maintenant des fromages, des crèmes glacées et des yogourts glacés de même que des aliments et boissons non laitiers (Patterson, 2008). Plus de 600 produits alimentaires probiotiques sont commercialisés par l'industrie laitière depuis 2006 comprenant : les crèmes glacées, les fromages, beurre, laits en poudre, desserts glacés et mayonnaise (Sveje, 2007). Elles contribuent à l'amélioration des propriétés digestives et inhibent également le développement de la flore microbienne indésirable (Branger et al., 2005).

II.7. Viabilité des Bactéries Lactiques

Afin d'obtenir les effets santé souhaités, les bactéries doivent être capables de croître dans le lait et de survivre à un taux suffisamment élevé (Tamime *et al.*, 2005). Dans la littérature scientifique, des concentrations minimales de 10^6 et 10^7 UFC/g dans le produit fini sont considérées comme des quantités thérapeutiques de cultures probiotiques dans les aliments transformés (Talwalkar *et al.*, 2004), atteignant 10^8 et 10^9 UFC/g, fournies par une consommation quotidienne de 100 g ou 100 ml de lait fermenté, d'où un bénéfice pour la santé de l'Homme (Jayamanne et Adams, 2006). Ces chiffres élevés ont été proposés pour compenser les pertes possibles des microorganismes probiotiques pendant la durée de conservation de l'aliment probiotique, lors du transit dans les conditions acides de l'estomac, et de résister aux sels biliaires dans l'intestin grêle (Tamime *et al.*, 2005).

II.7.1. Effets du procédé technologique sur la viabilité

La viabilité de bactéries probiotiques dans les produits laitiers au cours du procédé technologique dépend des souches utilisées, l'interaction entre les espèces présentes, la production de peroxyde d'hydrogène par le métabolisme bactérien, les composants de la matrice alimentaire et l'acidité finale du produit (Farnworth, 2008).

La viabilité dépend également de la disponibilité des éléments nutritifs, les activateurs et inhibiteurs de croissance, la concentration des sucres, l'oxygène dissous et de l'oxygène perméable à travers l'emballage (en particulier pour les espèces *Bifidobacterium*), le niveau d'inoculation et le temps de fermentation (Oliveira et Damin, 2003).

II.7.2. Méthodes d'amélioration de la viabilité des Bactéries Probiotiques

II.7.2.1. Sélection des Souches :

Il est important que la viabilité de la souche et la stabilité des caractéristiques souhaitables soient maintenues pendant la production commerciale, ainsi que dans le produit fini (Talwalkar *et al.*, 2004).

II.7.2.2. Taux d'Inoculation :

Les microorganismes probiotiques se développent mal dans le lait, un volume élevé de l'inoculum (5-10 ml/ 100 ml lait) est nécessaire, par rapport à un petit inoculum (1 ml/ 100 ml de lait) dans le cas des cultures starter du yaourt, ce qui peut entraîner une sur-acidification du produit et cela se traduit éventuellement par la faible survie des bactéries probiotiques.

Le pH final à la fin de la fermentation est le facteur crucial pour la survie des microorganismes probiotiques. A ce stade un pH inférieur à 4,4 entraîne une diminution substantielle des bactéries probiotiques. Par conséquent, le niveau d'inoculum doit être soigneusement réglé et contrôlé (Tamime, 2005).

II.7.2.3. Utilisation des Pièges à Oxygène :

La teneur en oxygène et le potentiel redox sont des facteurs importants pour la viabilité pendant le stockage à froid. L'acide ascorbique (vitamine C) agit comme un capteur d'oxygène et est autorisé comme additif alimentaire. En outre, le lait et les produits laitiers offrent seulement 10- 15% des besoins quotidiens en vitamine C. Ainsi, la fortification du yaourt avec de l'acide ascorbique pourrait augmenter sa valeur nutritive (Dave et Shah, 1997).

II.7.2.4. Ajout de prébiotiques :

La cystéine est un acide aminé contenant du soufre, fournit l'azote aminé comme facteur de croissance tout en réduisant le potentiel d'oxydoréduction. Elle est souvent utilisée comme prébiotique. En effet, la cystéine à 250 mg/l semble améliorer la survie de *Lb. acidophilus* et *Bifdobacterium spp.* Il convient de noter que la faible concentration en cystéine (50 mg/l) améliore la croissance de *S. thermophilus* (Dave et Shah, 1997).

Chapitre III

Généralités sur les laits fermentés

III.1. Définition des laits fermentés

La dénomination «laits fermentés» est réservée aux produits laitiers préparés avec différents types de laits (écrémé, concentré, en poudre...) ayant subi un traitement thermique au moins équivalent la pasteurisation, ensemencé avec des micro-organismes appartenant à l'espèce ou aux espèces caractéristiques de chaque produit». Sont issus de la fermentation contrôlée du lait sous l'action d'une ou de plusieurs populations bactériennes spécifiques, permettant ainsi sa stabilisation microbiologique en lui conférant une texture et des propriétés organoleptiques et/ou nutritionnelles particulières (Savadogo et Traore, 2011). Les caractéristiques propres des différents laits fermentés sont dues à la variation particulière de certains facteurs comme la composition du lait, la température d'incubation, la flore lactique ou la flore microbienne autre que lactique (Luquet, 1990).

Les principaux types du lait fermenté parmi les produits laitiers fermentés, on retrouve le yaourt, la crème sucrée, L'ban, Rayeb, laits fermentés alcoolisés tel que le kéfir et le koumis, le lait à l'acidophile et les laits fermentés à bifidobactéries (Carole, 2002).

III.2. Les Yaourts

III.2.1. Définition

Selon la définition établie par la FAO et l'OMS en 1977, le yaourt est un lait coagulé obtenu par la fermentation lactique acide due à deux ferments spécifiques : *Lactobacillus delbrueckii* sous-espèce *bulgaricus* et *Streptococcus salivarius, subsphthermophilus* (Fredot, 2005). Ces bactéries lactiques thermophiles spécifiques doivent être ensemencées simultanément et se trouve vivantes dans le produit fini à raison d'au moins 10 millions de bactéries par gramme rapportées à la partie lactée. Lors de sa mise à la consommation, la quantité d'acide lactique libre contenue dans le yaourt ne doit pas être inférieure à 0,8 grammes pour 100 grammes de produit (FAO, 1998).

La flore présente dans le yaourt doit être viable pendant toute la durée de vie. Par ailleurs, la FIL fixe la quantité de ferments vivants, égale à 10^7 bactéries par Gramme rapportés à la partie lactée jusqu'à la date limite de consommation.

La FIL préconise une teneur de 0,7% d'acide lactique dans les yaourts. Cette valeur est respectée dans certains pays avec une variabilité de 0,6 à 15%. Certaines normes imposent un pH inférieur à 4,5 ou 4,6. La teneur en protéine doit être égale à 2,8% dans le produit fini.

III.2.2. Classification :

Le yaourt peut être classé selon leur technologie de fabrication, la teneur en matière grasse ou bien les ingrédients additionnés.

III.2.2.1. Selon la technologie

III.2.2.1.1. Yaourt étuvé :

Les yaourts étuvés nature, sucrés ou aromatisés ont une texture ferme a surface lisse. La fermentation s'opère dans des pots après le conditionnement. Le laitensemencé à bonne température est rapidement réparti en pots (en verre, carton paraffiné, en plastique) d'une contenance habituelle, de 12,5 cl dans le cas des yaourts sucrés, aromatisés, aux fruits...etc. Dans ce type de yaourt en peut trouver :

- Yaourt étuvé probiotique : incorporé de probiotiques.
- Yaourt étuvé aromatisé : contient des arômes.
- Yaourt étuvé aux fruits : contient morceaux de fruits.

III.2.2.1.2. Yaourt brassé

Les yaourts brassés sont fluides, la fermentation a lieu en cuve avant le conditionnement, il peut être soit nature, soit préparé avec des pulpes ou des morceaux de fruits ou aromatisés (Guyot. A, 1992).

III.2.2.1.3. Le yaourt à boire :

Le yaourt à boire est un yaourt qui se différencie du brassé par état liquide qui s'assimile à une boisson .Sa fluidité est obtenue par une diminution de la teneur en matière sèche. Le brassage fait par passage à l'homogénéisateur sous pression inférieur à 50 atmosphères, donne une viscosité inférieure d'environ 50% à celle obtenu par brassage mécanique, il peut être nature ou aromatisé. Ce sont des yaourts veloutés fruités conditionnés en bouteilles et non en pot.

III.2.2.1.4. Le yaourt glacé :

Le yaourt glacé est incubé en cuve et sa congélation est réalisée comme pour la crème glacé. On trouve dans le yaourt glacé de la gamme de cellulose modifiée, de la gamme de guar, de la carraghénine et des arômes artificiels (FAO, 2004).

III.2.2.2. Selon la teneur en matière grasse (Gosta, 1995) :

III.2.2.2.1. yaourt entier: 3% de matière grasse en poids.

III.2.2.2.2. yaourt partiellement écrémé: moins de 3% et plus de 0.5% de matière grasse.

III.2.2.2.3. yaourt écrémé: au maximum 0.5% de matière grasse.

III.2.2.3. Selon les ingrédients additionnés (additifs) :

III.2.2.3.1. Yaourt nature :

Le yaourt nature non sucré présente à peu près la même valeur nutritive que le lait avec lequel il est fabriqué, soit une excellente source de protéines, de calcium, de potassium, et de vitamines A et B, il apporte en plus tous les bienfaits associés à la fermentation tout en ne fournissant que très peu de calories. De plus, le yaourt est rapidement digéré (plus de 90% du produit en une 1 heure) comparé à 30% pour le lait. Il offre une alternative nutritive intéressante pour les personnes intolérantes au lactose (présent dans le lait) (Luquet, 1990).

III.2.2.3.2. Yaourt aromatisé :

Dans ce type de yaourt des aliments aromatisants sont ajoutés ou d'autres substances aromatisants, avec ou sans adjonction d'ingrédients facultatifs.

III.2.2.3.3. Yaourt fruité :

Il s'agit de yaourt à la confiture composé de morceaux de fruits (moins 30% d'éléments ajoutés) choisis de l'appart de l'industrie.

III.2.2.3.4. Yaourt light :

Il s'agit d'un yaourt fabriqué à partir de l'ajoute d'un édulcorant, le E951 « l'aspartame » (Anonyme, 2001).

III.2.3. Les bactéries du yaourt

III.2.3.1 Caractéristiques générales des bactéries du yaourt

III.2.3.1.1. *Streptococcus thermophilus*

C'est une bactérie de forme cocci à GRAM positif, disposée en chaînes de longueur variable ou par paires, anaérobie facultatif, non mobile, on la trouve dans les laits fermentés et les fromages (Roussel *et al.*, 1994). C'est une bactérie thermorésistante, sensible aux antibiotiques mais résistante au chauffage à 60°C pendant 30 minutes (Dellaglio *et al.*, 1994). Sa température optimale de croissance varie entre 40 et 50°C. Son métabolisme est de type homofermentaire (Lamoureux, 2000). Le rôle principal de *St. Thermophilus* est la fermentation du lactose du lait en acide lactique. En plus de son pouvoir acidifiant, elle est responsable de la texture des laits fermentés, elle augmente la viscosité du lait par production de polysaccharides (composés de galactose, glucose, ainsi que de petites quantités de rhamnose, arabinose et de mannose) (Bergamaier, 2002).

III.2.3.1.2. *Lactobacillus bulgaricus*

Cette espèce de bactérie lactique présente une forme bacillaire, GRAM positif, immobile, a sporulé, micro-aérophile. Elle possède un métabolisme strictement fermentaire avec production exclusive d'acide lactique comme principal produit final à partir des hexoses de sucres par voie d'Embden Meyerhof. C'est une bactérie thermophile, très exigeante en calcium et en magnésium et sa température optimale de croissance est d'environ 42 °C. Cette bactérie joue un rôle essentiel dans le développement des qualités organoleptiques et hygiéniques du yaourt (Marty-Teysset *et al.*, 2000).



Figure 5 : Observation microscopique de deux bactéries du yaourt *St. thermophilus* et *Lb. Bulgaricus* (Marty-Teysset *et al.*, 2000). A gauche : *St. Thermophilus* ; A droit : *Lb. bulgaricus*

III.2.3.2. Le comportement associatif des deux souches

Les deux souches *St. Thermophilus* et *Lb. Bulgaricus* se développent en association (appelée protocoopération) dans des cultures mixtes ayant un intérêt technologique et nutritionnel. (Courtin *et al.*, 2002 ; Ngounou *et al.*, 2003). Les *Lb. Bulgaricus* favorisent le développement des *St. Thermophilus* selon le mécanisme bien précis. En effet, les lactobacilles qui présentent une activité protéolytique détachent de la caséine certains acides aminés intervenant comme activateurs des streptocoques. Parmi ces acides, la valine joue un rôle particulièrement important. Au début de la fabrication, le pH du lait est favorable aux streptocoques qui prédominent et assure le départ de la fermentation lactique. L'action caséolytique de lactobacilles stimule le développement du streptocoque. Par la suite, le pH du lait devient défavorable aux streptocoques qui sont remplacés progressivement par les lactobacilles. La coagulation du lait se produit lorsque l'acidité atteint entre 65 et 70°D (Guy et Elisabeth, 1986).

III.2.3.3. Intérêt et fonction des bactéries lactiques

III.2.3.3.1. Production d'acides lactique

La production d'acide lactique est une des principales fonctions des bactéries lactiques en technologie laitière, 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)

III.2.3.3.2. Activité aromatique

Divers composés volatiles et aromatiques interviennent dans la saveur et l'appétence du yaourt. L'acétaldéhyde est le composé aromatique le plus caractéristique de la flaveur du yaourt, d'autres molécules intervenant dans la note aromatique ont également été identifiées. L'acétaldéhyde est principalement produit par *Lb. bulgaricus* à partir de la thréonine, réaction catalysée par la thréonine aldolase (Marshall et Colf, 1983).

III.2.3.3.3. Activité texturant

Certaines bactéries lactiques produisent des polysaccharides qui jouent le rôle d'agents de texture et donneront au produit fini son caractère onctueux ou filant. La production de polysaccharides a été mise en évidence avec *Lb. bulgaricus*, ainsi qu'avec *St.thermophilus* (Cerning *et al.*, 1986). Elle est variable suivant les souches utilisées. Les polysaccharides reliés aux micelles de caséine augmentent le pouvoir de rétention d'eau du caillé lactique et protègent ce dernier contre les traitements mécaniques durant la fabrication (pompage, réfrigération) (Loones, 1994).

III.2.3.3.4. Activité protéolytique

Pour satisfaire leurs besoins en acides aminés, les bactéries du yaourt doivent dégrader la fraction protéique du lait constituée de caséine et de protéines sériques, leur système protéolytique est constitué de deux types d'enzymes distinctes : les protéases et les peptidases. *Lb. bulgaricus* possède des protéases localisées au niveau de la paroi cellulaire (Marshall, 1987). Cette activité protéasique permet d'hydrolyser la caséine en polypeptides.

III.2.3.3.5. Effet probiotique

La présence de bactéries lactiques vivantes dans le yaourt permet une assimilation du lactose par les sujets déficients en lactase. L'hypothèse étudiée actuellement est l'induction par les bactéries vivantes de l'activité lactique de la muqueuse intestinale et la libération de lactase bactérienne lors de la destruction d bactéries lactiques pendant le transit intestinal. Le rôle de *Lb. bulgaricus* semble prépondérant dans cette action (Loones, 1994), les bactéries du yaourt produisent des substances antimicrobiennes (Mahaut et al., 2000). En 1989, Simone *et al.* Ont montré une augmentation de la production d'immunoglobuline (IgG), une activation de lymphocytes B et une augmentation de la

production d'interférons chez des volontaires après injection prolongée du yaourt. Les bactéries vivantes contenues dans le yaourt stimulent la réponse immunitaire de l'organisme, d'où une résistance accrue à l'infection (Loones, 1994)

III.3. Technologie de fabrication du yaourt

D'une manière générale, le processus de fabrication du yaourt comporte principalement quatre étapes, il s'agit de la préparation et standardisation du lait, du traitement thermique, de l'ensemencement et la fermentation et du conditionnement et stockage (Paci-kora, 2004 ; Vignola, 2002).

Le lait est standardisé au taux de matière grasse requis pour le produit fini et peut être enrichi en extrait sec laitier. Il est homogénéisé pour favoriser la dispersion de la matière grasse et traité à 90°C pendant quelques minutes. Ce traitement thermique entraîne notamment la destruction de germes pathogènes, l'inactivation des enzymes, la fixation de la plus grande partie des protéines solubles sur les molécules de caséine. Le lait est ensuite refroidi pour atteindre la température optimale de fermentation (vers 45°C). L'ensemencement (taux de 1 à 5%) se fait le plus souvent à partir d'un levain déjà préparé en cuve. La fermentation se fait en 2 à 3 heures : pour les yaourts fermes, le lait ensemencé est directement mis en pots; dès formation du caillé, ceux-ci sont stockés à 4°C, de façon à stopper l'acidification (Syndifrais, 1997).

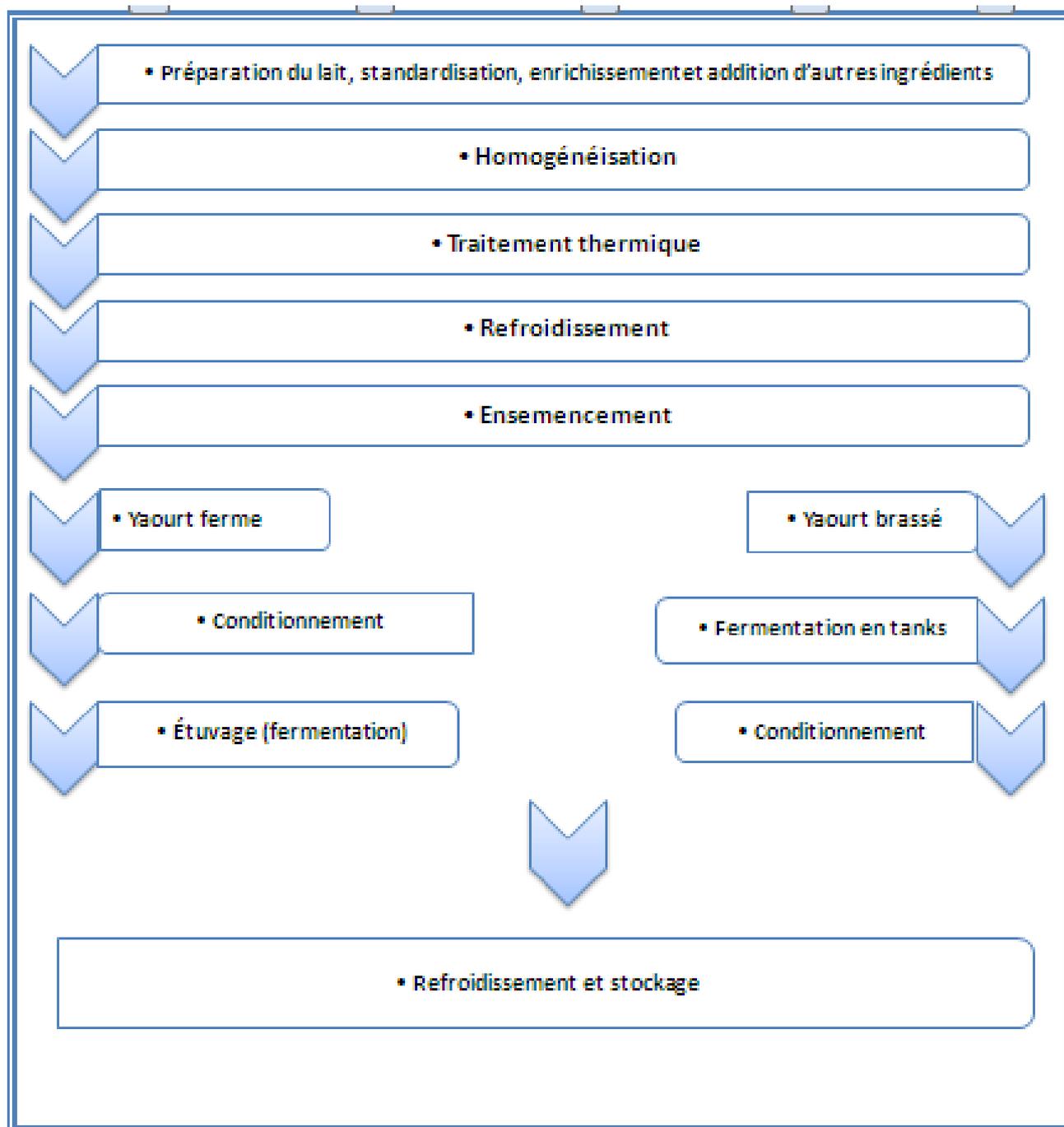


Figure 6: Diagramme simplifié de fabrication du yaourt. Adapté de VIGNOLA (2002)

Deuxième partie

Recherche

Expérimentale

Chapitre I

Matériel et méthodes

I.1. Lieu et durée du travail

L'intégralité de ce travail a été réalisée au laboratoire de Recherche des Science et Technique de Production Animale (LSTPA), situé au niveau de la ferme expérimentale de Hassi-Mamèche, affiliée à l'Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem.

I.2. Objectif :

Notre travail de recherche avait pour objectif d'une part de d'étudier l'influence du miel sur la croissance et la viabilité des souches lactiques dans le milieu « lait écrémé » et d'autre part d'élaborer différents types de laits fermentés à base de miel.

I.3. Matériel et produits chimiques :

Pour la réalisation des différentes parties expérimentales, nous avons utilisé le matériel suivant :

I.3.1. Matériel non biologique

L'ensemble des appareils, petit matériel (verrerie ; accessoires...etc.) et réactifs utilisés dans cette étude est donné dans l'annexe A

I.3.2. Matériel biologique

I.3.2.1. Le miel

Un échantillon de miel « polyfloral », provenant, de la forêt de Sidi-Ali « Wilaya de Mostaganem » et récolté durant l'été 2021 a été utilisé pour la réalisation de notre étude (Tableau3)

Tableau 3: Fiche de renseignement du miel d'abeille étudié

	Origine géographique	Origine florale présumé	Couleur	Période de récolte
Miel	SIDI ALI Mostaganem	Polyflorale (Eucalyptus et pin)	Marron	Été /2021

I.3.2.2. Les souches lactiques

Une souche à caractère probiotique appartenant à l'espèce *Lactobacillus plantarum*, isolé à partir de miel, ainsi deux ferments thermophiles, à savoir une monoculture de la souche *Streptococcus thermophilus* et une culture mixte des deux souches *Streptococcus thermophilus et Lactobacillus bulgaricus* ont été utilisés pour évaluer l'effet prébiotique du miel, mais également pour la fabrication des produits fermentés et de yaourts.

Toutes les souches utilisées au cours de cette étude nous ont été fournies par le laboratoire LSTPA.

1.3.2.3. Milieu de culture

Le dénombrement de la souche *Lactobacillus plantarum* et de la flore lactique totale a été effectué sur milieu gélose MRS (pH = 5,5). Voir **annexe A**

I.4. Les méthodes d'analyse

I.4.1. Analyses physicochimiques du miel

I.4.1.1. Taux d'humidité (Bogdanov, 2002).

I.4.1.1.1. Principe

Cette analyse est basée sur le principe de la mesure optique de l'indice de réfraction du miel liquéfié afin d'en déduire la teneur en eau correspondante en se référant au tableau de Chataway (1935).

I.4.1.1.2. Mode opératoire

Le miel est mis dans un flacon fermé hermétiquement et chauffé dans un bain-marie à 50°C, jusqu'à ce que tous les cristaux de sucres soient dissous. Après refroidissement à température ambiante à l'aide d'une spatule, une goutte de miel liquéfié est déposée sur la platine du prisme du réfractomètre de type (Abbe Refractomètre AR4) et répartie en couche mince. La valeur de réfraction (indice de réfraction) est lue à 20°C. Dans le cas où la mesure est effectuée à une autre température, la lecture doit être corrigée. La correction est additive si la mesure est faite au-dessus de 20°C, soustractive dans le cas contraire, le facteur de correction est de 0,00023 par degré Celsius. Cet indice a été ensuite converti en teneur en eau, en pourcentage tout en se rapportant au tableau de Chataway *et al.* (1932), indiqué en **annexe F**.

I.4.1.2. Détermination du pH (Codex Alimentarius, 2001).

I.4.1.2.1. Principe :

Il consiste en la détermination de la concentration du miel en ions dissociés H⁺

I.4.1.2.2. Mode opératoire :

Pour commencer, une quantité de 2,5 grammes de miel a été pesée puis dissoute dans 10 ml d'eau distillée et complétée à 25 ml dans une fiole jaugée. Après agitation à l'aide d'un barreau magnétique, la préparation a été transvasée dans un bécher. Enfin, la pointe l'électrode est plongée dans la solution et la valeur du pH s'affiche sur le pH mètre. Il est important de procéder à un étalonnage du pH-mètre avant son utilisation avec deux solutions tampon (pH=4 et pH=7).

I.4.2. Revivification de la souche « *Lactobacillus plantarum* » étudiée

La souche lactique ayant subi une longue conservation a été revivifiée en procédant à un ensemencement de 1000 µl de la souche conservée dans un tube contenant 5 ml de bouillon MRS et suivie d'une incubation à 37°C pendant 24 à 48 heures. Les résultats de revivification sont appréciés par l'apparition d'un trouble dans le milieu. La culture bactérienne est ensuite ensemencée en strie sur le milieu MRS (pH= 5,5) et incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures. Cette opération a été répétée par repiquage successif jusqu'à l'obtention d'un résultat uniforme de point de vue morphologie des bactéries lactiques.

I.4.3. Confirmation de l'appartenance de la souche au genre *Lactobacillus*

I.4.3.1. Caractéristique macroscopique :

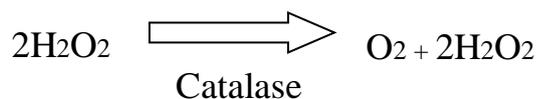
La détermination des caractères macroscopiques se fait à l'œil nue. La souche a été cultivée sur le milieu gélosé MRS. Cette analyse permet de renseigner sur la couleur, la forme, la taille, l'aspect, la consistance, l'opacité et l'odeur des souches testées.

I.4.3.2. Caractéristique microscopique :

Cet examen permet de décrire la forme et le mode d'association des cellules des souches lactiques utilisées à l'aide d'observation au microscope optique des frottis colorés avec la coloration de Gram (singleton, 1999).

I.4.3.3. Test de la production de la catalase :

La catalase est une enzyme respiratoire produite par les bactéries aérobies strictes ou facultatives. Cette enzyme dégrade le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en eau (H₂O) et en oxygène (O₂) selon la réaction suivante :



La majorité des bactéries lactiques sont des anaérobies facultatifs et n'ont pas besoin de synthétiser la peroxydase (Larpen, 1997). Pour mettre en évidence l'absence cette enzyme, on prélève une colonie bien isolée, qu'on étale avec l'anse de platine sur une lame et on ajoute une goutte d'eau oxygénée à 10%. La présence de catalase se manifeste par une effervescence qui indique une formation de bulles d'air, dues à la dégradation de l'eau oxygénée (Prescott, 2003).

I.4.4. Effet de l'ajout du miel dans le lait écrémé sur la croissance et la viabilité de la souche *Lactobacillus plantarum*

I.4.4.1. Préparation des milieux « lait enrichi de miel »

En vue de la surveillance de la croissance et l'activité acidifiante des bactéries lactiques sur le lait avec un supplément de miel, nous avons réalisé 3 variantes de milieux :

- Milieu lait écrémé reconstitué à 12,5% supplémenté de 1% (poids / volume) de miel
- Milieu lait écrémé reconstitué à 12,5% supplémenté de 5% (poids / volume) de miel
- Milieu lait écrémé reconstitué à 12,5% supplémenté de 10% (poids / volume) de miel

Le milieu de base sans le miel a été utilisé comme référence (témoin). Une pasteurisation à 80-85°C (dans l'autoclave avec le ventile ouvert) pendant 15 min est réalisé.

I.4.4.2. Suivi de l'acidification du milieu lait écrémé reconstitué à 12,5% enrichi de miel par la souche *Lactobacillus plantarum*

L'un des caractères technologiques essentiels des bactéries lactiques est leur aptitude à l'acidification du lait qui dépend de l'aptitude à la fermentation du lactose et de la résistance à l'acidité développée dans le lait écrémé stérile.

La mesure de l'activité acidifiante consiste à suivre, d'une part l'évolution du pH en milieu lait écrémé seul reconstitué à 12,5% et dans le lait additionné de 1%, 5% et 10% de miel en fonction du temps et d'autre part à doser l'acidité titrable par la soude (NaOH, N/9) en présence d'un indicateur coloré de pH la phénolphtaléine (Larparent, 1997). L'acidité titrable mesurée est assimilée à des degrés Dornic (°D) où 1°D équivaut à 0.1g d'acide lactique/l de lait.

Pour réaliser ce test, 300µL d'une culture jeune de la souche « *Lactobacillus plantarum* » a étéensemencée dans des tubes contenant 10ml de lait écrémé stérile (témoin) ou de lait additionné de miel à différentes concentrations. Après agitation, les mesures de pH sont prises pendant la fermentation à intervalles de temps 0h, 3h, 6h, 24h et 48h d'incubation à 37°C pour chacun des milieux utilisés, puis titrer par la soude Dornic en présence de quelques gouttes de phénolphtaléine, jusqu'au virage de la couleur au rose pâle persistant au moins 10 secondes (Larparent et Larparent, 1990). L'acidité est déterminée par la formule :

$$\text{Acidité (°D)} = V_{\text{NaOH}} \times 10$$

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

Les vitesses maximales d'acidification ($\Delta\text{pH max} / \Delta t$) de chaque culture bactérienne pure ou associée, additionnées ou non de miel ; sont calculées selon l'équation donnée par Desjardins *et al* (1991) : $\Delta\text{pH max} / \Delta t = (\text{pH1} - \text{pH3}) / t3 - t1$

Où pH1 et pH3 sont les valeurs de pH enregistrées aux temps t1 et t3 de la phase exponentielle, respectivement.

I.4.4.3. Suivi de la croissance de la souche *Lactobacillus plantarum* dans le lait écrémé reconstitué additionné de miel.

Pour chaque temps (**T0, T24 et T48**) nous avons suivi l'évolution de la flore lactique dans le lait seul et dans le lait additionné de **1%, 5% et 10%** de miel. Des inocula de 3% de la souche *Lactobacillus plantarum* sont propagés dans des tubes contenant le lait écrémé stérile (témoin) ou le lait additionné de miel et distribués dans des tubes stériles de 10ml. La croissance est exprimée en nombre de cellules par ml (UFC/ml) après dénombrement des colonies. Le tube T₀ représente le tube témoin, on le laisse à température ambiante sur la paillasse, tandis que les tubes T24, T48, sont incubés à 37°C. Le nombre de cellules visibles est calculé après une série de dilutions décimales adéquate (10^{-1} à 10^{-7}) dans la solution d'eau peptonnée (0,1% peptone P/V). Les échantillons sont homogénéisés par agitation vigoureuse de plus de 15 secondes au minimum en utilisant un vortex. 100 µl de chacune des 3 dernières dilutions estensemencé sur gélose MRS pour le dénombrement des lactobacilles. Le nombre de cellules par ml (UFC/ml) est exprimé comme suit (Guiraud, 1998):

$$\text{UFC/ml} = \text{nombre de colonies formées sur gélose} \times \text{l'inverse du facteur de dilution/le volume}$$

I.4.4.4. Suivi de la post-acidification du lait fermenté par *Lactobacillus plantarum* entreposé à 4°C

La post-acidification des laits fermentés à différentes concentrations de miel entreposés à 4°C est suivie par la mesure du pH et l'acidité pendant 28 jours de conservation.

I.4.4.5. Détermination de la survie de la souche *Lactobacillus plantarum* dans le lait fermenté entreposé à 4°C

Un aliquot de 300µl de chacun des laits fermentés supplémentés de miels à différentes concentrations ainsi que le lait fermenté sans miel est dilué dans 10 ml d'une solution stérile d'eau peptonnée (0,1% peptone P/V). Une série de dilution décimale est ensuite effectuée Afin d'obtenir une dilution adéquate permettant le dénombrement. Le nombre de cellules viables, déterminé 3 fois

est calculé à partir de colonies appropriées obtenues après incubation sur milieu MRS et exprimé en Log UFC/ml. La première analyse est effectuée après 24h après de fin de fermentation (analyse j1). Le taux de survie est calculé selon l'équation donnée par Ustinol et Gandhi. (2002) :

$$\text{Viabilité}\% = (\text{UFC à la Nième semaine(s) d'entreposage} - \text{UFC initial}) \times 10$$

I.4.5. Fabrication des laits fermentés et de yaourts

I.4.5.1. Préparation des levains

Un volume de 500 ml de lait écrémé (0 % MG) bien homogénéisé et pasteurisé est réparti dans 3 flacons stériles différents et refroidir à la température idéale de fermentation. Trois différents levains sont ensuite préparés par ensemencement de chaque flacon contenant le miel avec un ferment puis incubés à 43°C jusqu'à l'obtention d'une acidité entre 85 et 100.

- Le levain **A** est constitué d'un ferment de culture mixte *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* à raison de 3%
- Le Levain **B**, est constitué d'une culture mixte de *Streptococcus thermophilus* (2%) et *Lactobacillus plantarum* 1%.
- Le levain **C**, est constitué d'une culture *Lactobacillus plantarum* à raison de 5%.

I.4.5.2. Préparation de lait enrichi de miel

Dans un Erlenmeyer de 2 litres, mettre la quantité nécessaire de poudre de lait (0% de matière grasse), la compléter avec de l'eau stérile (140g de poudre pour obtenir 1L de lait), puis bien agité jusqu'à dissolution totale de la poudre de lait. Ce dernier est ensuite réparti dans deux bocaux stériles, $\frac{3}{4}$ du volume de lait préparé sera supplémenté de miel est mis le premier bocal, le reste est mis dans le second bocal et sera utilisé comme témoin. Après pasteurisation, les flacons sont refroidis à la température d'ensemencement qui est comprise entre 42 et 45°C.

I.4.5.3. Ensemencement

Le flacon contenant le lait enrichi de miel est réparti dans trois flacons de 250 ml dans les quelles chacun seraensemencé par un levain. Dans le premier flacon nous avons mis un levain composé la souche mixte *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*, dans le deuxième flacon un levain composé de culture mixte 2% *Streptococcus thermophilus* et 1% *Lactobacillus plantarum*. 5% de culture de la souche *Lactobacillus plantarum* est ajouté dans le troisième flacon. Le flacon

contenant le lait sans miel est ensemencé par le levain composé de culture mixte des souches *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*.

Tableau 4: Les essais de préparation du yaourt et leurs contenus

Yaourt	Contenu	Ensemencement de levain
1 ^{er} échantillon	Lait écrémé seul (Témoin)	3% mixte (St+ <i>Lb. Bulgaricus</i>)
2 ^{ème} échantillon	Lait, E + miel	3% mixte (St+ <i>Lb Bulgaricus</i>)
3 ^{ème} échantillon	Lait, E +miel	(2%St+ 1% <i>Lb Plantarum</i>)
4 ^{ème} échantillon	Lait, E+ miel	5% <i>Lb Plantarum</i>

Lb: *Lactobacillus*; *St:* *Streptococcus thermophilus*, E: écrémé

I.4.5.4. Incubation

Le contenu de chaque flacon de 250ml a été versé dans des pots. Ces derniers ont été mis à l'étuve à 44°C pendant environ 6 heures, jusqu'à une acidité de 80-94°D.

I.4.5.5. Refroidissement rapide

Cette étape a été réalisée à une température $\leq 4^{\circ}\text{C}$ pendant 30-40 min pour bloquer la fermentation.

I.4.5.6. Brassage

Avec une cuillère bien stérile, on mixte le mélange de yaourt par un mouvement circulaire pendant 3-10 min pour jusqu'à l'obtention d'un yaourt brassé bien homogène.

I.4.5.7. Conservation

Les yaourts sont réfrigérés et stockés à la température entre 0° et 6°C

I.4.6. Evaluation de la survie des bactéries lactiques dans les différents essais de lait fermenté entreposé à 4°C

Le dénombrement se fait par comptage total des colonies de la flore totale sur un milieu solide gélose MRS dans le premier jour et après une semaine.

Chapitre II

Résultats et discussion

II.1. Analyse physico-chimique du Miel (pH, teneur en eau)

Les résultats obtenus suite à l'analyse du pH et de la teneur en eau de notre échantillon de miel sont illustrés dans le tableau 5.

Tableau 5: Résultat de l'analyse physico-chimique (pH, Teneur en eau)

Paramètres	Miel analysé	Norme <i>Codex Alimentarius</i>	Norme UE
pH	4	3,5 - 4,5 (Miel de nectar) 4,5-5,5 (Miel de miellat)	3,5 - 4,5 (Miel de nectar) 4,5-5,5 (Miel de miellat)
H°(%)	18,4	≤20%	≤20%

H° : Taux d'humidité



Figure 7: Résultat de la mesure de l'indice de refraction du miel (réfractomètre manuel Abbe)

Les miels sont généralement acides, en raison de la présence d'acides organiques. Le pH est un indicateur de l'origine florale du miel. En effet selon les normes du *Codex Alimentarius* la valeur du pH est comprise entre 3,5 et 4,5 pour les miels issus de nectar et entre 5 et 5,5 pour ceux qui sont issus de miellat. La valeur du pH de notre échantillon est de 4. C'est donc un miel de nectar. Un pH faible pour un miel, prédétermine un produit fragile pour la conservation, par contre un miel à pH 5 ou 5,5 se conserve mieux et plus longtemps.

Le teneur en eau de notre échantillon est de 18,6%. Ce paramètre est un critère de qualité important qui permet l'évaluation de son degré de maturité ainsi que sa durée de conservation pendant le stockage (Homrani, 2020). Une quantité d'eau trop élevée provoque la fermentation du miel mais également une perte de sa saveur et de sa qualité, ainsi qu'une accélération la cristallisation. D'un point de vue règlementaire un miel ne doit pas présenter une teneur en eau supérieur à 20% ce qui veut dire que notre échantillon est conforme aux normes en rigueur. Les principaux facteurs de variation du taux d'humidité des miels sont, les conditions climatiques, les mauvaises conditions d'extraction et d'entreposage, le conditionnement de stockage effectué par l'apiculteur ainsi que la saison de la récolte.

II.2. Examen macroscopique

L'observation à l'œil nu des cultures sur gélose MRS a révélé des colonies, de tailles similaires (environ 1,5 mm de diamètre), de forme lenticulaire et de couleur blanchâtre (voir **figure 8**).

Sur le bouillon MRS la souche étudiée présente un trouble homogène qui caractérise le groupe de bactéries lactiques (**Figure 9**).



Figure 8: Observation macroscopique des colonies de *Lactobacillus plantarum* sur milieu MRS



Figure 9: Observation macroscopique de la souche *Lactobacillus plantarum* sur le milieu MRS
A : milieu MRS liquide ; B : *Lb plantarum* dans le milieu MRS liquide après 24h d'incubation

II.3. Examen microscopique

La caractérisation microscopique pour la souche *Lactobacillus plantarum* testée, basée sur la coloration de Gram a révélé des bactéries Gram positif, de formes bâtonnets, courtes, disposées en paires ou isolées (**figure 10**). Cette description confirme les résultats donnés par (Carr *et al.*, 2002).

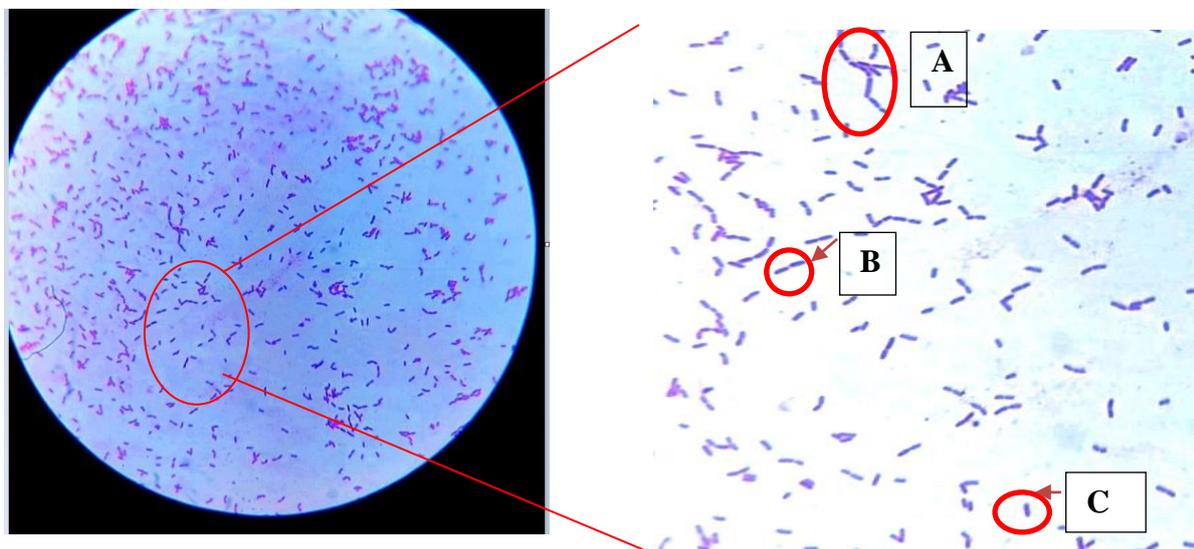


Figure 10: Observation microscopique de *Lactobacillus plantarum* après coloration de Gram (x1000). A: Bacille disposé en courte chaine, B: Bacille disposé en paire, C: bacille isolé

II.4. Test de production de catalase

Ce test a révélé que notre souche est négative pour la réaction de la catalase. (**Tableau 6**)

Tableau 6: Résultats de la pré-identification de la souche *Lactobacillus plantarum*.

Souches <i>Lactobacillus</i>	Test de catalase	Coloration de Gram	Aspects microscopique
<i>Lactobacillus</i>	-	+	Bâtonnets courts, disposés en paires/isolés

Les résultats obtenus de l'examen microscopique et macroscopique ainsi que le test de catalase de la souche étudiée nous confirment son appartenance au genre *Lactobacillus*. (**Tableau 6**)

II.3. Effet de l’ajout du miel dans le lait écrémé sur l’activité acidifiante de la souche *Lactobacillus plantarum*

L’activité acidifiante des souches est l’un des critères technologiques les plus recherchés en technologie laitière (Hassaine, 2013).

Les résultats obtenus du suivi de l’évolution du pH et de l’acidité Dornic au cours de sa croissance sur le lait écrémé enrichi de miel sont résumés dans le tableau 7 et représentés sur les figures 12 et 13.

Tableau 7 : Evolution du pH -Acidité dans le milieu « lait supplémenté de miel » en fonction du temps d’incubation

Milieux	T 0		T 03h		T 06h		T 24h		T 48h	
	°D	pH	°D	pH	°D	pH	°D	pH	°D	pH
Témoin	17	6,30	19	6,27	21	6,10	42	5,22	65	4,44
	$\Delta\text{pH}/\Delta\text{T} = 0,01$									
Lait 0% MG +1% de Miel	18	6,25	22	6,19	23	5,93	65	4,74	80	4,22
	$\Delta\text{pH}/\Delta\text{T} = 0,02$									
Lait 0% MG +5% de Miel	21	6,25	23	6,13	31	5,48	70	4,30	91	4
	$\Delta\text{pH}/\Delta\text{T} = 0,04$									
Lait 0% MG +10% de Miel	30	5,9	32	5,85	41	5,45	76	4,28	85	4,14
	$\Delta\text{pH}/\Delta\text{T} = 0,01$									

Témoin : lait 0% de MG sans miel. MG : Matière Grasse ; Acidité °D

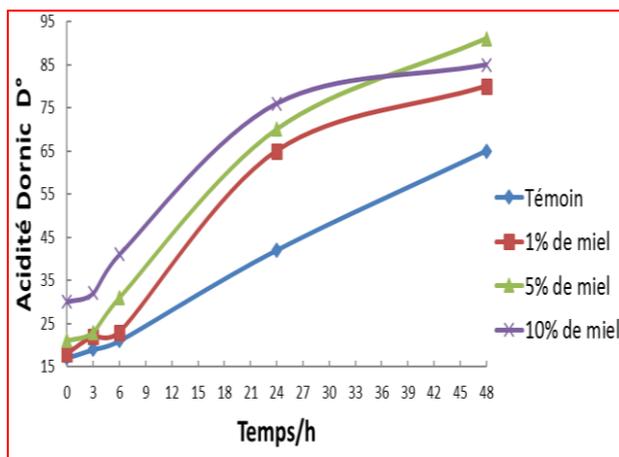


Figure 11: Evolution de l’acidité Dornic des laits supplémentés de miel au cours de la fermentation par la souche *Lactobacillus plantarum*

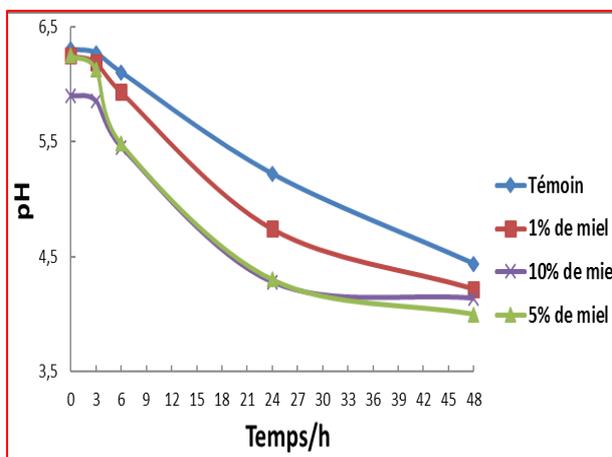


Figure 12: Evolution du pH des laits supplémentés de miel au cours de la fermentation par la souche *Lactobacillus plantarum*

Tout d’abord, nous remarquons que la souche étudiée présente un pouvoir acidifiant, en produisant de l’acide lactique progressivement en fonction du temps. Cette acidification des milieux

« lait écrémé » et « lait conditionné de miel à différentes concentrations » est accompagnée d'un abaissement du pH provoquant une coagulation lactique.

En absence de miel dans le lait le pH est passé de 6,33 à 6,10 après 6 heures de fermentation, en parallèle l'acidité Dornic est passée de 17 à 21°D. Au bout de 24 h d'incubation le pH a diminué atteignant une valeur de 5,22 en parallèle l'acidité Dornic a augmenté (42°D). À la fin de la fermentation c'est à dire après de 48 h d'incubation, le milieu a atteint une valeur de 5,58 pour le pH et de 32°D pour l'acidité. Ainsi, cette souche semble présenter une faible vitesse d'acidification (égale à 0,04 h). Nos résultats sont en accord avec ceux trouvé par Bennatia (2021) qui a révélé que les espèces *Lactobacillus plantarum* sont faiblement acidifiantes. Cependant la recherche menée par Maghnia (2011) a révélé que les lactobacilles présentent une très importante acidification (acidité $\geq 79^{\circ}\text{D}$).

L'ajout de miel dans le lait a modifié l'acidité de ce dernier. En effet, comme il a été dit précédemment le miel est un produit acide contenant des acides organiques et peut donc modifier l'acidité du lait lorsqu'il est ajouté à des concentrations élevées. Selon Badis *et al.* (2004) la différence des propriétés acidifiantes dépend de la spécificité de chaque concentration de miel.

Il semble également que l'ajout de miel aux différentes concentrations (1%, 5% et 10%) a amélioré les performances de la souche *Lactobacillus plantarum* à produire de l'acide lactique. Cependant, le meilleur résultat a été obtenu sur la variante de lait supplémenté avec le miel en proportion de 5% qui a enregistré un abaissement de la valeur du pH allant de 6,25 à 5,48 au bout de 6h de fermentation, soit une vitesse d'acidification de 0,1 h¹, en parallèle l'acidité Dornic a connu augmentation allant de 21°D à 23°D, soit d'une quantité d'acide lactique passant de 2,1 g/l à 2,3g/l. Le pH du lait supplémenté de 1% de miel est passé de 6,25 à 5,93, en parallèle l'acidité est passé de 18°D (1,8 g d'acide lactique/ 1L de lait) à 22°D (2,2g d'acide lactique/ 1L de lait).

Après 24 heures d'incubation, le pH le plus bas a été enregistré pour le lait additionné de 10% de miel avec une valeur de 4,28 ; suivis respectivement du lait supplémenté de 5% de miel (4,30) et celui supplémenté de 1% de miel (4,74). Parallèlement, L'augmentation de l'acidité des différentes variantes de lait était la plus élevée pour le lait additionné de 10% de miel (76°D), suivi de celui additionné de 5% de miel (70°D) et 1% de miel (65°D)

Au bout de 48 heures d'incubation, c'est le lait additionné de 5% de miel qui a enregistré la plus forte activité acidifiante avec une acidité Dornic de 91°D et un pH de 4, suivi respectivement de celui supplémenté de 10% de miel (pH = 4,14 ; 85°D), supplémenté de 1% (pH= 4,22 ; 80°D).

II.4.Effet du miel sur la cinétique de croissance de *Lactobacillus plantarum* au cours de la fermentation.

La figure 13 montre l'évolution de la cinétique de croissance de *Lactobacillus plantarum* dans le lait écrémé reconstitué et le lait additionné de miel à différentes concentrations.

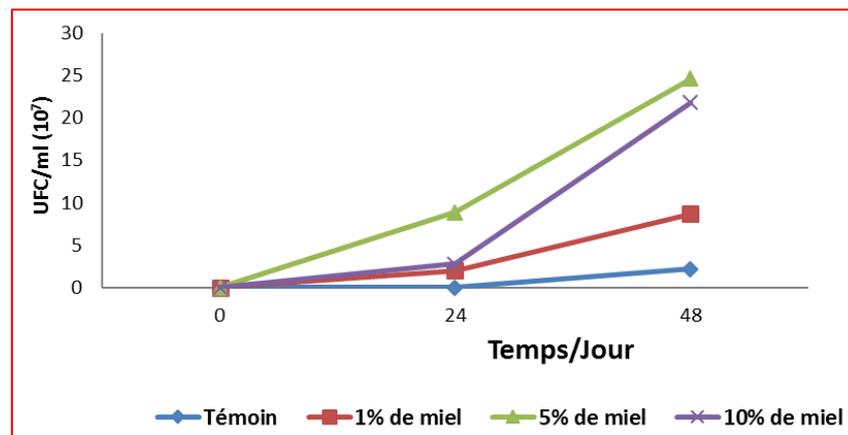


Figure 13: La croissance de *Lactobacillus plantarum* dans le lait écrémé reconstitué et additionné de miel au cours de fermentation.

En absence de miel, la souche *Lactobacillus plantarum* se développe lentement, ainsi le nombre de la biomasse passe de 300.10^2 à 100.10^3 UFC/ml Au bout de 24 heures. Après 48 heures d'incubation le nombre de *Lactobacillus plantarum* était de 220.10^5 UFC/ml.

L'addition du miel au lait a conduit à une meilleure croissance de la souche *Lactobacillus plantarum*. Après 24 heures de fermentation la croissance la plus forte de la souche a été enregistrée dans le lait additionné de 5% de miel avec $8,9.10^7$ UFC/ml, suivi respectivement du lait additionné de 10% de miel ($2,8.10^7$ UFC/ml) et le lait additionné de 1% de miel (2.10^7 UFC/ml). Avec 5% de miel, la quantité de biomasse a atteinte en fin de la fermentation $24,6.10^7$, tandis qu'avec 10% de miel et 1% de miel elles ont atteint respectivement $21,8.10^7$ et $8,7.10^7$. Cependant, on note qu'après 24 heures la vitesse de croissance de la souche cultivée dans le lait additionné de 10% de miel est plus rapide que celle cultivée dans le lait additionné de 1% de miel.

Nos résultats sont en accord avec plusieurs travaux qui rapportent que la croissance et la survie des probiotiques tels que les lactobacilles, dans le lait et dans le tractus gastro-intestinal étaient stimulées par la présence du miel d'abeille (Chick *et al.*, 2001; Kajiwara *et al.*, 2002 ; Ustunol ; Riazi et Ziar, 2008). L'effet stimulateur du miel a été attribué à son contenu en fraction fructo-

oligosaccharides, et cet effet se trouve renforcé par les taux élevés de glucose et de fructose. Selon Kajiwara *et al.* (2002), le miel stimule la croissance des bactéries lactiques tout comme les FOS, les galacto-oligosaccharides (GOS) et l'inuline.

II.5. Evolution de la survie de *Lactobacillus plantarum* dans le lait fermenté entreposé à 4°C

Les résultats de l'évolution de la cinétique de croissance de *Lb. plantarum*, dans le lait écrémé fermenté seul et additionnée de miel conservé à 4°C après fermentation de 72 heures.

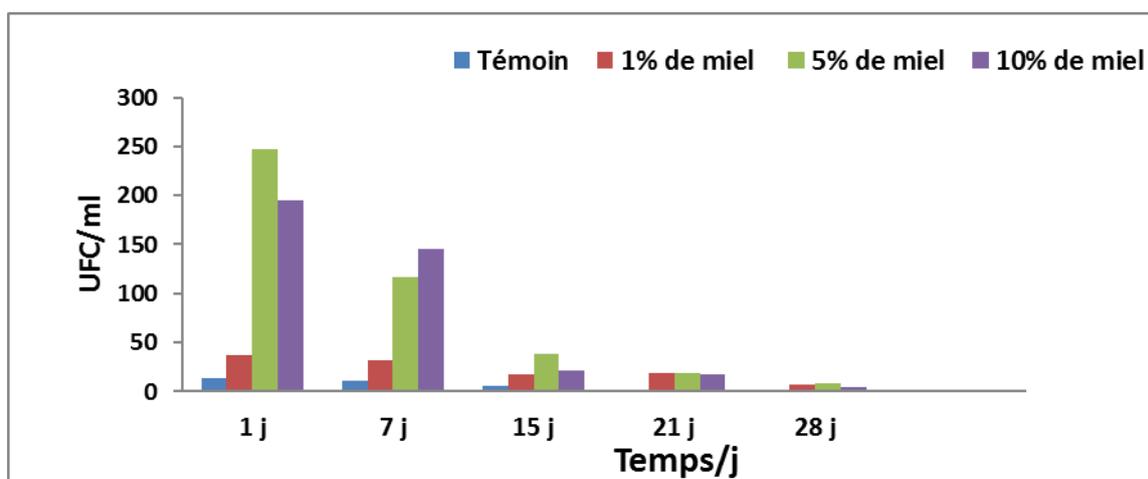


Figure 14: Evolution de la cinétique de croissance de *Lactobacillus plantarum* dans le lait écrémé fermenté seule et additionnée du miel à 4°C

L'ajout de miel dans le lait à des concentrations de (1% %,5%, et 10%) a permis de prolonger la durée de viabilité de *Lactobacillus plantarum* par rapport au lait sans miel. En effet, la souche a perdu toute viabilité dans le lait fermenté sans miel après 21 jours d'entreposage à 4°C, tandis que dans les laits fermentés additionnés de miel la viabilité a été maintenue même après 28 jours d'entreposage. On constate cependant, que dès le premier jour d'entreposage le nombre de *Lactobacillus plantarum* dans les laits fermentés additionnés de miels à différentes concentrations enregistre un nombre plus élevé de colonies que dans le lait fermenté sans miel avec une meilleur croissance de la souche dans le milieu lait fermenté supplémenté de 5% de miel suivis respectivement de ceux supplémentés de 10% et 1% de miel . Après 15 jours d'entreposage, le lait fermenté additionné de 5% de miel a montré le taux de survie le plus élevé.

La conservation frigorifique à +4 °C est utilisée dans le but de garder un nombre minimum de cellules viables et qui est fixé à 10⁵ UFC/ml par la législation (AFSSA, 2005).

II.6. Effet du miel sur l'activité post-acidifiante des laits fermentés par *Lactobacillus plantarum* pendant l'entreposage.

Les résultats obtenus de l'évolution du pH des différentes variantes de laits fermentés par la monoculture *Lb. plantarum*, au cours de l'entreposage 4°C pendant 28 jours sont illustrés dans la figure 15.

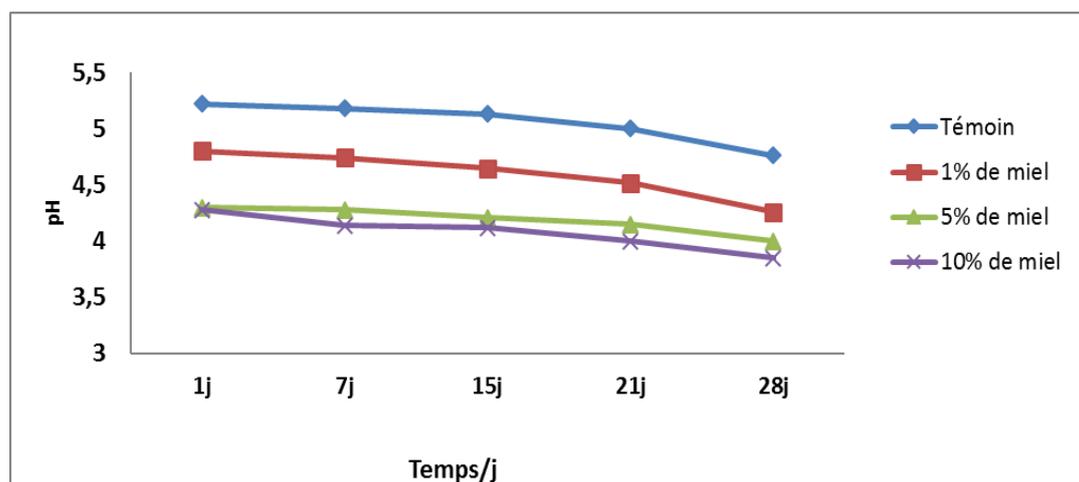


Figure 15 : Evolution du pH dans le lait fermenté par *Lactobacillus plantarum* au cours de l'entreposage à 4°C

Au premier jour d'entreposage on constate que les variantes de laits fermentés additionnés de miel, montrent un pH plus bas par rapport au témoin, avec des valeurs enregistrées de 4,28 pour le lait fermenté additionné de 5% de miel, 4,3 et 4,74 pour ceux additionné respectivement de 5% et 1% de miel. Le pH du lait fermenté sans ajout de miel était de 5,22 au premier jour d'entreposage. Par la suite, le pH des différentes variantes de laits fermentés diminue progressivement avec une faible vitesse d'acidification durant tout le 1^{er}, 7^{ème} et 15^{ème} jours de la post-acidification. Cependant à partir de 15^{ème} jours nous remarquons une accélération dans la vitesse d'acidification du lait fermenté sans miel et celui supplémenté de 1% de qui est passé respectivement durant la dernière semaine d'un pH 5 à 4,76 ; soit une baisse de 0,24 unité, et de 4,24 à 4,52 ; soit une baisse de 0,22 unité, contrairement aux laits fermentés additionné de 5 et 10% de miel qui ont maintenu globalement leurs vitesses d'acidification passant respectivement de 4 à 4,15 et de 3,85 à 4 soit une diminution du pH de 15 unités pour les deux variantes.

Nos résultats, montrent tout d'abord que l'ajout de miel dans le lait entraîne une augmentation de l'acidité du lait fermenté produit. Par ailleurs il semble qu'à des concentrations de 5 et 10%, le miel exerce effet protecteur vis-à-vis de la souche *Lactobacillus plantarum* en évitant une forte

acidification du milieu à partir du 15èmes jours. En effet, afin de maintenir la survie de la souche lactobacille il est important que le pH ne soit pas trop bas. Le pH final du lait fermenté peut affecter la viabilité des souches (Shah, 1995), et selon Vinderola *et al.* (2000), un pH inférieur ou égal à 4,5 compromet la viabilité des microorganismes probiotiques dans les yaourts conservés à +5°C.

D'après Mahaut *et al.* (2000) l'augmentation de l'acidité des laits fermentés est due à la transformation du lactose en acide lactique qui rend le milieu plus acide. Le maintien du lait fermenté de type yaourt à froid n'arrête pas complètement l'activité métabolique bactérienne bien que la production d'acide lactique soit lente (FAO, 2000).

II.7. Expérience de fabrication de différents types de laits fermentés

En raison des résultats obtenus au cours des tests précédents nous avons choisi d'utiliser le lait additionné de 5% de miel pour l'essai de fabrication des laits fermentés. Les résultats obtenus de l'aspect des laits fermentés fabriqués est résumé dans le **tableau 8** et les **figures 17, 18, 19** et **20**.

Tableau 8: Comparaison de l'aspect des échantillons de différentes variantes de laits fermentés

Aspect	Jour entreposage	Yaourt Nature (Sans miel)	Yaourt+ miel	Ferment lactique1	Ferment lactique2
Texture	1 ^{er} jour	Ferme /Lourd	Ferme / Lourd	Ferme/ Lourd	Ferme /léger
couleur		Blanc	beige	Beige	Beige
Texture	7 ^{ème} jour	Ferme	Ferme	Ferme	Cassante
couleur		Blanc cassé	Beige crème	Beige crème	Beige crème

Lb : *Lactobacillus* ; St : *Streptococcus thermophilus* ; Ferment lactique 1 : lait fermenté par 1%*Lb.Plantarum* + 2%*St* et additionné de miel ; Ferment lactique 2 : lait fermenté par 5% *Lb. plantarum* additionné de miel

La texture est ferme au 1^{er} jour, ceci s'explique par le fait que la fermentation est arrivée à son stade final. Les différents laits fermentés fabriqués présentent globalement le même aspect ; l'ajout de miel n'a pas modifié l'aspect du yaourt mis à part un léger changement de couleur. De même, le remplacement de la souche *Lb bulgaricus* par une souche probiotique *Lb Plantarum* n'a pas influencé sur l'aspect du produit fini ce qui suggère la possibilité d'utiliser cette souche pour la fabrication de ferments lactique fonctionnel.

Durant la 1^{ère} semaine de conservation, le produit a présenté une bonne texture. Cependant l'essai de fabrication d'un lait fermenté par la monoculture *Lactobacillus plantarum* seul et à base de miel a donné un produit cassant et un peu léger d'où la nécessité de l'utiliser en culture mixte avec une autre bactérie lactique.

II.8. Evolution de la survie des bactéries lactiques dans les différents essais de lait fermenté entreposé à 4°C

Les résultats du suivi de l'évolution de la cinétique de croissance des souches lactiques dans les différents essais de laits fermentés seul et additionnée de 5% de miel au cours de conservation à 4°C sont illustrés dans **la figure 16**.

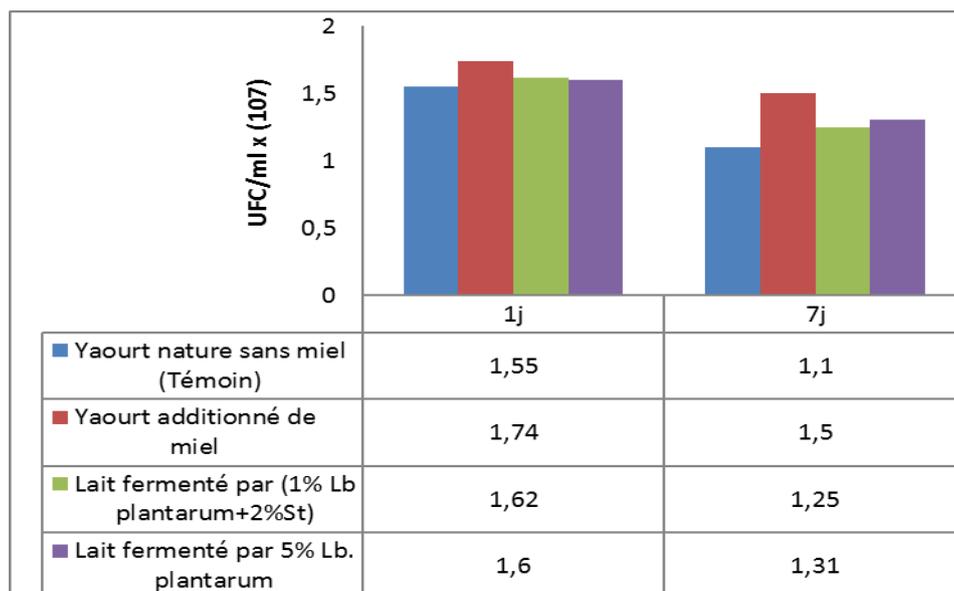


Figure 16: Evolution de la cinétique de croissance des souches lactiques pendant une semaine dans le yaourt seul et conditionné de miel au cours de conservation.

Il apparaît que la charge totale de la flore lactique soit plus importante dans les laits fermentés additionnés de miel que dans le yaourt nature « sans miel ». Le Yaourt supplémenté de miel enregistre le plus grand nombre de bactéries lactiques avec $1,74 \cdot 10^8 \text{Log UFC/ml}$, suivi du lait fermenté par la culture mixte (*St et Lb Plantarum*) et additionné de miel avec $1,62 \cdot 10^8 \text{Log UFC/ml}$, l'échantillon de lait fermenté par la monoculture *Lactobacillus plantarum* et enrichi de miel $1,6 \cdot 10^8 \text{Log UFC/ml}$. Le nombre de colonies pour le yaourt nature « sans miel » était de $1,55 \cdot 10^8 \text{Log UFC/ml}$ au premier jour d'entreposage. Ces résultats confirment l'effet prébiotique du miel exercé sur les souches lactiques.

Après 7 jours d'entreposage on note une diminution progressive de cette population dans l'ensemble des échantillons de laits fermentés. Cependant, le taux de viabilité diffère d'un échantillon à un autre, le yaourt additionné de miel a montré le taux le plus élevé (86,20%), suivi respectivement du lait fermenté par la souche *Lactobacillus plantarum* (77,16%), lait fermenté par la culture mixte (*S. thermophilus et Lb Plantarum*) et enfin le yaourt sans miel (70,96%).



Figure 17: yaourt nature (sans miel)

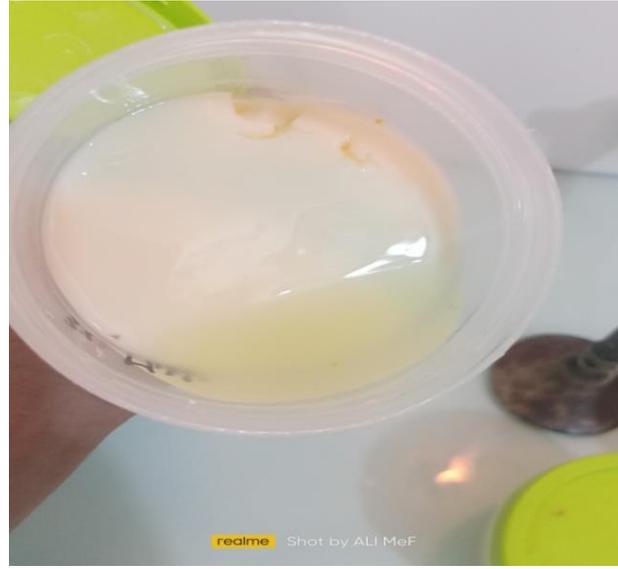


Figure 18: Yaourt additionné de miel



Figure 19: Lait fermenté par 5% Lb

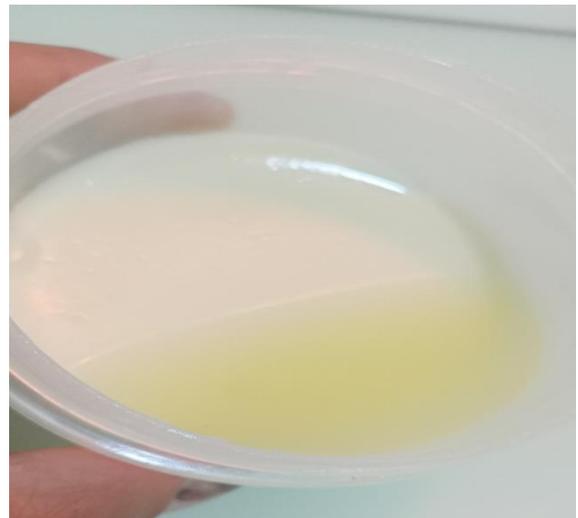


Figure 20: Lait fermenté par 2% St + 1% *Lb. plantarum*

Conclusion

Le miel a très souvent été utilisé en industrie laitière uniquement pour optimiser la saveur des produits laitiers, cependant, il a été constaté dans certaines études que le miel exerce des effets prébiotiques sur les souches lactiques des produits laitiers.

L'objectif de notre étude était d'évaluer l'influence du miel sur les souches lactiques pendant et après la fermentation. Par ailleurs, nous avons fait des essais de fabrication de différents variant de laits fermentés enrichi ou pas de miel.

Pour commencer nous avons évalué l'influence de l'ajout de miel à différentes concentration (1%, 5% et 10%) dans le lait sur la croissance, l'activité acidifiante d'une souche probiotique « *Lactobacillus plantarum* » au cours de la fermentation. Nous avons ensuite préparé 3 types de levains pour la fabrication de différents variant de lait fermentés enrichi de miel. Le levain A était constitué d'un ferment de culture mixte *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* à raison de 3%, Le Levain B, était constitué d'une culture mixte de *Streptococcus thermophilus* (2%) et *Lactobacillus plantarum* (1%), et le levain C, était constitué d'une culture *Lactobacillus plantarum* à raison de 5%. Et enfin, nous avons évalué l'influence du miel sur la viabilité des différentes souches lactiques après fermentation.

L'incorporation de miel, qui est un produit acide, dans le lait a entraîné une augmentation de l'acidité de ce dernier. Plus la concentration du miel ajouté est élevé plus le lait s'acidifie.

Par ailleurs, le miel et particulièrement lorsqu'il est ajouté à une concentration de 5% dans le lait à clairement influencé positivement sur La croissance, le pouvoir acidifiant au cours de la fermentation, de la monoculture *Lactobacillus plantarum*. De plus, il a exercé un effet protecteur vis-à-vis des souches lactiques testées en empêchant une forte acidification des laits fermentés au cours de l'entreposage ce qui a permis l'augmentation du leur taux de survie et de prolonger leurs viabilité au fil du temps.

Selon les levains utilisés, nous avons obtenu quatre variant de laits fermentés fonctionnels (un yaourt nature exempte de miel, un yaourt additionné de miel, un lait fermenté additionné de miel fabriqué à partir d'un levain composé de 2% *Streptococcus thermophilus* et 1% *Lactobacillus plantarum* et enfin, un lait fermenté additionné de miel et fabriqué à partir d'un levain composé de 5% *Lactobacillus plantarum*. L'ajout de miel n'a pas eu d'influence négatif sur l'aspect du yaourt, cependant, il a permis d'avoir un yaourt plus riche en flore lactique et à maintenir la viabilité de ces derniers lors de l'entreposage plus longtemps par rapport au yaourt nature (sans miel). Le

remplacement de la souche *Lb. bulgaricus* par la souche *Lb. plantarum* n'a pas eu non plus d'influence négative sur l'aspect du produit fini et a permis d'obtenir un lait fermenté fonctionnel.

En conclusion, nous pouvons dire que le miel présente des effets prébiotiques sur les bactéries lactiques tels que *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* lorsqu'il est ajouté dans le lait à des concentrations appropriées, de plus il ne modifie pas l'aspect du produit fini lors de la fermentation ce qui en fait un excellent ingrédient d'intérêt pour l'industrie laitière.

Annexes

Annexe A: Composition des milieux de culture.

➤ Milieux solides :

Gélose MRS. Lactobacilles	

Extrait de levure	2.5g
Extrait de viande	5g
Peptone	5g
Glucose	5g
Tryptone.....	6g
Agar.....	15g
Tween80	1 ml
Eau distillée q.s.p	1000 ml
pH = 5.5 à 26°C	
Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min.	

Annexe B : Réactifs, milieux de cultures, appareillage et petit matériel**Tableau 1 :** liste des réactifs et milieux de culture utilisés

Réactifs	Milieux de culture
Alcool iso amylique	Bouillon d'eau peptonnée tamponnée (EPT)
Eau distillée	MRS
Ethanol	
Hydroxyde de sodium (NaOH)	
Phénolphtaléine	

Tableau 2: appareillage et matériel utilisés

Appareillage	Petit matériel
Agitateur magnétique	Béchers
Autoclave	Boite de Pétri
Balance analytique	Burette graduée
Bec Bunsen	Eprouvette
Dessiccateur	Pipettes graduée
Etuve	Spatules
pH-mètre (LOVIBOND)	Tubes à essais
Thermomètre électronique	
Réfractomètre	

Annexe C: Détermination de l'acidité titrable

Solutions

- Solution de phénolphtaléine à 1% ;
- Solution de soude (NaOH 0.111N).

Mode opératoire

Un volume de 10 ml du lait est prélevé comme échantillon. Ajouter 3 à 4 gouttes de phénolphtaléine, puis titrer par la solution de l'hydroxyde de sodium (NaOH 0.1N) jusqu'à

L'apparition du virage de la couleur rose pale. Quand la couleur persiste au moins 10 secondes,

Arrêter l'ajout de la soude et lire la chute de la burette.

Expression des résultats

Le résultat est exprimé en °D : 1 °D correspond à 0,1 g d'acide lactique, elle est Donnée par la formule suivante :

$$A (°D) = V .10$$

Où :

A (°D) : Acidité titrable en degré Dornic (°D).

V : volume en ml de la solution sodique utilisée pour le titrage.

Annexe D:

- Lait écrémé en poudre utilisé dans cette étude

Code de produit GTIN 6132504870088

Nom de marque KHAWA

Pays d'origine Algérie

Entreprise d'origine LIKO

**Annexe E:**

- Miel utilisé

Lieu de prélèvement SIDI ALI Mostaganem

Date de prélèvement Juillet 2021

Source nourriture Eucalyptus et pénéis

pH 4

Couleur jaune

Teneur en eau 18,4



Annexe F:

Tableau de CHATAWAY

Indice de réfraction à 20 °C	Teneur en eau g/100 g	Indice de réfraction à 20 °C	Teneur en eau g/100 g
1.5044	13.0	1.4880	19.4
1.5038	13.2	1.4875	19.6
1.5033	13.4	1.4870	19.8
1.5028	13.6	1.4865	20.0
1.5023	13.8	1.4860	20.2
1.5018	14.0	1.4855	20.4
1.5012	14.2	1.4850	20.6
1.5007	14.4	1.4845	20.8
1.5002	14.6	1.4840	21.0
1.4997	14.8	1.4835	21.2
1.4992	15.0	1.4830	21.4
1.4987	15.2	1.4825	21.6
1.4982	15.4	1.4820	21.8
1.4976	15.6	1.4815	22.0
1.4971	15.8	1.4810	22.2
1.4966	16.0	1.4805	22.4
1.4961	16.2	1.4800	22.6
1.4956	16.4	1.4795	22.8
1.4951	16.6	1.4790	23.0
1.4946	16.8	1.4785	23.2
1.4940	17.0	1.4780	23.4
1.4935	17.2	1.4775	23.6
1.4930	17.4	1.4770	23.8
1.4925	17.6	1.4765	24.0
1.4920	17.8	1.4760	24.2
1.4915	18.0	1.4755	24.4
1.4910	18.2	1.4750	24.6
1.4905	18.4	1.4745	24.8
1.4900	18.6	1.4740	25.0
1.4895	18.8		
1.4890	19.0		
1.4885	19.2		

Références bibliographiques

- **Ait Lounis, Lydia. (2012).** Comparaison des caractéristiques physiques, polliniques, microbiologiques organoleptiques de quelques miels locaux et ceux d'importation commercialisés, Mémoire d'Ingénieur d'Etat en Sciences Agronomiques spécialité Technologie Alimentaire, Université de Mouloud MAMMERI de Tizi-Ouzou.
- **AFSSA (Agence Française de la Sécurité Sanitaire des Aliments),** Effets des probiotiques et prebiotiques sur la flore et l'immunité de l'homme adulte. X. Quelles perspectives d'application des futurs probiotiques génétiquement modifiés(2005).
- **Anonyme, (2001).** Codex Alimentarius. Projet de norme révisée pour le miel, Codex stan 12-1981, Rev. 1(1987), Rev, 2(2001).µ
- **Anonyme, (2020).** ZOOM SUR LES PROPRIETES THERAPEUTIQUES DU MIEL-MAISON FEDON, (en ligne), *Propriétés prébiotiques et digestives*, disponible sur [https://www.maison-fedon.fr/b_log / zoom-sur-les-proprietes-therapeutiques-du-miel]
- **Aubert M., Faucon J.,Chauzat P.(2008).** Enquête prospective multifactorielles: influence des agents microbien de et parasites, et des résidus pesticides sur le devenir de colonies des abeille domestique en condition naturel. Agence Française de sécurité sanitaire des aliments ,18,35-37.
- **Azhar M, Hasan .A., Lubna. M.I. E. (2015).** Effect of lactic acid producing bacteria on some potential pathogens in sausage. Assiut Vet. Med. J, 61, 144.
- **Badis A, Guetarni D, Moussa BB, Henni DE et Kihal M. (2004).** Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. Food Microbiol. 21, 579-588.
- **Balas F. (2015).** Les propriétés thérapeutiques du miel et leurs domaines d'application en médecine générale : revue de la littérature [Thèse]. Nice: Université Nice Sophia Antipolis;
- **Benadi, R. (2012).** Etude de l'Effet Antagoniste d'une Souche Lactique S93 (*Lactococcus lactis subsp lactis*) Vis-à-vis des Bactéries Nuisibles, Mémoire de Master, Option : Microbiologie, Université Abou Bekr Belkaïd – Tlemcen, p.9.
- **Bergamaier, 2002.** production d'exopolysaccharides par fermentation avec des cellules immobilisées de *lactobacillus rhamnosus* RW-959M dan un milieu a base de permeat de lactosérum. Thèse De Doctorat, Université de Laval ,Canada.
- **Bernier, L. 2010.** Les probiotiques en 2010 : une revue de la littérature. 2010. Thèse Pharm: Université d'Angers, 166.
- **Bogdanov S., Bieri K., Gremaud G., IFF D., Kanzig A., Seiler K., Stockli H. et Zurcher K., 2003 -** Produits Apicoles. 23 A Miel, 1-37.
- **Boudier J.F. (1990).** Produits frais In lait et produits laitiers. Vache-Brrebis-Chevre.Vol II. Luquet. F.M. *Techniques et Documentation*, Lavoisier (Ed) Paris. 39-56.
- **Boukraâ, Laïd. (2010).** Honey in Traditional and Modern Medicine, CRC Press, 26-32. ISBN, 978-1-4398-4016-0.
- **Boullouf, A. (2016).** Etude du Pouvoir Technologique de Quelques Bactéries Lactiques du Fromage

- Traditionnel "Bouhezza", Thèse de Magister, Université des Frères Mantouri, Constantine, Département de Technologie Alimentaire, p.20, 22, 23.
- **Buist, G., Venema, G., Kok, J. 1998.** Autolysis of *Lactococcus lactis* influenced by proteolysis. *Journal of biotechnology*. N° 22: 5974-5953.
 - **Butel, M. J. 2014.** Les probiotiques et leur place en médecine humaine. *Journal des Antiinfectieux*, 16(2), 33-43.
 - **Carole L et Vignola, 2002.** Science et technologie du lait : transformation du lait. *Edition : Presses internationales. Polytechnique, Canada.* 603p.
 - **Cerning J., Bouillane C., Desmazeaud M., Landon M., 1986.** Isolation and characterization of exocellular
 - **Code Alimentarius**, normes alimentaires internationales, normes générales pour les additifs alimentaires, codex Stan 192-1995. P26.polysaccharide produced by *Lactobacillus bulgaricus*. *Biotechnol. Letters*, 9, 625.
 - **Courtin P., Monne M. & Rul F., 2002.** Cell- wall proteinases PrtS and Prt B have a different role in *Streptococcus thermophilus* / *Lactobacillus bulgaricus* mixed cultures in milk. *Microbiology*, 148, 3413-3421.
 - **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.
 - **Chik et al., 2001**, Growth and acid production by lactic acid bacteria and bifidobacteria in skim milk containing honey, *Journal of Food Science*, 66 (2001) 478-481.
 - **Dave R.I. and Shah N.P., 1997.** Effectiveness of ascorbic acid as an oxygen scavenger in improving viability of probiotic bacteria in yoghurts made with commercial starter cultures. *International Dairy Journal*, 7 pp : 435-443.
 - **David, B. (2010).** Etude de la prise en charge ambulatoire des infections cutanées communautaires à staphylocoque doré, Denis Diderot. Doctorat: 61.
 - **De Roissart, H., Luquet, F.M. 1994.** Les bactéries lactiques. *Uriage, Lorica, France*, 1 : 1- 286 pharmaceutiques. Éditions Médicales Internationales, Lavoisier 476 p.
 - **Dellaglio F., De Rossart H., Curik M. & Janssens D., 1994.** Caractérisation générale des bactéries lactiques. *Techniques et Documentation. Lactiques. Lait*, 63 , 267-316.
 - **Desmazeaud M (1996).** Les bactéries lactiques dans : L'alimentation humaine : utilisation et innocuité. *Cahiers Agricultures*, 5, pp: 331-343.
 - **Devoyod, J.J. et Poullain F (1988).** Les *Leuconostoc* propriétés : leur rôle en technologie laitière. *Revue Le lait*, 68 (3), pp: 249-280.
 - **Doan.T. L. (2011).** Identification et Caractérisation des Déterminants Physicochimiques et Biologiques mis en jeu dans l'Adhésion de *Lactococcus lactis* à la Mucine Modèle PGM, Thèse de Doctorat, Spécialité : Microbiologie et Biocatalyses Industrielles, Université de Toulouse, page 9.
 - **Doi, L , et al (2011).** Identification et Caractérisation des Déterminants Physicochimiques et Biologiques mis en jeu dans l'Adhésion de *Lactococcus lactis* à la Mucine Modèle PGM, Thèse de Doctorat, Spécialité :

Microbiologie et Biocatalyses Industrielles, Université de Toulouse, p.9.

- **DROUAULT, S. G. C. (2001)**. Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés sur la santé. *Veterinary Research, BioMed Central*, 32 (2), 101-117.
- **Duwat P.Ehrlichs.DandGruss A (1995)**. The rec A gene of *Lactococcuslactics*.Characterisation and involvement in oxidative and thermal stress.*Mol. Microbiol* 17 p.: 1121-1133.
- **Elfahri, K. (2012)**. Release of bioactive peptides from milk proteins by *lactobacillus speccies*, school of biomedical and health science. Doctorat: 133.
- **FAO, 7/10/1998** : Arrêté interministériel relatif aux spécifications techniques des yaourts et aux modalités de leur mise à la consommation ; journal officiel de la république algérienne n°86, 18novembre 1998, p22 et 23.
- **FAO, (2004)** : le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine.
- **FAO/OMS (2000)** : « codex alimentarius » volume 11, lait et produit laitier. Rome.
- **FAO/WHO. 2002**. Report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. In Guidelines for the evaluation of probiotics in food. London, Ontario, Canada, pp.1-11.
- **Farah Z (1996)**. Camel Milk Properties and products. Swiss Centre for Development Cooperation in Technology and Management, SKAT, Switzerland.
- **Farnworth E.R., 2008**. Kefir: from folklore to regulatory approval. *Journal of Nutraceuticals Functional and Medical Foods*, 1 pp : 57-68.
- **Fatma Z. (2015)**. La sélection des souches des bactéries lactiques protéolytiques isolées à partir d'un produit laitier fermenté artisanale a basse de lait de vache « j'ben ». Kasdi MerbahOuargla. Master: 78.
- **Gosta, 1995**. Lait long conservation. In manuel de transformation du lait. Ed : Tétra PacksProcessing Systems A.B, Sweden.442p.
- **Guiraud J., 1998**. Microbiologie Alimentaire, Edition Dunod, Paris.652 P.
- **Guyot A, (1992)**. Les yaourts DLC food. Tec.
- **Hassaine O, (2013)**. Caractéristiques d'intérêts technologiques de souches de bactéries lactiques isolées de lait camelin du sud algérien. Thèse de doctorat en biotechnologie : l'université d'Oran-Essenia, p. 57-102.
- **Holzappel, (2014)**. Taxonomy and Important Features of Probiotic Microorganisms in Food and Nutrition. *Am J Clin Nutr* 2001 Feb;73(2 Suppl) :365S-373S.
- **Homrani M. (2020)**. Caractérisation physico-chimique, spectre pollinique et propriétés biologiques de miels algériens crus de différentes origines florales. Thèse de doctorat. Univ Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem. P253.
- **Hoyet C. (2005)**. Miel : de la source à la thérapeutique [Thèse]. Nancy: Université Henry Poincaré Nancy I; immunologique le paradoxe. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20 : 85–9.
immunologique le paradoxe. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20 : 85–9.

influenced by proteolysis. *Journal of biotechnology*. N° 22: 5974-5953.

- **Jayamanne V. S. and Adams M. R., 2006.** Determination of survival identity and stress resistance of probiotic bifidobacteria in bioyoghurts. *Letters in Applied Microbiology*, 42(3) pp: 189-194.
- **Karl Von Frisch. (2011).** Vie et moeurs des abeilles, Edition Albin Michel, 22 rue Huyghens, 75014 Paris. ISBN : 978-2-226-1872-7. ISSN : 0298-2447.
- **Klaen et al , 1998.** Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.*12:39-85.
- **Kwakman P.te Velde A de Boer L , et al, (2010)** How honey kills bacteria. *FASEB J* ;24:2576e2582
- **LABIOUI, H ., L. E., EL yachioui.M , Ouhsine, M., (2005).** Sélection de souches de bactéries lactiques antibactériennes. *bull. soc. pharm. bordeaux*, 144, 237-250. *lactobacilli in cheese. Journal of dairy research*, 25, 431-438.
- **Lairini, S., Bouslamti, N. B., Belkhou, R ., Zerrouq,F, (2014).** Isolement des bactéries lactiques à partir des produits laitiers traditionnels Marocains et formulation d'un lait fermenté proche du Kéfir. *Afrique SCIENCE*, 10(4), 267-277.
- **Lamoureux L., (2000).** exploitation de l'activité β -galactosidase de culture de bifidobacteries en vue d'enrichir des produits laitiers en galacto-oligosaccharides . Mémoire de maitrise, Université de Laval , Canada.
- **Larpent et Bourgeois C.M., 1989.** Les bactéries lactiques, Les microorganismes de fermentations.
- **Larpent.J.P, 1990.** Les bactéries lactiques. *International journal of systematique bacteriology* p3-9.
- **Lequet L. (2010) .** Du nectar à un miel de qualité : contrôles analytiques du miel et conseils pratiques à l'intention de l'apiculteur amateur [Thèse]. Lyon: Université Claude-Bernard Lyon I ;
- **Loones A., 1994** Laits fermentés par les bactéries lactiques. *In : Bactéries lactiques. Vol II.* De Roissart, H. et Luquet, F. M., Loriga, Paris, France. pp. 37 -151.
- **Luquet F.M et Correiu.G. (2005).** Bactériocines de Bactéries lactiques. In: « Bactéries lactique et probiotiques ». TEC 1 DOC éd., Paris. France. pp. 113-194
- **M.L.Desjardins,D. Roy, et al., (1991)** Goulet, β -Galactosidase and proteolytic activities of bifidobacteria in milk:A preliminary study, *Milchwissenschaft* (1991), 46(1), 11–13.
- **Macfarlane, H. S. S. (2009).** Mechanisms of prebiotic impact on health. *Prebiotics and maladies inflammatoires intestinales. Revue médicale suisse*, (352), 1674.
- **Mahaut M., 2000.** Les produits industriels laitiers. Ed. Tec et Doc Lavoisier.26-40pp
- **Mahaut M, Jeantet R, Brule G. 2000.** Initiation à la Technologie Fromagère. TEC & DOC Lavoisier : Paris ; 194 p. Martin P, Raymond MN, Bricas E, RibadeauDumas B.1980. Kinetic studies on the action of *Mucor pusillus*, *Mucor meihei* acid protease and chymosins A and B on a synthetic chromophoric hexapeptide. *Biochemica Biophysica Acta*, 612: 410- 420.

- **Makhloufi A., 2010.** Etude des activités antimicrobienne et antioxydants de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Mémoire de obtenir le grade de doctorat d'état en biologie
- **Maghnia, D. 2011.** Etude de potentiel technologique des bactéries lactiques isolées des aliments fermentés traditionnels algériens. Mémoire de magister en microbiologie alimentaire. Université d'oran-es-senia. 126p
- **Marshall VM., Cole W.M., 1983.** Threonine aldolase and alcohol dehydrogenase activities in *Lb. blgaricus* and *Lb. bulgaricus* and their contribution to flavor production in fermented milks. *J.Dairy Res.*50 (3) ,37
- **Marty - Taysset C. De La Torre F. And Garel. J.R., 2000.** Increased production of hydrogen peroxide by *lactobacillus delbruekii ssp bulgaricus* upon aeration : involvement applied and Environmental Microbiology ,66(1). 262-267.
- **Molan Pc. (1992).** The antibacterial activity of honey .I. The nature of antibacterial activity .Bee World, 73.(1), pp5-28.
- **Ngouno C., Ndjouenkeu R., Mbofung F. & Noubi I., 2003.** Mise en évidence de la biodisponibilité de calcium et de magnésium au cours de la fermentation du lait par des bactéries lactiques isolées du lait caillé du Zébu. *Journal of food Engineering.*57, 301-307.
- **Oliviera M. N. and Damim M. R., 2003.** Efeito do teor de sólidos e da concentração de sacarose na acidificação, fermezae viabilidade de bactérias do iogurte e probióticas em leite fermentado. *Ciência e Tecnologia d'Alimentos*, 23 pp: 172–176.
- **Paci-kora, (2004).**Interaction physico-chimiques et sensorielles dans le yaourt brassé aromatisé, quels impacts respectifs sur les perceptions de la texture de la saveur. Institut national agronomique Paris-Grignon p25.
- **Riazi et Ziar, (2008) :** Croissance et viabilité des Bifidobactéries dans le lait écrémé additionné de miel d'abeille. univer Mosta.
- **Roussel Y., Pebay M., Guedon G., Simonet J.P. And Decarisnb.,1994.** Physical and genitic map of streptococcus thermophylus ao54. *Journal of bactériology.* 176(24).7413 7422.
- **Sana H.(2017).** Etude des propriétés physico-chimiques et antioxydantes du miel soumis au vieillissement accéléré [Mémoire]. Bejaia: Université Abderrahmane Mira de Béjaïa;
- **Savado, A. Ouattara1, C.A.T. Savado, P.W. Ouattara1, A.S. Barro, N.,Traore, A.S. 2004.** Microorganisms Involved in Fulani Traditional Fermented Milk in Burkina Faso. *Pakistan Journal of Nutrition* 3 (2): 134-139.*speccies*, school of biomedical and health science. Doctorat: 133.
- **SchmidT J., Tourneur C.et Lenoir J., 1994.** Fonction et choix des bactéries lactiques laitières. In bacteries lactiques . pp.37-46. De R oissart, H. et Luquet, F .M., II ,Loria,paris.
- **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.
- **Sveje M, 2007.** Probiotics and prebiotics improving consomur health through food consumption. *Nutracos*, sept/oct : 28-31.

- **Tamime A.Y., Saarela M., Sondergaard A.K., Mistry V.V. et Shah N.P., 2005.** In: Tamime, A.Y.(Ed.), Production and maintenance of viability of probiotic microorganisms in dairy products. : Probiotic Dairy Products. Blackwell Publishing Ltd., Oxford, UK.39–72. Tellia M., Boudjeh S., Siboukeur O.E.K. et Moulti-Mati F. 2010.
- **Talwalkar A., Miller C. W., Kailasapathy K. and Nguyen, M. H., 2004.** Effect of packaging materials and dissolved oxygen on the survival of probiotic bacteria in yoghurt. *International Journal of Food Science and Technology*, 39 (6) pp: 605-611.
- **Vignola C.I. (2002).** Science et technologie du lait: transformation du lait. Ed. Lavoisier, Paris, 600p.
- **Vinderola C.G., W. Prosello, D. Ghiberto, et J.A. Reinheimer,** Viability of probiotic (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei*) and non probiotic microflora in Argentinian fresco cheese, *Journal of Dairy Science*, 83 (2000) 1905–1911.
- **Z. ustunol, et H. Gandhi, (2001)** Growth and viability of commercial *Bifidobacterium* spp in honey sweetened skim milk, *Journal of Food Protection*, , 64(11): 1775-1779.

Références électroniques

- **Anonyme, (2020).** ZOOM SUR LES PROPRIETES THERAPEUTIQUES DU MIEL-MAISON FEDON, (en ligne), *Propriétés prébiotiques et digestives*, DISPONIBLE SUR [https://www.maison-fedon.fr/b_log/zoom-sur-les-proprietes-therapeutiques-du-miel]