

République Algérienne Démocratique et Populaire

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



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

M^{elle} BERRADIA AMOURIA

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité: Microbiologie Fondamentale et Appliquée

THÈME

*Isolement, purification et
identification des bactéries lactiques
à partir de lait cru de chèvre*

Soutenue publiquement le 05/10/2016

DEVANT LE JURY

Président M. CHERIGUENE. A

Encadreur Mme CHOUGRANI. F

Examineurs M^{elle} ZER GOUG. A

Professeur U. Mostaganem

Professeur U. Mostaganem

Doctorante U. Mostaganem

Thème réalisé au Laboratoire de Microbiologie Appliquée, université de Mostaganem

Remerciements:

J'adresse en premier lieu ma reconnaissance à notre DIEU tout puissant, de m'avoir permis d'en arriver là, car sans lui rien n'est possible.

Je remercie vivement, mon encadreur madame CHOUGRANI .F, pour avoir accepté de m'encadrer et d'assurer la direction de ce travail, et pour m'avoir apporté la rigueur scientifique nécessaire à son bon déroulement, qu'il soit rassuré de ma profonde gratitude.

Je tiens à remercier :

Monsieur le professeur CHERIGUENE. A, de m'avoir fait l'honneur de présider mon jury de mon mémoire.

M^{elle} ZERGOUG. A, d'avoir accepté de faire partie du jury et d'examiner ce modeste travail.

L'ensemble des enseignants de l'université Abdelhamid ben Badis de Mostaganem qui ont contribué à ma formation durant les 5 années particulièrement ceux de l'option biologie chacun son nom.

Toute personne qui m'a aidé de loin ou de près afin de réaliser ce travail.

Le plus grand merci à mes parents, mes sœurs et mes frères, ma famille, mes amis et mes camarades de promotion.

Enfin, je ne saurais oublier d'exprimer toute ma sympathie à l'ensemble du personnel de laboratoire de Microbiologie surtout Hafida et Mohamed.

Dédicace :

Je dédie ce travail :

A celle qui attend mon retour a chaque jour

A ma mère: Affable, honorable, aimable : tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence. La source de tendresse aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner.

A mon père : Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être et qui m'a toujours encouragée et donné en vie d'aller plus loin.

A mon très cher frère Rachid et sa femme kamilia

A mon très chère frère Mohamed

A mes très chères sœurs (Nadia, Nabila, Hakima, Leila)

Et sans oublier celle qui m'a été d'une aide précieuse Monira et Rania et mes collègues Amina et Hajjar que je respecte et à qui je souhaite une bonne réussite.

A tous mes amis de la promotion de l'année 2016,

A toute la promotion microbiologie fondamentale et appliquée chacun par son nom en particulier.

Résumé :

Les bactéries lactiques ont acquis une grande importance par leur présence dans l'industrie agro alimentaire et ce depuis longtemps.

L'isolement des souches lactiques à partir de trois échantillons de lait cru de chèvre provenant de trois régions situées dans la wilaya de Mostaganem, nous a permis d'obtenir 20 souches à Gram positif et catalase négatif.

Pour l'identification des espèces, nous sommes basés sur les tests suivants : Croissance en présence de NaCl : 6,5% ; croissance en à pH=5, pH=6.5 et pH 9.6 ; test de croissance des différentes températures (22C°, 30C°, 45C°) ; étude de la thermorésistance ; test de croissance en milieu lait de Sherman ; test d'hydrolyse de l'arginine (ADH) ; test de production d'acétoine; test de type fermentaire. Le test de fermentation des sucres en utilisant la galerie Api 20 Strep a permis d'identifier 20 isolats. Ces isolats ont été affiliés à sept genres bactériens comme suit :

Lactobacillus delbrueckii (6)

Lactobacillus fermentum (2)

Streptococcus thermophilus (1)

Streptococcus mitis (4)

Enterococcus durans (4)

Lactococcus lactis subsp lactis biovae diacetylactis (2)

Pediococcus faecalis (1).

Les résultats des tests technologiques des souches sont satisfaisants en vue une utilisation dans l'industrie alimentaire. Les souches étudiée présente a bon pouvoir protéolytique. Cependant, elles ne produisent pas du dextrane sur milieu MSE. Les souches ont une cinétique de croissance et d'acidification dans le lait écrémé à 37°C.

Mots clés : bactéries lactiques, lait cru, chèvre, caractérisation phénotypiques et technologiques.

الملخص:

اكتسبت بكتيريا حمض اللاكتيك منذ القدم أهمية كبيرة من خلال استخدامها في المصانع الغذائية.

عزل بكتيريا حامض اللاكتيك من خلال ثلاث عينات من حليب الماعز غير الطازج مأخوذة من ثلاث مناطق موجودة في ولاية مستغانم (خير الدين، عشعاشة، سيدي علي) قد سمح لنا بالحصول على 20 سلالة موجبة الصيغ جرام و سالبة الكاتلاز.

من اجل تحديد السلالات، نعتمد على الاختبارات التالية: النمو في وسط يحتوي على كلوريد الصوديوم بتركيز 6.5 %، النمو في درجات حموضة 5،6.5،9.5 و اختبارات نمو في درجات حرارة مختلفة 22 و30 و45 درجة مئوية، دراسة المقاومة الحرارية، اختبار النمو في المتوسط حليب شيرمان، اختبار تحلل الأرجنين، إنتاج الاستوان، اختبار نوع التخمير اختبار تخمر السكريات باستخدام معرض سمح لنا بتحديد 20 معزولة. هذه المعزولة تابعة ل 7 أنواع بكتيرية :

Lactobacillus delbrueckii (06)

Lactobacillus fermentum (02)

Streptococcus thermophilus (01)

Streptococcus mitis (04)

Enterococcus durans (04)

Lactococcus. Lactis subsp lactis biovae diacetylactis (02)

Pediococcus faecalis (01)

نتائج الاختبارات التكنولوجية كانت مرضية من اجل الاستعمال الصناعي الغذائي. السلالات المدروسة لها قدرة جيدة على تفكيك البروتينات إلا انها لا تنتج الديكستران MSE. السلالات لها حركية نمو و تحميص في الحليب الخالي من الدسم في 37 درجة مئوية.

الكلمات المفتاحية: بكتيريا الحليب، حليب غير الطازج، الماعز، الخصائص المورفولوجية و التكنولوجية.

Summary:

Lactic acid bacteria have acquired great importance by their presence in the food industry and for a longtime.

Isolation of lactic strains from three samples of raw goat's milk from three regions in the wilaya of Mostaganem, allowed us to obtain 20 strains to Gram positive and catalase negative.

For identified the bacterial genera, we are use this tests : Growth in the presence of NaCl 6.5%; growth at pH = 5, pH = 6.5 and pH 9.6; growth test different temperatures (22C°, 30C°, 45C°); study of heat resistance; growth test in mid milk Sherman; test hydrolysis of arginine (ADH); test production of acetoin; fermentative type of test. The fermentation test sugars using the gallery 20 Strep identified 20 isolates. These isolates were affiliated to seven bacterial genera as follows alleged:

Lactobacillus delbrueckii (6)

Lactobacillus fermentum (2)

Streptococcus thermophilus (1)

Streptococcus mitis (4)

Enterococcus durans (4)

Lactococcus lactis subsp lactis diacetylactis biovae (2)

Pediococcus faecalis (1)

The results of technological test are satisfactory for industrial use. The strains present a good proteolytic activity. However, they do not produce dextrane on MSE medium. Strains have a kinetics growth and acidification in skim milk at 37°C.

Keywords: Lactic acid bacteria, raw milk, goat, phenotypic and technologic characterization.

Liste des abréviations :

- **G+ C**: Guanine+ Cytosine
- **°C** : Degré Celsius
- **CO₂** : Oxyde de carbone
- **pH** : potentiel Hydrogène
- **ml** : millilitre
- **l** : litre
- **g** : gramme
- **H** : Heure
- **NaCl** : Chlorure de sodium
- **MRS** : Man-Rogosa et Sharp
- **S** : seconde
- **min** : minute
- **ADH** : Arginine Dihydrolase
- **ADN** : Acide Désoxyribonucléique
- **ARN** : Acide Ribonucléique
- **BCP** : Pourpre de bromocrésol
- **°D**: Degré Dornic
- **µg**: microgramme
- **µm**: micromolaire
- **BL**: bactérie lactiques
- **FAO**: Food Agriculture Organization
- **NaOH**:Hydroxyde de sodium

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Ces principales constantes physico-chimiques de lait de vaches et chèvre.....	07
Tableau 2 : Composition moyen de lait en élément minéraux majeurs des laits de vache et de chèvre.....	09
Tableau 3 : Composition vitaminique du lait de chèvre.....	09
Tableau 4 : Principaux produits issus de la fermentation des bactéries lactiques	14
Tableau 5 : Lieu, date de prélèvement du lait cru de chèvre de région de Mostaganem.....	35
Tableau 6 :caractéristiques physico- chimiques effectuées sur les 3 échantillons de lait.....	46
Tableau 7 : Critères morphologiques des bactéries lactiques isolées à partir de lait de chèvre.....	48
Tableau 8 : La croissance à différentes pH et différentes températures.....	51
Tableau 9 : Thermorésistance et de NaCl 6.5et croissance dans le lait de Sherman.....	52
Tableau 10 : Profil fermentaire des souches isolées	55
Tableau 11 : Test de type fermentaire, acétoine et l'arginine dihydrolyse.....	56
Tableau 12 : Profil fermentaire des isolats par les galeries Api 20Strep	58
Tableau 13 : L'identification des souches lactiques isolées à partir de lait de chèvre.....	59
Tableau14 : Activité protéolytique des souches.....	61
Tableau15 : Les variations de l'acidité et pH des souches.....	62

Listes des figures :

Figure 01 : Arbre phylogénétique des principaux genres de bactéries lactiques	21
Figure 02: Protocole d'isolement des souches lactiques.....	37
Figure 03 : Aspect des bactéries lactiques sur milieu M17 solide	46
Figure 04: Observation macroscopique des colonies bactériennes sur milieu M17.....	47
Figure 05 : Observation microscopique de coloration de Gram au grossissement x100.....	47
Figure 06: La croissance à différents pH.....	49
Figure 07 : La croissance à différents température.....	49
Figure 08 : La thermorésistance	50
Figure 09 : La croissance en milieu hypersalée.....	50
Figure 10 : Croissance pour lait de Sherman1%.....	52
Figure 11: Croissance pour lait de Sherman3%.....	52
Figure 12 : L'arginine dihydrolase (ADH).....	53
Figure13 : Production d'acétoïne	54
Figure 14 : Test de type fermentaire	54
Figure 15 : La fermentation des sucres.....	54
Figure 16 : Profil fermentaire de la souche S2 sur la galerie Api 20 Strep.....	57
Figure 17 : Profil fermentaire de la souche K3 sur la galerie Api 20 Strep.....	57
Figure 18 : Profil fermentaire de la souche A5 sur la galerie Api 20 Strep.....	57
Figure 19 : Exemple d'activité protéolytique des bactéries lactiques isolées.....	60
Figure 20 : Evolution de pH des souches isolées à différents intervalles de temps.....	63
Figure 21 : Evolution de l'acidité des souches isolées à différents intervalles de temps.....	63
Figure 22 : Secteurs de répartition des genres des bactéries lactique.	65

Table des matières :

Remerciements

Dédicace

Résumé

الملخص

Summary

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Listes des figures

Introduction.....01

Synthèse bibliographique :

Chapitre I : Le lait

I.1. définition de lait en générale.....03

I.2 Le lait de chèvre.....03

I.2.1.Généralités sur le caprin.....03

I.2.2.La lactation chez la chèvre.....04

I.2.3.Définition.....05

I.2.4. Propriétés physico-chimiques du les de chèvre.....05

I.2.4.1. Les critères organoleptiques.....05

I.2.4.1.1. Odeur.....05

I.2.4.1.2. Couleur.....05

I.2.4.1.3. Saveur.....05

I.2.4.2. Caractéristiques physico- chimique de lait de chèvre.....	06
I.2.5. Les élément de composition de lait de chèvre.....	07
I.2.5.1 L'eau.....	07
I.2.5.2. Les glucides.....	08
I.2.5.3. Les protéines	08
I.2.5.4. Les lipides.....	08
I.2.5.5.Matière minérale.....	08
I.2.5.6.Les vitamines.....	09
I.2.6.Caractéristiques nutritionnelles santé.....	10
I.3.Microbiologie du lait.....	10
I.4.Les caractéristiques microbiologiques de lait.....	11
I.4.1 Flore originale.....	11
I.4.2 Flore de contamination.....	11
 Chapitre II : Les bactéries lactiques	
II.1. Généralités sur les bactéries lactiques.....	12
II.2.Définition.....	12
II.3.Habitat.....	13
II.4.Utilisation des bactéries lactiques.....	12
II.5.Bactéries lactiques et santé humaine.....	15
II.6. Caractéristique des bactéries lactiques	16
II.6.1. Caractéristiques générales	16
II.6.2. Caractéristiques principales	16
II.7. Classification des bactéries lactiques	17

II.8. Propriétés technologiques des bactéries lactiques.....	17
II.9. Les fonctions du ferment.....	18
II.10. Rôles des bactéries lactiques dans la conservation des aliments.....	19
II.11. Taxonomie des bactéries lactiques	19
II.11.1 : Le genre <i>Streptococcus</i>	19
II.11.2. Le genre <i>Lactobacillus</i>	20
II.11.3. Le genre <i>Lactococcus</i>	20
II.11.4. Le genre <i>Leuconostoc</i>	20
II.11.5. Le genre <i>Pediococcus</i>	20
II.12. Génétiques des bactéries lactiques.....	21
II.13. Les exigences nutritionnelles des bactéries lactiques.....	22
II.14. Principales voies fermentaires.....	23
II.15. Les molécules à activité antimicrobienne synthétisées par les bactéries lactiques.....	24

Chapitre III : Les ferments lactiques et les aptitudes technologiques

III. Les ferments lactiques.....	27
III.1. Définition.....	27
III.2. Types de ferments lactiques.....	28
III.2.1 Selon la composition.....	28
III.2.2 Selon la température de croissance.....	28
III.3 Les cultures mixtes des bactéries lactiques.....	29
III.3.1 Les interactions positives.....	29
III.3.2 Les interactions négatives.....	29

III.4 Critères de sélection des ferments lactiques.....	30
III.4.1 Critères de sécurité.....	30
III.4.2 Aptitudes technologiques.....	30
III.4.2.1 Activité acidifiante.....	30
III.4.2.2 Aptitude protéolytiques.....	31
III.4.2.3 Activité lipolytique et formation de substances aromatiques	32
III.4.2.4 Aptitude aromatisants.....	32
III.4.2.5 Aptitude texturant.....	32
III.4.2.6 Activité antimicrobienne.....	33
III.4.2.7 Performance.....	34

Chapitre IV : Matériels et méthode

1. Objectif.....	35
2. Lieu et période d'études	35
3 L'échantillonnage et techniques de prélèvement du lait.....	35
4. Caractéristiques organoleptiques.....	36
5. Caractéristiques physico-chimiques.....	36
5.1. Mesure du pH de trois échantillons	36
5.2. Détermination de l'acidité titrable.....	36
6. Isolement et purification des souches.....	36
6.1. Isolement	36
6.1.1 Les dilutions.....	36
6.1.2. Techniques d'isolement.....	36
6.3. Purification	36

7. Caractérisation et identification des souches isolées.....	38
7.1. Etude morphologique.....	38
7.1.1Examen macroscopiques.....	38
7.1.2Examen microscopiques.....	38
7.1.3 Coloration de Gram.....	38
8. Tests physiologiques.....	38
8.1. Recherche de catalase	38
8.2. La croissance en différentes températures.....	39
8.3 La croissance en différentes pH.....	39
8.3.1 La croissance à pH=9.6.....	39
8.3.2 La croissance à pH=5.....	39
8.4 Teste de thermorésistance.....	39
8.5. Croissance en milieu hypersalée.....	39
8.6. La croissance sur le lait de Sherman	39
9. Tests biochimiques	40
9.1. Recherche de l'arginine dihydrolase (ADH)	40
9.2. Production de l'acétoine :(Acétyle-Méthyle-Carbinol).....	40
9.3. Recherche de type fermentaire.....	40
9.4. Test dextrane.....	41
9.5. Etude du profil fermentaire	41
10. Identification par la galerie Api 20 Strep.....	41

10.1 Préparation des galeries	41
10.2 Préparation de l'inoculum.....	41
10.3 Inoculation des galeries.....	42
11 Caractérisation technologiques des souches.....	42
11.1 Activité protéolytique.....	42
11.2 Etude du pouvoir acidifiant des bactéries lactiques isolées.....	43
12 Technique de conservation.....	44
12.1. Conservation à court terme	44
12.2. Conservation à long terme	44
 Chapitre V : Résultats et discussions	
1. Caractéristiques organoleptiques.....	45
2. Paramètres physico chimique.....	45
2.1 Le pH.....	45
2.2 Acidité titrable.....	45
3. Pré identification des isolats.....	46
3.1. Caractérisation macroscopique.....	46
3.2. Caractérisation microscopique.....	46
4. Pré identification des bactéries lactiques.....	47
4.1. Caractérisation des bactéries lactiques	47
4.1.1. Etude morphologiques.....	47
4.1.1.1. Aspect macroscopique.....	47
4.1.1.2. Aspect microscopique.....	47
5. Les tests physiologiques.....	48

5.1. Recherche de catalase.....	48
5.2. Test de croissance à différents pH.....	48
5.3. La croissance aux différentes températures.....	49
5.4. Test de thermorésistance.....	50
5.5. Croissance en milieu hypersalée.....	50
5.6. La croissance sur le lait de Sherman.....	51
6. Tests biochimiques.....	53
6.1. Recherche de l'arginine dihydrolase (ADH)	53
6.2. Production de l'acétoïne :(Acétyle-Méthyle-Carbinol).....	53
6.3. Recherche de type fermentaire	54
6.4. Production de dextrane.....	54
6.5. Etude de la fermentation des sucres.....	54
7. Les galeries.....	56
8. Identification des souches lactiques isolées à partir de lait de chèvre.....	59
9. Aptitude technologiques des souches lactiques isolées.....	60
9.1 Etude de l'activité protéolytique des souches isolées du lait de chèvre.....	60
9.2 Etude de la capacité d'acidification des souches isolées du lait de chèvre.....	61
Discussion.....	65
Conclusion	68

Références bibliographiques

Annexes

Introduction :

Le lait est un aliment dont la durée de vie est très limitée. En effet, son pH, voisin de la neutralité, le rend très facilement altérable par les microorganismes et les enzymes. Sa richesse et sa fragilité en font un milieu idéal de reproduction pour nombreux microorganismes tels que les moisissures, les levures et les bactéries. On peut y trouver différentes bactéries soit les bactéries lactiques, pathogènes, ou bactéries de pollution.

Le lait de chèvre joue un rôle essentiel dans la vie des communautés rurales, que ce soit sous sa forme crue ou transformée (Raïb, Lben «laits fermentés traditionnelles locales» et Jben «fromage frais traditionnel local»). Dans ces produits, la fermentation est spontanée obtenue par la flore lactique naturelle (**Badis et al, 2004**).

Les bactéries lactiques présentent un grand intérêt dans l'industrie. Elles sont largement utilisées dans l'élaboration des produits alimentaires par des procédés de fermentations lactiques. Les bactéries lactiques assurent non seulement des caractéristiques particulières d'arômes et de texture mais aussi une bonne sécurité sanitaire alimentaire. Cette sécurité est favorisée grâce à la production d'acides organiques (acides lactiques et acétiques) qui font baisser le pH dans le milieu. Les techniques de biologie moléculaires ont permis de mettre en évidence une forte diversité génomique qui a conduit à la classification récente de treize genres : *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Weissella*, *Aerococcus*, *Bifidobacterium* (**Carine et al, 2009**).

Tout fois, dans l'industrie laitière les souches lactiques sont sélectionnées sur la base de leurs propriétés technologiques (production de l'acide lactique, production d'arome, activité protéolytique et cinétique de croissance), et leurs caractéristiques fonctionnelles (activité antibactérienne, résistance au passage gastro-intestinal et résistance aux antibiotiques).biens qu'il existe d'autres paramètres à prendre en considération (**Tamime, 2002 ; Molin, 2008**).

L'intérêt de ce travail est d'identifier et de caractériser des bactéries lactiques isolées de laits cru de chèvre, provenant de la région de Mostaganem.

Ce mémoire est subdivisé en trois chapitres:

- Le premier chapitre présente une partie bibliographique (Lait de chèvre et ensemble des connaissances sur les bactéries lactiques et ferment lactiques & les aptitudes technologiques).
- Le second chapitre exprime les approches méthodologiques et description des techniques qui ont servi à la concrétisation de notre travail.
- Le troisième chapitre reflète comme:
 - Partie1 : Les résultats obtenus de différents tests d'identification, caractéristiques biotechnologiques des isolats.
 - Partie2 : Contient la discussion des résultats.

En terminant avec une conclusion générale qui englobe les résultats de ce travail.

I. Le lait

I.1 Définition de lait en générale:

Le lait était défini en 1908 au cours du congrès international de la répression des fraudes à Genève comme étant « Le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante bien nourrie et non surmenée, Le lait doit être colostrum» (**Pougens et Goursaud, 2001**).

Jeantet et al (2008) rapportent que le lait doit être collecté dans de bonnes conditions hygiéniques et présenter toutes les garanties sanitaires, il peut être commercialisé en l'état mais le plus souvent après avoir subi des traitements de standardisation lipidique et d'épuration microbienne pour limiter les risques hygiéniques et assurer une plus longue conservation.

Le lait est un liquide sécrété par les glandes mammaires des femelles après la naissance du jeune. Il s'agit d'un fluide aqueux opaque, blanc, légèrement bleuté ou plus ou moins jaunâtre selon la teneur en β -carotène, de sa matière grasse, d'une saveur douceâtre et d'un pH (6,6 à 6,8) légèrement acide, proche de la neutralité (**Alais, 1984**).

I.2 Le lait de chèvre :

I.2.1 Généralités sur le caprin :

Domestiqué il y a plus de 1000 ans avant Jésus-Christ, la chèvre (*Capra Hircus*), est réputée pour sa rusticité. C'est un animal adapté aux conditions rudes et à la sécheresse (**Shkolnik et al, 1980**).

L'espèce *Capra Hircus* se présente en Algérie sous la forme d'une mosaïque de populations très variées appartenant toutes à des populations traditionnelles.

Elle comprend en plus de ces populations locales, à sang généralement Nubien, des animaux mélangés aux sangs issus de races standardisées.

●La race Arbia:

La plus dominante de ces populations est la chèvre Arabe dite population Arabo-maghrébine.

Elle se localise en zone steppique ou semi steppique et présente un format peu développé, brun foncé et dépourvue de cornes. Au niveau du phénotype elle manifeste des caractères plus homogènes: Robe noire à long poils, pattes blanches au dessus du genou, raies blanches et fauves sur visage, taches blanches à l'arrière des cuisses. Cet animal est parfaitement adapté aux contraintes des parcours et semble posséder de bonnes aptitudes de reproduction.

●La race Makatia:

Aux caractères assez hétérogènes, robe polychrome aux poils courts, oreilles tombantes, la race Makatia semble être le produit de multiples croisements réalisés à partir de race est peu résistante sur parcours et son intérêt réside dans sa production laitière et son adaptation et son adaptation à l'environnement.

●La chèvre du M' Zab:

Elle se retrouve surtout dans le sud, est une bonne laitière et très fertile. Cette race est très appréciée dans l'est méditerranéen pour ses capacités.

Laitières et fait partie du rameau Nubio-Syrien. La race MOZABITE est très intéressante du point de vue production laitière (2,56 Kg/j).

●La race Kabyle:

C'est une chèvre autochtone qui peuple les massifs montagneux de la Kabylie et de l'Aurès. Elle est robuste et massive, de petite taille, de couleur noirâtre ou blanchâtre avec de longs poils, c'est une mauvaise laitière qui est appréciée pour sa viande (**Feliachi, 2003**).

I.2.2. La lactation chez la chèvre :

La chèvre est avant tout une productrice de lait. La quantité de lait qu'elle est capable de fournir dépend bien entendu de sa race, mais également de son âge de son saison, de son alimentation et de son cycle sexuel. Dans l'hexagone, la plus grande part de ce lait est

transformée en fromage. La France en produit une vaste palette dont la plupart sont de réputation mondiale.

Chez la chèvre, la lactation débute une semaine après la mise basse. Elle augmente progressivement, pour devenir optimale de 30 à 60 jours la naissance de chevreau. Elle diminue ensuite lentement pour être minimale généralement en automne. Cette lactation a une durée totale d'environ 10 mois, après quoi la chèvre est tarie. La courbe et l'importance de la lactation peuvent varier énormément en fonction de divers facteurs, principalement en fonction de l'alimentation (**Alain Fournier., 2006**).

I.2.3 Définition de lait de chèvre:

Le lait de chèvre est blanc mat due à l'absence de β -carotène. Contrairement au lait de vache, il a une odeur assez neutre. Parfois en fin de lactation, une odeur caprine. Apparaît et après stockages au froid peut acquérir une saveur caractéristique (**Goursaud, 1985**).

Sa composition chimique varie selon l'espèce, condition d'environnement, et stade de lactation (**kihah et al, 1999**), la composition chimique joue un rôle important sur son aptitude à l'acidification par les ferments lactiques et notamment l'influence des sels minéraux (**Masle et Morgan, 2001**).

I.2.4 Propriétés physico-chimiques du lait de chèvre :

I.2. 4.1 Les critères organoleptiques :

I.2.4.1.1 Odeur : Selon (**Jaubert, 1997**), Fraichement traité, le lait de chèvre a une odeur assez neutre parfois en fin de lactation, il a une odeur dite caprine.

I.2.4.1.2 Couleur : Blanc mat, contrairement au lait de vache, le lait de chèvre ne contient pas de β -carotène, aussi le beurre de chèvre a-t-il une couleur blanche (**Alais, 1984**).

I.2.4.1.3 Saveur : Le lait de vache et de chèvre possèdent tous deux une saveur douce, agréable, particulière au lait. Ce pendant, le lait de chèvre fraîchement traité possède une saveur neutre, par contre, après stockage au froid, il requiert une saveur caractéristique qui s'avère un critère de sélection (**Boyaval et al. 1999**).

I.2.4.2 Caractéristiques physicochimique de lait de chèvre :

Le lait de chèvre présente des caractéristiques liées à sa nature biologique à savoir : Variabilité, hétérogénéité et altérabilité. Ce complexe aqueux possède des caractéristiques physico-chimiques plus ou moins stables, dépendant soit de l'ensemble des constituants comme la densité, soit des substances en solution, comme le point de congélation, ou encore des concentrations en ions, comme le pH (ST-Gelais et al, 1999).

Les caractéristiques physico chimique des laits de chèvre varie de manière importante d'une étude à une autre car rendant compte de situations locales qui ne peuvent pas être généralisées. Ces laits semblent cependant partager beaucoup de points communs avec le lait de vache, nous ne mentionnerons ici que les spécificités par rapport au lait de vache qui semblent marquantes d'après la revue de (Park et al ; 2006).

- Absence de β -carotène totalement converti en vitamine A.
- Déficit en acide folique et vitamine B12.
- Des globules gras de plus petite taille que ceux des laits de vache, similaire à celle du lait de brebis, permettant une meilleure homogénéisation dans le lait et ainsi sa meilleure digestibilité, et permettant une lipolyse accrue par augmentation de la surface
- Des micelles de caséine contenant plus de calcium et de phosphate inorganique, moins hydratées, moins stables à la chaleur, et perdant plus facilement leur β - caséine.
- Solubilisation plus élevée des caséines à 20°C, moins que du phosphate colloïdal et des caséines au Froid, entraînant des rendements moins élevés en fabrication fromagère.
- Déficit en agglutinine, qui rendrait difficile son écrémage, surtout à froid.
- Stabilité plus faible lors du chauffage.
- Structure plus lâche lors de la coagulation acide (yaourt), donc une fermeté plus basse.
- Des taux d'acides gras à courte et moyenne chaîne plus élevés, en particulier des acides caproïque, caproïque et caprylique associé au goût « chèvre ».
- Sensibilité plus élevée à la lipolyse spontanée due à des différences de localisation de la lipase.

- La- β - caséine est la caséine majeure avec 58% dans le lait de vache, suivie par la-caséine la quasi-absence de l'XS11-caséine fait que les sujets allergiques uniques uniquement à cette protéine supportent souvent le lait de chèvre.

-Taux d'azote non protéique plus élevé.

-Quantités d'enzymes différentes (Exemples : Ribonucléase, phosphatase, xanthine oxydase, lipase).

-Plus de calcium, potassium, phosphore, magnésium et chlore, moins de sodium et de sulfure (**Park et al, 2006**).

Tableau01 : Les principales constantes physico-chimiques de lait de vache et chèvre (**FAO, 1990**).

Constantes	Vache	Chèvre
Energie (Kcal/litre)	705	600-750
Densité du lait entier à 20c°	1,028-1,030	1,027-1,035
Point de congélation (2)	0,520- -0,550	-0,550- -0,583
pH à 20c°	6,60-6,80	6,45-6,60
Acidité titrable (D°)	15-17	14-18
Indice de réfraction	1,45-1,46	1,35-1,46

I.2.5 Les élément de composition de lait de chèvre :

I.2.5.1 L'eau :

Elle forme une solution varié avec les glucides, les minéraux, une solution colloïdale avec les micelles de caséines et une émulsion avec les matières grasses, le lait de chèvre est constitué de 87% d'eau (**Amiot et al, 2002**).

I.2.5.2 Les glucides :

Le lactose est le glucide le plus important du lait, d'autre glucide peuvent provenir de l'hydrolyse de lactose (glucose, galactose) certains glucides peuvent se combiner aux

protéines, formant de glycoprotéines ou peuvent se trouver sous forme libre (**Amiot et al, 2002**).

I.2.5.3 Les protéines :

Les protéines de lait de chèvre comme celle des autres espèces de mammifères, sont composé de deux fraction, l'une majoritaire dénommée caséine (représente environ 80%) (**Mahe et al, 1996**), précipite a pH 4,2 pour le lait de chèvre et pour le lait de vache (**Masle et Morgan, 2001**).

I.2.5.4 Les lipides :

Les lipides de lait de se composent principalement de triglycérides, de phospholipides et forment une émulsion. Le lait de chèvre est pauvre en carotène et donc, peu coloré par rapport aux autres laits, il est plus riche en acide gras à 10 atomes de carbone et présente un pourcentage plus élevé de petit globules gras que le lait de vache, il ne contient pas d'agglutinines et présenté une activité liasique plus faible que lait de vache (**Chilliard, 1987**).

I.2.5.5 Matière minérale :

Ils prennent la forme de sels, de base et acide mais les deux formes principales sont les sels ionisés solubles dans le sérum et les micelles, les éléments basiques majeurs comme le calcium, potassique, le magnésium et le sodium forment des sels, avec les constituons acides que sont les protéines, les citrates, les phosphates et les chlorures, en outre le calcium, le magnésium, les citrates, et les phosphates se trouvent sous forme colloïdale dans les micelles de caséines (**Amiot et al, 2002**).

Le lait de chèvre semble être plus riche en calcium, phosphore, magnésium, potassium et chlore que le lait de vache mais moins riche en sodium (**Mahieu et al, 1977**) (**Jenness, 1980, Sawaya et al, 1984**).

Tableau02 : Composition moyen de lait en élément minéraux majeurs des laits de vache et de chèvres (Gueguen, 1996).

Minéraux mg/litre	Vache	Chèvre
Calcium	1200	1260
Phosphore	920	970
Magnésium	110	130
Potassium	1500	1900
Chlore	1100	1600
Sodium	450	380

II.5.6 Vitamines :

Elles sont réparties en deux classes : Les vitamines hydrosolubles et les vitamines liposolubles. Le lait de chèvre est pauvre en carotène et B9 acide folique (Amiot et al, 2002).

Tableau 03: Composition vitaminique du lait de chèvre (Joubert, 1996)

Composition pour 100g	Lait de chèvre
Vitamines liposolubles	
A rétinol	0,04
Carotène	0
E tocophérol	0,04
Vitamines hydrosolubles	
B1 thiamine	0,05
B2 riboflavine	0,14
B6 pyridoxine	0,05
B9 acide folique	1
B12 cobalamine	0,06
Acide ascorbique	1,3

I.2.6 Caractéristiques nutritionnelles santé :

Le lait de chèvre présente des teneurs intéressantes pour de nombreux nutriments, excepté pour la vitamine B12 et l'acide folique, pour lesquels il est recommandé une supplémentation du lait pour les nourrissons. Il présente des avantages par rapport au lait de vache du fait de sa plus grande digestibilité (en partie à cause de la matière grasse et des lipides), de sa meilleure capacité tampon (utile en cas d'ulcère de l'estomac), et de la plus grande disponibilité de ses nutriments. (Exemple : Le fer), il est ainsi recommandé en médecine et nutrition humaine (**Park et al, 2006**).

Des études ont montré que d'une manière générale le lait de chèvre est moins allergisant que le lait de vache. La consommation de lait de chèvre au lieu de lait de vache a réduit de 30 à 40% le nombre d'enfants allergiques d'après la plupart des études (**Henlein, 2004**). Il y a un besoin de recherches médicales robustes pour valider les nombreux effets bénéfiques décrits pour le lait de chèvre. En particulier, les teneurs particulières du lait de chèvre en acides gras à chaîne courte et moyenne ne sont pas encore fait l'objet d'études, malgré leurs vertus reconnues pour le traitement de nombreuses maladies (**Henlein, 2004**).

I.3. Microbiologie du lait :

La microbiologie est intimement liée à l'industrie laitière, elle s'applique à tous ses secteurs. Ses principes, en effet, justifient le mode de production hygiénique du lait, commandent plusieurs traitements et procédés industriels lors de sa transformation à l'usine, et sont à la base des méthodes de conservation des produits laitiers. La qualité du lait et des produits laitiers en dépend en grande partie, si bien que l'on tient compte de normes microbiologiques dans son évaluation officielle.

L'application des principes généraux d'hygiène permet d'atteindre les trois buts suivants :

- Le premier, prévenir et empêcher la transmission de bactéries pathogènes par le lait et les produits laitiers et de cette façon protéger la santé des consommateurs.
- Le second, prévenir et restreindre la croissance microbienne au lait et aux produits laitiers et ainsi empêcher leur détérioration et l'apparition de défauts.
- Le troisième, favoriser et guider le développement des bactéries utiles dans certains produits laitiers, tels que les produits fermentés (**Guiraud, 2003**).

I.4. Les caractéristiques microbiologiques de lait

Du fait de sa composition physico-chimique, le lait est un excellent substrat pour la croissance microbienne. De ce fait on trouve que le lait comporte une flore originelle et une flore de contamination.

I.4.1. Flore originelle

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, à partir d'un animal sain (moins de 10³ germes /ml). Il s'agit essentiellement des germes saprophytes de pis et des canaux galactophores : Microcoques, Streptocoques lactiques, Lactobacilles. Des germes pathogènes et dangereux du point de vue sanitaire peuvent être présents lorsque le lait est issu d'un animal malade (*Streptococcus pyogène*, *Corynebacterium pyogènes*, des *Staphylococcus*) qui sont des agents des mammites et peut s'agir aussi de germes d'infection générale *Salmonella*, *Brucella*, et exceptionnellement *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium*, *Bacillus anthracis* et quelques virus (Guiraud, 2003).

I.4.2. Flore de contamination

Le lait peut se contaminer par des apports microbiens divers :

- Fèces et téguments de l'animal : Coliformes, Entérocoques *Clostridium*, *Salmonella*.
- Sol : *Streptomyces*, *Listeria*, bactéries sporulés, spores fongiques.

L'air et l'eau : Flores diverses, bactéries sporulées (Guiraud, 2003).

II. Les bactéries lactiques :

II.1 Généralités sur les bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques sont des microorganismes utiles à l'homme lui permettant de fabriquer et de conserver un nombre important de ses aliments. Elles sont surtout connues pour le rôle qu'elles jouent dans la préparation des laitages fermentés, elles sont utilisées également dans le saumurage des légumes, la boulangerie, la fabrication du vin, le saurissage des poissons, des viandes et des salaisons (EUFIC1999). Elles sont devenues les principaux candidats probiotiques et bénéficient d'un statut GRAS (Generally Regarded AS Safe) (Ait Belghanaoui, 2006).

II.2 Définition:

Le groupe des bactéries lactique a été défini par **Orla-Jensen(1919)** et réunit plusieurs genres caractérisés par leur capacité à fermenter les glucides en produisant de l'acide lactique. Ce sont des cocci ou bâtonnets à gram positif, généralement immobiles et non sporulés. Les bactéries lactiques ne possèdent ni nitrate réductase, ni cytochrome oxydase mais elles peuvent survivre en présence d'oxygène. L'absence de catalase est caractéristique, mais certaines espèces acquièrent cette activité sur des milieux riches en hème (**Larpen et al, 1997 ; Bourgeois et al, 1996**). Le contenu en GC de leur ADN varie de 33 à 54%, ce qui les classe dans les bactéries à faible pourcentage de GC (**Muto et Osawa, 1987**). Ces bactéries ont des exigences nutritionnelles complexes en termes d'acides aminés, de peptides, de vitamines, de sels, d'acides gras et de sucre (**Dallaglio et al, 1994**).

Les bactéries lactiques synthétisant leur ATP grâce à la fermentation lactique des glucides. On les distingue en deux groupes biochimiques : Les homofermentaires et les hétérofermentaires.

Les homofermentaires produisent deux molécules d'acide lactique par glucose consommé.

Les hétérofermentaires, produisent en plus de l'acide lactique, de l'acide acétique, de l'éthanol et du CO₂.

II.3 Habitat :

Les bactéries lactiques sont ubiquistes : Elles sont retrouvées dans différentes niches écologiques comme le lait et les produits laitiers, les végétaux, la viande, le poisson, les muqueuses humaines et animales ainsi que dans le tractus digestif, ce qui explique leur température de croissance hétérogène (Mayo et al., 2010; Klein et al., 1998) Mais certaines espèces semblent s'adapter à un environnement spécifique et ne sont guère trouvées ailleurs que dans leurs habitats naturels (De Roissart, 1986).

- Les espèces du genre *Lactococcus* sont isolées du lait ou des végétaux qui sont les réservoirs naturels de la plupart de ses espèces. L'espèce *Lactococcus lactis subsp. Lactis* est isolée pour la première fois à partir du lait fermenté par Lister en 1873 et reconnue comme agent primaire de l'acidification du lait caillé (Sandine, 1988). Parmi les espèces du genre *Streptococcus*, *Streptococcus thermophilus* est isolée du lait pasteurisé, du matériel de laiterie et de levains artisanaux (Jones, 1978).

- Les espèces du genre *Leuconostoc* sont isolées du lait, des produits laitiers, des fruits, des légumes (en particulier la betterave), des végétaux en fermentation (comme la choucroute), des produits de la panification (Suhigara, 1985) et des solutions visqueuses de sucre dans les sucreries (Devoyod et Poullain, 1988). Boubekri et Yoshiyuki (1996) ont isolé deux souches de *Leuconostoc sp.* À partir de fromage traditionnel El-Klila fabriqué à Batna (Algérie). Tandis que, Ryhänen et al (1996) ont identifié trois espèces (*Leuconostoc curvatus*, *Ln. Citreum* et *Ln. Mesenteroides sub sp. Mesenteroides*) isolées à partir de blé fermenté. Seule l'espèce *Leuconostoc oenos* est isolée du vin (Fleming et al, 1985 ; Sugihara, 1985 ; Devoyod et Poullain, 1988 ; Hounhoigan et al, 1993).

- Les espèces du genre *Pediococcus* sont présentes surtout dans les végétaux en décomposition, parfois dans les boissons alcoolisées, le lait, les différents fromages (Parmesan et autres fromages italiens) et les préparations culinaires (Saucisses, anchois salés ou sauce de soja) (Chapman et Sharpe, 1981; Dellaglio et al, 1981A ; Uchida, 1982; Bacus et Brown, 1985; Villar et al, 1985).

- Les espèces du genre *Lactobacillus* sont présentes dans plusieurs milieux différents :

Dans le lait et les fromages (*Lb. casei sub sp. casei*, *Lb. plantarum*, *Lb. curvatus* et *Lb. brevis*), dans les laits fermentés (*Lb. kéfir*, *Lb. brevis* et *Lb. fermentum*), dans les produits

végétaux fermentés, les marinades, l'ensilage, le vin et les viandes fraîche sou fermentées (*Lb. Brevis*, *Lb. Curvatus*, *Lb. Buchneri* et *Lb. San francisco*) (**Desmazeaud, 1996**).

II.4 Utilisation des bactéries lactiques :

L'utilisation de la fermentation par l'homme remonte à des temps très anciens. Les ferments lactiques, contenant une ou plusieurs cultures pures en proportions définies de différentes bactéries lactiques, sont largement utilisés en agroalimentaire (**Holzapfel, 2002**). Les bactéries lactiques interviennent dans de nombreuses transformations du lait

(crème maturée, laits fermentés comme le yaourt, fromages frais et affinés), mais également dans la vinification (fermentation mal lactique), la fabrication des salaisons, la fermentation des végétaux (choucroute et ensilages) et en boulangerie traditionnelle (**Desmazeaud, 1998**). Les bactéries lactiques ont plusieurs rôles dans la production de produits fermentés. Tout d'abord, les bactéries lactiques vont permettre de changer la saveur de l'aliment et sa texture. Ces changements sont dus notamment à l'acide lactique produit au cours de la croissance. D'autre part, les bactéries lactiques produisent des peptides et des molécules comme l'acétoïne, l'acétaldéhyde, le di acétyle ou l'éthanol qui sont importants pour la flaveur des aliments.

Tableau04: Principaux produits issus de la fermentation des bactéries lactiques (**Penaud, 2006**)

Genre	Substrat	Exemples de produits
<i>Bifidobacterium</i>	Lait	Laits fermentés
<i>Lactobacillus</i>	Viande Lait Végétaux Céréales	yaourts, laits fermentés, kéfirs, fromages saucissons secs, jambons secs, choucroute, olives, "yaourts" au lait de soja pain au levain, bières
<i>Lactococcus</i>	Lait	Fromages, kéfirs
<i>Leuconostoc</i>	Lait Végétaux	Choucroute, olives, vin fromages, kéfirs
<i>Pediococcus</i>	Végétaux Viande	Choucroute saucisses semi – séchées
<i>Oenococcus</i>	Végétaux	Vin
<i>Streptococcus</i>	Lait	Yaourts, laits fermentés, fromages

Dans les produits laitiers, il s'agit du domaine d'application le plus courant des fermentations lactiques. Les ferments lactiques naturels ou commerciaux interviennent dans l'élaboration de tous les produits laitiers fermentés (**Pilet et al, 2005**), ces Micro-organismes assurent plusieurs fonctions telles que la protéolyse pour donner aux fromages leurs caractères rhéologiques et la production d'agents épaississants pour améliorer la texture du fromage. Les bactéries lactiques sont souvent utilisées en association par exemple le yaourt est obtenu par deux espèces lactiques:

Lb. delbrueckii sp. Bulgaricus et *Streptococcus thermophilus*. Dans les produits carnés, les bactéries lactiques améliorent la qualité hygiénique et marchande en réduisant d'avantage les risques de croissance de microorganismes indésirables. Les bactéries lactiques interviennent aussi dans la préparation de nombreux produits végétaux fermentés. L'exemple le plus connu est la choucroute, elle fait intervenir quatre espèces Lactiques: *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis* et *Pediococcus damnosus*.

II.5 Bactéries lactiques et santé humaine:

Dans le domaine de la santé, certaines bactéries lactiques spécifiques sont utilisées comme probiotiques c'est-à-dire des micro-organismes vivants dont l'application à l'homme ou à l'animal exercent un effet bénéfique sur ce dernier par amélioration des propriétés de la flore intestinale.

Les espèces couramment utilisées sont *Lb. Acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. johnsonii*, *Lb. reuteri*, *Lb. delbrueckii, subsp bulgaricus* (Salminen et al, 2004).

Les souches lactiques sont également utilisées dans le traitement de certaines affections telles que les diarrhées, les allergies alimentaires.

D'autres effets, comme la prévention des gastro-entérites nosocomiales chez le nourrisson, des propriétés anti cancérigènes, anti hyper cholestérolémiques, lutte contre *Clostridium difficile* et *Helicobacter pylori*, prévention des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin.

II.6 Caractéristiques des bactéries lactiques :

II.6.1 Caractéristiques générales des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques sont des microorganismes relativement hétérogènes d'un point de vue morphologique et physiologique. Leurs principales caractéristiques sont :

D'être Gram+, immobiles, sporulées, anaérobies mais aérotoles, de ne posséder ni catalase, ni de nitrate réductase et de produire des quantités importantes par fermentation des glucides (Desmazeaud, 1983 ; Vandamme et al, 1996). Les glucides peuvent être à l'origine de produits autres que le lactate (Desmazeaud, 1983).

Trois catégories des bactéries lactiques peuvent être distinguées selon produits de fermentation. Le groupe homofermentaires qui produit majoritairement de l'acide lactique (90% des produits de fermentation), le groupe hétérofermentaire facultatif qui produit de l'acide lactique ou de l'acide lactique et de l'acide acétique et enfin le group

hétérofermentaire strict qui produit de l'acide lactique, acétique ou de l'éthanol et du CO₂ (Vandamme et al ; 1996).

La plupart des bactéries lactiques sont auxotrophes pour plusieurs acides aminés qu'elles doivent trouver dans le lait (Braquart et Lorient, 1977 ; Deguchi et Morishita, 1992 ; Morishita et al, 1981 ; Neviani et al, 1995).

II.6.2 Caractéristiques principales des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques sont des cellules vivantes, procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes. A quelques exceptions près, les bactéries lactiques sont généralement Gram positives, immobiles, a sporulées, anaérobies mais aérotolérantes, et ne possédant pas de catalase (certaines souches possèdent un pseudo catalase), de nitrate réductase, et de cytochrome oxydase. Elles ont des exigences nutritionnelles nombreuses (acides aminés, peptides, sels, acides gras et glucides) (Holzapfel et al. 2001 ; Gevers 2002).

II.7 Classification des bactéries lactiques :

La première classification des bactéries lactique a été établie en 1919 par Orla-Jensen. Elle est basée sur les caractéristiques observables telles que les propriétés morphologiques, biochimiques et physiologiques. La composition en G+C de l'ADN, La composition en acide gras de la membrane cellulaire, la mobilité électro phorétique du lactate déshydrogénase, sont également d'autres critères qui peuvent être étudiés pour l'identification des espèces lactiques. Plus récemment, l'approche moléculaire de la taxonomie, et plus particulièrement l'hybridation ADN-ADN et le séquençage du gène de l'ARNr 16S ont permis d'affiner cette classification.

Cela a notamment abouti à la séparation du genre *Streptococcus* en *Streptococcies* sensu stricto, *Lactococcus* et enter cossus (Schleifer et al, 1995). En suite certaines bactéries lactiques qui étaient mobiles, ressemblant aux *Lactococcus*, ont formé un autre genre séparé : Les *Vagococcus*. De même le genre *Carnobacterium* a été créé pour regroupe des espèces de *Lactobacillus* proches (Collins et al, 1987), et les genres *Tetragenococcus* et *Aerococcus* sont issus du genre *Pediococcus* dont ils forment des lignées phylogénétiques distinctes (Collins et al, 1990). Enfin le genre *Oenococcus* a été créé pour regrouper des bactéries isolées du vin et précédemment classées dans du genre *Leuconostoc* (Dick et al, 1995). Les bactéries du genre *Bifidobacterium* étant répertoriées comme étant des *Lactobacillus bifidum* (Axelsson et al, 2004) ce microorganisme considéré souvent comme

de véritables bactéries, sont phylogénétiquement liés au *Phylum Actinobacteria* (*Actinomycètes*).

II.8 Propriétés technologique des bactéries lactiques :

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

Le principal atout de ces bactéries réside dans leur capacité à acidifier les produits alimentaires. L'acide lactique qui est le produit principal du métabolisme joue un rôle majeur dans la conservation des aliments puisqu'il inhibe fortement l'accroissement des bactéries pathogènes (**Stiles, 1996**). Il a également un rôle direct dans l'industrie laitière puisqu'il permet la formation du caillé à bas pH.

La capacité des bactéries lactiques à synthétiser des exopolysaccharides (EPS) joue un rôle important pour la consistance et la rhéologie des produits transformés (**Welman et al, 2003**). Les *Lb. Delbrück SSP. Bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* produisant des EPS sont utilisés en tant que starters dans la fabrication des yaourts, ceci afin d'améliorer la texture, éviter l'augmentation de la viscosité des produits finis (**Durlu-Zkaya et al, 2007 ; Amatayakul et al, 2006**).

Certaines bactéries lactiques sont capables de produire des composés d'arôme tel que le diacétyl qui est responsable de l'arôme de noisette caractéristique du beurre, du lait et de certains fromages. La formation de cette molécule est associée à la capacité des bactéries à fermenter le citrate présent dans le lait (**Hugenholtz 1993**).

Les bactéries lactiques sont également impliquées dans de nouveaux types de produits en tant que probiotiques, leur classification dans le probiotique ainsi que parmi les microorganismes GGRAS. Parmi ces bactéries des acteurs potentiellement importants dans les domaines de la médecine et de la santé : amélioration de la digestion du lactose, stimulation du système immunitaire, vecteurs de molécules à effets thérapeutiques.

II.9 Les fonctions du ferment :

Parmi les fonctions physiologiques des lactobacilles qui sont très importantes dans l'industrie alimentaire, et qui influence sur les qualités organoleptiques de l'aliment :

Fermentation des sucres, amener le pH à un niveau bas, ce qui est important pour terminer le phénomène de caillage, et la réduction ou la prévention de la croissance de la microflore adventice; Hydrolyse des protéines, ce qui donne la texture et le goût de l'aliment; la synthèse des composants aromatiques (acétoine, di acétyle); La synthèse des agents de texture (exo polysaccharides), ce qui peut influencer la consistance du produit.

La production des composants inhibiteurs de la flore indésirable.

La contribution à la fonction diététique de l'aliment. (**Tamime, 2002; Mayra –Makinen et Bigret, 2004**).

II.10 Rôle des bactéries lactiques dans la conservation des aliments :

L'homme utilise depuis longtemps, constamment ou non, les propriétés antimicrobiennes des bactéries lactiques. Ces propriétés se sont avérées être intéressantes pour la conservation des aliments dans lesquels cette flore se développe. Les bactéries lactiques inhibent le développement de certains microorganismes grâce à la synthèse de molécules antimicrobiennes parmi lesquelles se trouvent les acides organiques et les bactériocines.

Les acides organiques sont les produits directs de la fermentation. Leur libération dans le milieu entraîne un abaissement du pH qui ralentit la croissance bactérienne. Ainsi (**Wilson et al, 2005**) ont démontré que l'inhibition de *L. Monocytogenes* dans des produits végétaux par une souche de *Lb*, plant arum était due à la production d'acide lactique.

Du fait qu'elles des substances naturelles, l'emploi des bactériocines permettrait d'avoir des produits plus sains et réduirait l'utilisation des agents chimiques de conservation (**Harlander, 1993**). Actuellement la seule bactériocine autorisée en temps qu'additif alimentaire est la nisine (E234) produite par *LC.Lactis SSP. Lactis* (**Topisirovic et al ,2006**).

II.11 Taxonomie des bactéries lactiques :

La taxonomie des bactéries lactiques a été basée sur la coloration de Gram et il est possible de les classer suivant la nature des produits du métabolisme bactérien obtenus à glucides. Les bactéries lactiques se groupent 11 genres dont les plus étudiés sont :

Lactobacilles, Lactococcus, Streptococcies, Leuconostoc, Oenococcus, Enterococcus et *Pediococcus*.

II.11.1 Le genre *Streptococcus* :

Ces bactéries sont des cocci sphérique on ovoïdes regroupées en paires on en chainettes ; en général immobiles ; à partir des glucides leur métabolisme est homofermentaire elles produisent un certain nombre d'agents antimicrobiens.

II.11.2 Le genre *Lactobacillus* :

Le genre *Lactobacillus* est quantitativement le plus important des germes du groupe des bactéries lactiques; leur morphologie microscopique varie d'une espèce à l'autre de coccobacilles aux bacilles fines et allongé on rencontre des *Lactobacilles* dans la flore intestinale et la flore vaginale. Selon le germe *Lactobacilles* se subdivise en trois groupes :

Groupe N°1 : *Thermobactérium*

Groupe N°3 : *Betabacterium*

Groupe N°2 : *Streptobacterium*

II.11.3 Le genre *Lactococcus* :

Ce sont les Streptocoques. Ils présentent sous forme de coques, qu'on trouve isolés, en paires ou en chainettes de longueur variable (**Desmazeaud, 1996**), ce sont des organismes homofermentaires ne produisant que de l'acide lactique L (+) (**Delaglio, 1994**).

II.11.4 Le genre *Leuconostoc* :

Les cellules de *Leuconostoc* sont des coques disposées en paires ou en chaines comme les Streptocoques mais cette bactéries est hétéro fermentaire produisant de l'acide D (-) lactique, de l'éthanol et du CO₂, ses espèces sont caractérisée, par la production à partir du citrate du lait, de di acétyle, parfois du citrate, et de de1-7 trines et de levures en présence de saccharose.

II.11.5 Le genre *Pediococcus* :

Les Pediocoques sont des germes micro aérophiles à besoins nutritifs complexe, leur fermentation homolactique donne parfois l'acide lactique racémique, mais fréquemment la forme L prédomine.

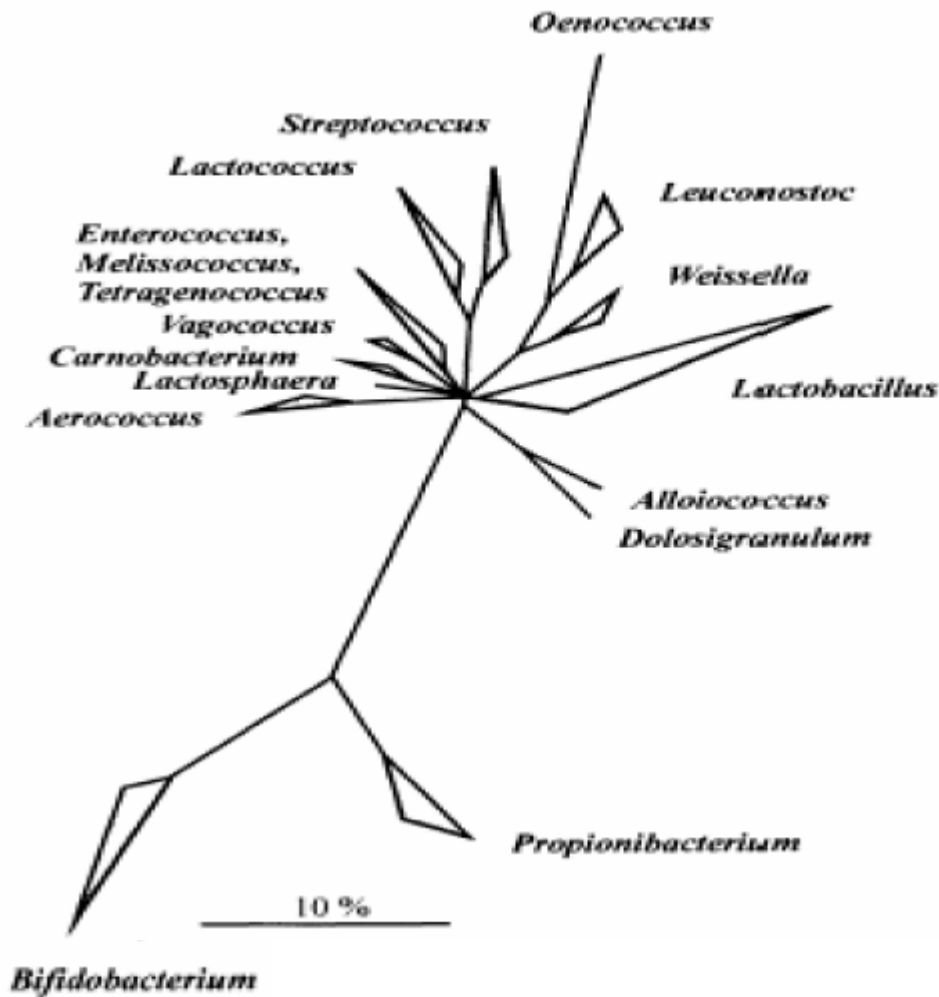


Figure 01 : Arbre phylogénétique des principaux genres de bactéries lactiques et des genres Associés, obtenu par analyse des ARNr 16S (Stiles et Holzapfel, 1997).

II.12 Génétique des bactéries lactiques :

Le matériel génétique des bactéries lactiques est organisé en deux structures : Le chromosome, long filament d'ADN très replié sur lui-même, et les plasmides, petites molécules circulaires d'ADN indépendantes des chromosomes, pouvant se répliquer de façon autonome. Les plasmides peuvent être perdus spontanément par la bactérie dans les conditions de milieu défavorables (température élevée, privation nutritionnelles) ou éliminés par des traitements chimiques. Cette possibilité de perdre spontanément des plasmides explique l'instabilité des propriétés technologiques, due à l'apparition de variantes ayant perdu certains gènes et donc certaines fonctions métaboliques ainsi, la perte de plasmide codant pour la protéase de paroi rend les bactéries peu protéolytiques, et entraîne une croissance

ralentie des germes et une acidification faible du lait. D'autres caractères technologiques sont également codés par des gènes portés par des plasmides : la capacité à utiliser le lactose, le métabolisme de précurseurs d'arômes, la production de la nisine chez certaines souches, des résistances aux bactériophages (**Stackebrandt et Tubera, 1986 ; Kandler et Weiss, 1986**).

II.13 Les exigences nutritionnelles des bactéries lactiques :

Si les bactéries lactiques sont considérées comme un des groupes bactériens plus exigeants du point de vue nutritionnel, c'est parce qu'elles requièrent non seulement des substrats complexes carbonés, azotés, phosphatés, et soufrés, mais aussi des facteurs de croissance comme les vitamines et les oligo-éléments. Le rôle des coenzymes a été déjà développé.

II.13.1 Les glucides :

Pour croître, les bactéries lactiques ont besoin d'un apport de nutriment au moins un sucre fermentescible comme source d'énergie. La fermentation des sucres s'effectue essentiellement en trois étapes :

- 1) Le transport du sucre à travers la barrière hydrophobe de la membrane cellulaire.
- 2) Le catabolisme intracellulaire du sucre et enfin la formation et l'expulsion extracellulaire des métabolites terminaux généralement acides (**Mounet et Gripon, 1994**). Deux types de métabolismes fermentaires sont rencontrés : un métabolisme aboutit de façon quasi-exclusive à la production d'acide lactique (caractère homofermentaire) L'autre peut produire de l'acide lactique, mais également de l'éthanol et de l'acide acétique suivant les conditions de cultures (caractère hétérofermentaire).

II.13.2 L'azote :

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

II.13.3 Les vitamines :

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

II.13.4 Les minéraux :

La nécessité des ions dans le métabolisme s'explique d'abord par leur fonction de cofacteur pour de nombreuses enzymes. Du point de vue transport, le fer est un élément important puisqu'il a des affinités pour un grand nombre de molécules créatrices. Il augmente la croissance et la production d'acide lactique pour les *Lactocoques* et une carence en cet élément donne lieu à une diminution de ce même acide. Le potassium, quant à lui, est un cofacteur pour plusieurs enzymes bactériennes et un niveau élevé de K⁺ dans le cytoplasme est requis pour la synthèse protéique. De plus, le système du K apparaît être très important pour contrôler le pH cytoplasmique (**Desmazeaud, 1983**).

II.13.5 L'oxygène :

Les bactéries lactiques sont communément appelées micro aérophiles aussi, elles tolèrent de petites quantités d'oxygène, mais de trop grandes teneurs en ce gaz peuvent leur être néfaste. La relation des bactéries lactiques avec l'oxygène a probablement un lien avec le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) produit dans la présence d'air. Il faut éliminer le H₂O₂, car son accumulation devient toxique.

II.14 Principales voies fermentaires des bactéries lactiques :

Toute croissance nécessite la production d'énergie et les bactéries lactiques ne font pas exception à la règle. Hétérotrophes, elles tirent leur énergie de la fermentation de substrats carbonés. Les carbohydrates fermentés en acide lactique par les bactéries lactiques peuvent être des monosaccharides tels que des hexoses (glucose, galactose), des pentoses (xylose, ribose, arabinose), hexitols et pentitols (mannitol, sorbitol, xylol) ou des disaccarides (lactose, saccharose, cellobiose, tréhalose).

La fermentation des sucres s'effectue essentiellement en trois étapes (Atlan et al. 2008) :

- Le transport du sucre à travers la membrane cellulaire.
- Le catabolisme intracellulaire du sucre.
- Formation et expulsion extracellulaire des métabolites terminaux.

Selon les genres ou espèces, les bactéries lactiques utilisent principalement l'une des deux voies majeures du métabolisme des sucres. Il s'agit des voies homofermentaires (Embden-meyerhof-parnas, EMP) et hétérofermentaire (voie des pentoses-phosphate)

(Atlan et al, 2008).

- **Voie homofermentaire ou EMP :**

Les bactéries lactiques homofermentaires comprennent les espèces de Lactocoques, Pediocoques, ainsi que certains Lactobacilles. Cette voie conduit dans des conditions optimales de croissance à la production de deux molécules de lactate et deux molécules d'ATP par molécule de glucose consommée. Le fructose-1,6-bisphosphate aldolase est une enzyme clé indispensable au fonctionnement de la voie EMP (Thompson et Gentry-Weeks, 1994).

- **Voie hétérofermentaire ou voie des pentoses phosphate :**

Les bactéries lactiques qui fermentent le glucose en produisant, en plus de l'acide lactique, de l'acétate, de l'éthanol et du CO₂ sont dites hétérofermentaire. Les groupes principaux de bactéries présentant ce type de métabolisme sont les *Leuconostoc* et certains *Lactobacilles*. Ces microorganismes sont dépourvus le système de PTS (Thompson et Gentry-Weeks, 1994).

II.15 Les molécules à activité antimicrobienne synthétisées par les bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques synthétisent des molécules à action bactériostatique comme les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, le di acétyle et les bactériocines (De Vuyst et Andamanne, 1994). Ces mécanismes antimicrobiens ont été exploités pour améliorer la préservation des aliments.

II.15.1 Les acides organiques :

Les acides organiques comme l'acide lactique, l'acide acétique ou l'acide propénoïque, sont produits par les bactéries lactiques au cours de processus de fermentation alimentaire ; Leur effets antimicrobiens sont bien connus à l'heure actuelle. Grâce à cette production d'acides organiques, les bactéries lactiques diminuent le pH du milieu dans lequel elles se multiplient en inhibant une partie de la flore qui s'y développe.

Outre la diminution du pH milieu, l'effet antagoniste des acides organiques résulte de l'action de leur forme non dissociée. En effet, la forme non dissociée de l'acide peut traverser passivement la membrane et acidifier le cytoplasme par libération du proton, ce qui affecte le métabolisme cellulaire en inhibant certaines (**Klaenhammer, 1993 ; Brul et al, 1999 ; Caplice et al, 1999 ; Hsaio et al, 1999**). La sensibilité à cet acide facteur tel que l'activité de l'eau et température (**Hsaio et al, 1999**).

II.15.2 Le peroxyde d'hydrogène :

Les bactéries lactiques sont dépourvues de catalases catalysant la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et en oxygène. En conséquence, l' H_2O_2 produit s'accumule dans l'environnement et inhibe certains microorganismes présents (Condom, 1987). L'action inhibitrice du peroxyde d'hydrogène est principalement due à son fort effet oxydant sur les lipides membranaires et les protéines cellulaires (**Caplice et Fitzgerald, 1999**).

II.15.3 Le dioxyde de carbone :

Les bactéries lactiques hétéro fermentaires synthétisent du dioxyde de carbone (CO_2) comme métabolite secondaire. Son accumulation dans le milieu extérieur crée une anaérobiose qui peut être toxique pour les microorganismes aérobies présents dans l'aliment. Toutefois, le dioxyde de carbone peut aussi, à faible concentration, stimuler la croissance de certaines bactéries (**Lindegren et Dobrgosz, 1990**).

II.15.4 Le diacétyl :

Le diacétyl est un produit du métabolisme du citrate qui est responsable de l'arôme (Beurre) des produits laitiers. Les bactéries à Gram négatif, les levures et les moisissures sont plus sensibles au diacétyl que les bactéries à Gram positif. Le diacétyl inhibe la croissance bactérienne en interférant probablement avec les mécanismes

gouvernant l'utilisation de l'arginine (**Motagh et al, 1991**). Toute fois, le di acétyle est rarement présent dans l'aliment en quantité suffisante pour y exercer une activité antimicrobienne importante (**Caplice et Fitzgerald, 1999**).

II.15.5 Les bactériocines :

Les bactériocines sont des composés de synthèse ribosomale produites par les bactéries dans le but d'inhiber la croissance des autres bactéries. Ces composés sont trouvés chez la plupart des espèces bactériennes étudiés jusqu'à aujourd'hui. Mais peu d'entre eux sont largement étudiés. En général, elles ont un spectre d'action restreint, inhibant seulement les bactéries voisines de la souche productrice. Les bactéries à Gram + n'inhibent pas les bactéries à Gram –et vice versa (**Ouwehand et Vesterlund, 2004**). Habituellement, elles sont de faible poids moléculaire (mais des bactériocines à haut poids moléculaire sont également produites). C'est leur nature protéique et leur spectre d'inhibition étroit qui les distingue des antibiotiques (**De Vuyst et Leroy, 2007**). Au cours des deux dernières décennies, la sécurité alimentaire est devenue un problème majeur, et de grands efforts ont été fournis pour identifier des bactériocines qui inhibent la croissance des germes pathogènes et nuisibles. Pour l'utilisation dans l'aliment la bactériocine doit être:

- ✓ Stable à la chaleur.
- ✓ Stable à l'acidité.
- ✓ Résistante aux protéases qui se trouvent dans l'aliment.
- ✓ Active pendant une période prolongée.
- ✓ En activité au pH de l'alimentation (4,5 à 7,0).
- ✓ Avoir un effet bactéricide que bactériostatique.
- ✓ Un large éventail d'hôtes, en inhibant plusieurs agents pathogènes et nuisible (**Fox et al, 2000**).

Les bactériocines sont réparties en trois classes (**Cleveland et al ,2001**) :

1. Les bactériocines de classe I ou lantibiotiques (lanthionine containing antibiotic).
2. Les bactériocines de classe II
3. Les bactériocines de classe III

III Les ferments lactiques

III.1. Définition

Un ferment est une préparation microbienne d'un grand nombre de cellules, d'un seul microorganisme ou plus. Les ferments lactiques constituent un groupe diversifié de bactéries lactiques qui ont néanmoins un certain nombre de caractéristiques communes (**La montagne et al., 2010**). Ils sont ajoutés à une matière première pour produire un aliment fermenté en accélérant et en orientant son procédé de fermentation (**Leroy et De Vuyst, 2004**).

Aujourd'hui, les producteurs d'aliments fermentés ont le choix d'acheter des levains prêts à l'emploi, sous forme concentrée, ou de procéder eux-mêmes à la propagation des souches dans l'usine. La solution la plus employée reste l'utilisation de levains commerciaux en inoculation directe (**Hansen, 2002**).

On distingue deux catégories principales de ferments:

– Ferments artisanaux

Tous les ferments disponibles, généralement, sont dérivés des *starters* artisanaux de composition non définie (contenant un mélange de différentes souches et/ou espèces non définies) (**Brusetti et al., 2008**).

La production de telles cultures, aussi définies comme « ferments naturels » est dérivée d'une pratique antique dénommée “ *back slopping* ” (l'utilisation d'un vieux batch d'un produit fermenté pour inoculer un produit neuf) et/ou par l'application des pressions sélectives (traitement thermique, température d'incubation, baisse de pH) (**Carminati et al., 2010**).

– Ferments commerciaux

Les ferments commerciaux sont en général commercialisés sous forme lyophilisée et peuvent être utilisés pour l'inoculation directe de la cuve de fermentation ce qui évite la contrainte de la propagation sur place. Ces ferments sont développés en grands volumes à partir d'une culture initiale définie ou non définie, concentrée et ensuite congelée ou lyophilisée pour le stockage et la distribution (**Robinson, 2002**).

III.2. Types de ferments lactiques

Les ferments lactiques peuvent être classés en se basant sur leur fonction, leur température de croissance, ou leur composition (Carminati et al, 2010).

III.2.1. Selon la composition

Selon la fédération internationale de laiterie (1997), les ferments lactiques peuvent être classés en trois catégories (Wouters et al, 2002 ; Monnet et al, 2008) :

- Les ferments purs : constitués d'une souche d'une seule espèce bien caractérisée, c'est-à-dire une culture provenant en principe d'une seule cellule bactérienne.
- Les ferments mixtes : ils sont formés d'un mélange de souches en nombre et en proportions indéfinis, ces souches appartiennent aux différents types lysotypiques et ont donc, en général, une bonne activité acidifiante.
- Les ferments mixtes sélectionnés : contiennent plusieurs souches bien définies, issues d'une ou de plusieurs espèces et les proportions entre les souches sont connues et définies selon le cahier des charges de l'utilisateur.

III.2.2. Selon la température de croissance

Les ferments lactiques sont, selon les productions industrielles à réaliser, des ferments mésophiles et des ferments thermophiles :

➤ Ferments mésophiles

Les bactéries lactiques qui constituent ces ferments ont une température optimale de croissance qui varie selon les souches entre 25°C et 30°C et peuvent atteindre une température maximale de fermentation de 38°C à 40°C. Ils sont constitués essentiellement des espèces acidifiantes (*Lactococcus lactis* SSP. *lactis*, *Lc. lactis* SSP. *cremoris*) et des espèces aromatisants (*Lc. lactis* SSP. *lactis* biovar. *diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides* SSP. *cremoris*). Les ferments mésophiles sont habituellement utilisés dans la fabrication de plusieurs variétés de fromages, en particulier les fromages frais, de certains laits fermentés et du beurre (Chamba, 2008 ; Carminati et al., 2010).

➤ Ferments thermophiles

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

III.3. Les cultures mixtes des bactéries lactiques

Dans la pratique industrielle, les bactéries lactiques sont très souvent associées, soit entre elles, soit avec d'autres microorganismes (bactéries non lactiques, levures ou moisissures) formant des cultures mixtes où différents types d'interactions peuvent se produire. L'ensemble de ces interactions gouverne la structure des communautés microbiennes et leurs activités. On les classe en deux catégories : les interactions *positives* qui se caractérisent par la stimulation d'un ou de plusieurs micro-organismes et les interactions *négatives* qui correspondent à une inhibition de la croissance et de l'activité métabolique (Cholet, 2006 ; Monnet et al., 2008).

III.3.1. Les interactions positives

Quand on parle d'interactions positives, on différencie le *commensalisme* où l'un des partenaires est stimulé par la production d'une substance essentielle ou par la destruction d'un facteur inhibiteur, du *mutualisme* où, dans ce cas, l'interaction est bénéfique aux deux partenaires (Cholet, 2006).

III.3.2. Les interactions négatives

Il existe divers mécanismes d'inhibition des micro-organismes entre eux. Si l'inhibition intervient par la production de substances inhibitrices et si un seul des deux micro-organismes est inhibé par l'autre, il convient de parler d'*amensalisme*. En revanche, si les mécanismes d'inhibition sont réciproques, il s'agit alors d'un phénomène de *compétition*. Cette compétition peut s'exercer vis-à-vis de l'espace disponible (inhibition de contact) et/ou de la disponibilité en substrats.

L'antagonisme désigne une lutte réciproque des deux populations par la production de molécules inhibitrices, généralement spécifiques (Cholet, 2006 ; Monnet et al., 2008).

III.4. Critères de sélection des ferments lactiques

La sélection des ferments lactiques s'appuie sur de nombreux critères afin de répondre à la fois aux spécifications demandées par l'utilisateur et aux contraintes imposées par le producteur. Ces critères relèvent éventuellement des fonctionnalités technologiques des souches, de leur performance et de leur sécurité. Ils diffèrent selon le type de produit désiré, les caractéristiques des matières premières à transformer et la technologie appliquée (Béal *et al.*, 2008).

III.4.1. Critères de sécurité

Les bactéries susceptibles d'être produites et utilisées comme ferments lactiques ne doivent évidemment pas présenter de caractère pathogène et ne pas générer de substances toxiques. C'est le cas de la plupart des espèces de bactéries lactiques, qui possèdent le statut GRAS (Generally Recognized As Safe) à l'exception de certains entérocoques (Ammor *et al.*, 2006 ; Monnet *et al.*, 2008).

III.4.2. Aptitudes technologiques

Les progrès effectués dans la connaissance des bactéries lactiques ont mis en évidence une grande diversité d'espèces et de souches, ainsi qu'un très large éventail de propriétés, allant bien au-delà du potentiel acidifiant. Ainsi, deux souches d'une même espèce peuvent manifester des propriétés extrêmement différentes. A cela, s'ajoutent d'autres facteurs plus spécifiques du contexte industriel. C'est le cas des associations de plusieurs souches, réalisées afin de constituer des ferments susceptibles de générer l'ensemble des propriétés requises pour l'élaboration d'un produit, ou des interactions de ces souches avec différentes matrices alimentaires qui correspondent à autant de milieux de culture particuliers. Tout ceci complique fortement la mise en œuvre et la maîtrise des bactéries lactiques dans les aliments (Corrieu *et Luquet*, 2008).

III.4.2.1 Activité acidifiante

L'activité acidifiante est l'une des principales fonctions des bactéries lactiques dans la fabrication des produits fermentés, les bactéries lactiques provenant des matières premières ou de l'environnement sont responsables de la production d'acide lactique résultant de l'utilisation des hydrates de carbone (Visessanguan *et al.*, 2006). L'activité acidifiante des ferments dépend de la nature et de l'équilibre entre les différentes souches présentes, en particulier, la présence de certaines espèces ou mélanges d'espèces différentes va permettre d'obtenir l'activité voulue. Cependant, il est important de souligner qu'il existe une forte variabilité de l'activité acidifiante des bactéries lactiques, y compris au sein d'une même espèce (Corrieu *et Luquet*, 2008).

Les conséquences, d'ordre physico-chimique et microbiologique, peuvent se résumer ainsi par **(Béal et al, 2008)** :

- Accumulation d'acide lactique participant à la saveur des aliments fermentés ;
- Abaissement progressif du pH des milieux de culture et des matrices alimentaires ;
- Limitation des risques de développement des flores pathogène et d'altération dans les produits finaux ;
- Déstabilisation des micelles de caséines, coagulation des laits et participation à la synérèse.

Pour un ferment donné, il s'agit de permettre une vitesse d'acidification élevée et/ou d'atteindre un niveau d'acidité finale prédéfinie. Le niveau d'acidité dépend des spécifications du produit, les quelles vont conditionner le choix des souches **(Monnet et al, 2008)**.

III.4.2.2 Aptitude protéolytique

La protéolyse joue un rôle clé dans plusieurs processus biologiques chez les bactéries lactiques: nutrition azotée, activation de protéines et dégradation de protéines. La machinerie protéolytique des bactéries lactiques est constituée d'un ensemble d'enzymes qui hydrolysent des oligopeptides et de ce fait, produisent les substances responsables de la flaveur et de la texture des produits fermentés **(Ammor et al, 2005)**. Elles possèdent un système protéolytique complexe qui assure leur croissance dans des milieux à faibles concentrations en acides aminés libres et oligopeptides comme le lait **(Vasiljevic et al, 2005)**.

La croissance jusqu'à des densités cellulaires permettant aux bactéries lactiques d'assurer les fonctions de fermentation repose sur un système protéolytique capable de satisfaire tous les besoins en acides aminés en hydrolysant les protéines. Les bactéries lactiques démontrent des potentialités différentes, liées à leur équipement enzymatique, pour l'utilisation de la fraction azotée. Les lactobacilles présentent généralement une activité protéolytique plus prononcée que les lactocoques **(Donkor et al, 2007 ; Monnet et al, 2008 ; Roudj et al, 2009)**.

III.4.2.3 Activité lipolytique et formation de substances aromatiques

Les activités lipolytiques jouent un rôle important dans la formation des substances aromatiques des produits transformés, bien que parfois, elles soient à l'origine d'altérations. Les propriétés lipolytiques sont généralement faibles chez les bactéries lactiques, les lactocoques sont considérés comme plus lipolytiques que *Streptococcus thermophilus* et les lactobacilles. Elles peuvent cependant présenter un intérêt pour certaines applications fromagères (Béal et al, 2008).

D'une manière générale on distingue les estérases qui hydrolysent de façon préférentielle les esters formés avec les acides gras à chaîne courte (C2-C8) et les lipases qui sont actives sur des substrats émulsifiés contenant des acides gras à chaîne longue (>C8), ces enzymes sont impliquées dans l'hydrolyse de mono, di, et triglycérides (Béal et al, 2008 ; Serhan et al, 2009).

III.4.2.4 Aptitude aromatisant

Les bactéries lactiques sont capables de produire de nombreux composés aromatiques (tels que : l' α -acétolactate, l'acétaldéhyde, le diacétyle, l'acétoïne et 2,3-butane diol, l'éthanol, l'acétate, le formiate, ...etc.) principalement à partir du lactose, du citrate, des acides aminés et des matières grasses. Cette fonctionnalité est particulièrement importante lors de l'élaboration des laits fermentés, des fromages frais, crèmes et beurre, dont l'arôme principal est lié à cette activité microbienne (Bourgeois et Larpent, 1996 ; Gerrit et al, 2005 ; Cholet, 2006).

III.4.2.5 Aptitude texturant

La capacité des bactéries lactiques à synthétiser des exopolysaccharides (EPS) joue un rôle important pour la consistance et la rhéologie des produits transformés. Les *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* produisant des EPS sont utilisés dans la fabrication des yaourts, ceci afin d'améliorer la texture, éviter la synérèse et augmenter la viscosité des produits finis. L'utilisation des EPS produits par les souches *Lc. Lactis* SSP. *Cremoris* est très prometteuse pour la structure et la viscosité des produits laitiers fermentés (Leroy et De Vuyst, 2004 ; Ho et al. 2007).

La plupart des bactéries lactiques synthétisent les polysaccharides. Certains se trouvent à l'intérieur de la cellule, d'autres sont des composants de la paroi. Un troisième groupe de polysaccharides est excrété à l'extérieur de la cellule d'où vient le terme "exopolysaccharides" (EPS) (Topisirovic et al., 2006).

Dans le cas des deux bactéries du yogourt : *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*. La production d'EPS est régulée par plusieurs gènes au niveau chromosomique (Cerning, 1995). Généralement, pour les bactéries thermophiles, la production d'EPS est associée à la croissance bactérienne (Petry et al, 2003).

III.4.2.6 Activité antimicrobienne

Les propriétés antimicrobiennes des bactéries lactiques peuvent être associées à de nombreux éléments. Elles résultent de l'effet combiné de différents facteurs biologiques provenant de leurs activités métaboliques (Liu, 2003).

Les bactéries lactiques produisent une variété de composés antimicrobiens qui sont utilisés dans la fermentation et la bio conservation des aliments (Labioui et al., 2005).

Les acides organiques, comme l'acide lactique, l'acide acétique ou l'acide propionique, élaborés lors de la fermentation des glucides, peuvent inhiber des levures, des moisissures et des bactéries.

Le peroxyde d'hydrogène produit par les bactéries lactiques s'accumule dans l'environnement et peut inhiber certains microorganismes. Les bactéries lactiques hétérofermentaires synthétisent du dioxyde de carbone comme métabolite secondaire. Son accumulation dans le milieu extérieur crée une anaérobiose qui s'avère toxique pour certains microorganismes aérobies présents dans l'aliment. Le diacétyl peut inhiber la croissance des bactéries à Gram négatif, des levures et moisissures (Alakomi et al., 2000 ; Ammor et al., 2006).

Les bactériocines produites par les bactéries lactiques sont des substances antimicrobiennes de poids moléculaire variable. Elles ont une activité inhibitrice dirigée contre les bactéries proches de la souche productrice et leur spectre d'action est généralement étroit. Les plus connues sont : la nisine, la diplococcine, l'acidophiline et la bulgaricane (Ogunbanwo et al., 2003 ; Dortu et Thonart, 2009).

La plupart des bactériocines produites par les bactéries lactiques partagent le même mode d'action, basé sur la formation de pores dans la membrane de la bactérie cible (De Vuyst et Leroy, 2007 ; Kumari et al., 2009).

III.4.2.7 Performance

La sélection d'un ferment lactique doit prendre en compte des critères de performance des bactéries.

Les bactéries devront répondre à certaines des spécificités suivantes (**Béal et al., 2008**) :

Résistance aux bactériophages et aux traitements mécaniques ;

-Tolérance aux inhibiteurs de croissance (antibiotiques, chlorure de sodium, saccharose, l'acidité, l'éthanol et la température élevée) ;

Aptitude à la congélation ou à la lyophilisation et à la conservation ;

Comportement en présence d'oxygène ;

Croissance à des températures non optimales ;

Compatibilité avec d'autres souches ;

Facilité d'emploi.

Matériels et méthodes :

1. Objectif :

- ❖ Les objectifs de cette étude se basent autour des points suivant :
- Isolement des bactéries lactiques à partir de différents échantillons de lait de chèvre cru de la région Ouest d'Algérie (Mostaganem) ;
- L'étude des caractéristiques phénotypiques, physiologiques et biochimiques des isolats ;
- L'identification phénotypique, physiologique, et biochimique des bactéries lactiques thermophiles et mésophiles à partir du lait cru de chèvre ;
- Recherche des propriétés technologiques des isolats.

2. Lieu et période d'étude :

L'intégralité de ce travail a été réalisé au laboratoire de microbiologie de l'université de Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem durant une période de deux mois allant du 02 mai jusqu'au 04 juillet 2016.

3. L'échantillonnage et techniques de prélèvement de lait :

Les échantillons de laits ont été aseptiquement prélevés à partir des chèvres des régions de Mostaganem (Kheire-Eddine, Achaacha et Sidi Ali). Le pis et la mamelle ont été nettoyés à l'eau javellisée. La traite est réalisée après lavage soigné des mains et asepsation. Le lait a été recueilli dans un flacon en verre de 250ml stérile, après avoir éliminé quelques jets, conservé dans une glacière et acheminé directement au laboratoire pour analyse.

Les échantillons ont été soigneusement étiquetés (lieu et date de prélèvement...).

Tableau 05 : Lieu, date de prélèvement du lait cru de chèvre de région de Mostaganem :

Lieu	Date de prélèvement
Kheire-Eddine	05 Mai
Achaacha	04Mai
Sidi Ali	04Mai

4. Caractéristiques organoleptiques du lait de chèvre collecté :

Les tests portent sur l'appréciation du goût de la couleur et de l'odeur. L'objectif est de déterminer le profil organoleptique de chacun des types de lait des chèvres, et de procéder à une comparaison de leur qualité hédonique.

5. Analyses physico chimiques :

5.1 Mesure de pH :

La valeur du pH a une importance exceptionnelle par l'abondance des indications qu'elle donne sur la richesse du lait en certains de ces constituants, sur son état de fraîcheur ou sur sa stabilité (Mathieu, 1998).

5.2 Détermination de l'acidité titrable :

L'acidité peut être titrée de façon précise à l'aide de la soude Dornic (N/9).

On introduit 10 ml de lait dans un bécher de 100 ml en présence de 0,1 ml de phénolphthaléine à 1% dans l'alcool à 95%. La soude Dornic (N/9) est rajoutée (à la burette) jusqu'au virage au rose pâle. La coloration rose doit persister au moins 10 secondes (Guiraud, 1998).

6. Isolement et purification des souches :

6.1 Isolement :

L'isolement des bactéries lactiques est fait après incubation à 37°C jusqu'à coagulation.

6.1.1 Les dilutions :

Après homogénéisation du lait de chèvre cru, on effectue des dilutions décimales qui vont en générale de 10^{-1} jusqu'à 10^{-6} .

On prélève à partir des dilutions 0,1 ml qu'on étale en surface sur milieu (MRS ou M17) les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 heures.

6.1.2 Techniques d'isolement :

L'isolement a été réalisé sur gélose M17 et MRS préalablement coulée et solidifiée dans des boîtes de Pétri, en portant 0.1ml des dilutions à la surface du milieu suivi d'un étalement. L'incubation est faite à 37°C pendant 24h à 48h (Idoui et al. 2009).

6.3. Purification :

Afin de purifier les souches, des repiquages successifs sont effectués sur les bouillons (MRS ou M17) et gélose (MRS ou M17). La purification des souches consiste à les ensemercer en stries sur des boîtes de Pétri coulées avec des milieux MRS (solide). Les

boîtes sont ainsi incubées à 37°C pendant 24 h. L'opération est répétée jusqu'à l'obtention des colonies pures.

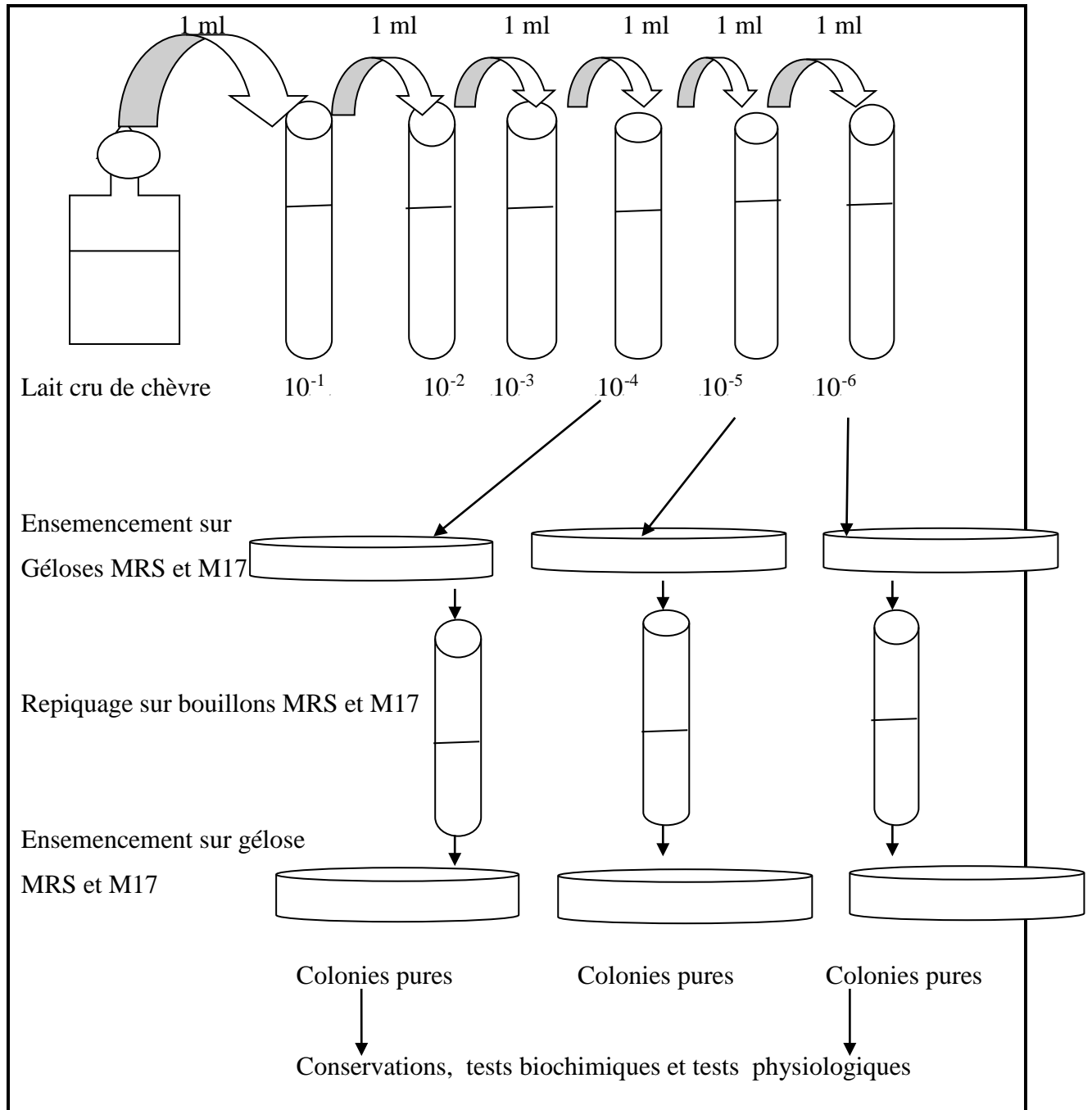


Figure 02 : Diagramme d'isolement des souches lactiques

7. Caractérisation et identification des souches lactiques :

Après avoir obtenu des cultures homogènes, plusieurs tests ont été réalisés pour l'identification des souches :

- Les méthodes classiques d'identification des souches décrites par plusieurs auteurs tels que Bourgeois et Leveau se basant sur l'étude des caractères morphologiques et biochimiques, ont été reprises dans ce travail.
- Il existe d'autres tests plus récents et plus précis où sont utilisées des techniques moléculaires et génétiques (Marconi et al, 2000).

7.1 Etude morphologique :

Cette étude est basée sur l'observation macroscopique et microscopique.

7.1.1 Examen macroscopique :

Ce test permet de mettre en évidence la morphologie de colonie obtenue sur des milieux solides, il s'agit d'une observation à l'œil nu qui consiste à déterminer les paramètres suivants (Taille, couleur et forme des colonies).

7.1.2 Examen microscopique :

On utilise le microscope optique pour déterminer par la suite la forme et la disposition des cellules bactériennes ; ainsi que leur type de Gram (Gram+ pour les bactéries lactiques).

7.1.3 Coloration de Gram :

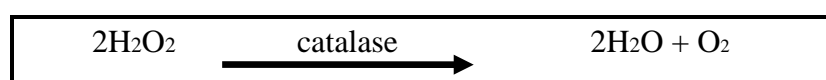
La coloration de Gram est effectuée sur frottis. Elle permet de distinguer deux types de bactéries, les bactéries Gram négatifs (G-) et les bactéries Gram positives (G+). Celles-ci diffèrent de part la composition de leur paroi, notamment par l'épaisseur du peptidoglycane, par la présence d'une membrane externe (Larpen, 1990).

Les bactéries lactiques sont des bactéries à Gram positif, elles fixent le violet de Gentiane.

8. Tests physiologiques :

8.1 Recherche de catalase :

La catalase est une enzyme qui dégrade l'eau oxygénée (H_2O_2) en eau métabolique (H_2O) et oxygène (O_2). On émulsionne dans une goutte d'eau oxygénée, déposée sur une lame propre, une colonie bien distincte. La réaction chimique de dégradation d'eau oxygénée s'établit comme suit :



8.2 Test de croissance en différentes températures :

L'aptitude à la culture est testée à 22°C, 37°C et à 45°C en ensemençant des tubes de bouillon M17 et MRS. Ce test est important car il permet de distinguer les bactéries lactiques mésophiles des bactéries lactiques thermophiles (Leveau et al, 1991). Les tubes sont examinés au bout d'un délai de 24 heures, la croissance est appréciée par l'apparition de trouble.

8.3 Test de croissance en différentes pH : (pH=9,6 ; pH=6,5 ; pH=5)

8.3.1 La croissance à pH=9.6 :

Le but de ce test c'est de différencier entre *Enterococcus* et *Streptococcus thermophilus*.

Après ensemencement dans le milieu MRS à pH=9,6. La culture est incubée à 37°C pendant 24h. La croissance se traduit par l'apparition d'un trouble dans le tube.

8.3.2 La croissance à pH=5 :

Il permet d'identifier le genre *Lactobacillus*. On refait les mêmes étapes que celles décrites à pH=9,6. La croissance se traduit aussi par l'apparition d'un trouble dans le tube.

8.4 Test de thermorésistance :

Ce test permet d'isoler ou identifier les souches résistantes à une température de 60°C pendant 30 minutes.

Les souches sont inoculées en milieux liquides (MRS ou M17), la culture bactérienne doit être jeune et pure.

Les tubes sont introduites dans un bain marie à 60°C pendant 30 minutes, puis incubés à 37°C durant 24 à 48 heures.

Un résultat positif se traduit par un trouble (De Roissart et al, 2006)

Seules les souches thermophiles poussent, contrairement aux souches mésophiles qui sont incapables de se développer.

8.5 Croissance en milieu hypersalée :

Les cultures à tester ont été ensemençées sur bouillon hypersalée à 6.5% de NaCl.

Les tubes sont incubés à 37°C pendant 24 heures.

Les Lactocoques lactiques sont incapables de survivre dans ce milieu.

8.6 La croissance sur le lait de Sherman :

L'aptitude des souches lactiques à croître en présence d'un inhibiteur (bleu de méthylène) a été testé à 0,1% et 0,3% ; le milieu utilisé est le lait écrémé stérilisé contenu dans tubes à essais de 9 ml ; 1ml d'une solution de bleu de méthylène à 1% stérile (pour lait à 0,1% de BM) et 1ml d'une solution de bleu de méthylène à 3% stérile (pour obtenir un lait à 0,1%

de BM) sont ajoutés dans chaque tube. Le milieu est ensemencé avec les souches à tester et incubé à 37°C durant 48 heures.

Le bleu de méthylène tire sa couleur grâce à l'oxygène, ce test porte toujours sur le système respiratoire des *Lactocoques*, car vu que se sont des microaérophiles, ils ne vont utilisés qu'une partie de l'oxygène présent dans le méthylène (0.1%) et de ce fait la couleur du lait (bleu) virera vers le blanc. Seul certaines espèces sont capables de ce développer (**Guiraud ; 1998**).

9. Tests biochimique :

9.1 Recherche de l'arginine di hydrolase (ADH)

Ce test est intéressant dans la caractérisation des bactéries lactiques. Cette enzyme ayant l'aptitude de libérer l'ammoniac et la citrulline à partir de l'arginine. Il s'applique de la façon suivante :

Dans chaque tube à essais, on introduit 1ml d'une culture jeune à laquelle on ajoute quelques gouttes d'arginine en ampoules.

Après l'incubation à 37°C pendant 24h, les souches d'arginine positifs catabolisent l'arginine et libèrent l'ammoniac (NH₃) et empêchent le virage de la couleur au jaune (**Guiraud, 1998**).

9.2 Production de l'acétoïne: (Acétyle-Méthyle-Carbinol) :

Sur milieu de Clark et Lubs, et après ensemencement des souches et incubation à 37°C pendant 24 à 48 h. La production de l'acétoïne est testée par la réaction de Vogues-Proskauer(VP) est s'applique de la façon suivante :

Dans un tube à essai on introduit 1ml de la culture à tester, on ajoute 5 gouttes du réactif VPI (solution de soude NaOH à 16% dans l'eau distillée) et le même volume du réactif VPII (α -naphthol à 6% dans l'alcool à 95%).

On agite soigneusement les tubes et laisse reposer 5 à 10 min à température ambiante.

Le test positif se traduit par l'apparition d'un anneau rose à la surface du milieu, après 10 min. (**Guiraud, 1998**).

9.3 Recherche du type fermentaire :

Ce test permet de classer les bactéries en Hétérofermentaire ou homofermentaire. On ensemence abondamment un tube de 10 ml de bouillon MRS ou M17 dans le milieu on introduit une cloche de Durham, le dégagé par les bactéries hétérofermentaires s'accumule dans la cloche après l'incubation à 30°C pendant 24h à 48h (**Garvie, 1986**).

9.4 Production de dextrane :

On utilise le milieu : Mayeau, Sandine et Elliker, 1962 (la composition du milieu en annexe). La production du d'extrane à partir du saccharose est mise en évidence sur milieu solide MSE (**Mayeux et al, 1962**). Les souches productrices de dextrane sont caractérisées par la formation des colonies larges, visqueuses et gluantes.

9.5 Etude du profil fermentaire (fermentation des sucres) :

L'étude du profil fermentaire des souches est effectué par ensemencement des souches lactiques dans des tubes contenant le milieu de base pour fermentation (MRS bouillon contenant du pourpre de bromocrésol BCP comme indicateur de pH) dans lequel on ajoute du sucre et enfin un couche de l'huile de paraffine.

Après 24-48 heures d'incubation à 37°C, tous les sucres fermentés virent au jaune c'est-à-dire le virage de la couleur au jaune, désigne l'utilisation du sucre par les bactéries.

10. Identification par la galerie Api 20 Strep:

Les galeries Api 20 Strep permettent une identification des bactéries lactiques au niveau de l'espèce et même parfois de la sous-espèce sur la base de la fermentation des sucres différents.

La galerie Api 20 Strep est constituée de 20 micro-tubes permettant l'étude de la fermentation de substrat, appartenant à la famille des hydrates de carbone et dérivés (hétérosides, polyalcools, acides uroniques).

10.1 Préparation des galeries Api 20 Strep:

Chaque galerie Api 20 Strep est constituée de 1 bandes comprenant chacune 20 tubes numérotés.

- Préparer une boîte d'incubation (fond et couvercle)
- Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte.
- Répartir environ 10 ml d'eau distillée ou déminéralisée dans les alvéoles du fond pour créer une atmosphère humide.
- Sortir la bande de leur emballage, et les déposer dans le fond de la boîte d'incubation.

10.2 Préparation de l'inoculum:

- Cultiver les bactéries sur un milieu adapté à sa croissance
- Après 24 h d'incubation, préparer l'inoculum dans le milieu de l'Api 20 Strep.

.10.3 Inoculation des galeries:

Répartir la suspension bactérienne à l'aide d'une pipette stérile dans les 20 tubes de la galerie en se conformant aux précautions suivantes:

- Incliner légèrement vers l'avant la boîte d'incubation.
- Éviter la formation de bulles en posant la pointe de la pipette sur le côté de la cupule.
- Lorsque les tubes doivent être inoculés, les cupules sont remplies avec de l'huile de paraffine stérile.
- Incuber les galeries à la température optimum de croissance de bactéries étudiée. Durant la période d'incubation, la fermentation des sucres est indiquée par une couleur jaune.

Les résultats sont lus à 24 h d'incubation, après l'addition des réactifs.

L'interprétation des résultats peut se faire par le logiciel Api Web (Bio Mérieux) pour identifier les bactéries lactiques.

11 Caractérisation technologique des souches :

11.1 Activité protéolytique

La protéolyse est l'un des processus biochimiques les plus importants impliqués dans la fabrication de beaucoup de produits laitiers fermentés. La capacité de produire des protéinases extracellulaires est une caractéristique très importante des bactéries lactiques. Ces enzymes hydrolysent les protéines du lait, en fournissant les acides aminés essentiels pour la croissance. Il est connu que le système protéolytique des bactéries lactiques dégrade les protéines et par conséquent, change la texture, le goût et les arômes des produits fermentés (El-Ghaish *et al.*, 2011).

Nous avons testé l'activité protéolytique des souches isolées, par utilisation de milieu YMA (Yeast, Milk, Agar) à concentrations de lait écrémé 1% (10g pour 1000ml d'eau distillée). Les bactéries à tester ont étéensemencées à la surface de ces milieux de cultures à l'aide d'un inoculateur multipoint, et à incuber le tout à 30°C pendant 24h. Le résultat attendu est un halo de protéolyse au tour de la colonie bactérienne dont on mesure le diamètre pour évaluer l'intensité de cette action. (Badis *et al.*, 2004).

11.2 Etude du pouvoir acidifiant des isolats :

L'un des critères technologiques les plus importants chez les bactéries lactiques, c'est leur cinétique de production d'acide lactique. L'étude de cette cinétique permet de différencier ces souches et de les classer selon leurs potentialités à produire de l'acide lactique, qui s'avère le critère de base pour une éventuelle utilisation en industrie.

L'acidification est le rôle principal des bactéries utilisées comme ferments. Celle-ci a différents buts :

- La coagulation du lait (en facilitant l'action de l'enzyme de la présure) et l'augmentation de la synérèse de la caillé ;
- La participation aux propriétés rhéologiques du produit final ;
- L'inhibition de la croissance des bactéries nuisibles (**Papamanoli et al 2003**).

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

✓ **Mesure de pH :**

Les souches lactiques isolées, sontensemencées dans des tubes contiennent 9ml de lait écrémé stériles, et incubées à 30°C durant 18 h. Après homogénéisation, on vers le contenu de chaque tube dans des flacons 200ml de lait écrémé stériles. Puis on les incube à 30°C.

La lecture s'effectuées à différentes périodes d'incubation : 0h, 2h, 4h, 6h et 24h. La mesure de pH et le dosage s'appliquent de la manière suivante : On prélève 20ml du flacon qu'on repartit dans deux béchers à raison de 10 ml pour chacun, puis on mesure le pH. (**Badis et al, 2004**).

✓ **Mesure de l'acidité :**

Pour le 2ème bécher de 10 ml de l'échantillon, on ajoute 3 à 4 gouttes de phénophtaléine 1% et on titre avec la soude N/9 jusqu'au virage de la couleur du blanc à la rose pale. Dans ce moment de changement, on note le volume de la soude écoulée. La couleur rose pal persistant au moins 10 secondes (**Larpent, 1997**).

Expression des résultats

L'acidité est déterminée par la formule :

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

Où :

V_{NaOH} : Volume de NaOH N/9 utilisé pour titrer l'acide lactique contenu dans les 10ml de lait.

°D : Présente 0.1 g d'acide lactique dans 1litre de lait.

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

D'après les résultats, la courbe d'acidification en fonction du temps peut alors être tracée (Bradly et al, 1992).

12. Technique de conservation

12.1 Conservation à court terme

La conservation de courte durée se fait par ensemencement d'une colonie sur gélose solide inclinée, après incubation à 37°C pendant 24h, les géloses sont conservées à 4°C pour quelques semaines (Saidi et al, 2002).

12.2 Conservation à long terme

Les souches sont congelées à -20°C dans une solution contenant 70% de lait écrémé et 30% de glycérol (Saidi et al, 2002).

Résultats et discussion:

1. Caractéristique organoleptiques :

Le lait de chèvre blanc mat, due à l'absence de β -Carotène, contrairement au lait de vache il a une odeur assez neutre. Parfois en fin de lactation, une odeur caprique apparait et après stockage au froid pour acquérir une saveur caractéristique (**Goursaud, 1995**).

Nos échantillons sont caractérisés par :

- Un aspect homogène, ne présente pas de grumeaux.
- Une couleur blanc mat due à l'absence de β -carotène qui est responsable de la couleur blanche de la matière grasse.
- Et une odeur caprique pour **E2** (lait de Sidi Ali) par contre les deux échantillons **E1** et **E3** a une odeur assez neutre. Cette différence de l'odeur de nos échantillons due à des différences du stade de lactation chez la chèvre. Où **E2** est traité en fin de lactation et **E1** et **E3** a une odeur assez neutre lorsqu'il est fraîchement trait, comme rapporte (**Joubert, 1997**).
- les trois échantillons de lait analysé possèdent une saveur douce.

2. Paramètres physico-chimique

2.1 Le pH:

Les valeurs recueillies lors de cette mesure donnent une moyenne de pH échantillons de lait cru de chèvre E1, E2 et E3 qui sont respectivement de 6,5 ; 6,58 et 6,60.

Les pH du lait à la traite peuvent résulter de l'infection de la mamelle de l'animal (**Morgan, 1999**), aussi, ceci peut également être du à une grande influence sur les variations de pH du lait de chèvre (**Remeuf et al, 2001**).

2.2 Acidité titrable :

Les échantillons de lait analysée dans cette étude, avec une acidité titrable entre 12°D et 16°D pour les trois échantillons, qu'il s'agit d'un lait de référence au fait que certaines laiteries exigent la limite d'acceptation des laits à 16°D. L'augmentation de l'acidité est un indicateur de la qualité de conservation du lait (**Cassinello et Pereira, 2001**).

Tableau06: Caractéristiques physico- chimiques effectuées sur les 3 échantillons de lait analysés.

Echantillons	E1	E2	E3
pH	6.5	6.58	6.60
Acidité (°D)	12	14.3	16

3. Pré identification des isolats :

3.1 Caractérisation macroscopique :

La caractérisation macroscopique, permet de décrire l'aspect des colonies obtenues sur milieu solide MRS à pH 6,5 après 24h d'incubation à 37°C (Anabeien Flozer et al ,2006) et sur milieu M17 à pH 7,2 après 24h d'incubation à 37°C et de déterminer les critères relatifs aux colonies des bactéries lactiques (taille, pigmentation, contour, aspect, viscosité), pour les isolats testés, on a observé sur milieu solide des petites colonies d'environ 1 mm de diamètre, de forme lenticulaire de couleur blanchâtres ou laiteuses.

3.2 Caractérisation microscopique :

Après coloration de Gram l'observation microscopique a révélé que nos souches lactiques sont Gram positif, les différentes formes observées sont décrites comme suit :

- Des coques disposées en amas, en chaînes, et en paires.
- Des bacilles disposés en chaînes et en paires.

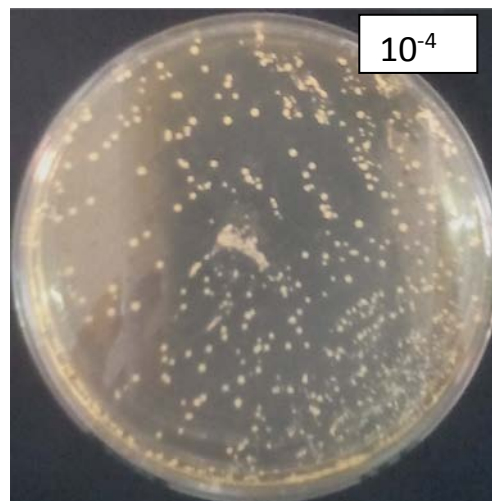


Figure 03 : Aspect des bactéries lactiques sur milieu M17 solide après incubation à 37°C pendant 24h on aérobie

4. Pré identification des bactéries lactiques

4.1. Etude morphologiques

4.1.1. Aspect macroscopique

L'examen macroscopique sur milieu MRS ou M17, montre la présence des colonies de différentes tailles, de couleur blanchâtre, crème, et de forme circulaire à contour régulier avec un diamètre qui varie entre 0.1 et 0.5 mm.

4.1.2. Aspect microscopique

Les souches K1, K2, K3, K11, K10, K13, S1, S2, S6, A2 et A7 sont des cocci, par contre, les souches K4, K6, K7, K8, S3, S4, S5, A3 et A5 sont des bâtonnets Gram positif et catalase négative, le mode d'association varie d'une souche à l'autre. Il est expliqué dans le tableau 08, ces observations permettent de classer initialement les isolats selon le Gram, leurs morphologies cellulaires et leur mode d'association (Joffin et Leyral, 1996).

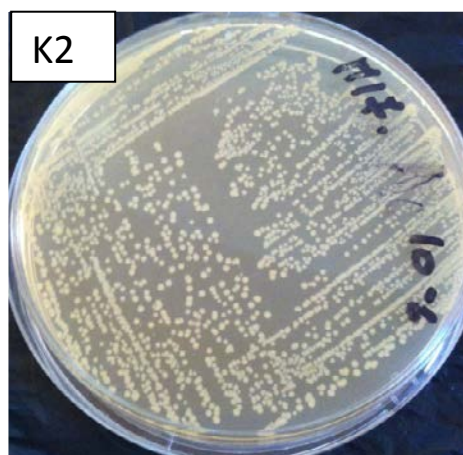


Figure 4: Observation macroscopique des colonies bactériennes sur milieu M17.

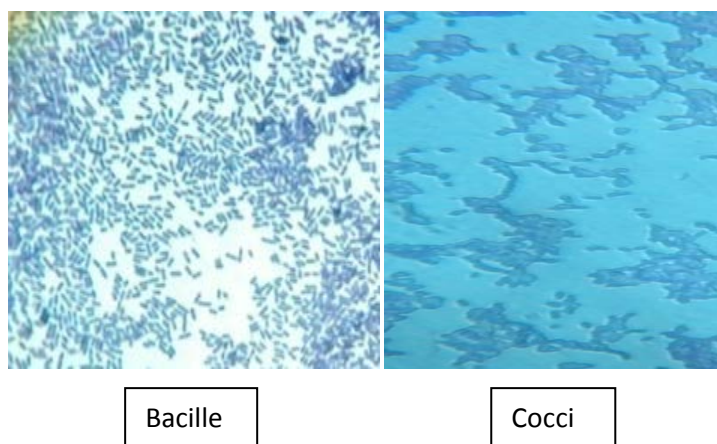


Figure 5: Observation microscopique après coloration de Gram au grossissement x100.

Tableau 07: Critères morphologiques des bactéries lactiques isolées à partir de lait de chèvre

Souches	Gram	Catalase	Forme	Mode d'association
K1	+	-	Cocci	Isolées
K2	+	-	Cocci	Isolées
K3	+	-	Cocci	Diploïdes
K11	+	-	Cocci	En chaîne
K4	+	-	Bacille	Isolées
K6	+	-	Bacille	En chaîne
K7	+	-	Bacille	Diploïdes .isolées
K8	+	-	Bacille	Isolées
K10	+	-	Cocci	En chaîne
K13	+	-	Cocci	En chaîne
S1	+	-	Cocci	Isolées
S2	+	-	Cocci	Isolées
S3	+	-	Bacille	Diploïdes
S4	+	-	Bacille	Isolées
S6	+	-	Bacille	Isolées
S5	+	-	Bacille	Diploïdes. Isolées
A2	+	-	Cocci	En chaîne
A3	+	-	Bacille	Isolées
A5	+	-	Bacille	Diploïdes. Isolées
A7	+	-	Bacille	Isolées

5. Les tests physiologiques

5.1 Recherche de catalase :

Les résultats de ce test ont révélé que toutes les souches isolées sont catalase négatives.

5.2 La Croissance à différents pH :

La croissance à différents pH (5, 6.5, 9.6) milieu MRS se traduit par un trouble bactérien visible à l'œil nu, on obtient les résultats suivants.

La croissance des souches à pH 5 a été marqué positif (+) pour les souches k6, k7, k8, k13, S3, S4, S6 et S5.

A pH 6.5, nous avons noté que toutes les souches poussent à cette valeur de pH ; alors qu'à pH 9.6 toutes les souches poussent, sauf k1, k11 et S6.

Les souches k6, k7, k8, k13, S3, S4 et S5 sont capables de pousser dans les trois pH à savoir 5, 6,5 et 9,6.

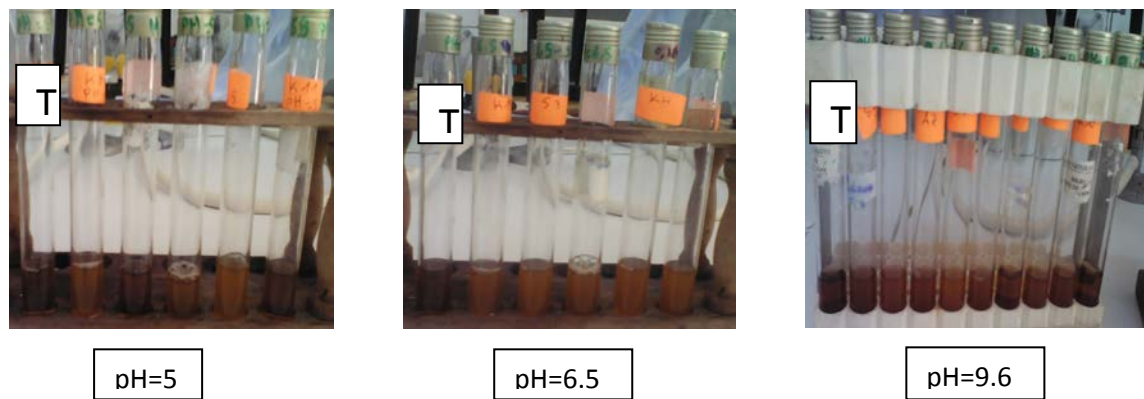


Figure 06: La croissance à différents pH.

5.3 La croissance aux différentes températures :

Les variations de température d'incubation pour les différents isolats est un critère physiologique de sélection pour l'identification et la mise en évidence des aptitudes biotechnologique (Tableau 07). Les résultats de ce test permettent de distinguer entre souches mésophiles qui poussent à 30°C, psychrophiles qui poussent à 22°C et celles qui se développent à 45°C et donc thermophiles.

Les souches K3, K6, K10, S2, S4, S5, A2, A3 et A5 poussent bien à 22°C et 30°C et ne poussent pas à 45°C qui sont de type mésophiles. Les souches K1, K2, K11 K4, K7, K8, K13, S1, S3, S6 et A7 sont capables de croître à 45°C donc sont de type thermophile.

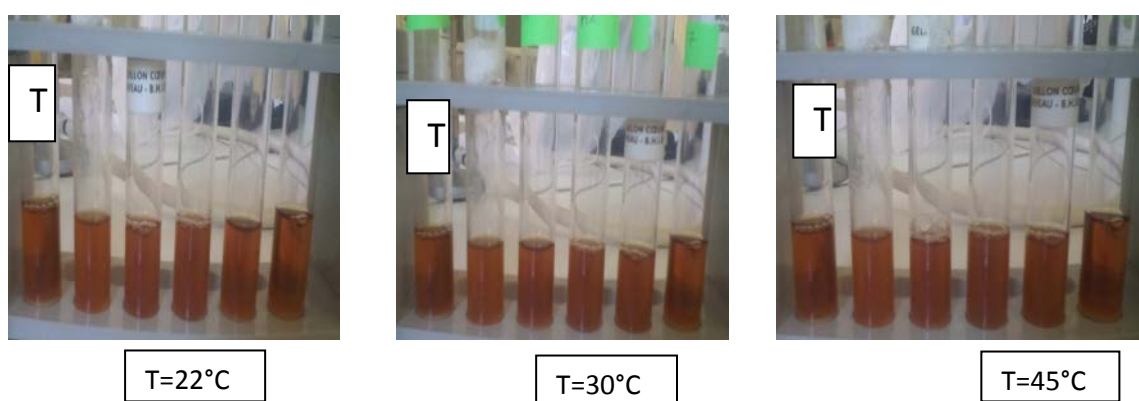


Figure 07 : La croissance à différentes températures

T : Témoin

5.4 Test de la thermorésistance :

La thermorésistance est un caractère physiologique permettant de distinguer entre les souches pouvant tolérer une température de 60°C pendant 30 min de celles qui en sont incapables (Tableau08).

Le résultat positif se traduit par un trouble. Seules les souches thermophiles (S3, S6, S5) poussent, contrairement aux souches mésophiles qui sont incapables de se développer.

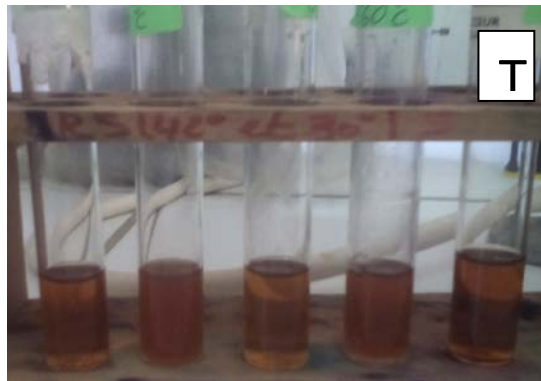


Figure 08: La thermorésistance

5.5 Croissance en milieu hypersalée :

C'est un milieu hostile pour la plupart des bactéries, celles qui le tolèrent peuvent y pousser. Après incubation la tolérance est marquée par un trouble dans les tubes. Les résultats ont révélé que les souches K1, K2, K4, K6, K10, S2, S5, A3, A5 ont pu résister à cette concentration de NaCl 6,5%.

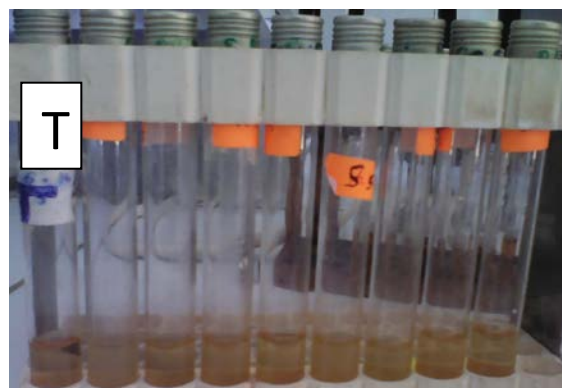


Figure 09 : La croissance en milieu hyper salé (NaCl 6,5%)

Tableau 08: Croissance à différentes pH et différentes température

	Souches	pH			Température			
		5	6.5	9.6	22°C	30°C	45°C	
E1	K1	-	+	-	+	+	+	Ther
	K2	-	-	+	+	+	+	Ther
	K3	-	+	+	+	+	-	Méso
	K11	-	+	-	+	+	+	Ther
	K4	-	+	+	+	+	+	Ther
	K6	+	+	+	+	-	-	Méso
	K7	+	+	+	+	+	+	Ther
	K8	+	+	+	-	+	+	Ther
	K10	-	+	+	-	+	-	Méso
	K13	+	+	+	+	+	+	Ther
E2	S1	-	+	+	+	+	+	Ther
	S2	-	+	+	+	+	-	Méso
	S3	+	+	+	+	+	+	Ther
	S4	+	+	+	+	+	-	Méso
	S6	+	+	-	+	+	+	Ther
	S5	+	+	+	+	+	-	Méso
E3	A2	-	+	+	+	+	-	Méso
	A3	-	+	+	+	+	-	Méso
	A5	-	+	+	+	+	-	Méso
	A7	-	+	+	+	+	+	Ther

Ther : Thermophile

Méso : Mésophile

5.6 La croissance dans le lait de Sherman :

Un bleu de méthylène oxydé garde sa couleur bleu, une fois réduit il perd sa couleur par gain d'électrons faisant apparaître la couleur blanche originale du lait, généralement, les tubes ont gardé une couleur bleu, ce qui nous oriente vers des souches micro aérophiles n'ayant utilisé qu'un petit volume d'oxygène présent dans le milieu (**Leveau et al, 1991**).

Les résultats obtenus par la suite, dans un lait écrémé stérilisé contenant le bleu de méthylène, ont montré que les souches K1, K2, K3, K11, K8, K10, K13, S1, S2, A2, A3,

A5, A7 sont capables de croître en présence du bleu de méthylène 1% à l'exception de K4, K6, K7, S3, S4, S6, S5.

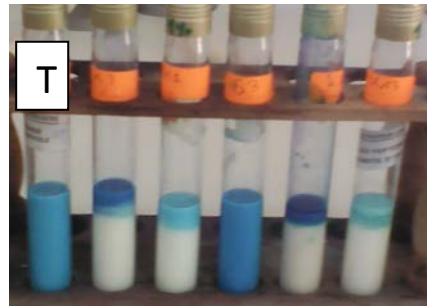


Figure 10: La croissance sur lait de Sherman 1%

Le résultat pour le lait de Sherman 3% montre que les souches K1, K3, K11, K10, S1, S2, S6, A2, A3, A5 et A7 sont capables de pousser, alors que les souches K2, K4, K6, K7, K8, K11, K13, S3, S4 et S5 sont incapables de pousser en présence du bleu de méthylène 3%.

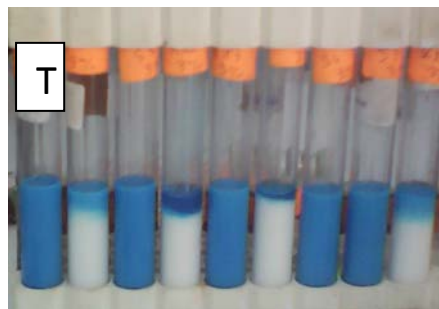


Figure 11 : La croissance dans le lait de Sherman 3%

Tableau 09: Test de thermorésistance et de NaCl 6.5% et La croissance sur lait de Sherman

Souches	Thermorésistance à 60°C	NaCl 6.5%	Lait de Sherman	
			Coagulation 1%	Coagulation 3%
K1	-	+	+	+
K2	-	+	+	-
K3	-	-	+	+
K11	-	-	+	+
K4	-	+	-	-
K6	-	+	-	-
K7	-	-	-	-
K8	-	-	+	-

K10	-	+	+	+
K13	-	-	+	-
S1	-	-	+	+
S2	-	+	+	+
S3	+	-	-	-
S4	-	-	-	-
S6	+	-	-	+
S5	+	+	-	-
A2	-	-	+	+
A3	-	+	+	+
A5	-	+	+	+
A7	-	-	+	+

6. Les tests biochimiques

6.1 Recherche de l'arginine dihydrolase (ADH) :

La mise en évidence de l'arginine dihydrolase se traduit par le virage de l'indicateur de pH du jaune vers le violet par libération d'ammoniac, pour un test négatif la couleur reste jaune due à l'acidification par fermentation du glucose, notons bien qu'au départ le milieu était violet.



Figure 12 : L'arginine dihydrolase (ADH).

6.2 La production d'acétoïne:

La production d'acétoïne est testée sur milieu Clark et Lubs (**FIL, 1996**).

A partir de la figure 13, on constate que tous nos isolats ne produisent pas l'acétoïne sauf les souches K3, S2, A5. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 11.

Les isolats de lait cru de chèvre :

Milieu jaune =>absence d'acétoïne =>test du VP négatif pour nos isolas lactiques.

Milieu rouge =>présence d'acétoïne =>test du VP positif pour nos isolas lactiques.

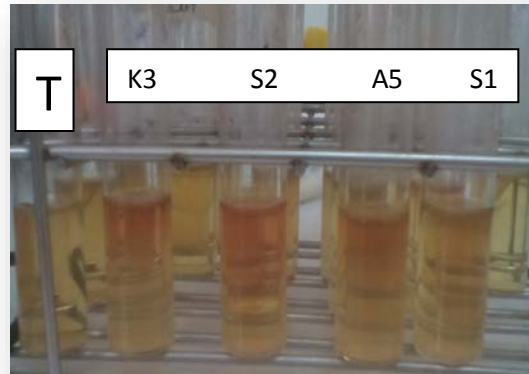


Figure 13 : Production d'acétoïne

6.3 Recherche de type fermentaire :

Les souches isolées et testées sont toutes homofermentaires, aucune production de gaz dans les cloches n'a été enregistrée, voir la figure 14.



Figure 14: Test de type fermentaire

6.4 Production de dextrane :

Le test de dextrane s'est révélé négatif pour l'ensemble des souches isolées.

6.5 Etude de la fermentation des sucres :

La détermination des espèces bactériennes réside essentiellement dans leur capacité à fermenter les sucres en acide organiques. L'analyse des profils fermentaires révèle une grande diversité métabolique chez les isolats.

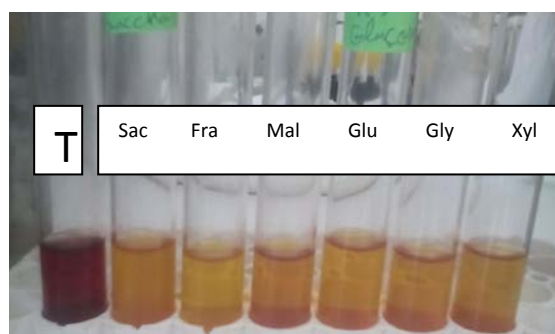


Figure 15 : La fermentation des sucres de souche K13

Tableau 10 : Profil fermentaire des souches isolées

Souches	Glu	Gly	Fruc	Suc	Mal	Sac	Xyl
K1	+	+	+	+	+	+	+
K2	+	-	+	+	-	+	-
K3	+	-	-	+	+	+	-
K11	-	+	+	+	+	+	+
K4	+	+	+	+	+	+	-
K6	+	+	+	+	+	+	-
K7	+	+	+	+	+	+	-
K8	+	+	+	+	+	+	+
K10	+	+	+	+	+	+	+
K13	+	+	+	+	+	+	+
S1	+	+	+	+	+	+	+
S2	+	+	+	+	+	+	+
S3	+	+	+	+	-	+	-
S4	+	-	+	+	+	+	-
S6	+	-	+	+	-	+	-
S5	+	-	+	+	+	+	-
A2	+	-	+	+	+	+	+
A3	+	-	+	+	+	+	+
A5	+	+	+	+	+	+	+
A7	-	+	-	+	+	+	-

+ : Réaction positive ; - : Réaction négative

Glu : Glucose ; **Gly** : Glycérol ; **Fruc** : fructose ; **Suc** : Sucrose ; **Mal** : Maltose ; **Sac** : Saccharose ; **Xyl** : Xylose.

Tableau 11: Type fermentaire, acétoine et l'arginine di hydrolyse :

Souches	Homofermentaire	Hétérofermentaire	Acétoine	ADH
K1	+	-	-	+
K2	+	-	-	+
K3	+	-	-	+
K11	+	-	+	+
K4	+	-	-	-
K6	+	-	-	-
K7	+	-	-	-
K8	+	-	-	-
K10	+	-	-	+
K13	+	-	-	-
S1	+	-	-	+
S2	+	-	+	-
S3	+	-	-	-
S4	+	-	-	-
S6	+	-	-	-
S5	+	-	-	-
A2	+	-	-	+
A3	+	-	-	+
A5	+	-	+	-
A7	+	-	-	-

7. Profil fermentaire sur galerie Api 20 Strep :

On apporte les profils de fermentation sur galerie Api 20 Strep des 3 souches isolées.

L'identification par l'utilisation de la galerie classique, et en comparant avec les données de la littérature.

Ils sont analysés pour leur capacité fermentaire sur les 20 tests biochimiques constituant les galeries Api 20 Strep.

Les profils de fermentation des glucides obtenus sont répertoriés dans le tableau13. On recherche dans chaque tube l'acidification produite qui se traduit par le virage au jaune du pourpre de bromocrésol (l'indicateur de pH contenu dans le milieu), pour le test Esculine

(tube3). On observe un virage du pourpre au noir. Virage au rouge pour le test de production d'acétoïne (tube 1).

Après addition des réactifs nécessaires à la révélation de différents tests, la galerie est lue conformément aux indications du fabricant et codée. Les tests négatifs sont codés 0 alors que le code affecté aux tests positifs varie selon la position du test dans le triplet.

Les résultats obtenus permettent d'identifier trois souches différentes.



Figure16 : Profil fermentaire de la souche S2 sur la galerie Api 20 Strep après 24h d'incubation.



Figure17 : Profil fermentaire de la souche k 3 sur la galerie Api 20 Strep après 24h d'incubation.



Figure18 : Profil fermentaire de la souche A5 sur la galerie Api 20 Strep après 24h d'incubation.

Tableau 12: Profils fermentaires des isolats par les galeries Api 20 Strep

Tests	S 2	K 3	A 5
VP	+	+	+
HIP	+	-	-
ESC	+	+	+
PYRA	+	-	-
α GAL	-	-	-
β GUR	+	-	-
β GAL	+	+	+
PAL	+	+	-
LAP	-	-	-
ADH	-	+	-
RIB	+	+	-
ARA	+	+	-
MAN	+	+	+
SOR	+	+	+
LAC	+	+	+
TRE	+	+	+
INU	-	-	-
RAF	-	+	-
AMD	-	+	-
GLYG	-	-	-

+ : Réaction positif

-: Réaction négative

VP : Vogues Prosateur ; **PYRA** : gluco PYRAnoside ; **ESC** : ESCuline ; **α GAL**: α -D-GALactose; **β GAL** : β -D-GALactose; **ADH** : Arginine DiHydrolyse ; **RIB** : D-RIBose ; **ARA**: ARAbinose; **MAN**: D- MANnitol; **SOR**: D-SORbitol; **LAC**: D- LACtose (origin bovine); **TRE**: D-TREhalose; **INU**: INUline; **RAF**: D-RAFFinose; **AMD**: AMiDon; **GLUG**: GLYcoGène.

8. Identification des souches lactiques isolées à partir de lait de chèvre :

Ces isolats ont été identifiés au stade du genre et espèce en se basant sur leurs caractéristiques morphologiques, physiologiques et biochimiques d'après les critères mentionnés par **Guiraud, (1998)** ; **Axelsson, (2004)**. On a obtenu 20 souches présentées dans le tableau suivant.

Tableau 13 : L'identification des souches lactiques isolées à partir de lait de chèvre

Code des souches	Genre et espèce
K1	<i>Pediococcus faecalis</i>
K2	<i>Enterococcus durans</i>
K3	<i>Lactococcus .lactis subsp lactis biovar diacety lactis</i>
K11	<i>Streptococcus mitis</i>
K4	<i>Enterococcus durans</i>
K6	<i>Lactobacillus fermentum</i>
K7	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>
K8	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>
K10	<i>Enterococcus durans</i>
K13	<i>Streptococcus mitis</i>
S1	<i>Streptococcus mitis</i>
S2	<i>Enterococcus durans</i>
S3	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>
S4	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>
S6	<i>Streptococcus thermophilus</i>
S5	<i>Lactobacillus fermentum</i>
A2	<i>Lactococcus. lactis subsp lactis biovar diacety lactis</i>
A3	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>
A5	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>
A7	<i>Streptococcus mitis</i>

9. Aptitude technologique des souches lactiques isolées :

9.1 Etude de l'activité protéolytique des souches isolées du lait de chèvre :

Les résultats obtenus lors de la réalisation de ce test sont résumés dans le **tableau 14**. Il en ressort du tableau que toutes les souches étudiées présentent une croissance avec une activité protéolytique traduite par l'apparition d'un halo clair. Un exemple de ces résultats est montré dans la **figure19**.

Nos souches se sont révélées protéolytiques dont les diamètres des zones de protéolyse étaient compris entre 8 et 15mm. Il apparaît clairement que l'espèce *Lactobacillus fermentum* est fortement protéolytique comparativement aux autres espèces avec une moyenne de 13.5 mm de diamètre, suivi d'*Enterococcus durans* avec des zones d'hydrolyse de 13.25 mm. Les espèces *Lactobacillus delbrueckii*, *Streptococcus mitis* et *Lactococcus lactis ssp lactis* ont montré des diamètres de 13.17mm, 12.75mm et 12mm respectivement.

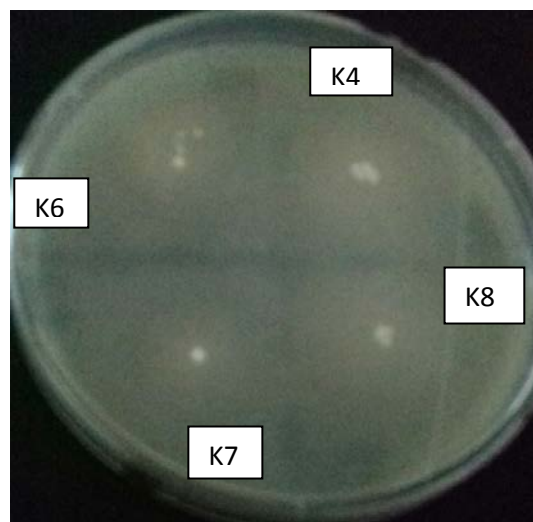


Figure19 : Exemple d'activité protéolytique des bactéries lactiques isolées de lait de chèvre (les souches k4, k6, k7 et k8).

Tableau14 : Activité protéolytique des souches isolées à partir du lait de chèvre

Les souches	Activité protéolytiques	Diamètre de zones (mm)
K1	+	12
K2	+	15
K3	+	10
K11	+	15
K4	+	15
K6	+	12
K7	+	10
K8	+	14
K10	+	08
K13	+	12
S1	+	11
S2	+	15
S3	+	12
S4	+	15
S6	+	13
S5	+	15
A2	+	14
A3	+	12
A5	+	13
A7	+	13

D'après ces résultats, on constate que le comportement protéolytique de ces souches est variable d'une souche à l'autre.

9.2 Etude de la capacité d'acidification des souches isolées du lait de Chèvre :

L'activité acidifiante est l'une des principales fonctions des bactéries lactiques. Les résultats de suivi de l'activité acidifiante des souches isolées à partir du lait de chèvre, sont illustrés par les **figures20 et 21**. Les résultats chiffrés de l'évolution du pH et d'acidité sont résumés dans le **tableau15**.

Après deux heures d'incubation, les valeurs de pH varient entre pH6.27 et pH6.47, en parallèle les valeurs de l'acidité varient entre 11°D et 19°D. Alors que la quantité de l'acide lactique produite à ce moment se situe entre 1,1 g et 1,9g d'acide lactique par litre de lait.

Au bout de 24h d'incubation ces valeurs de pH diminuent et se trouvent situées entre pH5.37 et pH6.29, de même les valeurs de l'acidité élevés et se trouvent situées entre 22°D et 44°D. Donc la quantité de l'acide lactique produite après 24h d'incubation se situe entre 2,2g/l et 4,4g/l.

Tableau15 : Les variations de l'acidité (°D) et pH des souches isolées, durant 24h d'incubation

(0h, 2h, 4h, 6h et 24h) :

Souches	T0		T1		T2		T3		T4	
	PH	AC	PH	AC	PH	AC	PH	AC	PH	AC
K1	6.47	10	6.38	12	6.33	13	6.27	18	6.21	25
K2	6.33	17	6.27	18.5	6.23	19	6.22	20	5.97	29
K3	6.48	16	6.46	19	6.45	20	6.34	23	6.28	28
K11	6.42	14	6.37	16	6.33	20	6.28	22	6.12	28
K4	6.49	12	6.42	14	6.40	15	6.37	17	6.23	32
K6	6.48	13	6.40	15	6.38	19	6.13	24	5.37	42
K7	6.39	19	6.39	19	6.37	20	6.35	22	6.22	29
K8	6.45	18	6.40	19	6.34	20	6.29	21	6.17	28
K10	6.49	12.5	6.34	15	6.25	17	6.18	19	5.67	35
K13	6.47	12	6.43	14	6.37	17	6.29	18.5	6.22	25
S1	6.43	11	6.41	12	6.39	13	6.33	15	6.17	29
S2	6.46	17	6.34	19	6.32	20	6.26	22	6.10	28
S3	6.42	16	6.42	16	6.37	17	6.35	19	6.10	31
S4	6.48	12	6.37	16	6.35	22	6.29	24	5.52	44
S6	6.51	11	6.39	13	6.33	15	6.27	18	6.00	27
S5	6.45	12	6.43	15	6.40	17	6.28	19	6.24	24
A2	6.36	13	6.36	14	6.25	19	6.23	20	5.87	33
A3	6.51	15	6.41	17	6.39	18	6.37	20	6.29	27
A5	6.44	18	6.37	19	6.31	20	6.30	21	6.12	29
A7	6.39	11	6.39	11	6.37	13	6.23	17	6.21	22

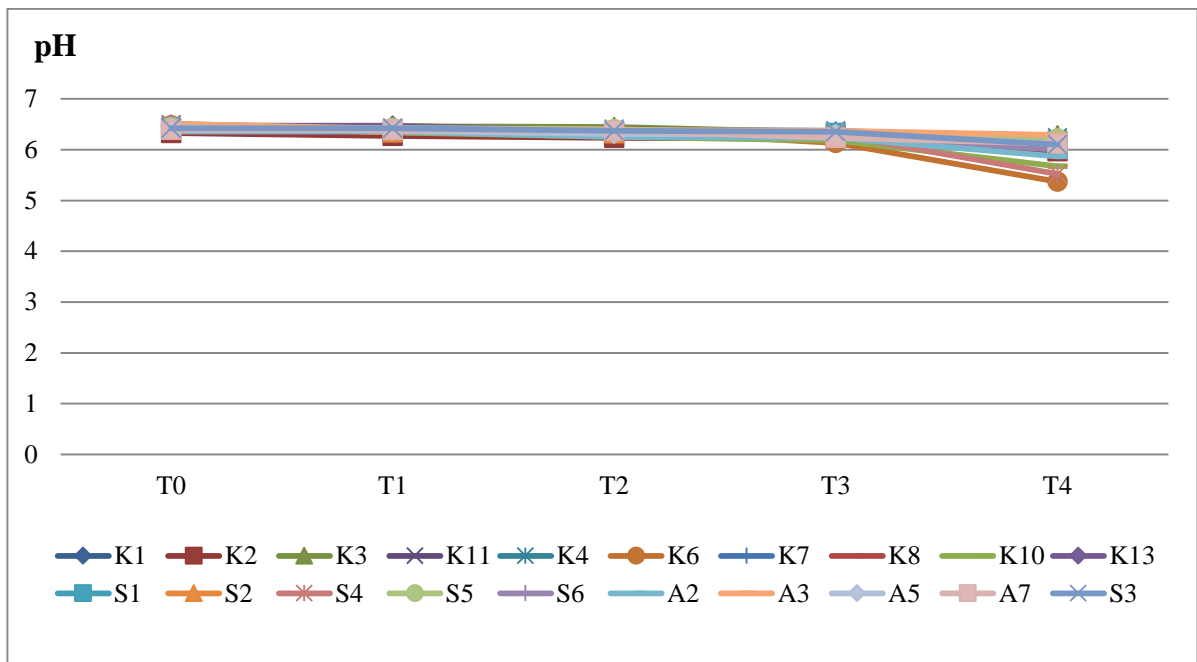


Figure20 : Evolution de pH des souches isolées à différents intervalles de temps.

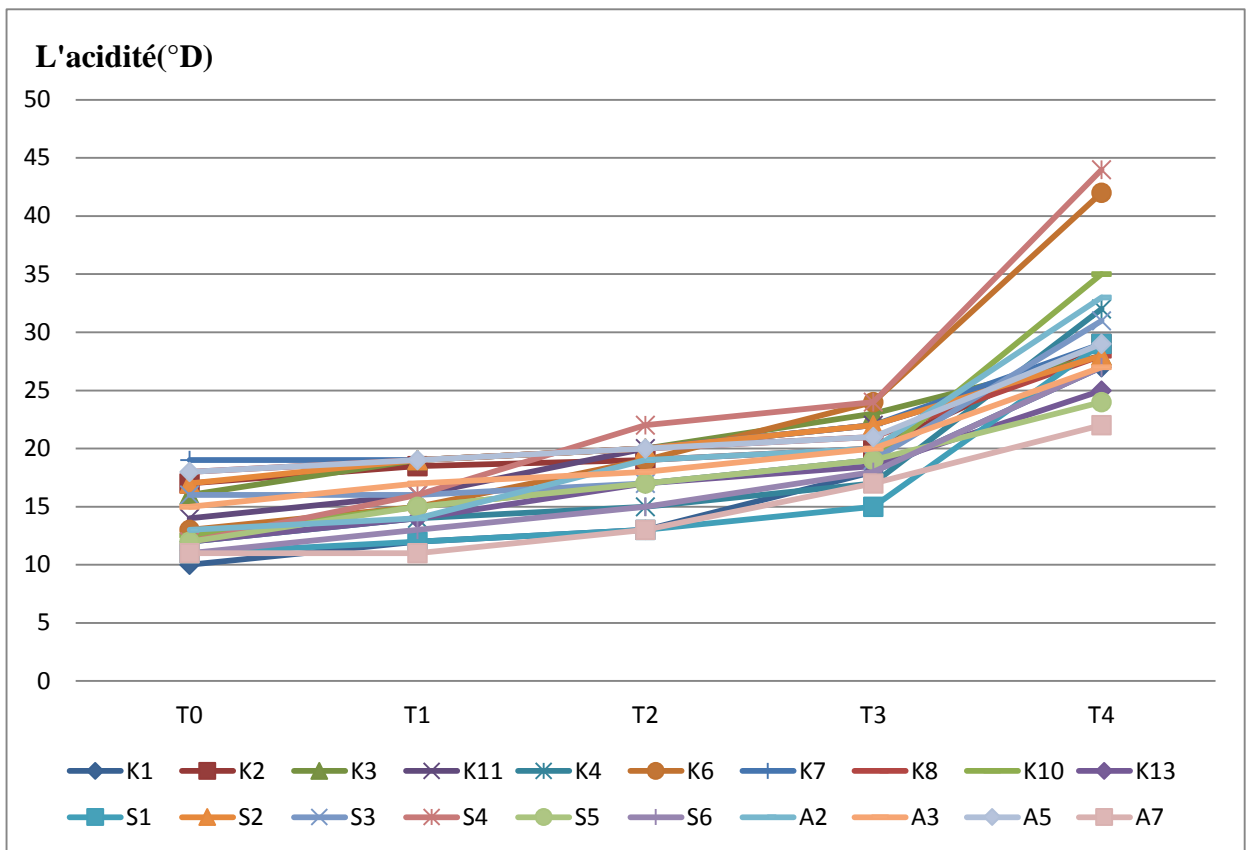


Figure21 : Evolution de l'acidité des souches isolées à différents intervalles de temps.

D'après ces résultats, nous remarquons que la totalité des bactéries lactiques identifiées présentent une production progressive en acide lactique. Cette dernière est accompagnée d'un abaissement du pH du milieu.

Les espèces *Lactobacillus fermentum*, *Enterococcus durans*, et *Lactobacillus delbrueckii* se sont révélées les plus acidifiantes avec une quantité d'acide lactique moyenne de 3.3 g/l, 3.1g/l et 3.13g/l respectivement après 24h d'incubation. Un maximum de 4.4g/l d'acide lactique a été produit par la sous espèce *Lactobacillus delbrueckii* (S4) après 24 h d'incubation. En parallèle, les valeurs de pH atteintes avec ces souches oscillent entre pH5.37 et pH6.29. Une moyenne de 3.05g/l d'acide lactique est produite par les souches de *Lactococcus lactis Ssp. Lactis*. La cinétique d'acidification a montré que les souches *Pediococcus faecalis*, *Streptococcus mitis* et *Streptococcus thermophilus* étaient moins acidifiantes en produisant des quantités variables d'acide lactique dont les moyennes sont de 2.5g/l, 2.6g/l et 2.7g/l respectivement.

Discussion générale:

D'après le tableau d'identification des bactéries lactiques proposée par **Guiraud(1918)** et **Axelsson(2004)**, nous avons pu identifier les isolats représentés par *Lactobacillus delbrueckii* (6), *Lactobacillus fermentum* (2), *Streptococcus thermophilus* (1), *Streptococcus mitis* (4), *Enterococcus durans* (4), *Lactococcus lactis sub sp lactis biovae diacetylactis* (2), *Pediococcus faecalis* (1).

Les isolats retenus au nombre de vingt sont répartis en cinq genres *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus* et *Pediococcus*.

A partir de cette figure, nous pouvons noter que les *Lactobacillus* le genre plus dominant des souches isolées avec un pourcentage de 40%, suivi en deuxième lieu de la souche *Streptococcus* avec un pourcentage de 25%. Et le troisième ordre le genre *Enterococcus* à un pourcentage de 20%, et le quatrième genre *Lactococcus* à pourcentage de 10%, et le dernier genre *Pediococcus* avec un faible pourcentage de 5%.

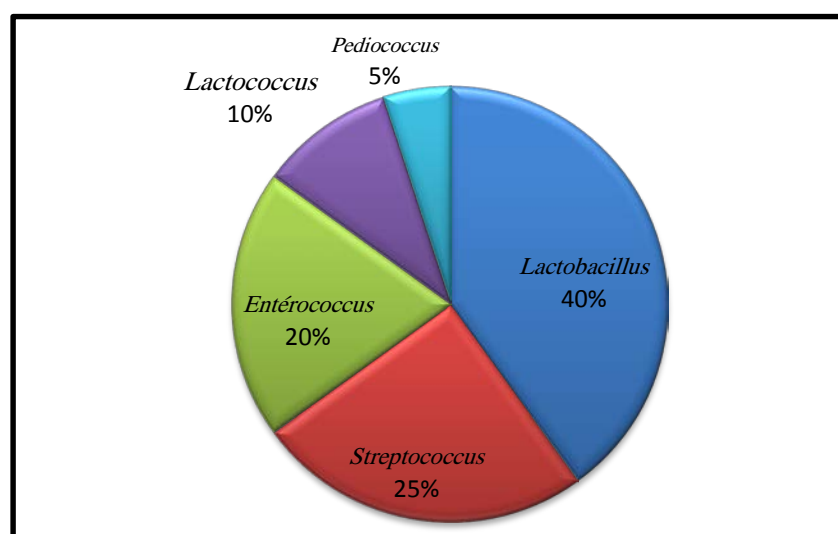


Figure 22 : Secteurs de répartition des genres des bactéries lactiques

Les analyses morphologiques, physiologiques et biochimiques ont mis en évidence toute la diversité de la flore lactique en genres et en espèces isolées à partir du lait de chèvre. Cette composition de bactéries lactiques est relative et dépend des différents critères utilisés dans chaque étude.

L'ensemble des testes physiologiques et biochimiques nous ont permis de mettre en place une collection représentée par Cinq espèces de bactéries lactiques dont leur distribution selon le pourcentage d'apparition est illustrée par la figure.

Nos résultats montrent que Les espèces de *Lactobacillus* (*LB. fermentum*, *LB. Delbrueckii*), *Streptococcus* (*Streptococcus mitis*, *Streptococcus thermophilus*), *Enterococcus* (*En. durans*), *Lactococcus* (*Lactococcus lactis sub sp lactis biovae diacetylactis*) sont les genres dominantes les plus fréquemment signalées dans les trois échantillons. Par contre, le nombre d'espèce *Pediococcus* est très faible dans l'ensemble des trois échantillons du lait étudié. Ces résultats sont en accord avec ceux de (**Hichener et al, 1998**), qui a montré que les espèces de *Leuconostoc* et de *Pediococcus* sont rarement retrouvées dominantes dans la flore lactique.

L'absence des *Leuconostoc* due probablement à la qualité nutritionnelle insuffisante du lait pour leur développement, à la saison de collecte, la région géographique, la période de lactation, ou l'état physiologique de l'animal et d'éventuels traitements antibiotique.

Selon **Saidi et al(2002)**, du fait des exigences nutritionnelles des bactéries lactiques, les espèces de bactéries lactiques détectées dépendent essentiellement de la nature de lait cru.

Selon (**Vuillemard, 1986**), la souche est dite protéolytique si elle présente une zone de lyse de diamètre compris entre 5 et 15 mm. Par comparaison à cette donnée, nos souches sont révélées protéolytiques dont les diamètres des zones de protéolyse étaient compris entre 8 et 15 mm.

Si le halo inhibition disparaît en présence de l'action d'une enzyme protéolytique, l'agent inhibiteur est de nature protéique (**Callewaert et De vuyst, 2000 et Aslim et al, 2005**).

L'activité protéolytique des bactéries lactiques est essentielle pour leur croissance dans le lait ainsi que pour le développement des propriétés organoleptiques des différents produits laitiers (**Savoy et Hébert, 2001 ; Hassaine et al, 2007**).

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par **Idoui et Karam (2008)**, qui ont trouvé que les bactéries lactiques, isolées à partir du beurre de vache traditionnel, présentent un caractère protéolytique.

L'évolution de l'acidité et les variations de pH au cours de la croissance des souches testées sur le lait écrémé démontrent une différence entre les genres, les espèces et même entre les souches d'une même espèce, vérité scientifique et logique rapportée par **Luquet et Corrieu (2005)**.

Ces résultats présentent une activité acidifiante plus faible par rapport à ceux obtenus par **Cheriguene A. et al. (2006)** qui ont trouvé que les *Lactocoques. Lactis Ssp. Lactis*, isolées à partir de lait de chèvre, produisent une moyenne de 7.5g/l d'acide lactique après 24h d'incubation.

La composition de nos résultats, par certains ayant étudié l'activité acidifiante de souches de bactéries lactiques (**Zadi-Karam, 1998 citée par Hassaine, 2012 ; Hassaine et al, 2007**), montré qu'il y a une variation dans les valeurs ont classé les souches étudiées comme étant « rapides » ou « lente » par rapport à leur pouvoir acidifiant. Cette diversité dans l'activité acidifiante offre un large choix pour satisfaire les différentes exigences technologiques.

Conclusion :

A travers cette étude, nous avons tenté d'apporter une contribution à la caractérisation et l'identification des souches lactiques a partir de lait de chèvre provenant de trois régions situées dans la wilaya de Mostaganem (kheire- Eddine, Achaacha et Sidi Ali).

Après isolement, purification et détermination des caractéristiques morphologiques, physiologiques et biochimiques (identification). Nous avons pu obtenir sept espèces différentes et diverses proportions :

Lactobacillus delbrueckii (6), *Lactobacillus fermentum* (2), *Pediococcus faecalis* (1), *Streptococcus thermophilus* (1), *Streptococcus mitis* (4), *Enterococcus durans* (4), *Lactococcus lactis sub sp biovae lactis diacetylactis* (2). Sur un total de vingt isolats étudiés.

D'après les résultats de l'étude des aptitudes technologiques, nous avons pu déduire que, même au sein d'une même espèce, il existe des variations entre les souches autant au niveau de l'activité acidifiante que l'activité protéolytique. Cependant, les souches avaient de bonnes fonctionnalités technologiques.

L'activité protéolytique des ferments constitués est d'un intérêt capital pour l'industrie fromagère, de ce fait, une étude de cette dernière a été réalisée afin de caractériser les enzymes protéolytiques impliquées.

A partir de cette étude, on a démontré que le lait cru de chèvre de la région Oust d'Algérie existe dans la wilaya de Mostaganem riche en plusieurs genres des bactéries lactiques comme les *Lactobacillus*, les *Lactococcus*, les *Streptococcus* et les *Enterococcus*. Ces isolats peuvent être exploitées pour la confection d'un starter de culture qu'on utilise dans la fabrication des aliments (le fromage, le yaourt).

Les résultats de caractérisation obtenus, on a permis d'avoir une idée sur la nature de la flore lactique présente dans le lait de chèvre, et on conclure que la majorité des espèces des bactéries lactiques sont présente dans le lait cru de chèvre.

Références bibliographiques :

- **Ait-Belgnaoui A., Lamine F., Han W., Eutamene H., Fioramonti J., Bueno L. et Theodorou V., 2005.** A probiotic strain (*Lactobacillus farciminis*) prevents stress-induced increase of colonic permeability and visceral sensitivity to distension in rats. *Nutr. Ali. Fonct.* **3** : 59-63.
- **Alais, C. (1984).** Sciences du lait : principes des techniques laitières, 4^{ème} Edition, Paris, 814p.
- **Alakomi H.L., Skytta E., Saarela M., Mattila-Sandholm T., Latva-Kala K. et Helander I.M., 2000.** Lactic acid permeabilizes Gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane. *App. Env. Microbiol.* **66**(5).P: 2001-2005.
- **Amiot, J., Fournier, S., Lebeuf, Y., Paquin, P., Simpson, R et Turgeon, H.(2002) :** Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait in VIGNOLA C. L, Science et technologie du lait- Transformation du lait, Ecole polytechnique de Montréal, ISBN : 3-25-29(600 pages).
- **Ammor S., Tauveron G., Dufor E. et Chevalier I., 2006.** Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility 1- Screening and characterization of antibacterial compound. *Food Control.* **17**: 454-461.
- **Aslim, B., Yuksekdog, Z. N., Sarikaya, E ET Beyatli, Y. (2005).** Determination of the bacteriocin-like substances produced by some lactic acid bacteria isolated from Turkish dairy products. *Food Science and Technology* **38**: 691-694.
- **Atlan, D., Béal, C., Champonier –Vergés, M. C., Chapot-Chartier, M. P., Chouayekh, H., Coccagn – Bousquet, M., Deghorain, M., Gadu, P., Gilbert, C., Goffin, P., Guédon, E., Guillouard, L., Guzzo J., Juillard, V., Ladero, V., Lindley, N., Lortal, S., Loubière, P., Maguin, E., Monnet, V., Monnt, V., Rul, F., Tourdot- Maréchal, R., et Yvon, M.,(2008).** Métabolisme et ingénierie métabolique In : Bactéries lactiques de la génétique aux ferments Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 271 - 477.
- **Axelsson, L. (2004)** lactic acid bacteria: classification and physiology. In biology of Microorganisms on grapes, in must and in wine. Konig H. ET frohlich J. (2009) springer Ed, Allemagne, p: 3-29.
- **Badis A., Laouabdia-Sellami N., Guetarni D., Kihal M. et Ouzrout R., 2005.** Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales « Arabia et Kabyle ». *Sci. Technol.* **23**: 30-37.

- **Badis A., Guetarni D., Moussa B. B., Henni D. E., Kihal M. 2004.** Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. *Food Microbiol*, Vol. 21, p: 579–588.
- **Béal C., Marin M., Fontaine E., Fonseca F. et Obert J.P., 2008.** Production et conservation des ferments lactiques et probiotiques. *In* : Bactéries lactiques, de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F. M.). *Tec & Doc, Lavoisier*. Paris. 661-765.
- **Bourgeois C.M. et Larpent J.P., 1996.** Microbiologie alimentaire : Aliments fermentés et fermentations alimentaires. *Tec & Doc, Lavoisier*. Paris. 432-704.
- **Boyaval, P., Deborde, C., Corre C., Blanco, C et Begue, E. (1999).** Le Lait, P:79.
- **Bradley R. L., Arnold E., Barbano D. M., Semerad R.G., Smith D. E., Vines B. K. 1992.** Standard Methods for the Examination of Dairy Products, Dans: MARSHALL T. *Chemical and physical methods, American Public Health Association, USA: Washington DC*, p. 433–531.
- **Braegger, C. (2002)** le rôle des probiotiques dans la présentation et le traitement de la gastro-entérite aigüe chez l'enfant. *Paediatrica*. 13. 50-53.
- **Brul, S ET Coote, P. (1999)** preservative agents in foods: mode of action and microbial resistance mechanisms. *International JOURNAL of food microbiology*. 50(1-2). 1- 17.
- **Brusetti L., Malkhazova I., Mora D., Borin S., Merabishvili M., Zaccaria A., Colnago D., Chanishvili N., Daffonchio D. 2008.** Fluorescent-Box-PCR, an improved tool for resolving bacterial genetic diversity and biogeography studies. *BMC Microbiol*, vol. 8, p. 220-232.
- **Caplice, E. T. Fitzgerald, G. (1999)** food fermentations: Role of microorganisms in food production and preservation *international journal of food microbiology*. 50(1-2). 131 -149.
- **Carine Dortu, Philippe Thonart (2009)** - Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires, *13*, 143-154.
- **Carminati D., Giraffa G., Quiberoni A., Binetti A., Suárez V. et Reinheimer J., 2010.** Advances and trends in starter cultures for dairy fermentations. *In: Biotechnology of lactic acid bacteria: Novel Applications* (Mozzi F., Raya R.R. ET Vignolo G. M.). 177-192.
- **Cerning J., 1990.** Exocellular polysaccharide produced by lactic acid bacteria. *Microbiol. Rev.* **87**: 113-130.
- **Chamba F.J., 2008.** Application des bactéries lactiques lors des fabrications fromagères. *In: Bactéries lactiques de la génétique aux ferments* (Corrieu G. et Luquet F. M.). *Tec & Doc, Lavoisier*. Paris. 787-813.

- **Cheriguene A., Chougrani F. et Bensoltane A., 2006.** Identification and characterization of lactic acid bacteria isolated from goat's Algerian milk. *Pakistan J. Biol. Sci.* **9**(7): 1242-1249.
- **Cholet O., 2006.** Etude de l'écosystème fromager par une approche biochimique et moléculaire. *Institut National Agronomique Paris-Grignon. Ecole Doctorale ABIES. UMR de Génie et Microbiologie des Procédés Alimentaires INRA, INA.* 16
- **Cleveland, J., Montville. J., Ness, L. F. ET Chikindas, M. L. (2001)** bacteriocins: Saf. Natural antimicrobials for food preservation. *Intl food microbial.* 71 (1). 1- 20.
- **Collins, M.D., Williams, A.M. and Walblanks, S. (1990)** the phylogeny of aerococcus and pediococcus as determined by 16S RNA sequence analysis: Description of tetragenococcus gen. Nov. *EMS Microbiology letters.* 70, 255 - 262.
- **Collins, M.D., Farrow, J.A.E., Feresu, and Jones, D. (1987)** Classification of lactobacillus diverges, lactobacillus piscicola, and some catalase negative, asporogenous, rod-shaped bacteria from poultry in a new genus, carnobacterium. *International journal of systematic bacteriology.* 37. 310.
- **Corrieu G., Luquet F. M. 2008.** Bactéries lactiques : De la génétique aux ferments (Coll., Sciences et techniques agroalimentaires). Paris. France: Lavoisier, Tec & Doc.
- **Dellaglio, F., De Roissart, H., Torriani, S., Curk, M.C. et Janssens, D. (1994)** Caractéristiques générales de bactéries lactiques. In bactéries lactiques, 25-116. Uriage loriga.
- **De Roissart H.B. (1986).** Les bactéries lactiques. Dans : le lait et les produits laitiers. Luquet F. M., 3, Ed. Techniques et Documentations Lavoisier. Paris, pp: 343-407
- **De Rouissat, L. et Bensoltane, A. (2006).** Physico-chemical, microbiological and biotechnological studies of lactic acid bacteria isolated from ewe's milk of Algeria two breeds (Ouled Djellal and El Hamra). *Egypt. J. Appl. Sci.* 21: (2B), 567-580.
- **Desmazeaud, M. (1998)** Bactéries lactiques et qualité des fromages. Laboratoire de recherches laitières, INRA Jouy-en-Josas. France.
- **Desmazeaud, M. (1983)** L'état des connaissances en matière de nutrition des bactéries lactiques. *Rev. Le lait*, 63: 267-316.
- **Desmazeaud, M. (1996)** Les bactéries lactiques dans : L'alimentation humaine : utilisation et innocuité. *Cahiers Agricultures*, 5, pp: 331-343.
- **Desmazeaud, M.J. et De Roissart, H. (1994)** Métabolisme général des bactéries lactiques. In Bactéries lactiques. De Roissart H., Luquet F.M. Tome 1, Loriga.
- **De Vuyst. L et Leroy. F (2007).** Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria: Production, Purification, and Food Applications. *J Mol Microbiol Biotechnol* 13:194–199.

- **Devoyod, J.J. et Poullain F., (1988).** Les Leuconostoc Propriétés: Leur rôle en technologie laitière, *Le Lait*, 68 (3):249-280
- **De Vuyst, L. L. ET Vandamme, E .J (1994)** bacteriocins of lactic bacteria: microbiology, genetics and applications blackie academic and professional.191-142.
- **De Vuyst. L et Leroy. F. (2007).** Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria: Production, Purification, and Food Applications. *J Mol Microbiol Biotechnol* 13:194–199.
- **Dicks, L. M., Dellaglio, F. ET Collins, M.D. (1995)** Proposal to reclassify *Leuconostoc oenos* as *oenococcus Oeni* (corrig.) gen. Nov., COMB. Nov. *International journal of systetc Bacteriology*, 45. 395- 397.
- **Donkor O.N., Henriksson A., Vasiljevic T. et Shaha N.P., 2007.** Proteolytic activity of dairy lactic acid bacteria and probiotics as determinant of growth and in vitro angiotensin converting enzyme inhibitory activity in fermented milk. *INRA, EDP Sciences*. **86. P:** 21-38.
- **Durlu-Ozkaya, F., Aslim, B., TAHA Ozkaya, M. (2007)** Effet of exopolysaccharides (EPS) produced by *Lactobacillus delbrueckii* SSP. *Bulgaricus* strains to bacteriophages and nisin sensitivity of the bacteria. *LWT-Food science and technology*. 40. P : 564 - 568.
- **Dortu C. et Thonart P., 2009.** Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bio conservation des produits alimentaires. *Biotechnol. Agron. Soc. Env.* **13(1)** P : 143-154.
- **El-Ghaish S., Ahmadova A., Hadji-Sfaxi I., El Mecherfi K.E., Bazukyane I., Choiset Y., Rabesona H., Sitohy M., Popov Y.G., A. Kuliev A., Mozzi F., Chobert J.M. et Haertlé T., 2011.** Potential use of lactic acid bacteria for reduction of allergenicity and for longer conservation of fermented foods. *Tre. Food Sci. Technol.* 1-8.
- **FAO. (1990).** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO/Alimentation et nutrition, 23p.
- **Feliachi K., (2003).**Rapport national sur les ressources génétiques animales; Algérie. Commission nationale, point focal Algérien pour les ressources génétiques, Octobre, 1-4.
- **FIL-Norme. (1991).** Yaourt, identification des micro-organismes caractéristiques: *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* et *Streptococcus. salivarius* subsp *thermophilus*. *Revue* .**46:**1-4.
- **Fleming H. P., Etechells J. L. ET Costilow R.N., 1975.** Microbial inhibition of isolates of *Pediococcus* from cucumber brine. *Appl. Env. Microbiol.* **30** : 1040-1042.
- **Fournier, A.2006.** L'élevage des chèvres. Editions Artémis. P : 75.

- **Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M, ET Mc Sweeney. P. L. H. (2000).** Fundamentals of cheese science. Aspen publishers.
- **Garvie, E.I. (1986).** Genus *pediococcus*. *In-Bergey's manual of systematic bacteriology, Vol.2.* (P. H .A. Sneath., N. S. Mair., M. E. Share& K. G. Holt, éd.), *Williams & Wilkins, Baltimore*, pp. 1075-1079.
- **Gerrit S., Bart A.S. et Wim J.M.E., 2005.** Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavor profiling of cheese products. *FEMS. Microbiol. Rev.* **29**: 591-610.
- **Gevers, D. (2002)** Tetracycline resistance in lactic acid bacteria isolated from fermented dry sausages. Gent. Belgium: Thèse de doctorat de l'Universités de Gent. Faculté des Sciences.
- **Goursaud, J. (1985)** Le lait de vache, composition et priorités physico-chimiques.in : lait et **produits laitiers vache-brebis-chèvre. (Tome1).**Ed. Masson, Paris, p: 25-36.
- **Gueguen, B., Chamba, J. F., Coulon, J. et Perreard, E. (1996)** Effect of milk chemical composition and clotting characteristics on chemical and sensory properties of reblochon de savoir cheese. *J. Dairy Res.*, 64: 157- 162.
- **Guiraud, J. P. (1998)** Microbiologie alimentaire. Ed. DUNOD, Paris.
- **Guiraud J.P., 2003.** Microbiologie Alimentaire. *Tec & Doc, Dunod.* Paris. 90-292.
- **Harlander, S. K (1993)** regulatory aspects of bacteriocins use. In: Hoover, D. G. and steenson, l .R, Editors bacteriocins of lactic acid bacteria, academic press, New York. 233-236.
- **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.
- **Hassaine O., Zadi-Karam H. et Karam N.E., 2007.** Technologically important properties of lactic acid bacteria isolated from raw milk of three breeds of Algerian dromedary (*Camelus dromedaries*). *Afr. J. Biotechnol.* **6** (14) : 1720-1727.
- **Ho T.N.T., N. Tuan N., Deschamps A. et Caubet R., 2007.** Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) of the Nem Chua fermented meat product of Vietnam. *Int. Workshop on Food Safety and Processing Technology.* 134-142.
- **Holzappel, W. H. (2002).**Appropriate starter culture technologies for small-scale fermentation in developing countries. *Int. J. Food Microbiology.* 75: 197-212.
- **Holzappel, W. H., Haberer, P., Geisen, R., Björkroth, J. and Schillinger, U. (2001).** Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *Am. J. Clin. Nutr.* 73(Suppl): 365S–73S.

- **Hugenholtz. (1993)** Citrate metabolism in lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.*12. P: 165 -178.
- **Idoui, T., Boudjerda, J., Leghouchi, E. ET Karam, N.E., (2009).** Lactic acid bacteria from sheep's Dhan'', a traditional butter from sheep's milk: Isolation, identification and major technological traits. *Gr. Y. Aceites.* 60(2): 177-183
- **Idoui T. et Karam N.E., 2008.** Lactic acid bacteria from Jijel's butter: isolation, identification and major technological traits. *Gr. Y. Aceites.* 59(4) : 361-367.
- **Jeantet R., Croguennec T., Schuck P. et Brulé G., 2006.** Science des aliments : Technologie des produits alimentaires. *Tec & Doc, Lavoisier, Paris.* 2 : 40-55.
- **Jeantet, R., Croguennec, T., Mahaut, M., Schuck, P., et Brule, G. (2008) :** Les produits laitiers, 2éme édition, tec et doc, Lavoisier : 1-3-13-14-17(185 pages).
- **Jaubert, J. et Mourre, V. (1996).** Growth of yeast contaminants in an immobilized lactic acid bacteria system. *Let. APPL. Microbiol.* 8:207.p.313-341.
- **Jenness R. (1980).** Composition and characteristics of goat milk: Review 1968-1979. *Journal of Dairy Science*, 63, 1605-1630.
- **Kandler, O. et Weiss, N. (1986).** Genus lactobacillus. In : *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol 2,9 ème ed. Ed. Sneath PHA, Mair N.S., sharpe M.E, Holt J.G. Williams and Wilkins, Baltimore USA.
- **Kihal, M., Chekroun, A., Bensoltane, A., Kheroua, O.et Saidi, D. (1999).** Characterization of Algeria raw camel's Milk: Proteins content and native lactic acide bacteria, l'ère journées sur la Recherche Cameline, 25 au 27 mai, ITAS, Ouargla.
- **Klaenhammer, T. R. (1993)** genitics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *F EMS Microbial. Rev.*12, 39-85.
- **Klein, G., Pack, A., Bonaparte, C., Reuter, G., (1998).** Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria *International. Journal of Food Microbiology.*, 41: 103-125
- **Kumari A., Makeen K., Garg A.P., Marotta F., Gupta1 C. et Divya., 2009.** Effet of the bacteriocin produced by *Lactococcus lactis subsp. lactis* CCSUB202, on mode of action of *Lactococcus lactis subsp. lactis* MTCC3038. *Int. J. Prob. Preb.* 4(3) : 1-6.
- **Labioui H., Elmoualdi L., El Yachioui M. et Ouhssine M., 2005.** Sélection de souches de bactéries lactiques antibactériennes. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux.* 144 : 237-250.
- **Lamontagne M., Champagne C.P., Gardner N. 2010.** Microbiologie du lait. Dans : VIGNOLA C.L. Science et technologie du lait. Fondation de technologie laitière. Québec : Presses internationales polytechniques, p.75-153.

- **Larpent J.P., 1997.** Microbiologie alimentaire. *Tec & doc, Lavoisier.* Paris. 10-72. Larpent, J. P. (1990). Les fermentations alimentaires. *In-Microbiologie alimentaire, Technique & Documentation, Lavoisier, Apria, 02:3-17.*
- **Larpent-Gourgaud, M., Michaux, O, Larpent, J.P., Desmasures, N., Desmazeaud, M., Mangin Irène Masson Florence, Montel, M.C., et Taillier, P.(1997).** Les ferments lactique et bactéries apparentée In Microbiologie alimentaire techniques de laboratoire Larpent J-P .Tec & Doc, Lavoisier, PP : 199-255.
- **Leroy F. et De Vuyst L., 2004.** Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trek. Food SCI. Technol. 15* : 67-78.
- **Leveau J.Y., Boiux M. et De Roissart H.B., 1991.** La flore lactique : technique d’analyse et de contrôle dans les industries agro alimentaires. *2e Ed., Tec & Doc, Lavoisier.* Paris. **3:** 2-40.
- **Lindgren, S. E ET Dobrogos, W. J. (1990)** .Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations. *FEMS. Microbiol., 87:*149-164.
- **Liu S. 2003.** Practical implications of lactate and pyruvate metabolism by lactic acid bacteria in food and beverage fermentations, *J. Food*, vol. 83, n°2, p. 115-131.
- **Luquet F.M. et Corrieu G., 2005.** Bactéries lactiques et probiotiques. *Tec & Doc, Lavoisier.* Paris. 3-37.
- **Mahieu, H., LE Jaouen, J.C., Luquet, M. F. et Mouillet, L. (1977).** Etude comparative de la composition et de la contamination des laits des espèces laitières bovines, ovines et caprines. *Lait*, 568, 561-571.
- **Marconi, E., Sorrentino, E., Mastrocola, E et Coppola, R (2000).** Rapid detection of diaminopimelic acid in lactic acid bacteria by microwave cell wall hydrolysis. *J. Agric. Chem. 48:* 3348-3351.
- **Masle, I et Morgan, F. (2001).** Aptitude du lait de chèvre à l’acidification par les ferments lactiques : facteurs de variation liés à la composition du lait. *81* :561-569.
- **Mathieu J. (1998).** Initiation à la physicochimie du lait. Guides technologiques des IAA. Edition Lavoisier Tec et Doc, Paris.
- **Mayeux. J. V. Sandine. W. W. F. et Elliker. P. R (1962).**a selective medium for detecting Leuconostoc organisms in mixed isolate starter cultures. *J. Dairy Sci.*45:655-656.
- **Mayo, B., Aleksandrzyk -piekarczyk T., Fernández M., Kowalczyk M., Alvarez-Martín, P. et Bardowski, J. (2010).** Updates in the metabolism of lactic acid bacteria. *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria: Novel Applications Blackwell Publishing* (3-34).

- **Molin. G. (2008).** Lactobacillus plantarum the Role in Foods sand in Health. In the Handbook of Fermented Functional Foods. Second Edition EDITED By Edward R. Farnworth.CRC.
- **Monnet V., Latrille E., Béal C. et Corrieu G., 2008.** Croissance et propriétés fonctionnelles des bactéries lactiques. *In: Bactéries lactiques de la génétique aux ferments* (Corrieu G. et Luquet F.M.). *Tec & Doc, Lavoisier*. Paris. 512-592.
- **Mäyrä-Mäkinen A. et Bigret M., 2004.** Industrial use and production of lactic acid bacteria. *In: Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects* (Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A.). *3e Ed., Marcel Dekker, Inc.* New York. 73-102.
- **Muto, A et Osawa, S. (1987).** The guanine and cytosine content of genomic DANN and bacterial evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:166-169.
- **Ogunbanwo S.T., Sanni A.I., et Onilude A.A., 2003.** Characterization of bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* F1 and *Lactobacillus brevis* OG1. *African. J. Biotechnol.* 2(8): 219-227.
- **Orla-jansen, S. H (1919)** the lactic acid bacteria in biology of microorganisms on grapes, in must and in wine. *Konig H. ET Frohlich J. (2009) Springer Ed, allemagne, p3-29.*
- **Ouwehand, A. C. and Vesterlund, S. (2004).** Antimicrobial Components from Lactic Acid Bacteria in Lactic acid bacteria, Microbiological and Functional Aspect. Third Edition. Marcel Dekker.
- **Penaud, S. (2006).** Analyse de la séquence génomique et Etude de l’adaptation à l’acidité de Lb. *Delbrueckii* SSP. *bulgaricus*ATCC11842. Thèse de Doctorat de l’Institut National Agronomique de Paris-Grignon, France.
- **Petry S., Furlana S., Waghornec E., Saulnier L., Cerning J., Maguin E. 2003.** Comparison of the thickening properties of four *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* strains and physicochemical characterization of their exopolysaccharides, *FEMS Microbiol Letter*, vol. 221, p. 285-291.
- **Pilet, M.F., Magras Catherine ET Federighi, M. (2005).** Bactéries lactiques In *Bactériologie alimentaire “compendium d’hygiène des aliments”*. Federighi M. *Économico*, pp: 219-242.
- **Pougheon, S et Goursaud, G. (2001):** Le lait caractéristique physicochimique in *DEBRY G, Lait nutrition et santé, Tec et Doc, Paris : 6(566 pages).*
- **Renouf V., Claisse O., Miot-Sertier C., Lonvaud-Funel A. 2006.** Lactic acid bacteria évolution duriug winemaking: Use of *rpoB* gene as a target for PCR-DGGE analysis. *Food Microbiol*, vol 23, p.136-145.

- **Robinson R. K. 2002.** *Dairy Microbiology Handbook*, third Edition, New York USA: John Wiley and Sons, p.764.
- **Roudj S., Belkheir K., Zadi-Karam H. et Karam N.E., 2009.** Protéolyse et autolyse chez deux lactobacilles isolés de lait camelin du Sud Ouest Algérien. *European. J. Sci. Res.* **34** (2): 218-227.
- **Salminen. S, Wright. A, et Ouwehand. A. (2004).** Lactic acid bacteria, Microbiological and Functional Aspect. Third Edition. Marcel Dekker.
- **Saidi, N., Guessas, B., Bensalah F., Badis, A., Hadadji, M., Henni, D. E., Prevost, H. et Kihal, M. (2002).** Caractérisation des bactéries lactiques isolées du lait de chèvre des régions arides. *J. Aleg. Reg. Arides.* 1: 1-11.
- **Salminen. S, Wright. A, et Ouwehand. A. (2004).** Lactic acid bacteria, Microbiological and Functional Aspect. Third Edition. Marcel Dekker.
- **Sawaya, W. N., Khalil JK and AL- Shalhat, AF. (1984a).** Mineral and vitamin content of goat's milk. *Journal of American Diet Association*, 84(4), 433-435.
- **Serhan M., Cailliez-Grimal C., Borges F., Revol-Junelles A.M., Hosri C. Et Fanni J., 2009.** Bacterial diversity of Darfiyeh, a Lebanese artisanal raw goat's milk cheese. *Food Microbiol.* **26**: 645-652.
- **Schleifer, K. H., Ehrmann, M. Beimfohr, C., Brockmann, E., Ludwig, W and Amann, R. (1995)** Application of molecular methods for the classification and identification of lactic acid bacteria. *International dairy journal* 5. 108-1094.
- **Shkolnik A., Maltz E. Et Gordin S., (1980).** Desert and milk production. *Journal of Dairy Science*, 63: 1749-754.
- **Stackebrandt E. et Teuber M. (1988).** Molecular taxonomy and phylogenetic position of lactic acid bacteria. *Biochimie.* 70: 317-324.
- **ST- Gelais D., Bada Ali O, Turcot S., (2000).** « Composition du lait de chèvre et aptitude à la transformation » Ministère de l'agriculture et agroalimentaire du Canada, 78p.
- **Stiles, M.E. (1996)** biopreservation by lactic acid bacteria. *Antonie van leeuwenhoek.* 70:331-345.
- **Stiles, M.E. et Holzapfel, W.H., (1997).** Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int. J. Food microbial.* 36:1-29.
- **Tamime, A. Y. (2002).** Microbiology of Starter Cultures. *Dairy Microbiology Handbook.* Third Edition, Edited by Richard K. Robinson a John Wiley & Sons, Inc., Publication.

- **Thompson, J., Gentry-Weeks, C.R. (1994)** Métabolisme des sucres par les bactéries lactiques. Dans : Bactéries lactiques, Vol. I, p 239- 290 (Editeurs : De Roissart H., Luquet59.
- **Topisirovic, L., kojic, M., Fira, D., Golic, N. N., Trahinicl., Lozo, J. (2006)** Potential of lactic acid bacteria isolated from specific natural niches n food production and preservation. International journal of food microbiology. 112. 230 - 235.
- **Vandamme, P., Pot, B., Gillis, M., DeVos, P., kersters, K. Et Swings, J. (1996).** Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematic. Microbial Rev 60, 407-438.
- **Vasiljevic T., Shah Np. 2007.** Fermented milk: Health benefit beyond probiotic effect. Dans: YH HUI, *Handbook of Food Products Manufacturing*, NJ John: Wiley & Sons, Hoboken, Vol. 2, p. 99–115.
- **Vizoso Pinto M. G., Franz C. M. A. P., Schillinger U. ET Holzapfel W. H., 2006.** *Lactobacillus* spp. with in vitro probiotic properties from human faeces and traditional fermented products. *Int. J. Food Microbiol.* **109**: 205-214.
- **Vuillemard J.C., 1986.** Microbiologie des aliments. Evolution de l'activité protéolytique des bactéries lactiques. *Tec & Doc, Lavoisier.* Paris. **3** : 1-65.
- **Welman, A.D., Maddox I, S (2003)** Exopolysaccharides from lactic acid bacteria, perspectives and challenges. Trends in biotechnology. 21. 269-274.
- **Wilson, A. R., Sigee, D et Epton, H.A. (2005)** anti-bacterial activity of lactobacillus plantarum strain SKI against lister monocytogenes is due to lactic acid production. Journal of applied microbiology 99. 1516 -1522.
- **Wouters J. T. M., Ayad E. H. E., Hugenholtz J. ET Smit G., 2002.** Microbes from raw milk for fermented dairy products. *Int. Dairy J.* **12**: 91-109.
- **Zadi H., 1998.** Bactéries lactiques isolées de lait de *Camelus dromedarius*: étude microbiologique et biochimique, caractéristiques technologiques, élaboration de ferments lactiques mésophiles et fabrication de fromages. Thèse de Doctorat d'Etat. Université de Constantine, Algérie. 205.

Les annexes :

Annexe 01 : Composition des milieux de culture :

I- Milieu d'isolement :

Milieu M17

Utilise pour la culture des lactocoques :

Extrait de viande.....	5g
Extrait de levure.....	2,5 g
Acide ascorbique.....	0,5g
Peptone de soja.....	5g
B-glycérophosphate.....	19g
Peptone papistique de viande.....	2,5g
Sulfate de magnésium.....	0,25g
Lactose.....	5g
Peptone triasique de caséine.....	2,5g
Agar.....	18g
Eau distillée.....	1000ml

On ajuste le pH à 7,2

Autoclave 20 min à 120°C.

Milieu MRS

Utilise pour la culture des lactobacilles.

Peptone.....	10g
Extrait de viande.....	8g
Extrait de levure.....	4g
Glucose.....	20g
Phosphate di potassique.....	2g
Acétate de sodium.....	5g
Citrate d'ammonium.....	2g

Sulfate de magnésium, 7H ₂ O.....	0,2g
Sulfate de manganèse, 4H ₂ O.....	0,05g
Tween 80.....	1ml
Agar.....	18g
Eau distillée.....	1000ml

On ajuste le pH à 6,5

Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min.

II- Milieu d'identification :

Bouillon hypersalée :

Employée pour différencier les lactocoques et streptocoques thermophiles.

Peptone.....	15g
Extrait de viande.....	5g
Glucose.....	5g
NaCl.....	65g
Eau distillée.....	1000ml

On ajuste le pH à 6,5

Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20min

Milieu de Clark et Lubs

Utilise pour mettre en évidence l'acétyle

Peptone.....	5g
Phosphate di potassique.....	5g
Glucose.....	5g
Eau distillée.....	1000ml

On dissout toutes les ingrédients dans l'eau distillée on ajuste le pH à 7,0

Réparation en tubes à raison de 7ml

Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20min

Milieu MSE

Tryptone.....	10g
Extrait de levure.....	5g
Saccharose.....	100g
Glucose.....	5g
Citrate de sodium.....	1g
Gélatine.....	2,5g
AZohydrate de sodium.....	0,075g
Agar.....	18g
Eau distillée.....	1000ml

On ajusté le pH à 7

Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20min

Milieu YMA (Yeast-Milk-Agar)

Peptone.....	5g
Extrait de viande.....	3g
Lait écrémé.....	10g
Agar.....	15g
Eau distillée.....	1000ml

On ajusté le pH = 7.2

Le milieu stérilisé à autoclave à 121°C pendant 20 mm

MRS BCP

Utilisé pour l'étude du profil fermentaire, le milieu MRS contenant un indicateur de pH qui est le pourpre de bromocrésol à 0,025g

Lait écrémé

Lait écrémé.....10g

Extrait de levure.....0,5g

Eau distillée.....100ml

Stérilisation à 120° C pendant 10min

Glycérol (30%)

Réactif de vogues prosateur (VPI et VP II)

VPI : Solution de soude Na OH à 16% dans l'eau distillée.

VP II : Alpha -naphthol à 6% dans l'alcool à 95%.

Préparation des sucres :

On utilise 7 sucres dans cette étude : (Glucose, saccharose, Xylose, Fructose, glycérol, sucrose et maltose) : 02g de chaque sucre dans 100ml de l'eau distillée.

Stérilisation par autoclavage à 20°C pendant 20 min.

III- Les diluants :

Eau physiologique :

Utilise pour la réalisation des dilutions.

Chlorure de sodium9g

Eau distillée.....1000 ml

Stérilisation à 120°C pendant 20 min.

Annexe 02 : Coloration de Gram :

1 .Matériels :

- Les lames
- Les colorants

2. Mode opératoire :

- Réaliser un frottis ou un étalement.
- Fixer la préparation à la flamme, sécher soigneusement puis laisser refroidir la lame.
- Immerger la lame dans la solution de Cristal violet pendant 1 mn.
- Immerger la lame dans Lugol 30 seconde.
- Décolorer jusqu'à disparition de la couleur violette dans l'alcool en faisant couler goutte à goutte sur la lame inclinée.
- Rincer à l'eau.
- Colorer avec la solution de Fuchine pendant 1mn.
- Laver à l'eau.
- Observer à l'objectif X 100, en immersion avec l'huile.

3. Résultat :

Les bactéries Gram+ sont colorées en violet, les bactéries Gram- sont colorées en rose.

Annexe 03: Détermination de l'acidité titrable

1. Matériels :

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

2. Produits :

- Lait
- Solution d'Hydrolyse de sodium N/9
- Phénolphthaléine à 1%

3. Mode opératoire :

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

$$A=10(V/V') \text{ (g/l)}$$

Où :

A : Quantité d'acide lactique

V : Volume de la solution de NaOH utilisé

V' : Volume de l'échantillon

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

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