



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

N°...../SNV/2017

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

BOUCHACHI ABDELMADJID

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN BIOLOGIE**

**Spécialité: EXPLOITATION DES ÉCOSYSTÈMES MICROBIENS LAITIERS**

THÈME

**Contribution à l'étude de la qualité physicochimique  
et de la diversité microbienne du lait cru  
collecté à Hassi Bounif. W. Oran- Algérie.**

Soutenu publiquement le 29 /06./2017

DEVANT LE JURY :

Président :	M. BENMILOUD D	M. A	Univ. Mostaganem
Encadreur :	M. AIT SAADA D	M.C.A	Univ. Mostaganem
Examineur :	M. BEKADA A. M. A	PROFESSEUR	Univ. Mostaganem

2016/2017

## Liste des Figures :

<b>Figure 1.</b> Variation géographique de la production de lait en 2010 (FIL, 2011).	03
<b>Figure 2.</b> Variation géographique de la production de lait selon le nombre d'habitant en 2010 (FIL, 2011).	04
<b>Figure 3.</b> Variation géographique de l'augmentation de la production laitière entre 2005 et 2010 (FIL, 2011).	04
<b>Figure 4.</b> Déficit laitier prévisionnel jusqu'en 2050 pour les quatre grandes régions géographiques mondiales déficitaires (FIL, 2011).	05
<b>Figure 5.</b> Structure d'un globule de matière grasse ( <b>Vignola, 2002</b> ).	10
<b>Figure 6.</b> Micelle de caséine et sous micelle de caséine ( <b>Vignola, 2002</b> ).	11
<b>Figure 7.</b> Critères de fromageabilité du lait ( <b>Jakob et Hänni, 2004</b> ).	19
<b>Figure 08.</b> Formes microscopique des bactéries lactiques (x 1000) ( <b>Saidi, 2007</b> ).	26
<b>Figure 9.</b> Aspect macroscopique des colonies de la flore aérobie mésophile totale.	42
<b>Figure 10.</b> Aspect macroscopique des colonies de Coliformes totaux.	42
<b>Figure 11.</b> Aspect macroscopique des colonies de Coliformes fécaux.	43
<b>Figure 12.</b> Aspect macroscopique des colonies de <i>Staphylococcus aureus</i> .	43
<b>Figure 13.</b> Aspect cultural des isolats de souches lactique.	44
<b>Figure 14.</b> Morphologie microscopique des isolats après une coloration de Gram (X 100).	45
<b>Figure 15.</b> Test de croissance des isolats à 15°C .	48
<b>Figure 16.</b> Test du type fermentaire relatif au témoin.	48
<b>Figure 17.</b> Test de croissance sur milieu hyper salé à 6.5% de NaCl (T : témoin)	49
<b>Figure 18.</b> Test de croissance de certains isolats à pH 4.6.	49
<b>Figure 19.</b> Test de croissance sur lait Sherman à 1% (T : témoin).50	50
<b>Figure 20.</b> Test de production d'acétoïne.	50
<b>Figure 21.</b> Fréquence (%) des genres identifiés parmi la flore lactique isolée.	52

# Liste des Tableaux

<b>Tableau 1.</b> Evolution du cheptel en Algérie (milliers de têtes).	06
<b>Tableau 2.</b> Composition moyenne des laits de chèvre, vache et de femme par 100ml ( <b>Pellerin, 2001</b> ).	08
<b>Tableau 03.</b> Flore microbienne du lait ( <b>Leyral et Vierling, 2001</b> ).	18
<b>Tableau 04.</b> Caractéristiques des différents genres de bactéries lactiques ( <b>Laurent et al., 1998</b> ).	22
<b>Tableau 5.</b> Qualité physico-chimique des échantillons de lait cru.	40
<b>Tableau 6.</b> Composition chimique des échantillons de lait cru.	41
<b>Tableau 7.</b> Qualité bactériologique des prélèvements de lait cru.	41
<b>Tableau 08.</b> Critères morphologiques des souches isolées du lait cru de vache.	46
<b>Tableau 09.</b> Profil physiologique et biochimique des souches isolées.	45

# Table des Matières

<b>Introduction :</b>	01
-----------------------	----

## Partie 1 : Revue bibliographique

### Chapitre I : Généralités sur le lait cru de vache

1. Situation de l’Afrique dans la production mondiale de lait :	03
2. Rappel sur le secteur d’élevage en Algérie :	06
3. Problématique du lait en Algérie :	06
4. Définitions du lait :	07
4.1. Composition, structures et propriétés générales des constituants du lait :	07
4.1.1. Eau :	09
4.1.2. Matières grasses :	09
4.1.3. Protéines :	10
4.1.4. Lactose :	12
4.1.5. Les Minéraux :	12
4.1.6. Les Vitamines :	12
4.1.7. Les Enzymes :	13
5. Caractéristiques physico chimiques du lait :	14
5.1. Densité :	14
5.2. Acidité de titration ou acidité Dornic :	14
5.3 Point de congélation :	15
5.4. Point d'ébullition :	15
5.5. PH du lait :	15
6. Qualité organoleptique du lait :	16
6.1. Couleur :	16
6.2. Odeur :	16
6.3. Saveur :	16
6.4. Viscosité :	17
7. Microflore du lait :	17
7.1. Flore originale:	17

7.2. Flore pathogène: .....	18
7.3. Flore <i>psychrotrophe</i> : .....	18
8. Le lait cru de vache: matière première dans la fabrication des fromages : .....	18

## **Chapitre II: Les bactéries lactiques.**

1. Définition : .....	21
2. Classification des bactéries lactiques : .....	22
2.1. Le genre <i>Lactobacillus</i> : .....	23
2.2 Le genre <i>Streptococcus</i> : .....	24
2.3 Le genre <i>Lactococcus</i> : .....	24
2.4 Le genre <i>Leuconostoc</i> : .....	24
2.5. Le genre <i>Bifidobacterium</i> : .....	25
3. Identification des bactéries lactiques : .....	25
3.1. Caractères morphologiques et structuraux : .....	25
3.2. Caractères physiologiques et biochimiques : .....	27
3.3. Caractères immunologiques : .....	27
4. Exigences nutritionnelles des bactéries lactiques : .....	27
4.1. Glucides : .....	28
4.2. Azote : .....	28
4.3. Vitamines : .....	28
4.4. Minéraux : .....	29
4.5. Oxygène : .....	29
5. Application industrielle des bactéries lactiques : .....	29
5.1. Les ferments lactiques naturels : .....	30
5.2. Les ferments lactiques sélectionnés : .....	30
5. Rôle et intérêt des bactéries lactiques : .....	31
5.1. Domaine alimentaire : .....	31
5.1.1. Rôle sur la structure et la texture : .....	31
5.1.2. Rôle dans la conservation : .....	31
5.1.3. Rôle sur les caractéristiques organoleptiques : .....	32
5.1.4. Domaine de santé : .....	32

## **Partie 2 : Méthodologie**

Objectifs : .....	33
1. Echantillonnage : .....	33
1.1. Source des échantillons : .....	33

1.2. Technique de prélèvement :	33
2. Analyses physico-chimiques :	33
3. Analyses microbiologiques :	34
3.1. Choix des milieux de cultures :	34
3.2. Préparation des dilutions:	35
3.3. Analyses bactériologiques :	35
3.3.1. Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale :	35
3.3.2. Dénombrement des coliformes:	35
3.3.3. Dénombrement des coliformes fécaux :	35
3.3.4. Dénombrement des staphylocoques :	36
3.4. Isolement et dénombrement des bactéries lactiques :	36
3.5. Purification et conservation des souches :	36
3.6. Identification des bactéries lactiques isolées :	36
3.6.1. Critères morphologiques :	36
3.6.1.1. Caractérisation macroscopique :	36
3.6.1.2. Caractérisation microscopique :	36
3.6.2. Critères biochimiques et physiologiques:	37
3.6.2.1. Recherche de la catalase :	37
3.6.2.2. Recherche du nitrate réductase :	37
3.6.2.3. Test de croissance à différentes températures :	38
3.6.2.4. Thermorésistance :	38
3.6.2.5. Test de croissance en présence de 6,5% de NaCl :	38
3.6.2.6 Test de croissance à différents pH (4.6 et 9.6) :	38
3.6.2.7. Croissance sur lait de Sherman :	38
3.6.2.8. Recherche du type fermentaire :	39
3.6.2.9. Recherche de l'arginine dihydrolase (ADH) :	39
3.6.2.10. Production d'acétoïne :	39

### **Partie 3 : Résultats et Discussion**

1. Qualité physico-chimique du lait cru :	40
2. Composition chimique :	40
3. Qualité microbiologique du lait cru :	40
3.1.Flore aérobie mésophile totale :	40
3.2. Coliformes totaux :	42
3.3. Coliformes fécaux :	42
3.4. <i>Staphylococcus aureus</i> :	43
4. Isolement et identification des bactéries lactiques :	44

4.1 Aspect macroscopique et microscopiques : .....	44
4.2 Identification des bactéries lactiques : .....	46
4.2.1. Test de croissance à différentes température :.....	47
4.2.2. Test de la thermorésistance : .....	48
4.2.3. Recherche du type fermentaire :.....	48
4.2.4. Test de croissance en milieu hyper-salé (6.5% de NaCl) :.....	49
4.2.5. Croissance à différents pH (9.6 et 4.6) :.....	49
4.2.6. Test de croissance sur le lait de Sherman : .....	50
4.2.7. Test à l'arginine dihydrolase (ADH) :.....	50
4.2.8. Production d'acétoïne :.....	50
4.2.9. Distribution de la flore lactique isolée : .....	51

## **Conclusion générale**

## **Résumé :**

Cette étude est orientée en vue d'étudier la qualité physico-chimiques et microbiologique, ainsi que la diversité de la flore lactique du lait cru collecté dans la région de GHRISS- W-Mascara sise à l'Ouest d'Algérie. Les prélèvements d'échantillons en trois répétitions ont été effectués durant le mois juillet 2015 en respectant les règles des bonnes pratiques d'échantillonnage et de transport. Les analyses physicochimiques et microbiologiques du lait cru ont concerné : le pH, l'acidité, la densité, la matière grasse, le taux de protéines, le taux de lactose, le taux en minéraux, les germes totaux, les coliformes et les *Staphylococcus aureus*. Un isolement et une identification des souches lactiques ont été également réalisés sur les prélèvements de lait de vache.

Le lait cru de vache collecté dans la région de l'étude est de très bonne qualité physicochimique. Néanmoins les niveaux de matière grasse recensés dans les différents échantillons de lait de vache prélevés sont médiocres et ne répondent pas aux normes de qualité exigées par les industriels du pays à la réception à l'usine. Quant à la qualité microbiologique des prélèvements de lait cru, elle ne s'inscrit pas dans les normes admises dans le Journal officiel de la République Algérienne ; le lait de vache s'avère de mauvaise qualité hygiénique, impropre à la consommation et peut même affecter la santé des consommateurs.

Vingt-trois isolats présumés comme étant des bactéries lactiques ont été isolés des différents échantillons expérimentaux de lait cru représentés à 34.8% par le genre *Leuconostoc*, à 26.08% par le genre *Lactococcus*, à 17.39 % par les genres *Enterococcus* et *Streptococcus* et à 4.34% par le genre *Lactobacillus*.

**Mots clés :** lait cru, qualité, physicochimique, microbiologique, bactéries lactiques.



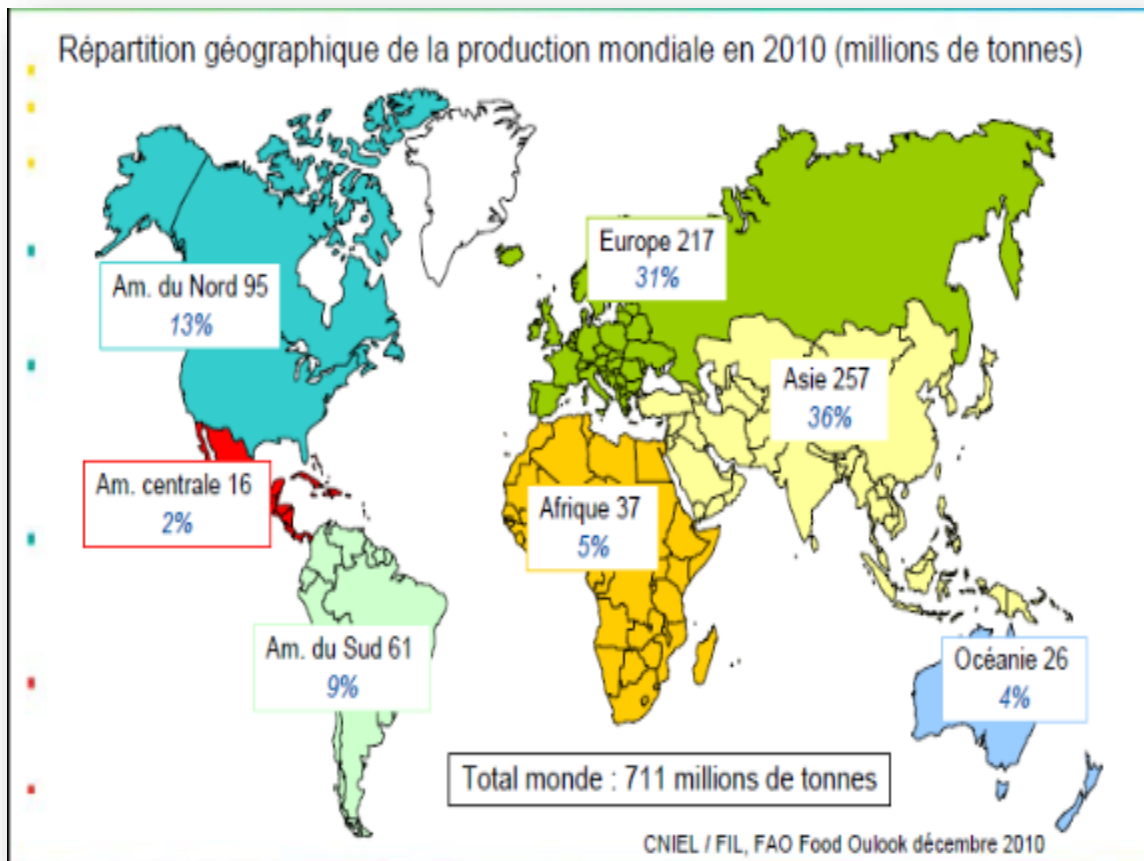
la méconnaissance des bonnes pratiques d'hygiène et d'élevage, l'application d'un rationnement inadapté, traitements prophylaxies inadéquats...etc.

Plusieurs autres facteurs de risques de contamination aux différents stades de production entrent en ligne de compte et déprécient davantage la qualité du lait cru. Ceci nous a orienté à entreprendre cette étude, dont l'objectif principal a été la mise en évidence de la qualité hygiénique et sanitaire du lait de vache collecté dans une ferme situé dans la région de Mascara à l'Ouest du pays.

## Chapitre I : Généralités sur le lait cru de vache

## 1. Situation de l'Afrique dans la production mondiale de lait

En 2010, la production mondiale de lait était de 7116 millions de tonnes réparties de façon inégale selon les grandes régions géographiques et le nombre d'habitants (**Figures 1 et 2**). L'Afrique est la partie du globe qui produit le moins de lait par habitant. La production mondiale a augmenté toutefois entre 2005 et 2010 dans toutes les régions du monde, surtout en Asie (**Figure 3**). Selon les projections, le déficit laitier qui existe en Afrique va s'amplifier de plus en plus en raison de la sécheresse et le manque d'alimentation (**Figure 4**).



**Figure 1.** Variation géographique de la production de lait en 2010 (FIL, 2011).

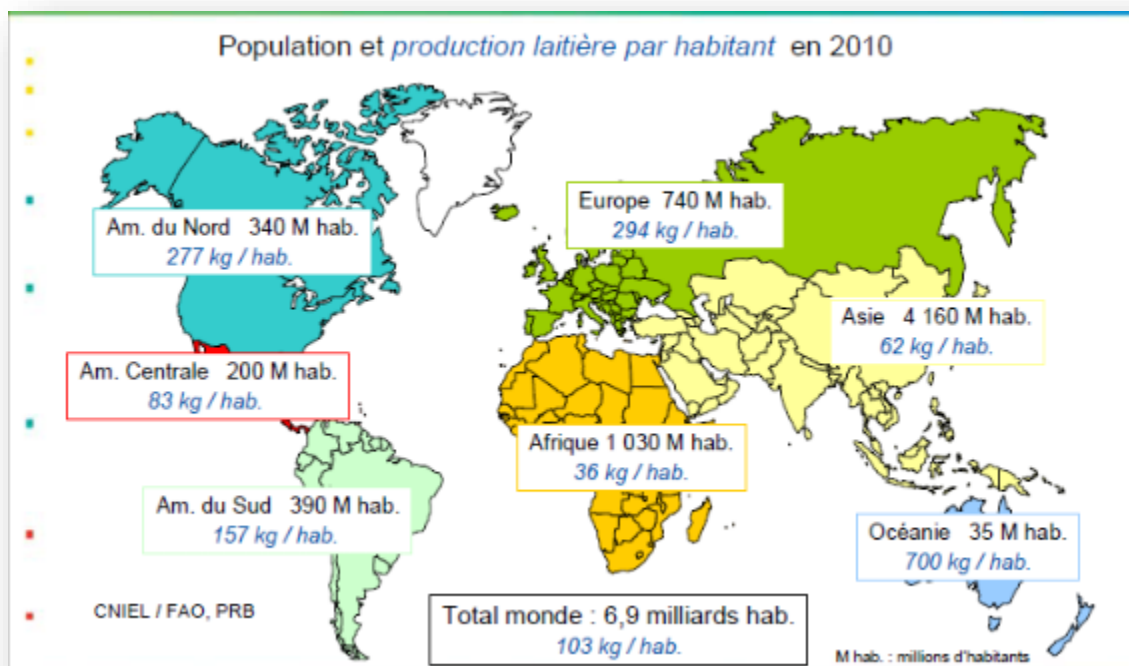


Figure 2. Variation géographique de la production de lait selon le nombre d'habitant en 2010 (FIL, 2011)

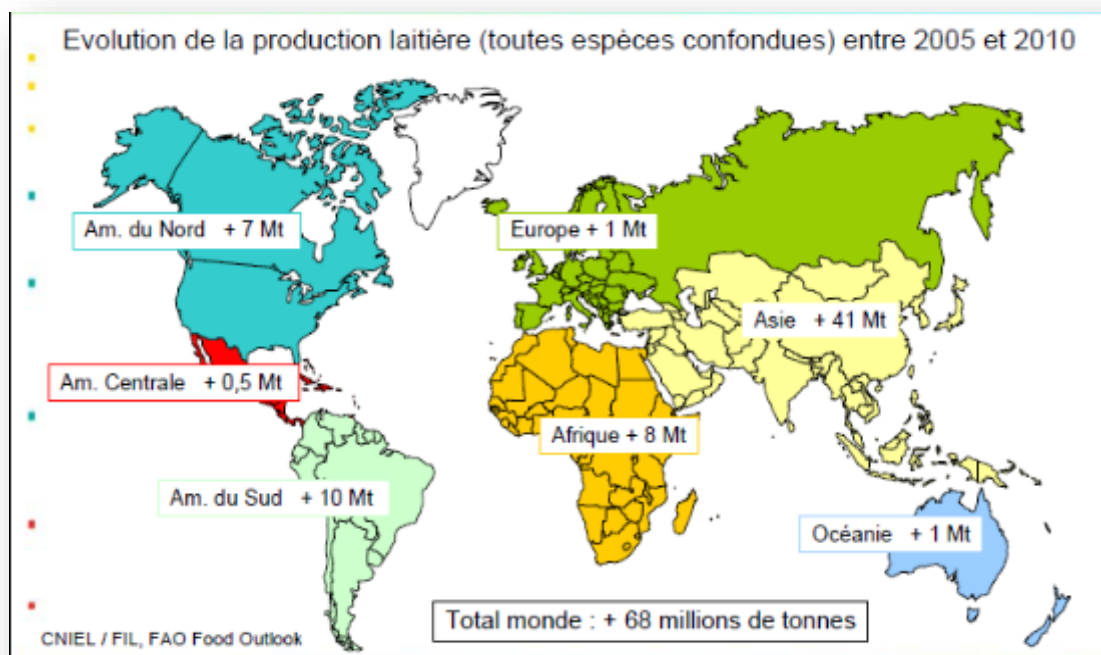
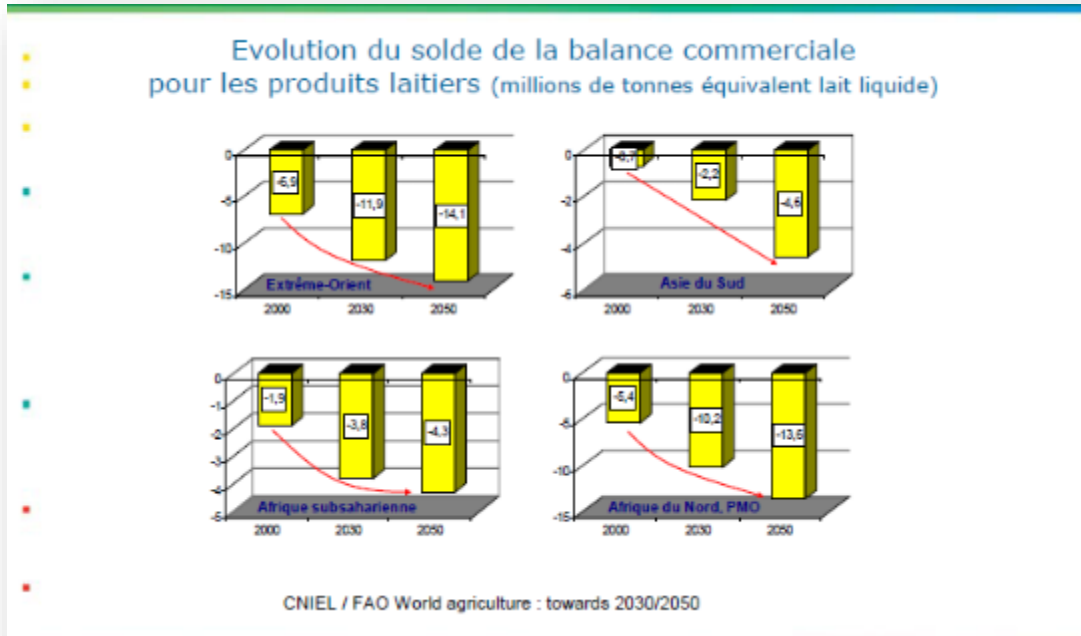


Figure 3. Variation géographique de l'augmentation de la production laitière entre 2005 et 2010 (FIL, 2011)



**Figure 4.** Déficit laitier prévisionnel jusqu'en 2050 pour les quatre grandes régions géographiques mondiales déficitaires (FIL, 2011)

En 2010, le lait produit au niveau mondial était à 83 % du lait de vache, 13 % du lait de bufflonne, 2 % du lait de chèvre, 1 % du lait de brebis et 0.2 % du lait de chamelle (**Web site 1**). Mondialement le lait de vache est le plus produit. L'élevage de chameau est limité à l'Afrique et à l'Asie (d'autres espèces de camélidés existent en Amérique du Sud). La production mondiale du lait de chamelle disponible pour la consommation humaine a été estimée officiellement à 1.3 millions de tonnes en 2006, soit 500 fois moins que celle du lait de vache. Les chiffres parlent d'une production mondiale totale de 5,3 millions de tonnes destinées principalement aux chamelons. Une chamelle allaitante produit de 1000 à 12000 litres de lait pendant une période allant de 8 à 18 mois. Le premier producteur mondial du lait de chamelle est la Somalie (environ 50 % de la production) suivie de l'Arabie Saoudite (environ 7 % de la production) (**Web site 2**).

La production de lait de brebis est importante dans les pays où la production de lait de vache est limitée ; mais elle concerne également des pays de grande tradition fromagère comme la France.

## 2. Rappel sur le secteur d'élevage en Algérie

L'élevage, en Algérie, concerne principalement les ovins, les caprins, les bovins et les camelins. Les effectifs recensés durant les vingt dernières années sont représentés dans le (**Tableau 1**). Les ovins prédominent (20 millions de tête) et représentent 78 % de l'effectif global avec plus de 10 millions de brebis. L'élevage caprin vient en seconde position (15% de l'effectif global) comprenant 58 % de chèvres. L'effectif des bovins reste faible avec 1.6 - 1.7 millions de têtes (6 % de l'effectif global) dont 58 % sont des vaches laitières. En Algérie il y a une spécialisation des zones agro-écologiques en matière d'élevage. L'élevage bovin reste cantonné dans le nord du pays avec quelques incursions dans les autres régions steppiques. Les parcours steppiques sont le domaine de prédilection de l'élevage ovin et caprin avec plus de 90 % des effectifs qui y vivent entraînant une surexploitation de ces pâturages (**FAO, 2012**).

**Tableau 1.** Evolution du cheptel en Algérie (milliers de têtes)

Année	1990	1995	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2010
Bovins	1393	1267	1580	1595	1613	1572	1561	1614	1586	1650
Ovins	17697	17302	17989	17616	17299	17588	17503	18293	18909	20000
Caprins	2472	2780	3062	3027	3129	3281	3325	3451	35590	3800
Camelins	123	126	220	235	246	245	250	273	269	290
Totale	21685	21475	22851	22473	22287	22686	22639	23631	24354	25740

**Source:** FAO février 2012 Sources statistiques agricoles

## 3. Problématique du lait en Algérie

Considéré à juste titre comme un produit de base dans le modèle de consommation Algérien, le lait occupe une place importante dans la ration alimentaire de la population. Les besoins sont estimés à 3,2 milliard de litres et une consommation moyenne de l'ordre de 100 à 110 l/habitant/an. La production nationale, estimée à 1.6 milliard de litres par an, ne couvre que 40 % des besoins (**Yakhlef et al, 2010**). Le reste est importé sous forme de poudre de lait et de matière grasse laitière anhydre (MGLA) auxquels il faut rajouter d'autres ingrédients intégrés lors de sa transformation tels (levains, enzymes coagulantes, arômes... etc.).

Ce déficit de production fait en sorte que les structures des unités de transformation étatiques et privées fonctionnent en majeure partie grâce au traitement du lait recombiné à partir de poudre

de lait et de MGLA importées. Néanmoins, ces dernières années des tonnages sans cesse croissants en lait collecté à travers plusieurs fermes d'élevages nationales sont utilisés tels quels ou mélangés au lait recombinaison (à différentes proportions) dans les fromageries et yaourteries.

En dehors du souci de combler le déficit et répondre aux besoins de la population algérienne, le lait frais de collecte est de nature à améliorer sensiblement la qualité organoleptique de ses dérivés, devant bien entendu la multiplication effrayante des entreprises qui utilisent telle la poudre engendrant inéluctablement une dépréciation de la qualité finale des produits transformés mis à la disposition du consommateur algérien.

Comme ce dernier volet est intimement lié à l'objet de cette présente étude, nous donnerons ci-après quelques caractéristiques sur le lait et ses implications sur la qualité des produits transformés.

#### **4. Définitions du lait**

Le lait a été 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 recueilli proprement et ne doit pas contenir de colostrum» (Alais, 1975).

Le Codex Alimentarius en 1999, le définit comme étant la sécrétion mammaire normale d'animaux de traite obtenue à partir d'une ou plusieurs traites, sans rien y ajouter ou en soustraire, destiné à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur.

Selon (Deforges et al. en 1999), le lait cru est un lait non chauffé au-delà de 40°C, ni soumis à un traitement non thermique d'effet équivalent notamment du point de vue de la réduction de la concentration en micro-organismes.

##### **4.1. Composition, structures et propriétés générales des constituants du lait :**

Le lait est un liquide blanc, opaque, deux fois plus visqueux que l'eau, de saveur légèrement sucrée et d'odeur peu accentuée (Bitman et al. 1996). Le lait est un fluide aqueux, légèrement bleuté et d'un pH (6,6 à 6,8) légèrement acide, proche de la neutralité (Pien, 1975). Le lait, proche du plasma sanguin, est un sérum comportant une émulsion de matière grasse, une suspension de

matière protéique caséuse, du lactose, des sels et minéraux, des protéines solubles et des traces d'éléments divers (Mathieu, 1997). Les principales constitutions du lait sont :

- de l'eau, très majoritaire ;
- des glucides, principalement représentés par le lactose ;
- des lipides, essentiellement des triglycérides rassemblés en globules gras ;
- des protéines : caséines rassemblées en micelles, albumines et globulines solubles ;
- des sels et minéraux à l'état ionique et moléculaires ;
- des éléments à l'état de traces mais au rôle biologique important : enzymes, vitamines, oligoéléments ...etc. (Kuzdzal et al. 1980) (Tableau 2).

**Tableau 2.** Composition moyenne des laits de chèvre, vache et de femme par 100ml (Pellerin, 2001).

Composition	Unité	Lait de chèvre	Lait de vache	Lait de femme
Eau	g	87.50	87.7	87.1
Energie	Kcal	71.00	65	69
Proteine	g	03.30	3,3	1.3
Lipides	g	04.50	3.8	4,1
Glucides	g	04.60	4.7	7,2
Na	mg	40.00	50	14
K	mg	180.00	150	58
Ca	mg	130.00	120	34
Mg	mg	20.00	12	3
P	mg	110.00	95	12
Fe	mg	00.04	0.05	0.07
Cu	mg	00,05	0.02	0.04
Zn	mg	00.30	0.35	0.28
Caséines	%	83.00	82	40
Protéines	%	17.00	18	60
de lactosérum				

#### 4.1.1. Eau :

L'eau est le constituant le plus important du lait, en proportion. Elle représente environ 80% du lait (**Goursaud et Boudier, 1985**). Son caractère lui permet de former une solution vraie avec les glucides, les minéraux et une solution colloïdale avec les protéines (**Bouvier, 1993**).

#### 4.1.2. Matières grasses :

La matière grasse (MG) est présente dans le lait sous forme de globules gras de diamètre de 0.1 à  $10 \times 10^{-6}$  m et est essentiellement constitué de triglycérides (98%), de phospholipides (1%) et d'une fraction insaponifiables (1%) [Cholestérol et de  $\beta$  carotène] (**Kuzdzal, 1987**) (**Figure 5**). La matière grasse représente à elle seule la moitié de l'apport énergétique du lait. Elle est constituée de 65% d'acides gras saturés et de 35% d'acides gras insaturés et polyinsaturés (**Vignola, 2002**).

**a- Les Phospholipides** du lait, classés comme lipides complexes. Dans le lait, on distingue trois types de phospholipides : les lécithines, les céphalines et les sphingomyélines (**Cayot et Lorient, 1998**). La caractéristique la plus importante des phospholipides est leur propriété émulsifiante (**Jensen, Newburg 1955**). Cette dernière est due à leur capacité amphipolaire caractérisée par une présence d'une partie hydrophile, qui s'associe à l'eau, et d'une partie lipophile qui s'associe aux constituants du globule de la matière grasse (**Rattray et al., 1997**).

**b- Les Triglycérides** sont des esters du glycérol, c'est-à-dire qu'ils sont formés par condensation de trois molécules d'acides gras sur une molécule de glycérol (**Walstra 1999**).

**c- Fractions insaponifiables** : l'insaponifiable groupe l'ensemble des constituants de la matière grasse qui ne réagissent pas avec la soude ou la potasse pour donner des savons, et qui après saponification, sont insolubles dans l'eau en milieu alcalin mais restent solubles dans des solvants organiques non miscibles à l'eau. On retrouve principalement dans les fractions insaponifiables des stérols, les caroténoïdes, les xanthophylles et les vitamines A, D, E et K. Le plus important des stérols est le cholestérol (**Peereboom, 1969**). La consommation de la matière grasse laitière est indispensable dans l'alimentation et elle est source des vitamines A, D et E (**Champagne et al. 1984**).



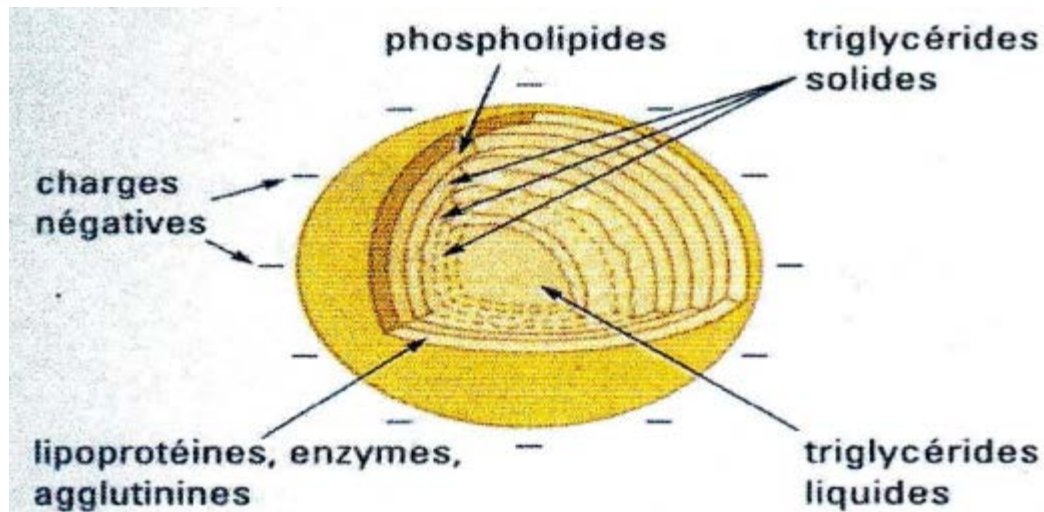


Figure 5. Structure d'un globule de matière grasse (Vignola, 2002).

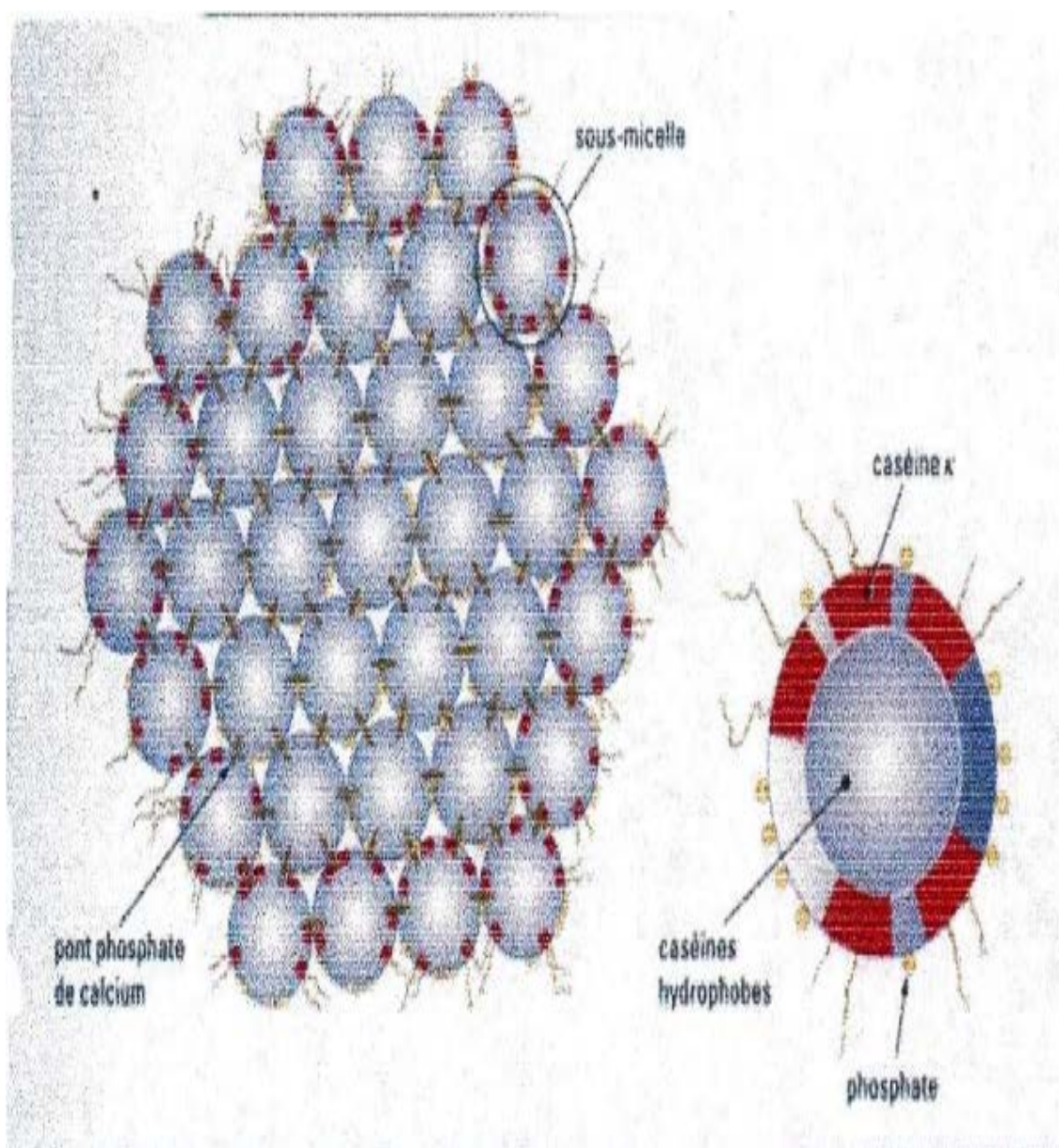
#### 4.1.3. Protéines :

Les protéines sont des éléments essentiels au bon fonctionnement des cellules vivantes et elles constituent une part importante du lait et des produits laitiers (Lankveld, 1995). L'analyse du lait par minéralisation, appelée méthode Kjeldahl, permet d'évaluer que 95% de la quantité totale d'azote est présente dans les protéines dont la concentration moyenne est de 3,2%. Les composés azotés non protéiques sont principalement des protéases, des peptones et de l'urée. Différentes structures et propriétés physicochimiques distinguent les protéines du lait (Cayot et Lorient, 1998). On les classe en deux catégories d'après leur solubilité dans l'eau et leur stabilité, d'une part, les différentes caséines qui sont en suspension colloïdale, qui se regroupent sous forme de micelles et qui précipitent sous l'action de la présure ou lors de l'acidification à un pH d'environ 4,6, d'autre part, les protéines du sérum qui sont en solution colloïdale et qui précipitent sous l'action de la chaleur (Whitney et al. 1976) (Figure 6).

**a- Caséines :** Les caséines forment près de 80% de toutes les protéines présentes dans le lait. Elles se regroupent sous forme sphérique appelée micelle. La taille des micelles se situe entre 100 et 500 nm ; avec un diamètre moyen près de 180 nm et elle varie principalement selon l'espèce animale, la saison, le stade de lactation (Lenoir, 1985). Les micelles de caséine sont constituées de 92% de protéines et de 8% de minéraux (Mc Mahon et Brown, 1984). Il semble claire que les

micelles sont formées de sous-micelles reliées ensemble par des ponts phosphate de calcium (Mc Mahon et Brown, 1984).

**b- Protéines du sérum :** Les protéines du sérum, qui représentent environ 20% des protéines totales, se retrouvent sous forme de solution colloïdale. Les deux principales sont la  $\beta$  lactoglobuline et l' $\alpha$  lactalbumine ; les autres protéines du sérum sont les Immoglobulines. En plus, différents enzymes sont présents dans le sérum (Eigel et al. 1984).



**Figure 6.** Micelle de caséine et sous micelle de caséine (Vignola, 2002).

#### 4.1.4. Lactose :

Le lactose est le glucide, ou l'hydrate de carbone, le plus important du lait puis qu'il constitue environ 40% des solides totaux. D'autres glucides peuvent être présents en faibles quantités, comme le glucose et le galactose qui proviendraient de l'hydrolyse du lactose. En outre, certains glucides peuvent se combiner aux protéines. Par ailleurs, le lait contient près de 4,8% de lactose, tandis que la poudre de lait écrémé en contient 52% et la poudre de lactosérum, près de 70% (Montreuil, 1971).

#### 4.1.5. Les Minéraux :

Les minéraux contenus dans le lait, prennent plusieurs formes ; ce sont les plus souvent des sels, des bases et des acides. A cette liste s'ajoutent certains éléments, comme le soufre présent dans les protéines et les oligo-éléments suivants, qui sont présents à de faibles concentrations à l'état de trace : manganèse, bore, fluor, silicium, brome, molybdène, cobalt, baryum, titane, lithium et autres...etc. (Brulé, 1987). Les minéraux, ont un rôle structural et fonctionnel : ils sont souvent impliqués dans le mécanisme physiologiques (régulation nerveuse ou enzymatique, contraction musculaire ...) (Guegen, 1979 et Brulé, 1987). Le lait et les produits laitiers sont des principales sources alimentaire de calcium et phosphore, pour le quel ils couvrent plus de la moitié de nos besoins journaliers. Ce sont les éléments plastiques intéressants dans l'ossification, et leur apport est crucial pour les sujets jeunes et âgés.

#### 4.1.6. Les Vitamines :

Les vitamines sont des substances biologiquement indispensables à la vie puisqu'elles participent comme cofacteurs dans les réactions enzymatiques et dans les échanges à l'échelle des membranes cellulaires. L'organisme humain n'est pas capable de les synthétiser. On les retrouve en très petite quantité dans les aliments. On répartit les vitamines en deux classes selon leur solubilité, soit les vitamines hydrosolubles (vitamines du groupe B, vit C, vit H, acide folique, niacine et niacinamide, acide pantothénique), retrouvés en grande concentration dans le sérum, et les vitamines liposolubles (vit A, vit D, vit E, vit K) qui sont associées à la matière grasse, par conséquent l'écémage du lait diminuera considérablement leurs concentration ; alors qu'elles sont en plus grande concentration dans les produits comme la crème et le beurre (Adrian, 1987).

#### 4.1.7. Les Enzymes :

Le lait contient principalement trois groupes d'enzymes : les hydrolases, les déshydrogénases (ou oxydase) et les oxygénases. Les deux principaux facteurs qui influent sur l'activité enzymatique sont le pH et la température (**Kitchen et al., 1970**).

**a-** Les lipases sont des estérases qui catalysent l'hydrolyse des triglycérides à l'échelle des liaisons entre les acides gras et le glycérol. Cette réaction, nommé lipolyse, forme des acides gras libres et différents glycérides, mono- glycérides ou di-glycérides, et à la limite du glycérol si l'hydrolyse est complète. La production d'acide butyrique pour cette réaction est responsable du goût rance du lait (**Got, 1971**). Les lipases présentes dans le lait sont d'origines naturelle et d'origine microbienne. Les premières sont détruites par la pasteurisation, tandis que les lipases microbiennes sont plus résistantes (**Got, 1971**).

**b-** Les phosphatases catalysent l'hydrolyse des esters phosphoriques. La phosphatase alcaline est une glycoprotéine présente dans le lait. Elle est active à un pH alcalin, entre 9 et 10, et nécessite la présence d'ions magnésium et zinc. La dénaturation de cet enzyme peut se faire par un chauffage à 60 °C pendant une heure, à 70 °C pendant une minute, à 72 °C pendant trente secondes ou à 78 °C pendant deux secondes (**Got, 1971**).

**c-** Les protéases sont des enzymes qui catalysent l'hydrolyse des liens peptidiques des protéines et qui produisent des protéases, des peptones, des peptides ou même des acides aminés selon le degré d'hydrolyse. Les deux principales protéases du lait sont le lysozyme et la plasmine. Le lysozyme possède des propriétés antibactériennes puisqu'il hydrolyse les protéines des parois cellulaires des bactéries. La plasmine joue un rôle important dans le lait, car elle hydrolyse les caséines  $\beta$ ,  $\alpha_1$  et  $\alpha_2$ , ce qui libère des peptides de différentes longueurs ; ce sont eux qui amènent les goûts particuliers de certains fromages comme le gouda ou des fromages de type suisse. Cet enzyme est thermorésistant puisqu'il est détruit à 70 °C pendant quarante minutes ou à 90°C (**Got, 1971**).

**d-** Les déshydrogénases, ou oxydases, sont des enzymes qui catalysent les réactions d'oxydation. Les deux principales oxydases présentes dans le lait sont la sulfhydryle oxydase et la xanthine oxydase. La première est une métallo-glycoprotéine qui permet la formation des ponts

désulfure présents dans la structure tertiaire de certaines protéines du lait. Cette réaction d'oxydation forme du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> qui sera éliminé par la catalase ; par contre la seconde (xanthine oxydase) est un enzyme dont le rôle est moins bien défini dans le lait. On sait toutefois que cette enzyme participe à la formation de l'acide urique lors de la décomposition des bases puriques telles que l'adénosine et la guanine, qui sont présents dans les acides ribonucléiques (ARN) et désoxyribonucléiques (ADN) (Got, 1971).

e- La lactoperoxydase est une glycoprotéine qui catalyse l'oxydation, par le peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de certains composés réducteurs tels que les phénols. Sa présence est appréciable dans le lait et son pH d'activité maximale est près de la neutralité ; soit de 6,8. Sa dénaturation est totale par une pasteurisation à 72°C pendant 15 secondes. En raison de cette caractéristique, on évalue de plus en plus l'activité de cet enzyme pour vérifier l'efficacité de la pasteurisation (Got, 1971).

## 5. Caractéristiques physico chimiques du lait

Les principales propriétés physico-chimiques utilisées dans l'industrie laitière sont la masse volumique et la densité, le point de congélation, le point d'ébullition et l'acidité (Amiot et coll., 2002).

### 5.1. Densité

Elle oscille entre 1,028 et 1,034. Elle doit être supérieure ou égale à 1,028 à 20°C. La densité des laits de grand mélange des laiteries est de 1,032 à 20°C. La densité des laits écrémés est supérieure à 1,035 (Vierling, 2008).

### 5.2. Acidité de titration ou acidité Dornic

L'acidité titrable indique le taux d'acide lactique formé à partir du lactose. Un lait frais a une acidité de titration de 16 à 18°Dornic (°D). Conservé à la température ambiante, il s'acidifie spontanément et progressivement (Mathieu, 1998). C'est la raison pour laquelle on distingue l'acidité naturelle, celle qui caractérise le lait frais, d'une acidité développée issue de la transformation du lactose en acide lactique par divers microorganismes.

On exprime couramment l'acidité d'un lait en degrés Dornic ; ce dernier étant le nombre du dixième de millilitre de soude utilisée pour titrer 10 millilitres de lait en présence de phénolphtaléine.

Deux laits peuvent avoir le même pH et des acidités titrables différentes et inversement. C'est dire qu'il n'y a pas de relation d'équivalence réelle entre le pH et l'acidité de titration (**Dieng, 2001**).

### 5.3 Point de congélation

Parce que les substances dissoutes abaissent le point de congélation du solvant par « cryoscopie », le lait se congèle en dessous de 0°C. La formule  $\Delta = 1,85 P/M$  relie l'abaissement  $\Delta$  à la concentration moléculaire des substances dissoutes (P : poids de substances dissoutes en g/l ; M : poids moléculaire moyen), dans une solution aqueuse. Le point de congélation du lait varie peu. Il est de - 0,555 °C pour le lait de vache ; c'est-à-dire le même que celui du sérum sanguin. C'est la caractéristique la plus constante du lait et sa mesure est utilisée pour déceler la fraude. L'altération par fermentation lactique et l'addition de sels solubles abaissent le point de congélation (**Larpen, 1990**). Pour les laits de chèvre et de brebis on prend comme moyenne - 0,580 °C.

### 5.4. Point d'ébullition

Le lait boue au dessus de 100°C ; entre 117 et 115 °C (**Larpen, 1990**). Mais, au cours du chauffage, il se produit des changements dans l'équilibre qui influent sur le résultat : Ions molécules et micelles.

### 5.5. PH du lait

Les différents laits ont une réaction ionique voisine de la neutralité. Le pH est compris entre 6,4 et 6,8. C'est la conséquence de la présence de la caséine et des anions phosphorique et citrique, principalement. Le pH n'est pas une valeur constante. Il peut varier au cours du cycle de lactation et sous l'influence de l'alimentation. Cependant, l'amplitude des variations est faible dans une même espèce. Le colostrum a un pH plus bas, du fait de la teneur élevée en protéines (**Gaucher et**

al., 2008). Le pH du lait change d'une espèce à l'autre, étant donnée les différences de la composition chimique, notamment en caséines et en phosphates.

## **6. Qualité organoleptique du lait**

**Vierling (2003)** rapporte que l'aspect, l'odeur, la saveur, la texture ne peuvent être précisés qu'en comparaison avec un lait frais.

### **6.1. Couleur**

Le lait est de couleur blanc mat, due en grande partie à la matière grasse et aux pigments de carotène ; la vache transforme le B-carotène en vitamine A qui passe directement dans le lait (**Fredot, 2005**).

**Reumont (2009)** explique que dans le lait, deux composants, les lipides sous forme de globules de matière grasse et les protéines sous forme de micelles de caséines diffractent la lumière. Ces agrégats dispersent les rayons lumineux sans les absorber et le rayonnement qu'ils renvoient, est identique en composition au rayonnement solaire, à savoir une lumière blanche.

### **6.2. Odeur :**

Selon **Vierling (2003)**, l'odorat du lait est caractéristique du fait de la matière grasse qu'il contient qui fixe l'ensemble des odeurs animales. Elles sont liées à l'ambiance de la traite, à l'alimentation (les fourrages à base d'ensilage favorisent la flore butyrique, le lait prend alors une forte odeur) et à la conservation (l'acidification du lait à l'aide de l'acide lactique lui donne une odeur aigrelette).

### **6.3. Saveur**

La saveur du lait normal frais est agréable. Celle du lait acidifié est fraîche et un peu piquante. Les laits chauffés (pasteurisés, bouillis ou stérilisés) ont un goût légèrement différent de celui du lait cru. Les laits de rétention et de mammites ont une saveur salée plus ou moins accentuée. Il en est par parfois de même du colostrum. L'alimentation des vaches laitières à l'aide de certaines plantes de fourrages ensilés, etc. peut transmettre au lait des saveurs anormales en particulier un

goût amer. La saveur amère peut aussi apparaître dans le lait par suite de la pullulation de certains germes d'origine extra-mammaire (**Thieulin et Vuillaume, 1967**).

#### 6.4. Viscosité

**Rheotest (2010)** a montré que la viscosité du lait est une propriété complexe qui est particulièrement affectée par les particules colloïdes émulsifiées et dissoutes.

La teneur en graisse et en caséine possède l'influence la plus importante sur la viscosité du lait. La viscosité dépend également de paramètres technologiques.

La viscosité est une caractéristique importante de la qualité du lait, étant donné qu'une relation intime existe entre les propriétés rhéologiques et la perception de la qualité par le consommateur. Ainsi, un consommateur d'Europe centrale évalue de manière très positive le lait concentré à forte consistance (filandreux). Il associe la teneur élevée des composants du lait à la viscosité élevée.

#### 7. Microflore du lait :

Le lait contient peu de micro-organismes lorsqu'il est prélevé dans des bonnes conditions, à partir d'un animal sain (moins de 5000 germes/ml) (**Larpen, 1997**).

Le lait dans les cellules du pis est stérile (**Tolle, 1980**), mais la glande mammaire, la peau du pis, le matériel de traite, la litière, la qualité de l'air et les pratiques des éleveurs sont des sources de contamination (**Ménard et al., 2004**). Le lait cru peut être contaminé par différents microorganismes avant, pendant et après la traite ; selon **Betsi et al., (1997) in Chaouch et Tebichek (2001)** ils peuvent être classés dans les flores suivantes :

##### 7.1. Flore originale :

Lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, le lait contient essentiellement des germes saprophytes du pis et des canaux galactophores (**Tableau 03**) : Microcoques, Streptocoques lactiques et lactobacilles (**Guiraud, 1998**).



Tableau 03. Flore microbienne du lait (Leyral et Vierling, 2001).

Flore originale		Flore de contamination	
Bactéries des canaux galactophores	Bactéries contaminant le lait pendant et après la traite	Bactéries d'origine fécale	Bactéries présentes sur l'animal malade
Lactobacilles streptocoques Lactiques	Pseudomonas, Flavobacterium Enterbacteries, Microcoques Corynébactéries, Bacillus <i>Streptocoques faecalis</i> et Clostridium	Clostridium Coliformes fécaux Salmonella Yersinia et Campylobacter	<i>Staphylococcus aureus</i> Brucella et Listeria

### 7.2. Flore pathogène :

Elle présente un danger pour le consommateur c'est le cas de : *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Bacillus cereus*, et des représentants des genres Brucella et Salmonella (Fukushima et al., 1984 in Bourgeois et al., 1996).

### 7.3. Flore psychrotrophe :

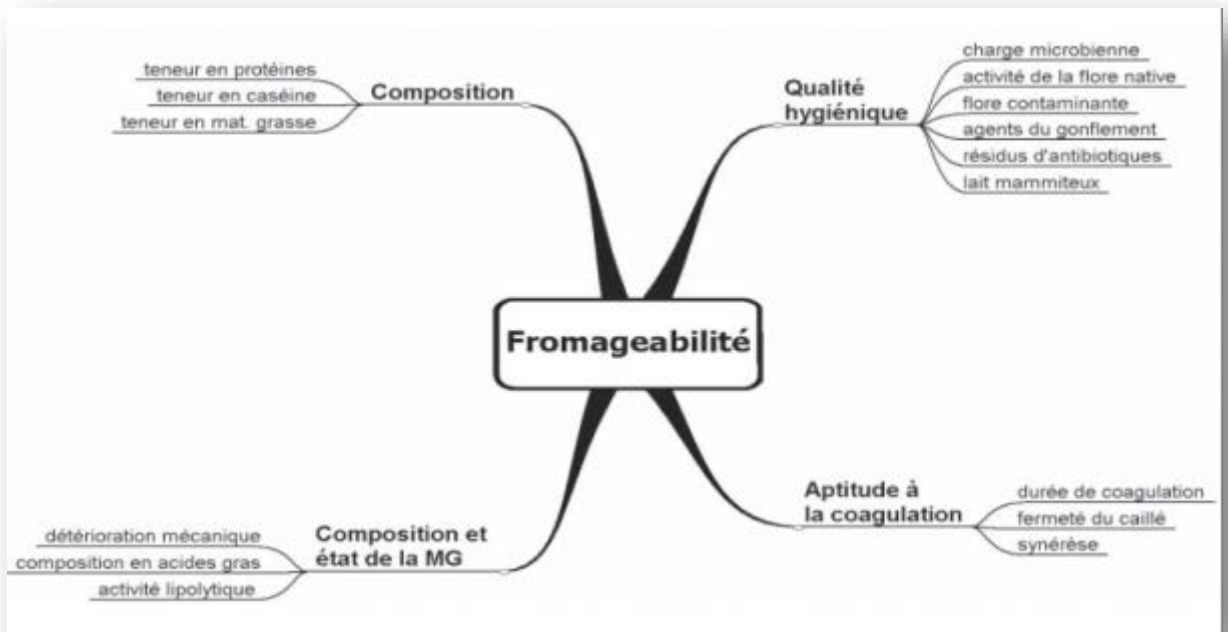
Il s'agit essentiellement de : Acinetobacteres, Clostridium, Pseudomonas et Flavobacterium qui se développent à une température de 3 à 7°C (Hicks et al., 1985; Jooste et al., 1985 in Leveau et Bouix, 1993). *Listeria monocytogenes* capable de se multiplier à une température comprise entre 0 et 10°C est qualifiée aussi de psychrotrophe (Rosset, 2001).

## 8. Le lait cru de vache : matière première dans la fabrication des fromages

La fabrication des fromages exige l'emploi d'un lait cru de haute qualité bactériologique et physico-chimique. Ainsi, dans les pays à grande tradition fromagère tel que la France, la suisse et la Belgique le fromage est élaboré surtout à partir du lait cru de vache soit directement ou après une légère pasteurisation.

(Remeuf et *al.*, en 1991) soulignent que la fromageabilité du lait c'est à dire l'aptitude à la transformation du lait de vache en fromage est dépendante d'un certain nombre de paramètres (**Figure 7**) dont :

- sa composition chimique (richesse en caséines) ;
- son comportement vis-à-vis de l'enzyme coagulante la présure;
- son aptitude au développement des bactéries lactiques (présence de résidus d'antibiotiques) ;
- enfin, sa charge microbienne et la nature de sa microflore.



**Figure 7.** Critères de fromageabilité du lait (Jakob et Hänni, 2004).

## Chapitre II: Les bactéries lactiques

### 1. Définition :

Bien avant que l'on soit conscient de l'existence des bactéries lactiques, elles n'ont été utilisées que récemment dans la conservation des aliments à base de lait, de viande, de poissons, de légumes et des fruits (**Paul Ross et al., 2002**). La présence de bactéries lactiques est responsable de l'acidification du lait et de la maturation de la crème (**De Roissart et Luquet, 1994**).

Elles forment un groupe hétérogène composé de coques et de bacilles, dont la principale caractéristique est la production d'acide lactique à partir de la fermentation des sucres (**Badis et al., 2005**).

Les bactéries lactiques regroupent les bactéries à coloration de Gram positif, généralement immobiles asporulées et micro-aérophiles. Elles ne possèdent ni catalase, ni nitrate-réductase, ni cytochrome-oxydase. Ces bactéries montrent des exigences nutritionnelles complexes en glucides fermentescibles, en acides gras, en acides aminés, en peptides, en vitamines et en sels, leur classification est réalisée en fonction de leur morphologie, de leur type de fermentation et de leur température optimale de croissance. Elles sont ubiquistes, et on les trouve dans différentes niches écologiques comme le lait et les produits laitiers, les végétaux, la viande, le poisson, les muqueuses humaines et animales et dans le tractus digestif (**Drouault et Corthier, 2001**).

Les bactéries lactiques peuvent être divisées en deux groupes homo-fermentaires et hétéro-fermentaires basées sur les produits résultants de la fermentation du glucose (**Priyanka et Prakash, 2009**). Lors de la fermentation Homo-fermentaires l'acide

lactique est le seul produit de la fermentation du glucose. En revanche dans le cas d'une Hétéro-fermentaires la fermentation du glucose aboutit à la formation d'acide lactique et d'autres composés dont : l'éthanol, le CO<sub>2</sub> et bien d'autres acides organiques (**Priyanka et Prakash, 2009**).

## 2. Classification des bactéries lactiques :

Traditionnellement, les bactéries lactiques ont été classées sur la base des propriétés phénotypiques : la morphologie, le mode de fermentation du glucose, la croissance à différentes températures, l'isomère de l'acide lactique produit et la fermentation des différents hydrates de carbone (**De Roissart et Luquet, 1994; Holzapfel et al., 2001**).

Les genres les plus étudiés sont *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus* et *Pediococcus* (**Drouault et Corthier, 2001**). Actuellement le groupe des bactéries lactiques associées aux aliments renferme les 12 genres suivantes : *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* et *Weissella* et *Bifidobacterium* (**Tableau 04**).

**Tableau 04.** Caractéristiques des différents genres de bactéries lactiques (**Laurent et al., 1998**).

Genre	Morphologie	Fermentation	Température optimale	Nombre d'espèces
<i>Lactobacilles</i>	Bacilles	Homo ou heterofermentaires	thermophiles ou mésophiles	G1 :23 G2 :16 G3 :22
<i>Lactococcus</i>	Coques	homofermentaires	Mésophiles	5
<i>Streptococcus</i>	Coques	homofermentaires	mésophiles ou thermophiles	19
<i>Leuconostoc</i>	Coques	heterofermentaires	Mésophiles	11
<i>Bifidobacterium</i>	forme irrégulière	acide acétique et lactique	Mésophiles	25

### 2.1. Le genre *Lactobacillus* :

Les bactéries du genre *Lactobacillus* ont des aspects variés allant du bacille long et fin au coccobacille en passant par la forme bâtonnet court ou légèrement flexueux. Ils sont Gram positif, non sporulés, fréquemment associés en chaînettes et habituellement immobiles. Les lactobacilles se montrent généralement plus résistants au stress acide que les lactocoques (**Siegmund et al., 2000**).

Les lactobacilles se répartissent en trois groupes selon leur profil fermentaire, d'après la classification (**Kandler et Weiss, 1986**).

**Groupe I:** il comprend les espèces homofermentaires obligatoires, c'est-à-dire produisant exclusivement de l'acide lactique à partir du glucose. Ce groupe est constitué d'environ 25 espèces, la plupart thermophiles (*croissance à 45°C*) dont *Lb. delbrueckii*, *Lb. acidophilus* et *Lb. helveticus*. La plupart des espèces sont présentes dans le lait et les produits laitiers.

**Groupe II :** ce sont les espèces hétérofermentaires facultatives, c'est-à-dire capables d'utiliser la voie hétérofermentaire dans certaines conditions lorsque la concentration en glucose est limitante dans le milieu. Il est constitué d'une vingtaine d'espèces dont *Lb. casei*, *Lb. curvatus*, *Lb. sake* et *Lb. plantarum*, majoritairement mésophiles (**Laurent et al., 1998**).

**Groupe III :** il est constitué des espèces hétérofermentaires obligatoires, c'est-à-dire utilisant la voie des pentoses phosphates pour la fermentation des hexoses et des pentoses. C'est un groupe qui rassemble des espèces relativement hétérogènes, surtout mésophiles, comme *Lb. brevis*, *Lb. kefir* et *Lb. sanfransisco*. Outre leur présence dans les

produits laitiers et carnés, certaines espèces se développent dans le tube digestif de l'homme, et participent à l'équilibre de la flore intestinale (**Laurent et al., 1998**).

### **2.2 Le genre *Streptococcus* :**

Comprend essentiellement des espèces d'origine humaine ou animale dont certaines sont pathogènes comme *S. pyogenes* et *S. agalactiae*, d'autres sont impliquées dans la formation de la plaque dentaire (*S. mutans*). L'espèce thermophile *Streptococcus thermophilus* se différencie par son habitat (lait et produits laitiers), et son caractère non pathogène. Du fait de ses propriétés technologiques, c'est la seule espèce considérée comme un streptocoque lactique (**Laurent et al., 1998**).

### **2.3 Le genre *Lactococcus* :**

Le genre *Lactococcus* est formé de bactéries à Gram positif dont les cellules, en forme de coques, sont associées par paires ou en chaînettes de longueur variable. Elles sont dépourvues de catalase et ne sont pas capables d'utiliser l'oxygène mais se multiplient en sa présence (anaérobies aérotolérantes). Ces bactéries sont thermosensibles et ne peuvent pas croître en présence de 6.5% de NaCl ou à pH 9.6. Leur température optimale de croissance s'étend de 25 à 35°C, respectivement pour les souches de *Lc. cremoris* et *Lc. lactis*. Les *Lactococcus* sont capables de croître à 10°C mais pas à une température supérieure à 40°C (**Dellaglio et al, 1994**).

### **2.4 Le genre *Leuconostoc* :**

La famille des leuconostocaceae, contient des coques ovoïdes, pouvant être allongés ou elliptiques. Ce sont des cellules sphériques qui se disposent en paires ou en chaînes, elles sont caractérisées par un métabolisme hétérofermentaire en convertissant le glucose en D-lactate et éthanol ou en acide acétique par la voie de transcétolase, elles

sont incapables de dégrader l'arginine ce qui les distinguent des lactobacilles hétérofermentaires (**Gonzalez et al., 2007**). Les leuconostocs sont habituellement rangés dans les anaérobies facultatifs ; mais certains auteurs les considèrent comme des anaérobies aérotolérants. Ils sont exigeants et présentent souvent une auxotrophie pour les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels minéraux et les glucides (**Dellaglio et al., 1994**). Ce genre comprend les espèces suivantes : *Ln. mesenteroides* avec ces sous espèce *mesenteroides cremoris* et *dextranicum* et *Ln. lactis* et *Ln. pseudomesenteroides* et *Ln. paramesenteroides* (**Collins et al., 1993 ; Laease, 2005**).

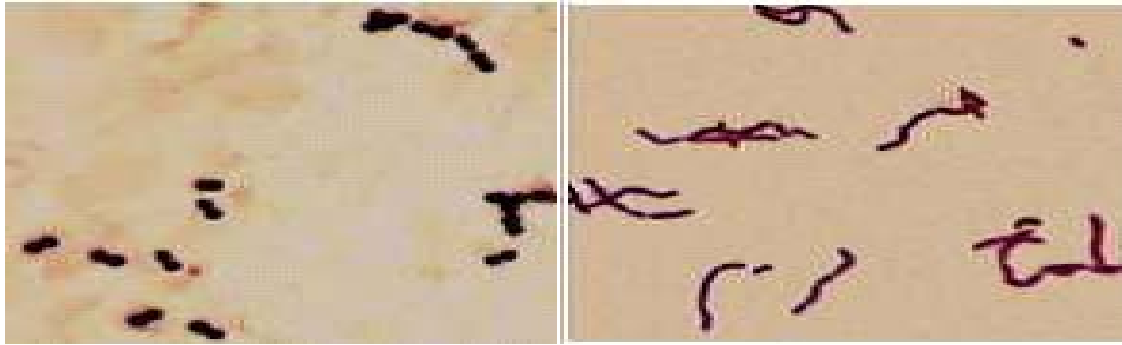
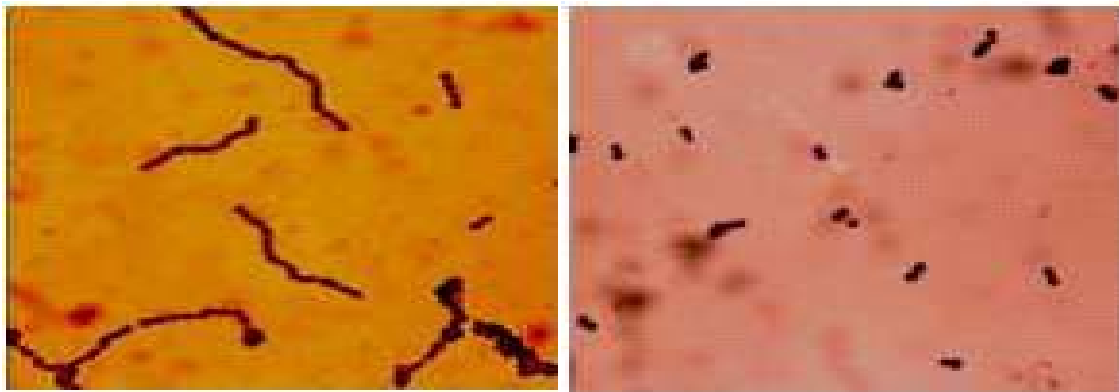
### 2.5. Le genre *Bifidobacterium* :

Les cellules de *Bifidobacterium* se caractérisent par leur forme très irrégulière, souvent en V et Y, mais pouvant être coccoïde. Elles se différencient des autres bactéries lactiques par leur caractère anaérobie, leur G + C % élevé, et la présence d'une enzyme, la fructose-6-phosphate phosphocétolase. Celle-ci leur permet de fermenter les hexoses en produisant de l'acide acétique et de l'acide lactique (rapport 3:2), ainsi qu'en moindre proportion de l'éthanol et d'autres acides organiques. Cette fermentation « lactique » a conduit à les rapprocher du groupe des bactéries lactiques. Leur température optimale de croissance est comprise entre 37°C et 41°C. Elles se développent à pH supérieur à 5. Elles sont isolées de l'homme et des animaux (**Laurent, 1998**).

## 3. Identification des bactéries lactiques

### 3.1. Caractères morphologiques et structuraux :

La forme des cellules microbiennes représentent souvent un caractère distinctif de l'espace et du genre bactérien (coques ou bâtonnets) (**Prevost, 2009**). La (**Figure 8**) illustre les différentes formes des bactéries lactiques.

**a/ Diplocoques (Leuconostoc sp.)****b/ Lactobacillus sp.****c/ Streptocoques****d/ Diplocoques (Lactococcus lactis sp.)****Figure 08.** Formes microscopique des bactéries lactiques (x 1000) (Saidi, 2007).

De plus, le diamètre cellulaire des bactéries lactique est souvent considéré comme étant un caractère plus stable que la longueur cellulaire. Concernant la mobilité, elle est une caractéristique très rare chez les bactéries lactiques qui sont généralement non mobiles, sauf dans certains cas où elles possèdent des flagelles péritriches. Par ailleurs toutes les bactéries lactiques sont non sporulées.

L'analyse des critères cités au préalable sont entrain de devenir un instrument essentiel non seulement pour la classification mais aussi pour l'identification des bactéries lactiques.



Les recherches chimio taxonomiques réalisées sur les bactéries ont contribué de façon fondamentale à expliquer les relations génétiques intra et inter spécifiques.

Enfin, la présence d'inclusions cellulaires, de corpuscules métachromatiques ou de vultine, sont des caractères distinctifs chez certaines espèces du genre *Lactobacillus* homofermentaires strict (**Renouf, 2006**).

### **3.2. Caractères physiologiques et biochimiques :**

Ils regroupent la quantité et la configuration de l'acide lactique produit, la température de croissance minimale, optimale et maximale, la tolérance à l'oxygène et au chlorure de sodium, la production de gaz et d'arome, la production d'ammoniaque à partir de l'arginine, la capacité d'hydrolyser l'esculine ou de résister aux sels biliaires et à différentes valeurs de pH (**Luquet et de Roissard, 1994**).

### **3.3. Caractères immunologiques :**

La réaction immunologique se traduit par l'agglutination des cellules bactériennes ou par la précipitation à l'interface antigène-antisérum (**DeRoissard et Luquet, 1985**). La sérologie a été utilisée pour la classification et l'identification des Streptocoques, depuis que **Lancefield (1933)** a proposé les premiers groupements sérologiques comme le cas des streptocoques lactiques qui sont rangés dans le groupe sérologique N.

### **4. Exigences nutritionnelles des bactéries lactiques :**

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

#### 4.1. Glucides

Pour croître, les bactéries lactiques ont besoin d'un apport de nutriments comportant au moins un sucre fermentescible comme source d'énergie. La fermentation des sucres s'effectue essentiellement en trois étapes (**Jofin, 2004**). Premièrement, le transport du sucre à travers la barrière hydrophobe de la membrane cellulaire. Deuxièmement, le catabolisme intracellulaire du sucre et enfin la formation et l'expulsion extracellulaire des métabolites terminaux généralement acides (**Monnet 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) (**Renouf, 2006**)

#### 4.2. Azote

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

#### 4.3. Vitamines

Les vitamines jouent dans le métabolisme cellulaire le rôle irremplaçable de coenzyme. Les bactéries lactiques sont, à quelques exceptions près, incapables de

synthétiser des vitamines (**Desmazaud et Deroissart, 1994**), d'où l'importance d'un apport exogène de vitamines au milieu de culture (**Cocaign-Bousquet et al., 1995**).

#### **4.4. Minéraux**

La nécessité des ions dans le métabolisme s'explique d'abord par leur fonction de cofacteur pour de nombreuses enzymes (**Novel, 1993**). Du point de vue transport, le fer est un élément important puisqu'il a des affinités pour un grand nombre de molécules chelatrices. Il augmente la croissance et la production d'acide lactique pour les lactocoques et une carence en cet élément donne lieu à une diminution de ce même acide (**Boyaval, 1989**). Le potassium, quant à lui, est un cofacteur pour plusieurs enzymes bactériennes et un niveau élevé de K<sup>+</sup> dans le cytoplasme est requis pour la synthèse protéique. De plus, le système du K apparaît être très important pour contrôler le pH cytoplasmique (**Desmazaud, 1983**).

#### **4.5. Oxygène**

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

### **5. Application industrielle des bactéries lactiques :**

Les bactéries lactiques furent et sont encore utilisées sous la forme de levains artisanaux, mais le développement de l'industrie de transformation, en particulier de l'industrie laitière, a conduit à la production de ferments industriels capables d'assurer à la fois la qualité et la constance des produits transformés (**Pfeiler et Klaenhammer,**

2007). On doit d'emblée souligner la dualité qui existe entre les ferments lactiques naturels et les ferments lactiques sélectionnés (**De Roissart et Luquet, 1994; Wouters et al., 2002**).

### **5.1. Les ferments lactiques naturels :**

Ces ferments lactiques naturels proviennent du lait n'ayant subi aucun traitement thermique et sont de composition complexe et variable selon le terroir d'où ils proviennent.

### **5.2. Les ferments lactiques sélectionnés :**

Les ferments lactiques sélectionnés sont composés d'une souche pure ou d'un ensemble de souches pures. On entend par souche pure, suivant la définition classique, une population formée à partir d'une colonie isolée, développée sur boîte de Pétri sur un milieu de culture gélosé, c'est à dire une culture provenant en principe d'une seule cellule bactérienne. Normalement, les bactéries constituant ces ferments sont des espèces déterminées et leur activité globale caractérise le ferment : l'acidification, la protéolyse, la formation d'arômes. Actuellement, les souches commercialisées ont été isolées du lait ou des produits laitiers et en particulier des levains artisanaux (**Wouters et al., 2002**). Les qualités exigées des ferments lactiques sont multiples. Ces derniers doivent être capables de transformer l'aliment en un nouveau produit possédant des propriétés définies et constantes et permettre une bonne conservation de l'aliment en le protégeant en particulier contre la détérioration par d'autres micro-organismes par le biais de l'acidification et/ou la production d'antibiotiques et de bactériocines (**Wouters et al., 2002 ; Patrignani et al., 2006**).

De nos jours, les bactéries lactiques sont, de plus en plus, recherchées pour d'autres qualités :

- ✓ nutritionnelles et thérapeutiques dans des préparations appelées probiotiques (**Patrignani et al., 2006; Steijns et al., 2008**) ;
- ✓ et de production de bactériocines qui sont des substances actives inhibant la croissance d'autres microorganismes le plus souvent pathogènes (**Dortu et Thonart, 2009; Paul Ross et al., 2002**).

## **5. Rôle et intérêt des bactéries lactiques**

Le champ d'application des bactéries lactiques est large et plusieurs de leurs propriétés sont importantes et influentes sur la qualité finale des produits alimentaires. Il permet d'assurer la qualité sensorielle des produits et de mieux maîtriser le processus de fermentation (**Casaburi et al., 2007; Muthukumarasamy et al., 2006**).

### **5.1. Domaine alimentaire :**

#### **5.1.1. Rôle sur la structure et la texture :**

L'acidification provoque la formation d'un caillé plus ou moins ferme selon les bactéries lactiques présentes dans les laits fermentés. Selon les produits fermentés, la texture recherchées peut être ferme (yaourt ferme) ou onctueuse (yaourt brassé ; kéfir). Pour obtenir une consistance déterminée ; l'utilisation des souches plus ou moins acidifiantes peut être couplée à celle des souches productrices de polysaccharides (**Satura et Federighi., 1998**).

#### **5.1.2. Rôle dans la conservation :**

Les bactéries lactiques ont la faculté de produire de l'acide lactique ayant un rôle important dans l'inhibition des flores non lactiques et pathogènes susceptibles d'affecter la qualité des produits transformés au cours de leurs conservations.

Les bactéries lactiques sont aussi capables de synthétiser des bactériocines de natures peptidiques, thermorésistantes ayant un pouvoir antimicrobiens contre de nombreux bactéries pathogènes et d'altérations.

### **5.1.3. Rôle sur les caractéristiques organoleptiques :**

En dehors de l'acide lactique, les bactéries lactiques peuvent synthétiser d'autres produits tels que le diacétyl et l'acétaldéhyde, responsables des saveurs caractéristiques des produits (**Boudjemaa, 2008**) .

### **5.1.4. Domaine de santé :**

L'intérêt des bactéries lactiques en matière de santé humaine a été initialement proposé au début du siècle, en 1907 par le Russe Metchnikoff. Selon cet auteur les *Lactobacillus sp* peuvent réduire la putréfaction intestinale en modifiant la flore intestinale. Le rôle des bactéries lactiques sur la santé a été inscrit depuis dans le cadre des probiotiques.

Les bienfaits des bactéries lactiques sont de plus en plus étudiés de nos jours et certains sont bien établis ; alors que d'autres restent encore controversés :

- Améliore la digestion de lactose.
- Traite certaines infections ou diarrhées.
- Réduit le cholestérol sérique et dé-conjuge les sels biliaries.
- Utilisé dans l'élaboration des vaccins (**Calvez et al., 2009**).

### **Objectifs de l'étude :**

Les objectifs assignés à travers cette étude s'articulent autour des points suivants :

- étudier la qualité physico-chimiques du lait cru de vache collecté dans la région Ouest d'Algérie ;
- déterminer sa qualité hygiénique ;
- étudier la diversité de la flore lactique présente dans certains échantillons expérimentaux.

### **1. Echantillonnage :**

#### **1.1. Source des échantillons :**

Les prélèvements des échantillons de lait crus, ont été collectés dans une ferme sise dans la région de Fleuris ( GHRISS ) relevant de la Wilaya de Mascara. Dix échantillons de 500 ml, chacun ont été collectés durant le mois juillet 2015 en respectant les règles des bonnes pratiques d'échantillonnage, d'hygiène et de transport.

#### **1.2. Technique de prélèvement :**

La collecte du lait cru a été réalisée selon les règles d'hygiène et d'asepsie recommandées en microbiologie. Le prélèvement pour les analyses a été effectué à partir du robinet des tanks réfrigérés, dans des flacons de 500ml stériles bouchés. Ces derniers sont rapidement transportés au laboratoire dans des glacières réfrigérées, puis conservés à 4°C jusqu'au moment de l'analyse.

### **2. Analyses physico-chimiques :**

Les analyses physicochimiques réalisées en vue de contrôler la qualité des échantillons de lait sont comme suit : pH, acidité Dornic, densité, matière grasse, matière sèche, taux en protéines et concentration en lactose.

- **Analyses au LactoStar :**

Les analyses physicochimiques réalisées par le LactoStar Funke Gerber ont concerné : la concentration en matière grasse, le taux de protéines, la concentration du lactose, le taux en minéraux, le point de congélation, l'extrait sec non gras, et la densité.

### 1. Qualité physico-chimique du lait cru :

Les résultats relatifs aux analyses physico-chimiques du lait cru objet de l'étude, à savoir le pH, l'acidité titrable, la densité, le point de congélation sont illustrés dans le (Tableau 5).

**Tableau 5.** Qualité physico-chimique des échantillons de lait cru

Echantillons	01	02	03
Température (°C)	26	23.8	21
pH	6.64	6.58	6.72
Acidité (°D)	17.2	17	18
Densité	1,030	1.0293	1,0284
Point de congélation (°C)	-0,51	-0.491	-0.482

Globalement, les valeurs du pH enregistrées lors de la présente étude se situent entre 6.58 et 6.72 ; avec une moyenne de 6.64 pour l'ensemble des 3 échantillons. Ses valeurs sont en étroite relation avec les variations du niveau de lactate dans le milieu. Le lait de vache à donc présenté une acidité titrable variable légèrement de 17 à 18°D; avec une moyenne de 17.4. Ces résultats sont proches aux normes admises rapportés par (Mathieu., 1998) s'inscrivant dans la fourchette variable de 16 à 18 °D. Ce lait peut ainsi être orienté soit vers la consommation et/ou à la transformation sans conséquences néfastes sur la santé humaine et au plan technologique.

Concernant la densité, la valeur moyenne des échantillons est estimée à 1.0292 g/l. Cette valeur reste conforme à la norme requise dans le Journal Officiel de la République ; axillant entre 1.028 à 1.033.

De même pour les mesures du point de congélation, les résultats trouvés avec une moyenne de 0.494°C sont légèrement faibles aux normes de (-0,54°C et - 0,55°C) rapportées par le Journal Officiel de la République Algérienne.

### 2. Composition chimique :

Le (Tableau 6) regroupe les résultats relatifs à la composition chimique des 3 échantillons de lait cru prélevés dans la région d'Oran sise à l'Ouest du pays.



**Tableau 6.** Composition chimique des échantillons de lait cru.

<b>Echantillons</b>	<b>01</b>	<b>02</b>	<b>03</b>
<b>Matière grasse (g.l<sup>-1</sup>)</b>	33	31	29.8
<b>Matière sèche non-grasse (g.l<sup>-1</sup>)</b>	89.8	90.2	91.7
<b>Protéine (g.l<sup>-1</sup>)</b>	32.7	33	32.1
<b>Lactose (g.l<sup>-1</sup>)</b>	47.2	47	48.2
<b>Sels minéraux (g.l<sup>-1</sup>)</b>	5.9	6.2	7.2

La teneur moyenne en matière grasse du lait analysé se situe autour de 31.2 g.l<sup>-1</sup>. Elle semble légèrement plus faible que celle fixée à la réception du lait cru à l'usine par la réglementation algérienne dont les normes doivent avoisiner environ 33 à 34 g.l<sup>-1</sup>.

Quant aux teneurs moyennes en protéines, en lactose et en sels minéraux elles s'avèrent répondre aux normes internationales retenues pour le lait cru ; avec des valeurs respectives de 32.6, 47.4, et 6.4 g.l<sup>-1</sup>.

### **3. Qualité microbiologique du lait cru :**

Il est remarqué une variabilité microbiologique du lait cru collecté durant toute la période de l'étude. Les résultats obtenus sont mentionnés dans le (**Tableau 7**).

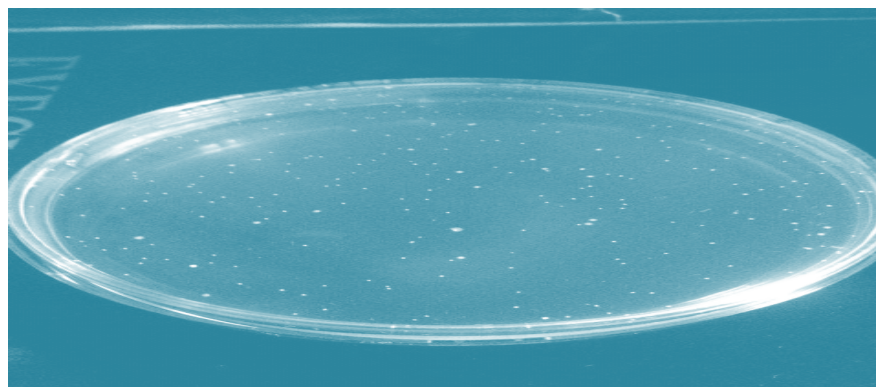
**Tableau 7.** Qualité bactériologique des prélèvements de lait cru.

<b>Echantillons</b>	<b>01</b>	<b>02</b>	<b>03</b>	<b>Normes J.O.R.A N°35</b>
<b>Germes (UFC/ml)</b>				
<b>Germes totaux à 30 °C</b>	97 10 <sup>4</sup>	127 10 <sup>4</sup>	64 10 <sup>4</sup>	<b>10<sup>5</sup></b>
<b>Coliformes totaux</b>	35 10 <sup>4</sup>	21 10 <sup>4</sup>	19 10 <sup>4</sup>	
<b>Coliformes fécaux</b>	13.10 <sup>2</sup>	101 10 <sup>1</sup>	5 10 <sup>2</sup>	<b>10<sup>3</sup>- 10<sup>4</sup></b>
<b><i>Staphylococcus aureus</i></b>	Absence	18	Absence	<b>Absence</b>

#### **3.1. Flore aérobie mésophile totale :**

D'après les résultats d'analyse obtenus durant la période expérimentale, il ressort que la

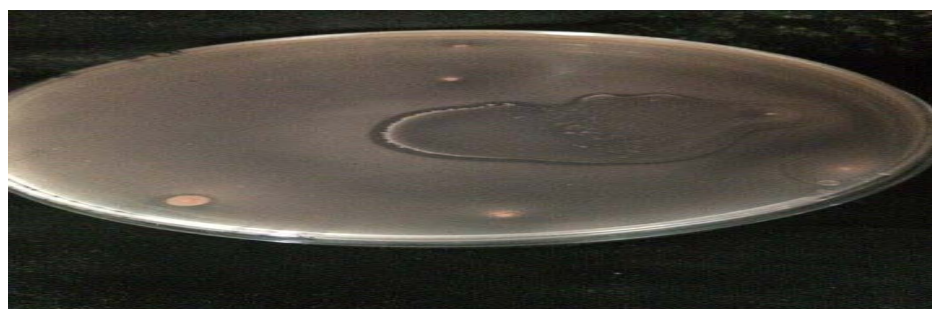
flore totale présente dans le lait analysé dépasse le seuil fixé par la norme algérienne, avec une moyenne de  $96 \cdot 10^4$  contre  $10^5$  UFC/ml. Cela s'explique par un manque d'hygiène au niveau de l'étable de la ferme et par la forte contamination du lait au cours de ces différentes étapes de manipulation (**Figure 9**).



**Figure 9.** Aspect macroscopique des colonies de la flore aérobie mésophile totale.

### 3.2. Coliformes totaux :

Le taux de coliformes présent dans le lait ( $10^5$  germes/ml.) est largement supérieur à la normale. Ces résultats alarmants sont attribués à différents facteurs; comme le manque d'hygiène du personnel et de l'animal d'élevage, l'utilisation d'un matériel non désinfecté lors de la traite ainsi que les mauvaises conditions de transport et de stockage du lait (**Figure 10**).

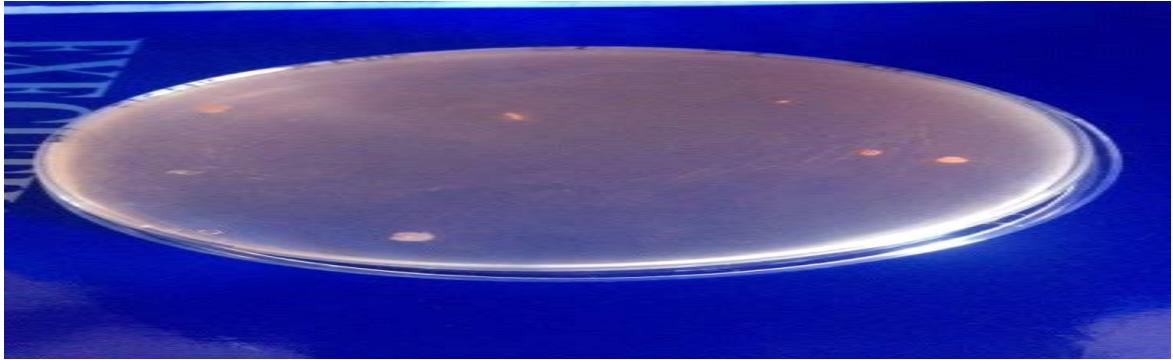


**Figure 10.** Aspect macroscopique des colonies de Coliformes totaux.

### 3.3. Coliformes fécaux :

La présence de coliformes fécaux signe le plus souvent une contamination exogène

d'origine fécale. Le seuil maximal toléré en ces germes dans le lait cru selon la législation algérienne en vigueur est de  $10^4$  UFC/ml. Selon les résultats obtenus, ce seuil n'est pas dépassé pour les échantillons analysés ; avec une moyenne de  $93 \cdot 10^1$  UFC/ml (**Figure 11**).



**Figure 11.** Aspect macroscopique des colonies de Coliformes fécaux.

### 3.4. *Staphylococcus aureus* :

*Staphylococcus aureus* est reconnu comme l'agent causal des mammites cliniques et subcliniques en élevage bovin. Les résultats obtenus relèvent que la totalité des échantillons présente une absence totale de ce germe, exactement comme la norme Algérienne l'exige, excepté l'échantillon 2 où on a enregistré la présence de 18 UFC/ml (**Figure 12**). Ce germe pathogène constitue un risque réel pour la santé publique à l'origine de toxiinfection alimentaire capable de produire dans certaines conditions, des entérotoxines thermostables qui peuvent résister même aux traitements thermiques les plus sévères de pasteurisation (**Ashnafi , 1996**).



**Figure 12.** Aspect macroscopique des colonies de *Staphylococcus aureus*.

4. Isolement et identification des bactéries lactiques :

4.1 Aspect macroscopique et microscopiques :

L'observation macroscopique, nous a permis de décrire l'aspect des colonies obtenues sur milieux solides (MRS et M17) après incubation à 30 et 42°C. Des colonies de forme circulaires ou lenticulaires, de couleur blanche avec une surface lisse et un diamètre qui varie de 0.5 à 1mm ont été observées (Figure 13).

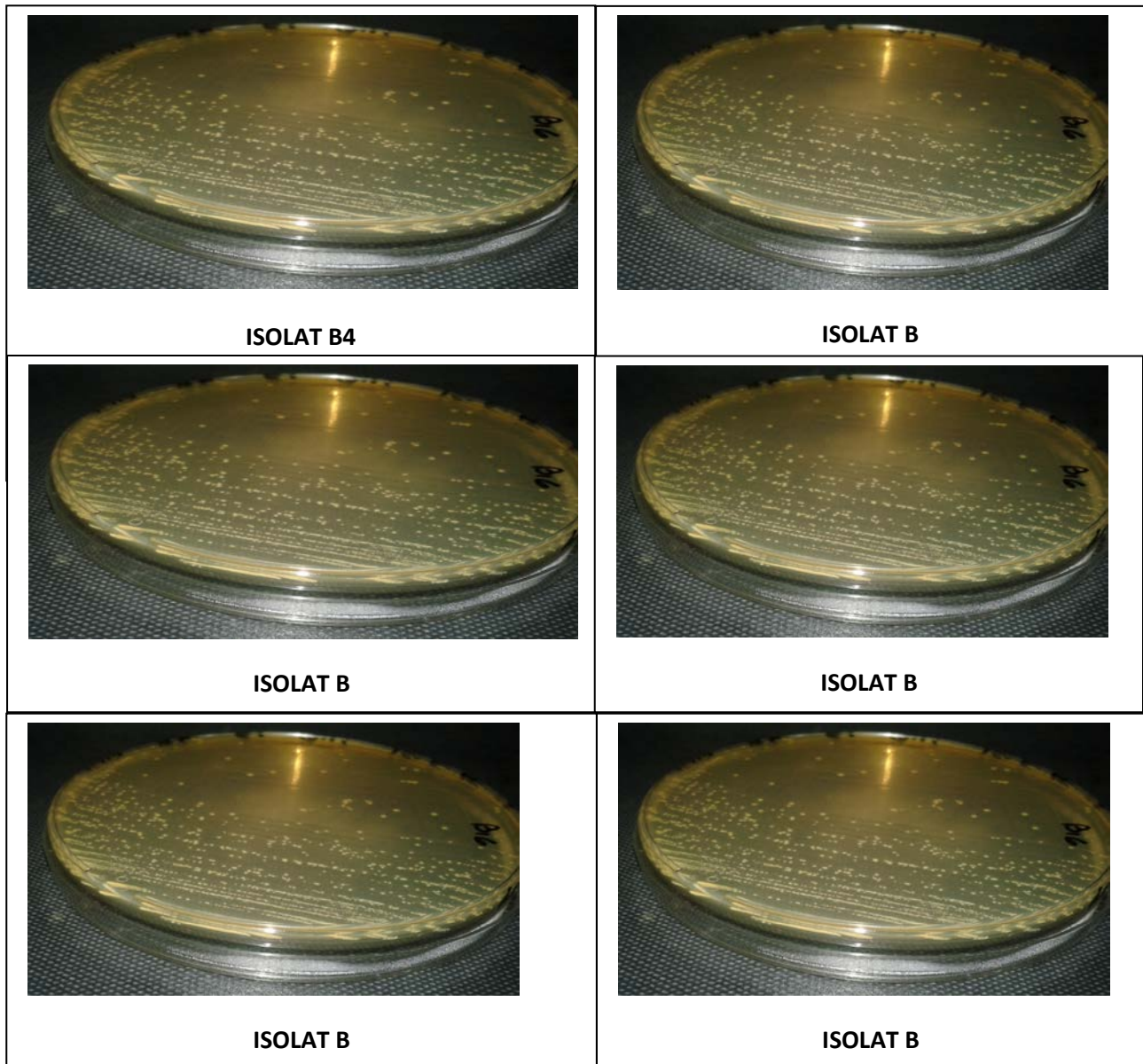
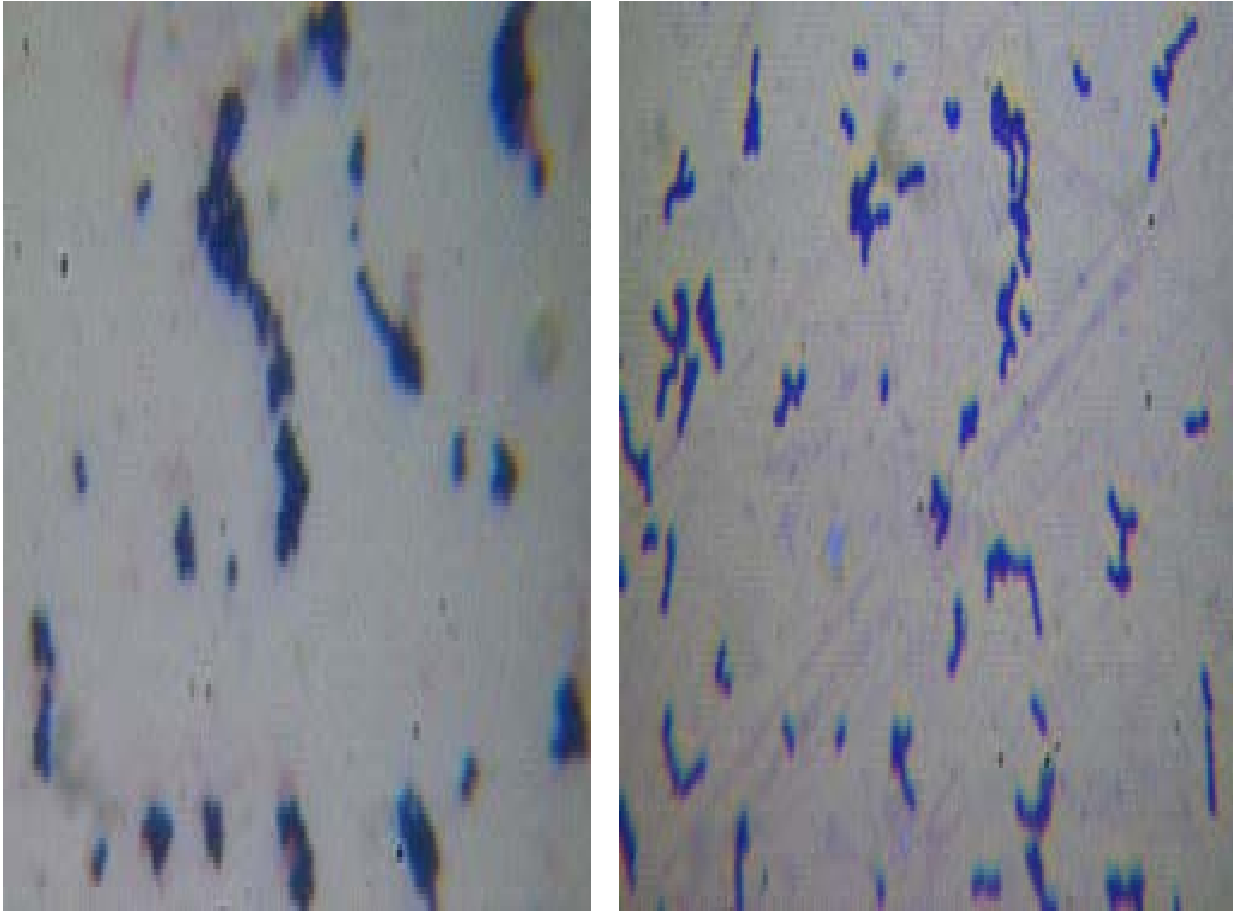


Figure 13. Aspect cultural des isolats de souches lactique.

L'observation microscopique par l'intermédiaire du test à l'état frais et de la coloration de Gram, nous a permis de sélectionner les bactéries immobile, Gram positif, qui présentent une forme bacille ou cocci disposées en paires ou en chainettes (**Figure 14**).



**A** : isolat T.

**B** : isolat B7.

**Figure 14.** Morphologie microscopique des isolats après une coloration de Gram (X 100).

L'étude macroscopique et microscopique, de même le test à la catalase et la recherche de la nitrate réductase, nous ont permis d'obtenir vingt-trois isolats présumés être des bactéries lactiques. Il s'agit de bactéries en forme de coques ou de bacilles, immobiles, à Gram positif et à catalase et nitrate réductase négative.

Le (**Tableau 08**) rapporte l'ensemble des critères morphologiques des vingt-trois souches isolées.

**Tableau 08.** Critères morphologiques des souches isolées du lait cru de vache.

Code des isolats	Milieu d'isolement	Forme	Gram	Catalase	Mobilité
<b>B1</b>	M17	Cocci en chainettes	+	-	-
<b>B2</b>	MRS	Cocci en paires	+	-	-
<b>B3</b>	MRS	Cocci ovoïdes en paires	+	-	-
<b>B4</b>	M17	Cocci en amas	+	-	-
<b>B5</b>	MRS	Cocci en paires	+	-	-
<b>B6</b>	MRS	Cocci en paires	+	-	-
<b>B7</b>	M17	Cocci en chainettes	+	-	-
<b>B8</b>	M17	Cocci en chainettes	+	-	-
<b>B10</b>	M17	Cocci en paires	+	-	-
<b>T1</b>	M17	Cocci en amas	+	-	-
<b>T2</b>	M17	Cocci en chainettes	+	-	-
<b>T3</b>	M17	Cocci en chainettes	+	-	-
<b>T4</b>	MRS	Cocci ovoïdes en paires et/ou en chainettes	+	-	-
<b>T5</b>	MRS	Cocci en paires	+	-	-
<b>T6</b>	M17	Cocci en chaînette	+	-	-
<b>T7</b>	M17	Cocci en paires	+	-	-
<b>T8</b>	MRS	Cocci en paires et/ou en chainettes	+	-	-
<b>T9</b>	M17	Cocci en amas	+	-	-
<b>T11</b>	MRS	Bâtonnets fins et longs, en chainettes	+	-	-
<b>T12</b>	M17	Cocci en amas	+	-	-
<b>M1</b>	M17	Cocci en paires et/ou en chainettes	+	-	-
<b>M2</b>	MRS	Cocci en paires	+	-	-
<b>M3</b>	M17	Cocci en chainettes	+	-	-

### 4.2 Identification des bactéries lactiques

Les caractéristiques physiologiques et biochimiques des isolats sont présentées dans le **(Tableau 09)**.

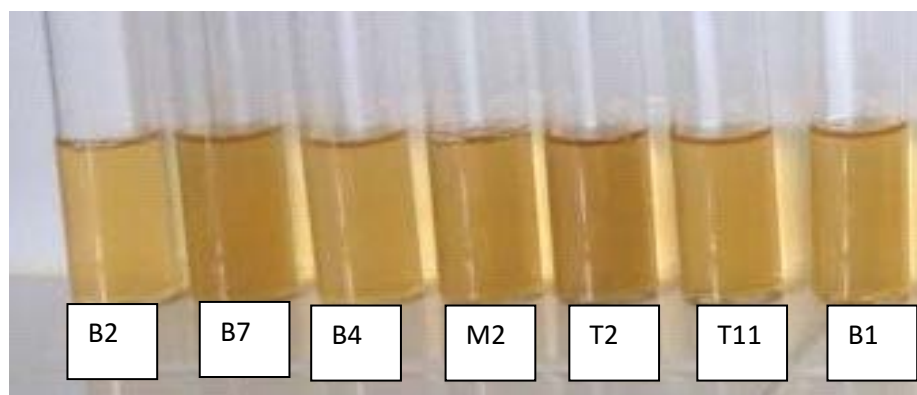
**Tableau 09.** Profil physiologique et biochimique des souches isolées.

Isolats	Test de croissance à				Test de résistance à 63°C/30min	Type fermentaire	Croissance à 6.5% de NaCl	Croissance à pH		Croissance sur lait de Sherman à 1%	Hydrolyse de l'arginine	Production de l'acétoïne	Genres présumés
	5°C	15°C	37°C	45°C				4.6	9.6				
B1	-	+	+	-	-	Homo	-	-	-	+	+	-	<i>Lactococcus</i>
B2	-	+	+	-	-	Hétéro	-	-	+	+	-	V	<i>Leuconostoc</i>
B3	+	+	-	-	-	Hétéro	-	-	+	+	-	-	<i>Leuconostoc</i>
B4	-	+	+	+	+	Homo	+	+	+	+	+	V	<i>Enterococcus</i>
B5	+	+	-	-	-	Hétéro	-	-	+	+	-	-	<i>Leuconostoc</i>
B6	-	+	+	-	-	Hétéro	-	-	+	+	-	V	<i>Leuconostoc</i>
B7	-	-	+	+	+	Homo	-	+	-	-	-	-	<i>Streptococcus</i>
B8	-	+	+	+	+	Homo	-	-	-	-	-	-	<i>Streptococcus</i>
B10	-	+	+	-	-	Homo	-	+	-	+	-	+	<i>Lactococcus</i>
T1	-	+	+	+	+	Homo	+	-	+	+	+	+	<i>Enterococcus</i>
T2	-	+	+	-	-	Homo	-	-	-	+	+	-	<i>Lactococcus</i>
T3	-	+	+	-	-	Homo	-	-	-	+	+	-	<i>Lactococcus</i>
T4	+	+	-	-	-	Hétéro	-	-	+	+	-	+	<i>Leuconostoc</i>
T5	+	+	-	-	-	Hétéro	-	-	+	+	-	-	<i>Leuconostoc</i>
T6	-	-	+	+	+	Homo	-	-	-	-	-	-	<i>Streptococcus</i>
T7	-	+	+	-	-	Homo	-	-	-	+	+	-	<i>Lactococcus</i>
T8	-	+	+	-	-	Hétéro	-	-	+	+	-	V	<i>Leuconostoc</i>
T9	-	+	+	+	+	Homo	+	-	+	+	+	+	<i>Enterococcus</i>
T11	-	-	+	+	-	Homo	-	+	-	+	-	-	<i>Lactobacillus</i>
T12	-	+	+	+	+	Homo	+	-	+	+	+	V	<i>Enterococcus</i>
M1	-	+	+	-	-	Homo	-	-	-	+	+	-	<i>Lactococcus</i>
M2	+	+	-	-	-	Hétéro	-	-	+	+	-	+	<i>Leuconostoc</i>
M3	-	-	+	+	+	Homo	-	+	-	-	-	-	<i>Streptococcus</i>

Homo : homofermentaire ; Hétéro : hétérofermentaire ; + : test positif ; - : test négatif ; V : résultat variable.

### 4.2.1. Test de croissance à différentes température :

Cette étude de la croissance à différentes températures (5, 15, 37 et 45°C) à permis de faire la différence entre la flore thermophile et la flore mésophile (**Figure 15**).



**Figure 15.** Test de croissance des isolats à 15°C.

### 4.2.2. Test de la thermorésistance

Après traitement des isolats à température de 63°C pendant 30min, huit isolats se sont montrés des thermophiles et ont résistés à cette température ; il s'agit des isolats B4, B7, B8, T1, T6, T9, T12 et M3.

### 4.2.3. Recherche du type fermentaire :

Ce test nous a permis de différencier entre les souches homofermentaires et hétérofermentaires en utilisant un milieu glucosé stérile qui contient une cloche de Durham. Parmi les vingt-trois isolats lactiques, huit isolats se sont révélés comme étant des hétérofermentaires et ont produit du gaz ( $\text{CO}_2$ ) à partir de glucose dont les isolats B2, B3, B5, B6, T4, T5, T8 et M2 ; ils peuvent ainsi être considérés comme des *Leuconostocs* (**Figure 16**).

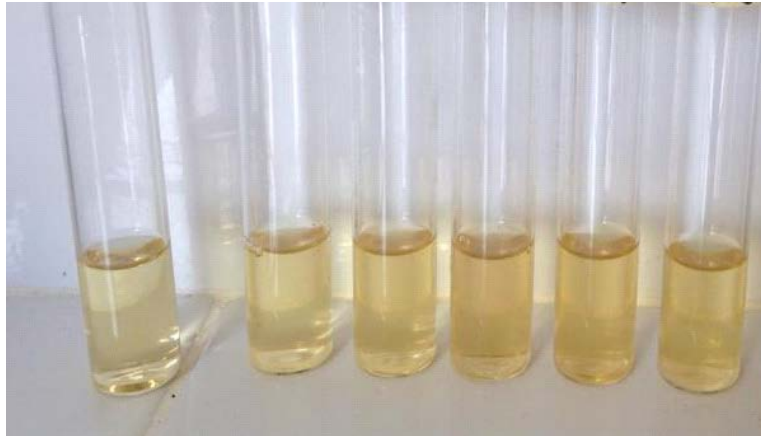


**Figure 16.** Test du type fermentaire relatif au témoin.



### 4.2.4. Test de croissance en milieu hyper-salé (6.5% de NaCl) :

Les résultats ont révélé que la totalité des isolats n'ont pas pu croître à une telle concentration de NaCl, excepté les isolats (B4, T1, T9, T12) qui peuvent ainsi être considérés comme étant des Enterocoques (**Figure 17**)...



**Figure 17.** Test de croissance sur milieu hyper salé à 6.5% de NaCl (T : témoin)

### 4.2.5. Croissance à différents pH (9.6 et 4.6) :

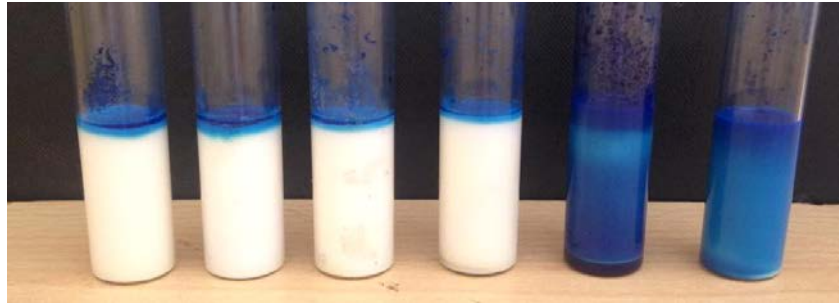
L'habilité des isolats à croître à différents pH (4.6 et 9.6), révèle que sept isolats présentent une croissance à pH 4.6, douze isolats à pH 9.6, et sept isolats n'ont pas pu croître à ces différents pH (**Figure 18**).



**Figure 18.** Test de croissance de certains isolats à pH 4.6.

### 4.2.6. Test de croissance sur le lait de Sherman :

Ce test permet de différencier les Lactocoques des Streptocoques, à cause de l'incapacité de ces derniers à pousser dans ce milieu, cas des isolats B7, B8, T6, M3 (**Figure 19**).



**Figure 19.** Test de croissance sur lait Sherman à 1% (T : témoin).

### 4.2.7. Test à l'arginine dihydrolase (ADH) :

L'activité de l'arginine hydrolase effectuée sur les vingt-trois isolats, montre que parmi ces derniers, neuf isolats possèdent cette enzyme, où la formation d'ammoniaque à partir de l'arginine est révélée par alcalinisation du milieu qui devient violet ; c'est le cas des isolats B1, B4, T1, T2, T3, T7, T9, T12 et M1.

### 4.2.8. Production d'acétoïne :

Après incubation pendant 24h et l'addition des réactifs VPI et VPII, la production d'acétoïne est détectée chez cinq isolats (B10, T1, T4, T9, M2), après la formation d'un anneau rouge à la surface. Alors que treize isolats ont présentés des résultats négatifs et cinq autres isolats des résultats plutôt variables (**Figure 20**).



**Figure 20.** Test de production d'acétoïne.

### 4.2.9. Distribution de la flore lactique isolée :

L'étude des caractères morphologiques, biochimiques et physiologiques des vingt-trois souches isolées à partir de lait cru de vache collectée à l'Ouest du pays nous ont permis de mettre en évidence la diversité en genres de cette flore lactique. Cette distribution semble montrer que les coques sont nettement prédominants dans le lait échantillonné, avec un pourcentage de 95.6%, et sont représentées par les genres *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* ; alors que les bacilles ne représentent que 4.34% de l'effectif total. Des résultats similaires ont été rapportés par g (Bekhouche et Boulahrouf., 2005).

Parmi les isolats sélectionnés pour les tests d'identification ; huit isolats (B2, B3, B5, B6, T4, T5, T8, M2) semblent appartenir au groupe *Leuconostoc*. Ces isolats hétérofermentaires, présentent un développement positif entre 5 et 37°C, à pH 4.6, et sont incapables de résister après leur exposition à 63°C / 30min, n'hydrolysent pas l'arginine et ne produisent pas l'actéoïne.

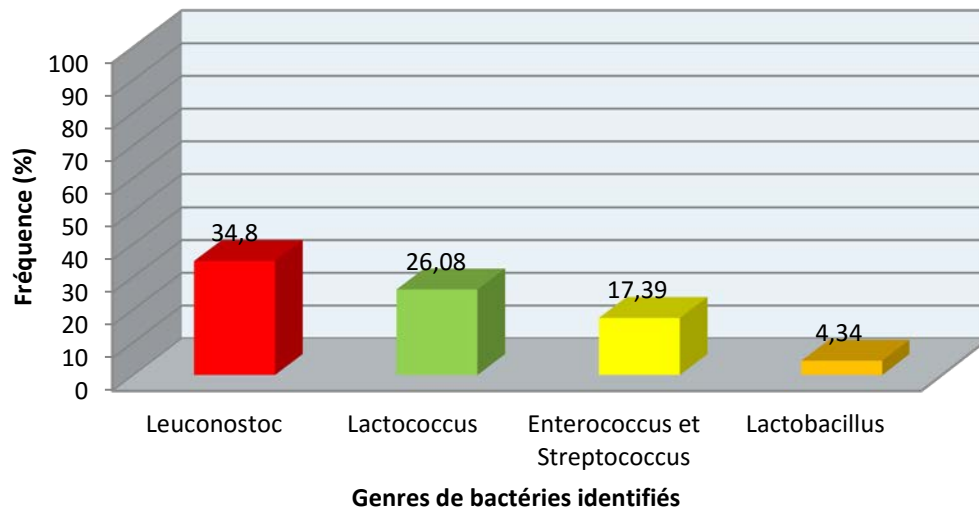
Les six isolats codés B1, B10, T2, T3, T7, M2, semblent avoir le phénotype des *Lactococcus*. Ces derniers, sont capables de croître à 10 et 37°C, non pas à 45°C, ils peuvent croître à un pH de 4.6 mais incapables de croître à un pH de 9.6, ni à une concentration de sel de 6.5%.

Quatre isolats (B4, T1, T9, T12) ont été déterminés comme *Enterococcus*. Ces isolats se sont révélés capables de croître à 10 et 15°C, à 6.5% de NaCl, à pH 9.6 et parfois même à pH 4.6 (isolat B4). Ils peuvent aussi croître à 1% de lait de Sherman, survivre à une température de 60 °C durant 30 minutes et hydrolyser l'arginine.

Le genre *Streptococcus* est rencontré chez les isolats (B7, B8, T6, M3). Ces isolats sont incapables de croître dans le lait de Sherman à 1%, présentent un développement positif entre 37 et 45°C, à pH 4.6 mais pas à pH 9.6 et non plus à 6.5% de NaCl. Ils peuvent éventuellement résister à 63°C/30min, et sont ADH négatif ,ainsi qu' actéoïne négatif.

Caractérisé par sa forme bacillaire, l'isolat T11 a été rattaché au genre *Lactobacillus*. Cet isolat est homofermentaire, capable de se développer entre 37 et 45°C, ainsi que dans du lait de Sherman à 1%, il est ADH négatif et acétoïne négatif.

A la lumière des résultats obtenus, il ressort que le genre *Leuconostoc* est le genre le plus dominant avec un pourcentage de 34.8%, suivi en deuxième ordre du genre *Lactococcus* avec un pourcentage de 26.08%. Les genres *Enterococcus* et *Streptococcus* occupent une proportion de 17.39%, suivi de loin du genre *Lactobacillus* avec un faible pourcentage de 4.34% (**Figure 21**).



**Figure 21.** Fréquence (%) des genres identifiés parmi la flore lactique isolée.

## Conclusion générale

Le lait cru collecté dans la région de GHRISS W. Mascara à l'Ouest du pays est riche en extrait sec total et dégraissé, avec une densité s'inscrivant pleinement dans la norme admise rapportée dans le Journal Algérien de la République. Son acidité inférieure à 18 °D, témoigne qu'il a été prélevé dans de bonnes conditions hygiéniques. Le lait cru contient aussi l'essentiel des principaux composés nutritifs : protéines, lactose et minéraux. Quoiqu'il à présenté des teneurs en matière grasse inférieures légèrement aux seuils fixés à la réception du lait cru au sein des usines laitiers par la réglementation algérienne dont les valeurs normales doivent être supérieures ou égales à 33 g.l<sup>-1</sup>.

Au plan microbiologique, le lait s'avère très contaminer aux germes totaux, coliformes totaux, coliformes fécaux et même au germe pathogène *Staphylococcus aureus* à l'origine de toxi-infection alimentaire. Une forte pasteurisation du lait est donc plus que nécessaire et fortement préconisée avant son orientation à la transformation technologique et en alimentation humaine. Les conditions d'élevages, d'hygiènes, de traite, d'alimentation, de stockage et de transport entreprises à la ferme et depuis la ferme à l'usine doivent être aussi impérativement revues pour une meilleure gestion de ces risques.

La culture sur milieu spécifique MRS et M17, l'étude macroscopique et microscopique, le profil physiologique et biochimique ont permis d'isoler et d'identifier vingt-trois isolats présumés comme étant des bactéries lactiques dont le genre *Leuconostoc* occupant la fraction la plus dominante avec un taux de 34.8% et représenté par les isolats (B2, B3, B5, B6, T4, T5, T et N2), suivi en deuxième position du genre *Lactococcus* (26.08%) dont les isolats identifiés dans cette catégorie sont (B1, B10, T2, T3, T7, N1), les genres *Enterococcus* (B4, T1, T9, T12) et *Streptococcus* (B7, B8, T6, N3) à 17.39% et le genre *Lactobacillus* à 4.34% représenté par un seul isolat à savoir le (T11).

## Références bibliographiques:

**Adrian J, 1987** : valeur alimentaire du lait. La maison rustique, Paris 85 - 95.

**Alais C. (1975)**. Sciences du lait. Principes des techniques laitières. Edition Sepaic, Paris.

**AMIOT J., FOURNER 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, École polytechnique de Montréal, ISBN:3-25-29 (600 pages).

**Ashnafi M., 1996**. Effect of container smoking and incubation temperature on the microbiological and ergo a traditional Ethiopian sour milk. *International Dairy J.*, 6(1):95-104..

**Avril D. et Denis M., 1992**. Biopréservation by lactic acid bacteria. *Antonie Leeuwenhoek. J.* n°70, p. 331-345.

**Bekhouche Fet Boulahrouf A., 2005**. Etudes quantitative et qualitative des bactéries lactiques de lait cru produits par des vaches locales appartenant a six stations d'élevage de Constantine. *Sciences & Technologie C – N°23*, pp. 38-45.

**Berger Y, Billon P, Bocquier F, Caja G, Cannas A, Mckusick B, Marnet PG et Thmas D. 2004**. Principles of sheep dairying in North America. Cooperative Extension Publishing, Madiso, USA.

**Bitman J, Wood D, Miller et al, 1996**. Comparaison of milk and blood lipids in jersey and holstein - cows fed total mixed rations with or without whole cottonseed. *J. Dairy Sci.*

**Boudedja N., 2008**. La production laitière soumise à de nombreux aléas. *Journal El Watan*.  
<http://www.elwatan.com>

**Bouvier C 1993**, Le lait, la nature et les hommes. Explora, Presse Pocket, Paris.

**Brulé G, 1987** : Les minéraux. In Cepil (1987). Le lait matière première de l'industrie laitière. Cepil-INRA, Paris. 87-98.

**Carr F-J., Chill D, and Maïda N., 2002**. The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey. *Critical Reviews in Microbiology*, 28(4), p. 281-370.

**Cayot P, Lorient D, 1998**. Structures et tecno fonctions des protéines du lait. Tec et Doc. Lavoisier, Paris.

**Champagne C, Giroux R, Goulet J, 1984.** Science et technologie du lait, 2eme édition  
fondation de technologie laitière.

**CIPCLait Commission Interprofessionnelle des Pratiques Contractuelles (2011).** Avis  
relatif à la définition et aux méthodes d'analyse de l'acidité du lait n°2011-02.

**Codex Alimentarius. (1999).** Norme générale pour l'utilisation de termes de laiterie CODEX  
STAN 206-1999. pp :1-4.

**De Man J., Rogosa M., Sharpe M-E., 1960.** A medium for the cultivation of Lacobacilli.,  
*Journal of Applied Bacteriology.* 23, p. 130-135.

**Deforges J., Derens E., Rosset R. et Serrand M. (1999).** Maitrise de la chaine du froid des  
produits laitiers réfrigérés. Edition Cemagref Tec et Doc, Paris.

**Desmaures N., Bazin F., and Guéguen M., 1997.** Microbiological composition of raw milk  
from selected farms in the Camembert region of Normandy. *Journal of Applied Microbiology.*  
83, p. 53–58.

**Dieng M. (2001).** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits caillés  
industriels commercialisés sur le marché Dakarais. Thèse Docteur vétérinaire, Université de  
Dakar Sénégal.

**Eigel WN, Buther JE, Ernstrom CA et al, 1984.** Nomenclature of proteins of cow's milk:  
fifth revision.

**Fredot E., (2005)** Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la  
diététique, Tec et Doc, Lavoisier:10-14 (397 pages).

**Gaucher,I.** Caractéristiques de la micelle de caséines et stabilité des laits : de la collecte des  
laits crus au stockage des laits UHT, 2008, thèse INRA / Agrocampus Sci. Tech. Lait et oeuf  
.agrocampus Rennes;

**Got R, 1971:** Les enzymes du lait. *Ann Nutr Alim*,25 :A291-A311.

**Goursaud J, Boudier IF, 1985.** Composition et propriétés physicochimiques, lait et produits  
laitiers. Lavoisier, Paris - Tome 1.

**Gueguen L, 1979 :** Apports minéraux par le lait et les produits laitiers *Cah natur.Diet ; 3 :*  
213 - 217.

- Guiraud J-P., 1998.** Microbiologie Alimentaire. *1e Ed., Dunod.* Paris. p. 136-144.
- Gusils C., Chaia A.P., Olivier G. et Gonzalez S., 2010.** Microtechnique for identification of lactic acid bacteria. Methods in molecular biology, Vol. **268** : Public Health Microbiology: Methods and Protocols. *Humana Press.* Totowa. 453-458.
- 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.
- Jakob E. et Hänni J-P. (2004).** Fromageabilité du lait. Edition, Agroscope Liebefeld Posieux. Groupe de discussions N° 17F.
- Kitchen B.J, Taylor G.C, White I.C 1970** : Milkenzyme. Their distribution and activity. Dairy Rec.
- Kuzdzal S, 1987.** La matière grasse - Le lait matière première de l'industrie laitière. INRA.
- Kuzdzal S, Manson W, Moore J, 1980.** The constituents of cow's milk, International Dairy Federation Bull.
- Lankveld JMG, 1995** : Protein standardized milk products, composition and properties - IDF Brussels 70-85.
- Larparent J.P., 1997.** Microbiologie alimentaire. *Tec & doc, Lavoisier.* Paris. 10-72.
- Larparent J-P. et Larparent G-M., 1990.** Mémoto technique de microbiologie 2<sup>ème</sup> Ed. *Tec et Doc.* Lavoisier. Paris. p. 417.
- Larparent.** Influence de l'alimentation et de la saison sur la composition du lait, In la vache laitière. 231- 246, ed INRA publications, 1990, route de St- cyr, 78000, versailles.
- Lenoir J, 1985** : Les caséines du lait. RLF, 440 : 17-23.
- Leveau J-Y., Bouix M., De Roissart H., 1991.** La flore lactique **In** Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. Bourgeois C.M., Leveau J-Y. *Tec et Doc,* Lavoisier. p. 152-186.
- Mathieu J. (1998).** Initiation à la physicochimie du lait. Guides Technologiques des IAA. Edition Lavoisier Tec et Doc, Paris.
- Mathieu J., 1998.** Initiation à la physicochimie du lait. Guides Technologiques des IAA. Edition Lavoisier. *Tec et Doc,* Paris.
- Mc Mahon DJ, Brown RJ, 1984** : Composition, structure and integrity of casein micelles : a review of dairy Sci 67 : 499.



**Montreuil J, 1971** : La maternisation des laits. Etat actuel de la question. Ann. Nutr Alim, 25, A1-A73.

**Pellerin P.**, 2001. Mise au point Intérêt nutritionnel de lait de chèvre Connaissances actuelles et perspectives. Ann Pharm Fr. 59: 51-62

**Pien J, 1975** : Physicochimie du lait. Tech lait, 841 : 13-149 844 : 21-23.

**Ratray W, Gallman P, Jelen P, 1997.** Nutritional, Sensory and physico-chemical characterization of protein standardized UHT milk, lait.

**Remeuf F., Cossi N., Dervi N. et Tomasson R. (1991).** Relation entre les paramètres physico-chimiques du lait et son aptitude fromagère. Tec et Doc Lavoisier, Paris. 549p.

**Reumont P., (2009)** Licencié Kinésithérapie, <http://www.medisport.be>.

**Rheotest M., (2010).** Rhéomètre RHEOTEST® RN et viscosimètre à capillaire RHEOTEST® LK – Produits alimentaires et aromatisants  
<http://www.rheoest.de/download/nahrungs.fr.pdf>.

**Tarzaghi B-E., Sandine W-E., 1975.** Improved medium for lactic Streptococci and their bacteriophages, *Appl. Environ. Microbiol.* 29, p. 807-813.

**Thieulin G. et Vuillaume R., (1967)** Eléments pratiques d'analyse et d'inspection du lait de produits laitiers et des oeufs-revue générale des questions laitières 48 avenue, Président Wilson, Paris : 71-73(388 pages).

**Thomas T.D., 1973.** Agar medium for differentiation of Streptococcus cremoris from the bacterial.NZJ.Dairy.Sci.technol.8: 70-71.

**Vierling E.(2008).** Aliments et boissons filières et produits. 3ème édition Biosciences et techniques.Paris,pp :15-16.

**VIERLING E., (2003)** Aliment et boisson-Filière et produit, 2ème édition, doin éditeurs, centre régional de la documentation pédagogique d'Aquitaine:11(270 pages).

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

**Walstra P, 1999.** On the stability of cosein micelles. J. dairy Sci.

**Web site 1.** <http://www.produits-laitiers.com/economie-et-societe/filiere/monde/>.

**Web site 2.** <http://www.fao.org/ag/againfo/themes/fr/dairy/camel.html>.

**Whitney R, Brunner J, Ebner K et al, 1976.** Nomenclature of the proteins of cow's milk :  
Fowth revision . J. dairy Sci.

**Yakhlef H., Madani T., Ghozlane F. et Bir B. (2010).** Role du materiel animal et de  
l'environnement dans l'orientation des systemes d'elevages bovins en Algerie ; in : « la filiere  
lait en Algerie ». Communication aux 8emes Journees des Sciences Veterinaires ,18 et 19  
avril. Ecole Nationale Superieure Veterinaire d'Alger.