

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE 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 D'AGRONOMIE

Mémoire de fin d'études

Présenté par :

Melle. GUEBLI Ikram

Melle. BENDACHA Asma

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN AGRONOMIE

Spécialité : Biotechnologie Alimentaire

Intitulé

Fabrication d'un lait fermenté type l'ben au bifidus

Devant le jury composé de :

- | | | | |
|---|-------------|------------------------|---------------------|
| ➤ | PRESIDENT | M.BENMILOUD.Djamel | UNIV. DE MOSTAGANEM |
| ➤ | EXAMINATEUR | M.BENBOUZIANE Bouasria | UNIV. DE MOSTAGANEM |
| ➤ | ENCADREUR | M.KEDDAM. Remdhan | UNIV. DE MOSTAGANEM |

Année universitaire 2019/2020

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Dédicace

Le présent travail est le fruit de plusieurs années de travail et de sacrifices ...

Même si ces cinq années ne se sont pas toujours révélées faciles à vivre, Je suis vraiment heureuse d'avoir réalisé ce travail et d'avoir mené ce projet à terme.

*Je dédie ce travail aux personnes les plus chers à mon cœur ... Ceux qui ont toujours été à mes cotés
A mon père Mr.Lakhdar*

Tu es un pilier solide et incontournable pour ma personne et mon parcours, que Dieu te donne santé et longue vie.

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 Ma chère sœur : Lina

A Mes chers frères : Abd el karim et Aymen

A ma chère copine : Soumia

*A mes chers amis, collègues et frères pour leurs aides et soutiens ;
En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.*

A mon chère Abd elbasset :

Merci énormément pour ton soutien plus que précieux, merci pour ton grand cœur et toutes vos qualités.

Ikram

Dédicace

*Je dédie ce travail à mes chers parents, qu'ils trouvent
ici le témoignage de ma profonde gratitude
pour leur amour. Leur encouragement et leur soutien
tout long de mes études.*

Que DIEU tes bénisse.

A mes frères et ma petite sœur.

A mon toute ma famille

A tous mes amis (es).

A tous ceux dont l'amitié sincère et agréable

A tous mes professeurs

*A toute personne ayant contribué de près ou de loin à
l'élaboration de ce mémoire.*

Asma

Remerciement

Nous remercions tout d'abord le bon Dieu de nous avoir donnée la capacité d'écrire et de réfléchir et la chance et le courage d'accomplir ce devoir envers la science afin de conclure ce modeste travail.

Nos remerciements vont également à notre promoteur M KEDDAM REMDAN qui nous ont toujours accueilli à bras ouverts et à tout moment, de nous avoir assisté le long de la réalisation du travail, qu'il trouve ici nos sincères gratitudes et nos profondes reconnaissances pour tous les efforts qui ont déployé dans ce sujet, ainsi que de leur compréhension et de leur patience.

Nous remercions vivement et très respectueusement les membres de jury, qui nous ont honorés en acceptant d'examiner notre travail.

Enfin, mes remerciements à toute notre promotion Biotechnologie alimentaire 2019 et à tous les enseignants de département d'Agronomie.

Merci 

Résumé

Les produits laitiers ont toujours été perçus auprès des consommateurs comme des produits nutritifs et constituent une partie importante du régime alimentaire. Depuis quelques années, l'incorporation de bactéries probiotiques comme additifs alimentaires a donné lieu à une consommation de plus en plus importante des produits laitiers. L'efficacité de bifidobactéries dépend de leur viabilité qui doit être maintenue au cours du processus technologique, de stockage et de conservation.

L'objet visé pour la réalisation du présent travail était, la fabrication d'un lait fermenté au bifidus, en raison de l'intérêt qu'il peut procurer à la santé du consommateur au raison de la situation exceptionnelle des conditions du stage, on s'est limité à une étude bibliographique dans laquelle s'est limité aux chapitres se rapportant aux généralités sur le lait, la présentation des produits laitiers fermentés principalement le lait fermenté de type L'ben, les caractéristiques des bactéries lactiques genre *bifidobactérium*. Enfin une chapitre qui portera sur les caractéristiques des probiotiques et prébiotiques. Pour la deuxième partie ont s'est proposer de décrire le processus de fabrication d'un lait fermenté au bifidus et la présentation, de trois articles en relation avec la recherche sur l'intérêt et l'effet sur la fermentation d'un lait.

Mots clés: Lait, Fermentation, processus, Probiotique, bifidobactéries, *Lactobifidus*.

Summary

Dairy products have always been viewed by consumers as nutritious products and are an important part of the diet. In recent years, the incorporation of probiotic bacteria as food additives has given rise to an increasing consumption of dairy products. The effectiveness of bifidobacteria depends on their viability which must be maintained during the technological process, storage and preservation.

The object aimed for the realization of the present work was, the manufacture of a fermented milk with bifidus, because of the interest which it can bring to the health of the consumer due to the exceptional situation of the conditions of the training course, one was limited to a bibliographic study in which was limited to the chapters relating to generalities on milk, the presentation of fermented dairy products mainly fermented milk of the L'ben type, the characteristics of lactic acid bacteria genus *bifidobacterium*. Finally a chapter that will focus on the characteristics of probiotics and prebiotics. For the second part we have set out to describe the manufacturing process of bifidus fermented milk and the presentation of three articles related to research on the interest and effect on the fermentation of milk.

Keywords words : Milk, Fermentation, process, Probiotic, bifidobacteria, Lactobifidus.

ملخص

لطالما نظر المستهلكون إلى منتجات الألبان على أنها منتجات مغذية وتشكل جزءًا مهمًا من النظام الغذائي. في السنوات الأخيرة ، أدى دمج بكتيريا البروبيوتيك كمضافات غذائية إلى زيادة استهلاك منتجات الألبان. تعتمد فعالية البيفيدوباكتيريا على قابليتها للبقاء والتي يجب الحفاظ عليها أثناء العملية التكنولوجية والتخزين والحفظ.

الهدف من تحقيق العمل الحالي هو تصنيع حليب مخمر مع البيفيدوس ، لما يمكن أن يجلبه من فائدة على صحة المستهلك بسبب الحالة الاستثنائية لظروف الدورة التدريبية ، اقتصر على دراسة بيليوغرافية اقتصرت فيها على الفصول المتعلقة بالعموميات على الحليب ، وعرض منتجات الألبان المخمرة بشكل رئيسي الحليب المخمر من نوع لابين ، وخصائص بكتيريا حمض اللاكتيك جنس البيفيدوباكتيريوم. وأخيرًا فصل سيركز على خصائص البروبيوتيك والبريبايوتكس. بالنسبة للجزء الثاني ، شرعنا في وصف عملية تصنيع حليب البيفيدوس المخمر وعرض ثلاث مقالات تتعلق بالبحث عن الفائدة والتأثير على تخمير الحليب.

الكلمات المفتاحية: الحليب ، التخمر ، العملية ، البروبيوتيك ، البيفيدوباكتيريا ، اللاكتوبيفيدوس

TABLE DE MATIERES

Dédicace	
Remercîment	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	01
Partie bibliographique	
Chapitre I : Généralité sur le lait	03
1. Définition du lait	03
2. Valeur nutritionnel du lait de vache	03
3. Composition du lait	04
3.1. Eau	04
3.2. Glucides	05
3.3. Matières grasses	05
3.4. Composés azotés	05
3.4.1. Fraction protéique	05
3.4.1.1. Caséines	05
3.4.1.2. Protéines non caséiques	06
3.4.2. Fraction non protéique	06
3.5. Minéraux	06
3.6. Lactose	07
3.7. Vitamines	07
3.8. Enzymes	08
4. Facteurs de variation de la composition du lait	09
4.1. Ecarts liés aux caractéristiques des animaux	09
4.1.1. Niveau génétique des individus	09
4.1.2. Stade de lactation	09
4.1.3. Age	10

4.1.4. Etat sanitaire	09
4.2. Facteurs environnementaux	10
4.3. Facteurs liés à la conduite de troupeau	10
5. Propriétés du lait	10
5.1. Propriétés physicochimiques du lait	10
5.1.1. Masse volumique et densité du lait	10
5.1.2. Point de congélation	11
5.1.3. Point ébullition	11
5.1.4. Acidité du lait	11
5.1.4.1. Acidité titrable	11
5.1.4.2. PH	11
5.2. Propriétés organoleptiques du lait	12
5.2.1. Couleur	12
5.2.2. Odeur	12
5.2.3 Saveur	13
6. Microflore du lait	13
6.1. Microflore original	14
6.2. Microflore d'altération	14
6.3. Microflore pathogène	14
6.4. Microflore psychotrope	14
Chapitre II : Lait fermentés et l'ben	16
I.1. Introduction	16
I.2. Fermentation	16
I.2.1. Différents types de caillé	17
I.2.1.1. Levains lactiques	17
I.2.1.1.1. Définition	17
I.2.1.1.2. Rôle des levains	17
I.2.1.1.1. Définition	17
I.2.1.1.2. Rôle des levains	17
I.2.1.1.3. Principaux levains lactiques	17
I.2.1.1.3.1. Levains naturelle	17
I.2.1.1.3.2. Levains sélectionné	18
I.2.1.2. Coagulation enzymatique	18
I.2.1.2.1. Extrait coagulant	18

I.2.1.2.2. Mécanisme de coagulation	19
I.3. Intérêt nutritionnel des laits fermentés	21
I.4. Effets de la fermentation sur la composition du lait	21
I.5. Effets sur la tolérance au lactose	21
I.6. Effets sur la flore intestinale	22
I.7. Sensibilité aux infections et réponse immunitaire	22
I.8. Type de lait fermenté traditionnels	22
I.8.1.Lait à l'acidophile	23
I.8.2.Laits fermentés alcoolisés	24
I.8.3.Kéfir	24
I.8.3.Koumis	24
I.8.4.Babeurre	24
I.8.5.Fromage	25
I.8.6. Lait filé	25
I.8.7. Klila	25
I.8.8. Takammarit	25
I.8.9. Aoules	25
I.8.10. Lebaa	26
I.8.11. Lghaunane	26
I.8.12. Méchouna	26
I.8.13. Madghissa	26
I.8.14. Bouhezza	26
I.8.15. Djben	27
I.8.16. Zebda	27
I.8.17.Yaourt	27
I.8.18. Rayeb	28
II. Lait fermenté acidifié « l'ben »	28
II.1.Matière première et ingrédients	28
II.2.Composition physico-chimique	29
II.3.Ferments lactiques spécifiques du l'ben	30
II.4.Principaux facteurs influençant le métabolisme des ferments	31
II.4.1. Facteurs Physiques	31
II.4.1.1.Température	31
II.4.1.2.Activité de l'eau	31

II.4.2.Facteurs chimiques	31
II.4.2.1.Qualité du lait	31
II.4.2.2.Traitement thermique	32
II.4.2.3.PH	32
II.4.3. Facteurs microbiologiques	32
II.5. Effets bénéfiques du l'ben	32
II.6. Fabrication traditionnelle du l'ben	33
II.7.Fabrication industrielle du L'ben	34
II.7.1.Processus de fabrication d'un lait fermenté au bifidus	36
II.7.2.Itinéraire d'installation	39
Chapitre III : Bactéries lactiques et Bifidobactéries	40
I. Bactéries lactiques	40
I.1.Définition	40
I.2.Principales caractéristiques	40
I.3. Taxonomie et classification	40
I.4.Bactéries lactiques et produit alimentaires fermentés	41
I.5.Bactéries lactiques dans les produits laitiers	41
II. Bifidobactéries	42
II.1.Définition	42
II.2.Ecologie des bifidobactéries	43
II.3.Taxonomie et les différentes espèces	44
II.4.Caractéristiques morphologiques, physiologiques et biochimiques des bifidobactéries	47
II.4.1.Morphologie	47
II.4.2. Composition de la paroi cellulaire	47
II.4.3. Physiologies des bifidobacteries	48
II.4.3.1.Température	48
II.4.3.2.Oxygène	49
II.4.3.3.Sensibilité au pH	49
II.4.3.4.Sensibilité aux antibiotiques	49
II.4.4.Besoins nutritionnels des bifidobacteries	50
II.4.5. Biochimie des bifidobacteries	50
II.4.5.1. Métabolisme	50
II.4.5.2. Métabolisme des vitamines	52
II.4.5.3 Production des substances antimicrobiennes	52

II.4.5.4. Bifidobactéries en tant qu'agents aromatisants	52
II.5. Utilisation des bifidobactéries dans les produits laitiers	53
II.5.1. Viabilité des bifidobactéries dans les produits laitiers	55
II.5.2. Propriétés thérapeutiques de Bifidobactérie	55
II.6. Génétique des bifidobactéries	56
II.6.1. Pourcentage en base cytosine guanine de l'ADN	56
II.6.2. Plasmides des bifidobactéries	56
II.6.3. Etude de la séquence d'ADN	57
Chapitre IV : Probiotiques et prébiotiques	58
I. Définition des probiotiques	58
II. Découverte et historique du développement des probiotiques	58
III. Définition des prébiotiques	59
IV. Définition des symbiotiques	59
V. Propriétés fonctionnelles des Probiotiques	60
V.1. Survie des probiotiques dans le tube digestif chez l'Homme	60
V.2. Mécanismes d'action des probiotiques	60
VI. Principales souches microbiennes à potentiel probiotique	60
VII. Probiotiques et leurs effets bénéfiques sur la santé	61
VII.1. Probiotiques en pathologie digestive	61
VII.2. Probiotiques et immunité	62
VII.3. Probiotiques et maladies métaboliques	62
VIII. Effets probiotiques des bifidobactéries	63
Partie 02 : Travaux de recherche sur les intérêts et les effets des Bifidobactéries sur la fermentation du lait	
Article 01 : Fermentation du lait par Lactobacillus bifidus	65
I. Résumé	65
II. Introduction	65
III. Matériels et méthodes	66
III.1. Organismes	66
III.2. Moyen	66
III.3. Détermination d'acide	66
III.4. Teste de catalase	67
III.5. Sous-culture	67
III.6. Fermentation du Sucre	67

III.7. Isolation de Lactobacillus bifidus	68
IV. Résultats et discussion	66
Article 02 : Utilisation de Bifidobacterium bifidum dans la fabrication du lait de bifidus et de son activité antibactérienne	
I. Résumé	76
II. Introduction	76
III. Matériels et méthodes	77
III.1. Source et entretien des cultures	77
III.2. Préparation du lait de bifidus	77
III.3. Analyse	78
IV. Résultats et discussion	79
IV.1. Caractéristiques du produit	79
IV.2. Effet de certains facteurs sur les antibactériennes activités du lait de Bifidus	80
IV.2.1. Effet du type de lait	80
IV.2.2. Effet de traitement thermique	81
IV.2.3. Effet des niveaux d'inoculum et l'addition de sucre	81
IV.2.4. Effet de température d'incubation	82
IV.2.5. Effet de stockage à température de réfrigération	82
V. Conclusion	83
Article 03: Études comparatives sur la fabrication d'Acidophilus, Bifidus et Laits Acido-bifidus	
I. Résumé	84
II. Introduction	84
III. Matériels et méthodes	85
IV. Analyse microbienne	85
V. Analyse chimique	86
VI. Évaluation sensorielle	86
VII. Analyses statistiques	86
VIII. Résultats et discussion	86
IX. Conclusion	92
Conclusion général	94
Références bibliographiques	
Annexes	

LISTE DES FIGURES

Figure 01: Formation d'un caillé présure par action de la présure sur les caséines du lait	20
Figure 02: Schéma des méthodes de fabrication des principaux Produits laitiers algériens	23
Figure 03: Composition globale du lait de vache avec le détail de sa composition minérale	28
Figure 04: Schéma de la fabrication industrielle du L'ben	35
Figure 05: Schéma d'installation d'un lait fermenté	38
Figure 06: Schéma simplifié décrivant les compartiments de l'appareil digestif de l'homme et leurs microflores	44
Figure 07: Observation microscopique des cellules de <i>Bifidobacterium</i> sp	48
Figure 08: la voie du fructose 6-phosphate ou bifidus shunt	51
Figure 09: Les principaux effets bénéfiques attribués aux probiotiques	63
Figure 10 : Des cultures de quarante-huit de bactéries bifides montrent une viabilité morphologiques des colonies	69
Figure 11 : Des cultures de quarante-huit de bactéries bifides montrent une viabilité morphologiques des colonies	69
Figure 12 : Souche AXI6 dans sa morphologie ramifiée	73
Figure 13 : Souche AVII8 dans sa morphologie ramifiée	73
Figure 14 : Souche AVI7 dans sa morphologie ramifiée	73
Figure 15 : Souche AII3 dans sa morphologie ramifiée	73
Figure 16 : Souche AI6 dans sa morphologie ramifiée	74
Figure 17 : Diagramme schématique de fabrication de lait fermenté au bifidus	78
Figure 18 : Effet de la conservation au réfrigérateur sur l'activité antibactérienne du lait fermenté au bifidus	82
Figure 19 : Évaluation de l'acidité dans le lait A, B et AB pendant la période de fermentation	87
Figure 20 : Évaluation du pH dans le lait A, B et AB pendant la période de fermentation	88

Figure 21 : Dénombrements viables des bactéries probiotiques dans les laits A, B et AB pendant la période de fermentation	88
Figure 22 : Comparaison des dénombrements viables de <i>B. lactis</i> dans le lait B et AB pendant la période de fermentation	90
Figure 23 : Comparaison des dénombrements viables de <i>L. acidophilus</i> dans le lait A et AB pendant la période de fermentation	90
Figure 24 : Perception du goût amer dans les laits A, B et AB comparée au lait D (UHT) comme témoin	92

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01: Composition minérale du lait de vache	06
Tableau 02: Composition vitaminique moyenne du lait cru	08
Tableau 03: Composition du lait chez divers mammifères	09
Tableau 04: Paramètres physico-chimiques du lait	12
Tableau 05: Sources des odeurs absorbées	13
Tableau 06: Origine des odeurs développées d'origine microbiologique	13
Tableau 07: Origine et odeurs développées d'origine chimique	13
Tableau 08: Flore microbienne du lait	15
Tableau 09: Valeurs moyennes des paramètres physicochimiques du L'ben	29
Tableau 10: Valeurs moyennes des composants aromatiques du L'ben	30
Tableau 11: Les normes utilisées dans la fabrication du L'ben	36
Tableau 12: Principales bactéries lactiques associées aux produits laitiers fermentés et Leurs rôles	42
Tableau 13 : La liste des espèces de bifidobacterium et leurs origines	46
Tableau 14: Quelques produits laitiers commercialisés contiennent de Bifidobacterium, Spp dans différent pays	54
Tableau 15 : Espèces utilisées comme probiotiques	61
Tableau 16 : Schéma d'isolement pour la sélection de souches de bactéries souhaitables dans les intestins des nourrissons allaités	70
Tableau 17 : Acide lactique produit par des souches ramifiées et non ramifiées de bactéries bifides dans un milieu de Gyorgy modifié	71
Tableau 18 : Variation de la quantité d'acide lactique produite avec le changement de morphologie chez Lactobacillus bifidus	72

Tableau 19 : Effet de différents types de lait sur l'activité antibactérienne du lait fermenté au bifidus +	80
Tableau 20 : Effet du traitement thermique du lait sur l'activité antibactérienne du lait fermenté au bifidus+	81
Tableau 21: Effet de la température d'incubation sur l'activité antibactérienne du lait fermenté du bifidus	82
Tableau 22 : Acidité, pH et numérations probiotiques titrables du lait Acidophilus pendant la période de fermentation	87
Tableau 23 : Acidité, pH et numérations probiotiques titrables du lait Bifidus pendant la période de fermentation	88
Tableau 24 : Acidité, pH et numérations probiotiques titrables du lait Acidobifidus pendant la période de fermentation	91
Tableau 25: Extrait des scores des questionnaires désignés du groupe d'évaluateurs de 20 personnes pour les évaluations des laits A, B et AB	91
Tableau 26 : Caractéristiques microbiennes et chimiques finales des laits A, B et AB	92

Liste des photos

Photo 01 : Outre en peau de chèvre pour la fermentation et le barattage du L'ben	33
Photo 02 : Jarre en terre cuite pour la fermentation du L'ben, et instrument en bois utilisé pour le barattage du produit dans la jarre	34

Liste des abréviations

AFNOR : Association Française de la Normalisation

FAO: Food and Agriculture Organization

ONU : l'Organisation des Nations Unies

OMS : l'Organisation Mondiale pour la Santé

MG : matière grasse

C° : Degré Celsius

D° : Degré dornic

AT : Acidité Titrable.

PH : Le potentiel hydrogène

L : Litre

g : gramme

g/l : gramme par litre

Kg. M³ : Kilogramme par mètre cube

H : heure

Min : Minute

cfu/ml : Unité Formant Colonie par millilitre

Cfu/g : Unité formant colonies par gramme

aw : Activité water

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ARN : Acide Ribonucléique

G+C : Guanine+ Cytosine

A+T. Adénine + Thymine

Strp: *Streptococcus theromphilus*

Lb : *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus*

B.cereus : *lactobacillus cereus*

St : *Streptococcus*

Subsp : sous espèce

Lc : *Lactococcus*

S.aureus : *Staphylococcus aureus*

HCl : chlorhydrate

B. : *Bifidobactérium*

Sp : *Streptococcus*

Introduction Générale

Introduction générale

L'Algérie a une tradition des produits laitiers bien établie, transmise de génération en génération, qui a un aspect important de la culture algérienne. Le lait abondant durant certain moment de l'année, il est difficile de le conserver et facilement périssable, il a été toujours traité pour augmenter la durabilité et la valeur nutritive et en même temps permettre la commercialisation, les femmes algérienne comme toutes les cultures pastorale, ont toujours été les principales protagonistes auteurs de la transformation de lait. Cette transformation se fait par l'intermédiaire des bactéries lactiques (**Claps et Morone, 2011**).

Les bifidobactéries sont des habitants naturels de la flore intestinale humaine (**Rasic et Kurmann, 1983**). Ces microorganismes sont des bactéries probiotiques, exerçant différents effets bénéfiques sur la santé de l'hôte. En effet, parmi ces effets, on note le contrôle de la flore intestinale et l'inhibition de la croissance de nombreux pathogènes et bactéries purifiantes (**Shah, 1999; Gopal et al, 2001**), la régulation du transit intestinal, l'amélioration de l'intolérance au lactose (**DeVrese et al, 2001**) et des allergies alimentaires (**Isolauri et al, 2000**), certaines propriétés anti-cancérogènes (**Yoon et al, 2000**) et anti-diarrhéiques (**Shah, 2006**), ainsi qu'une stimulation du système immunitaire (**Heyman et Heuvelin, 2006**).

D'après la FAO et l'OMS les probiotiques sont des microorganismes vivants (bactéries ou levures) qui, lorsqu'ils sont consommés en quantité adéquate, produisent un effet bénéfique pour la santé de l'hôte. Ils peuvent être présents ou introduits dans certains aliments (compléments alimentaires) ou encore dans certains médicaments. Les probiotiques les plus connus sont les bactéries lactiques (*Lactobacillus*, *Streptococcus* et *Lactococcus*) et les bifidobactéries, largement utilisés dans les yaourts et autres produits laitiers fermentés tel que l'ben. (**Guidelines P, 2008**).

Les produits laitiers fermentés sont connus pour être de bons vecteurs de probiotiques notamment en raison de leur large consommation. Il a ainsi été suggéré que la prise quotidienne de probiotiques doit être comprise entre 10^8 et 10^9 (UFC) pour avoir des effets garantissant aux consommateurs une satisfaction totale en termes de bénéfices santé (**Ebel, 2012**).

Introduction générale

- 2 - En Algérie, le lait cru est transformé par des méthodes traditionnelles en lait fermenté (L'ben), et autres produits laitiers. Ces produits retiennent leurs qualités désirables même après une longue conservation à température ambiante.

L'objectif principal visé, en traitant ce thème tente de maîtriser le processus de fabrication du lait fermenté de type L'ben au bifidus à partir du lait cru.

Pour répondre à cet objectif, le manuscrit sera structuré en deux principales parties, la première est une revue bibliographique faisant état des connaissances et précédant la présentation des travaux réalisés. Elle concerne dans son premier chapitre des généralités sur le lait. Le second est consacré à la présentation des produits laitiers fermentés principalement le lait fermenté de type L'ben, qui fait partie du patrimoine culturel gastronomique de l'Algérie et qui représente également un secteur important de l'industrie agroalimentaire du pays. Les schémas de la fabrication traditionnelle et industrielle ainsi que les caractéristiques physicochimiques et microbiologiques de ce produit sont aussi présentés. Un troisième qui concernera les caractéristiques des bactéries lactiques genre bifidobactérium, leur habitat, nutrition, propriétés technologiques et applications industrielles ainsi que leur utilisation comme ferments lactiques. Enfin une quatrième chapitre qui portera sur les caractéristiques des probiotiques et prébiotiques, leur découverte, mécanismes, propriétés technologiques ainsi que leur effet bénéfique pour la santé humaines. La seconde partie présente, des résumés des articles reliés à notre étude.

Le manuscrit s'achève par une conclusion générale et des perspectives.

Etude bibliographique

Chapitre I : **Généralité sur le lait**



Chapitre I

1. Définition du lait

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 interrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Le lait doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir du colostrum » (**Noblet, 2012**).

D'après le codex alimentaire (**CODEX STAN 206-1999**), le lait est 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 un liquide ou un traitement ultérieur. Le lait est un aliment très nutritif qui peut être obtenu à partir d'une variété de sources animales telles que les vaches, les chèvres, les brebis et les buffles, ainsi que les humains destiné à la consommation humaine (**Quigley et al, 2013**).

En terme de microbiologie, le lait est un véritable support pour la croissance microbienne, la flore microbienne du lait est divisée en deux types : des microorganismes existant initialement dans le lait tandis que les autres sont des contaminants de ce produit et peuvent être pathogène (**Afif et al, 2008 ; Vacheyrou et al, Quigley et al, 2013**).

Du point de vue physicochimique, le lait représente une émulsion de matières grasses dispersées dans l'eau, comprenant en suspension des protéines et à l'état dissous des glucides, des minéraux et des autres constituants en quantité minimes telles que les vitamines (**Mathieu, 1998; Perreau, 2014**).

Le lait cru est un lait qui n'a subi aucun traitement de conservation sauf la réfrigération à la ferme. La date limite de vente correspond au lendemain du jour de la traite.

Le lait cru doit être porté à l'ébullition avant consommation (car il contient des germes pathogènes). Il doit être conservé au réfrigérateur et consommé dans les 24h (**Fredot, 2006**).

2. Valeur nutritionnel du lait de vache

Selon **Andrian et al 1973**, le lait est la production la plus proche du concept de « l'aliment complet » : il renferme la quasi-totalité des nutriments.

La teneur énergétique du lait de vache oscille habituellement entre 650 et 720 Kcal /L (**Renner et al, 1989**).

3. Composition du lait

Le lait est liquide opaque, de saveur légèrement sucrée, sans odeur accentuée. Son pH moyen varie entre 6,6 et 6,8. Sa densité se situe entre 1,026 et 1,034. De ce fait, l'expression de taux (de matières azotées et de matières grasses), toujours légèrement plus faible en poids par rapport au volume (**Perreau, 2014**).

Selon **Franworth et Mainville (2010)** évoquent que le lait est reconnu depuis longtemps comme étant un aliment bon pour la santé. Source de calcium et de protéines, il peut être ajouté à notre régime sous plusieurs formes, Il est seuls aliments naturels complets qui existent, chacun d'eux étant adapté à la race qu'il permet de développer (**Mittaine, 1980**).

D'après **Pougheon et Goursaud (2001)** Les principaux constituants du lait par ordre croissant selon sont :

*L'eau, très majoritaire

*Les glucides principalement représentés par le lactose,

*Les lipides, essentiellement des triglycérides rassemblés en globules gras,

*Les sels minéraux à l'état ionique et moléculaire,

* Les protéines, caséines rassemblées en micelles, albumines et globulines solubles,

*Les éléments à l'état de trace mais au rôle biologique important, enzymes, vitamines et oligoéléments

3.1. Eau

Elle forme une solution vraie avec les glucides, les minéraux, une solution colloïdale avec les protéines hydrophiles, une suspension 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**).

3.2. Glucides

Le lactose est le glucide le plus important du lait, d'autres glucides peuvent provenir de l'hydrolyse du lactose (glucose, galactose). Certains glucides peuvent se combiner aux protéines, formant des glycoprotéines ou peuvent se trouver sous forme libre (**Amiot et al, 2002**).

3.3. Matières grasses

Les MG se trouvent dans le lait sous forme de globules sphérique : « les globules gras » (Perreau., 2014), visible au microscope optique en émulsion dans la phase aqueuse du lait (Pointurier et Adda, 1969). Le taux de MG est diffère d'une race a une autre, d'une espèce a une autre et selon l'alimentation.

Leurs densité est de 0,94 et rend l'émulsion instable. Ainsi, ils ont tendance à remonter en surface pour former la crème lorsque le lait est en repos.

Leur importance dans le lait est chiffrée par TB, c'est-à-dire le taux butyreux correspondant au rapport entre la quantité de MG produite rapportée à la quantité de lait (Perreau., 2014).

3.4. Composés azotés

Elles représentent environ 27% de la matière sèche du lait, soit un teneur de 32 à 36 g/l. on distingue, à l'intérieur de cette catégorie, la fraction protéique de la fraction non protéique.

3.4.1. Fraction protéique

Elle représente environ 95% des matières azotées. Son importance dans le lait est chiffrée par le TP (ce taux protéique correspondant au rapport entre la quantité de matières protéiques produites rapportés à la quantité de lait).

Dans cette quantité, constituants a partie intéressantes des matières azotées, on trouve différentes type de protéines types de protéines à haute valeur nutritionnelle (bonne digestibilité, teneurs intéressantes en acides aminés indispensables).

Les plus importants quantitativement sont les caséines, elles présentent un intérêt notable (Perreau., 2014).

3.4.1.1. Caséines

Les caséines représentent 82% des protéines du lait de vache (Vilain, 2010) à une teneur de l'ordre de 26 à 30g/l.

Les caséines se présentent dans le lait sous forme d'un complexe organique et minéral (Eigel et al, 2014). Ce sont ces protéines qui coagulent sous effet des ferments lactiques-naturellement présent dans le lait-sous l'action de la présure ajoutée lors de la transformation fromagère (Perreau, 2014).

3.4.1.2. Protéines non caséiques

Ces protéines sont dites « sériques », car elles proviennent du sérum sanguin, à la différence des caséines, qui sont fabriquées par les cellules mammaires ne coagulant pas lors de la transformation fromagère, elles sont « évacuées » dans le lactosérum lors de l'égouttage suivant la phase de caillage (**Perreau, 2014**).

Par rapport aux caséines ; elles constituent un groupe plus hétérogène par la composition chimique, car constituées de : lactoglobulines, lactalbumines, sérumalbumine, immunoglobulines et lactoferrine bovine (**Vilain, 2010**).

3.4.2. Fraction non protéique

Elles représentent 1 à 1,5 g/l de lait, environ 5% des matières azotées totales du lait, sont principaux composant : l'urée, les acides aminés libres, l'ammoniac, des enzymes secrétées par les cellules sanguines et mammaires ou par les bactéries. (**Perreau, 2014**).

3.5. Minéraux

La matière minérale du lait, répartie de manière complexe, est fondamentale d'un point de vue nutritionnel et technologique (**Gueguen, 1979**).

La teneur globale du lait en ces éléments est de 1%.

Le lait est bien pourvu en calcium, phosphore « ce qui traduit sa bonne adaptation aux besoins de croissance des jeunes », potassium, chlore, sodium, magnésium. En revanche, le lait a une très faible teneur en fer (**Perreau, 2014**).

Tableau 01: Composition minérale du lait de vache (**JEANNET et al, 2007**)

Eléments minéraux	Concentration (mg.kg ⁻²)
Calcium	1043 – 1283
Magnésium	97 – 146
Phosphate inorganique	1805 – 2185
Citrate	1323 – 2079
Sodium	391 – 644
Potassium	1212 – 1681
Chlorure	772 – 1207

3.6. Lactose

C'est un sucre disaccharide présent en solution dans le lait, c'est généralement le principal élément solide du lait. Son pouvoir sucrant est six fois plus faible que celui du saccharose. Il peut provoquer certaines intolérances [1].

Les composants secondaires du lait sont constitués par les sels, les enzymes, les vitamines et les oligo-éléments. Sa richesse en calcium et en phosphore font du lait un aliment très adapté à la croissance des jeunes enfants.

Le phosphore y est fixé sous forme de phosphates. Le calcium s'associe au phosphate et à la caséine pour donner le complexe phosphocaséinate de calcium et forme un colloïde. On y trouve également du magnésium, du potassium et du sodium mais il est, du moins pour le lait de vache, pauvre en oligoéléments. [1].

3.7. Vitamines

Le lait a d'assez fortes teneurs en vitamines (**Perreau, 2014**) qui sont des molécules complexes mais de taille beaucoup plus faible que les protéines.

On classe les vitamines en deux grandes catégories :

*les vitamines hydrosolubles (vitamines du groupes B et vitamines C très faible teneur).

*les vitamines liposolubles (A, D, E, K) associées à la matière grasse (**Pougheon ; Goursaud, 2014**).

Tableau 02:Composition vitaminique moyenne du lait cru (GHAOUES, 2011)

Vitamine	Teneur moyenne
Vitamine liposoluble	
Vitamine A (+carotènes)	40 µg/100 ml
Vitamine D	2,4 µg /100 ml
Vitamine E	100 µg/100 ml
Vitamine K	5 µg/100 ml
Vitamine hydrosolubles	
Vitamine C (acide ascorbique)	2 mg/100 ml
Vitamine B1 (thiamine)	45 µg/100 ml
Vitamine B2 (riboflavine)	175 µg/100 ml
Vitamine B6 (pyridoxine)	50 µg/100 ml
Vitamine B12 (cyanobalamine)	0,45 µg/100 ml
Niacine et niacinamide	90 µg/100 ml
Acide pantothénique	350 µg /100 ml
Acide folique	5,5 µg/100 ml
Vitamine H (biotine)	3,5 µg/100 ml

3.8. Enzymes

Le lait contient principalement trois groupes d'enzymes : les hydrolases, déshydrogénase (oxydase) et oxygénases les deux principaux facteurs qui influent sur l'activité enzymatique sont PH et la température.

En effet, chaque enzyme possède un pH et une température optimums de traduisant par une activité maximale (Perreau., 2014).

Tableau 03: Composition du lait chez divers mammifères (Sillon, 2008)

Composition moyenne du lait (g/l)								
	Eau	Extrait sec	Matière grasse	Protéines			Glucide : lactose	Matières minérales
				totale	caséine	albumine		
Equidés								
Jument	925	100	10-15	20-22	10-12	7-10	60-65	3-5
Anesse	925	100	10-15	20-22	10-12	9-10	60-65	4-5
Ruminante								
Vache	900	130	35-40	30-35	27-30	3-4	45-50	8-10
Chèvre	900	140	40-45	35-40	30-35	6-8	40-45	8-10

4. Facteurs de variation de la composition du lait

Les caractéristiques et les compositions de chacune des phases constituant le lait sont très variables car elles dépendent de nombreux facteurs inhérents au mammifère (espèces et race). A son état physiologique (stade de lactation, gestation), à son état sanitaire et à la conduite du troupeau (Croguennec *et al*, 2008).

4.1. Ecartés liés aux caractéristiques des animaux

4.1.1. Niveau génétique des individus

De nombreuses études ont été réalisées pour évaluer l'effet des caractéristiques génétiques des vaches sur la quantité et la qualité de la production laitière.

Il est établi que les vaches de race nomade, montbéliarde ou brune produisent moins de lait mais riche en protéines que celui de vaches Holstein qui en produisent une grande quantité mais de moins riche bonne qualité dans les mêmes conditions.

L'essentiel de cet effet est lié d'une part aux différences de teneurs en caséines des laits d'une race à l'autre part aux variations du polymorphisme génétique des lactoprotéines et en particulier à la fréquence du variant B de la caséine (Coulon *et al*, 2005).

4.1.2. Stade de lactation

L'influence de ce facteur sur la composition du lait a souvent été décrite. Les teneurs en protéines et matières grasses évoluent de façon inverse à la quantité de lait produite.

Elles diminuent en début de lactation (durant les premières semaines qui suivent le vêlage) pour atteindre un minimum au bout d'environ 6 semaines, puis remontent progressivement jusqu'en fins de lactation. (**Mathieu, 1998**) (**Croguennec, 2008**).

4.1.3. Age

Le niveau de production augmente avec l'âge jusqu'à la quatrième lactation ; cette progression est surtout notable pour le début de lactation. En revanche, la persistance devient moins bonne quand les vaches vieillissent (**Perreau, 2014**).

4.1.4. Etat sanitaire

L'infection mammaire perturbe le fonctionnement de la glande et modifie la composition du lait. (**Croguennec et al, 2008**).

4.2. Facteurs environnementaux

L'influence de la saison est étroitement associée aux effets de l'alimentation qui évoluent simultanément. Les taux protéique et butyreux les plus bas du lait de vache s'enregistrent entre juin et juillet et les taux les plus élevés en février et octobre (**Croguennec et al, 2008**).

Cette influence est étroitement liée aux variations de la longueur des journées et des températures.

5. Propriétés du lait

5.1. Propriétés physicochimiques du lait

Les principales propriétés physicochimiques utilisées dans l'industrie laitière sont la masse volumique et la densité, le point de congélation, le point d'ébullition et l'acidité (**Vignola., 2002**).

5.1.1. Masse volumique et densité du lait

La masse volumique du lait est le rapport de sa masse sur son volume.

La masse volumique du lait à 20°C est environ 1030kg. M³. Elle varie en fonction de la composition du lait, notamment de sa teneur en matière grasse qui a un effet prépondérant en raison de sa variabilité suivant la race et l'alimentation (**Croguennec et al, 2008**).

5.1.2. Point de congélation

Le point de congélation du lait est légèrement inférieur à celui de l'eau puisque la présence de solides solubilisés abaisse le point de congélation.

Il peut varier de $-0,53^{\circ}\text{C}$ à $-0,57^{\circ}\text{C}$ avec une moyenne de $-0,55^{\circ}\text{C}$. (Vignola, 2002)

5.1.3. Point ébullition

On définit le point d'ébullition comme la température atteinte lorsque la pression de la vapeur de la substance ou de la solution est égale à la pression appliquée.

Ainsi, comme le point de congélation, le point d'ébullition subit l'influence de la présence des solides solubilisés. Il est légèrement supérieur au point d'ébullition de l'eau soit $100,5^{\circ}\text{C}$.

Cette propriété physique diminuant avec la pression, on applique ce principe dans de concentration du lait (Vignola, 2002).

5.1.4. Acidité du lait

5.1.4.1. Acidité titrable

Elle mesure la quantité d'acide lactique présent dans un échantillon de lait. On exprime en pourcentage d'acide lactique. Cette acidité peut varier de 0,10 à 0,30%.

Les laits ont normalement une acidité de 0,13 à 0,17 % a la traite.

L'acidité naturelle du lait est attribuable à la présence des caséines, des substances naturelles, de traces acides organiques et de réaction secondaire dues aux phosphates. L'acidité développée du lait est causée par l'acide lactique et d'autres acides provenant de la dégradation microbienne du lactose dans les laits altérés (Amiot et al, 2002).

5.1.4.2. PH

Le pH d'un lait frais à 20°C se situe entre 6,6 et 6,8. Plutôt proche de 6,6 immédiatement après la traite (Croguennec et al, 2008).

Contrairement à l'acidité titrable, le pH ne mesure pas la concentration des composés acides mais plutôt la concentration des ions H^+ en solution.

Les valeurs de pH représente l'état de fraîcheur du lait, plus particulièrement en ce qui concerne sa stabilité, du fait que c'est le pH qui influence la solubilité des protéines c'est-à-dire l'atteinte du point isoélectrique (Vignola, 2002)

Tableau 04: Paramètres physico-chimique du lait (**MARTIN, 2002**)

Paramètre	Valeur
Densités du lait a 20°C	1.028 à 1.034
Point de congélation (°C)	-0.530 à -0.555
PH à 20°C	6.6 à 6.8
Acidité titrable (°D)	14 à 17
Activité de l'eau à 20°C	0.99 100.5
Point d'ébullition (°C)	100.5

5.2. Propriétés organoleptiques du lait

5.2.1. Couleur

Le lait un fluide aqueux opaque, blanc, légèrement bleuté peut dénoter l'écémage du lait ou sou mouillage. Un lait rosé laisse présager la présence de sang provenant de vaches présentant des mammites. (**Pougheon, Goursaud, Amiot et al, 2002**).

5.2.2. Odeur

L'odeur du lait est un indice important de sa qualité. La présence d'une mauvaise odeur dans le lait reflète un problème dans la manipulation et la conservation du lait.

On classe les odeurs selon qu'elles sont absorbées ou développées. Les odeurs absorbées peuvent provenir de l'alimentation ou d'autre sources, tandis que les odeurs développées peuvent être d'origine microbiologique ou chimique. (**Amiot et al, 2002**).

Tableau 05: Sources des odeurs absorbés (Amiot *et al*, 2002)

Type	Caractéristiques	Provenances
Alimentation	<ul style="list-style-type: none"> Odeur transmise au lait par le système sanguin de la vache 	<ul style="list-style-type: none"> alimentation au gout fort (chou...) changement dans l'alimentation mauvaises herbes
Etable	<ul style="list-style-type: none"> odeur caractéristiques d'une étable mal ventilée 	<ul style="list-style-type: none"> vache et équipements mal propre mauvaise préparation pour la traite
Vache	<ul style="list-style-type: none"> Légère odeur sucrée 	<ul style="list-style-type: none"> vache en chaleur Maladie physiologique

Tableau 06: Odeurs d'origine microbiologique (Amiot *et al*, 2002).

Type	Caractéristiques	Provenances
Acide	<ul style="list-style-type: none"> odeur de yaourt la dégradation du lactose par des bactéries lactiques. 	<ul style="list-style-type: none"> bactérie en grand nombre dans le lait mauvais refroidissement température de conservation très élevée.
Maltée	<ul style="list-style-type: none"> odeur de céréale dans le lait présence des Streptococcus Lactis 	<ul style="list-style-type: none"> équipements mal lavés refroidissement inadéquat
Fruitée	<ul style="list-style-type: none"> Odeur des différents fruits, odeur légèrement sucrée. 	<ul style="list-style-type: none"> méthode de traite inadéquate, trayons mal nettoyés.

Tableau 07: Odeurs d'origine chimique (Amiot *et al*, 2002).

Type	Caractéristiques	Provenances
Rance	<ul style="list-style-type: none"> odeur du fromage parmesan odeur du vieux beurre. dégradation de la matière grasse par la lipase 	<ul style="list-style-type: none"> incorporation d'air dans le lait, fuites d'airs, moussage, agitation excessive, vache en fin de lactation.
oxydée	<ul style="list-style-type: none"> odeur de papier, de carton odeur de métal odeur de suif 	<ul style="list-style-type: none"> incorporation de l'air dans le lait, fuites d'airs, moussage exposition à la lumière.

5.2.3 Saveur

La saveur normale d'un bon lait est douce, agréable et légèrement sucrée, ce qui est principalement dû à la présence de matière grasse. La saveur du lait se compose de son goût et de son odeur (**Amiot et al, 2002**)

6. 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) (**Larpent, 1997**). Dans des conditions de propreté et d'hygiène normale, le lait cru renferme de nombreux germes constituant la flore originale. Cette microflore est représentée essentiellement par des lactobacilles et des streptocoques lactiques commensaux provenant du pis et des canaux galactophores (**Hermier et al, 1992**). 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 :

6.1. Microflore originale

Ensemble de micro-organismes dans le lait à la sortie du pis, ces micro-organismes dépendent de l'alimentation de la race et d'autres facteurs. Les genres dominants en sont principalement des micro-organismes mésophiles (*Micrococcus* sp, *Lactobacillus*, *Streptococcus* ou *Lactococcus* et les bactéries Gram négatif) (**Lamontagne et al, 2002**).

6.2. Microflore d'altération

Responsable de diverse dégradation du produit au niveau du goût de l'arôme ; de l'apparence Ou de la texture.

Par exemple, texture visqueuse à la surface du fromage, production de Mauvaise odeur (souffrée, ammoniacale, fruitée et atypique) dues à certaines activités Métaboliques telles que la protéolyse ou la lipolyse ion et Gazéification du lait. (**Lamontagne et al, 2002**).

6.3. Microflore pathogène

Sa présence dans le lait est due à l'animal, à l'environnement ou de l'homme les bactéries pathogènes (*E. coli*, *Staphylococcus aureus* et *Salmonella*) sont responsables des affections liées à la santé de manipulateur et des consommateurs. On en retrouve deux genres: Les bactéries infectieuses et les bactéries toxigènes (**Lamontagne et al, 2002**).

6.4. Microflore psychotrope

Le lait peut être contaminé aussi par des bactéries capables de se développer au-dessous de 15-20°C ce qu'on appelle bactéries psychrophiles ces bactéries sont divisées en deux classes:

•**Psychrophiles facultatifs:** La plupart sont des bactéries à gram négatif tel que les *Achromobacter*, *Flavobacterium*, et des moisissures comme *Cladosporium* (Guiraud, 2003).

•**Psychrophiles obligatoires:** (des psychrophiles au sens strict) Ce sont des microorganismes qui ne se développent pas à 20°C (Guiraud, 2003).

Tableau 08: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
<i>Lactobacilles</i> streptocoques lactiques	<i>Pseudomonas</i> , <i>Flavobacterium</i> Enterbacteries, Microcoques Corynébactéries, <i>Bacillus</i> Streptocoques faecalis <i>Clostridium</i>	<i>Clostridium</i> Coliformes fécaux <i>Salmonella</i> <i>Yersinia</i> <i>Campylobacter</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Brucella</i> <i>Listeria</i>



Chapitre II :
Laits fermentés et L'ben

I.1. Introduction

On rassemble sous ce terme (laits fermentés) différents produits obtenus par fermentation du lait par des bactéries lactiques et éventuellement d'autres micro-organismes, notamment des levures. Ils se différencient des fromages frais obtenus par coagulation lactique par l'absence d'égouttage du gel.

La fermentation modifie les composants du lait et les caractères organoleptiques de celui-ci. Certaines de ces transformations sont communes aux divers laits fermentés; c'est le cas de l'acidification et de la gélification.

Les laits fermentés sont préparés depuis une époque très lointaine en Asie centrale, dans les pays méditerranéens et dans la plupart des régions d'élevage où ils constituent un mode de protection et de conservation du lait grâce à l'abaissement du pH en même temps qu'ils sont un aliment apprécié pour sa saveur. Longtemps restés traditionnels, certains de ces produits connaissent depuis quelques années un développement considérable grâce, d'une part, à l'intérêt que trouvent les consommateurs sur le plan organoleptique, nutritionnel, voire thérapeutique et, d'autre part, à la mise en œuvre de procédés de fabrication industriels et aux progrès de la distribution. (**Mahaut et al, 2000**).

Ils sont obtenus par la multiplication de bactéries lactiques dans une préparation de lait. L'acide lactique produit à partir du lactose contenu dans le lait permet la coagulation du lait et confère une saveur acide aux produits. Les caractéristiques propres des différents laits fermentés sont dues à la variation particulière de certains facteurs, tels que la composition du lait, la température d'incubation ou les ferments utilisés (**Luquet et Corrieu, 2005**).

I.2. Fermentation

La fermentation est une réaction biochimique qui se produit dans des milieux dépourvus d'oxygène et qui transforme une substance organique sous l'effet d'enzymes, aussi appelées ferments. Ce terme désigne l'ensemble des transformations qui s'effectuent sous l'influence de microorganismes. Ces derniers contiennent des enzymes comme sortes de clés biologiques permettant à divers réactions chimiques de s'effectuer. La fermentation est due à l'action des levures et des bactéries sur des composés fermentescibles (**Audrey, 2012**).

I.2.1. Différents types de caillés

La coagulation du lait correspond à une déstabilisation de l'état micellaire originel des caséines du lait. Cette déstabilisation peut être réalisée de deux manières :

- soit par voie fermentaire à l'aide de bactéries lactiques contenues dans la flore indigène du lait et/ou apportées sous forme de ferments,
- soit par voie enzymatique à l'aide d'enzymes coagulantes, en particulier la présure. Les mécanismes d'action impliqués lors de la coagulation par voie fermentaire ou enzymatique sont très différents au niveau de la micelle de caséine. Bien qu'ils conduisent tous deux à la formation d'un caillé, les propriétés rhéologiques de ce dernier restent caractéristiques du mode de coagulation.

I.2.1.1. Levains lactiques

I.2.1.1.1. Définition

Un levain est une culture de souche permettant à stimuler une fermentation dans un milieu (Idoui, 1994).

Il est permettre une bonne conservation de l'aliment en le défendant en particulier contre la détérioration par d'autres micro-organismes.

I.2.1.1.2. Rôle des levains

- Transformation du lactose en acide lactique avec un abaissement du pH et une augmentation de l'acidité dornic.
- Conférer au produit final des propriétés définies et constantes à savoir un goût acidulé résultant de la production de composés aromatiques et des polysaccharides responsables de la viscosité.
- Permettre une bonne conservation de l'aliment par la production de bactériocines.

I.2.1.1.3. Principaux levains lactiques

I.2.1.1.3.1. Levains naturels

Ce sont des ferments constitués par des mélanges dont la composition exacte est indéterminée, il est distingué des thermophiles et des mésophiles. (Luquet, 1994)

I.2.1.1.3.2. Levains sélectionné

Ce sont des levains mixtes constitués d'un mélange de souches pures" dotées de bonnes propriétés acidifiantes, aromatisants et épaississantes. (**Luquet, 1994**).

I.2.1.2.Coagulation enzymatique

La coagulation enzymatique du lait est souvent le processus majoritaire de coagulation des fromages à pâte pressée cuite comme le Comté ou le Beaufort. En effet pour ces fromages on ajoute plus d'extraits coagulants que pour les fromages à pâtes molles.

La coagulation enzymatique du lait est souvent le processus majoritaire de coagulation des fromages à pâte pressée cuite comme le Comté ou le Beaufort. En effet pour ces fromages on ajoute plus d'extraits coagulants que pour les fromages à pâtes molles

I.2.1.2.1.Extrait coagulant

La dénomination « présure » est donnée à l'extrait coagulant provenant de caillettes de jeunes ruminants abattus avant sevrage. De nos jours on l'utilise toujours en technologie fromagère, principalement sous forme liquide ou en poudre.

La présure est constituée en majorité de chymosine, de pepsine et de trypsine en moindre quantité (**Berridge, 1952**) sécrétées dans le quatrième estomac des ruminants non sevrés. Ces enzymes font partie de la famille des protéinases aspartiques car elles possèdent deux résidus Asp caractéristiques dans leur site actif. Chez l'animal ces protéinases sont sécrétées sous la forme de précurseurs, la prochymosine et le pepsinogène, dans le mucus stomacal avec pour but de digérer le lait maternel (**Andren, 1992**). Les précurseurs sont appelées zymogènes et possèdent une région N-terminale qui va se loger dans leur site actif, les zymogènes sont ainsi auto-inactivés. Après leur sécrétion, les précurseurs sont activés suite à la perte d'une partie de leur région N terminale. Cette réaction d'activation est effectuée par les conditions acides rencontrées dans l'estomac suite à différents changements conformationnels ainsi que des clivages inter et intra moléculaires (**Richter et al, 1998**).

La chymosine possède une double activité : une activité spécifique élevée sur le site 105-106 du CMP qui hydrolyse une liaison Phe-Met et qui permet la coagulation du lait et une activité mineure de protéolyse générale sur les différentes fractions caséiniques. La pepsine, quant à elle, est impliquée dans l'hydrolyse d'acides aminés aromatiques comme

Phe, Trp et Tyr, et participe également à la protéolyse nécessaire durant la maturation des fromages (**Ekaterini, 2011**).

La présure joue un rôle important sur les caractéristiques sensorielles des fromages produits. En effet, mis à part la chymosine et la trypsine, la présence de lipases provoque le relargage d'acides gras libres durant la maturation des fromages (**Larráyo et al, 1999**).

De nombreux fromages tiennent donc leurs caractéristiques uniques du type de présure bien spécifique utilisée lors de leur fabrication. Il existe également des lipases commerciales qui peuvent être ajoutées afin de mieux contrôler les caractéristiques finales des fromages.

L'activité protéolytique de la présure est fortement influencée par les facteurs de milieu. L'activité coagulante sur le lait est réalisée à un pH voisin de 5,5 et la température optimale se situe à 40 à 42°C. En fromagerie classique, les températures du lait au moment de l'emprésurage se situent dans la fourchette 20 à 40°C, et le plus souvent entre 30 et 35°C (**Berridge, 1952**), la présure a donc presque une activité optimale.

I.2.1.2.2. Mécanisme de coagulation

Le mécanisme de la coagulation enzymatique est décrit en trois phases (**Guthy et Novak, 1977; Green et Morant, 1981**).

La phase primaire est la phase enzymatique. Le mécanisme d'action des enzymes coagulantes lors de la coagulation du lait est également bien connu (**Walstra, 1990**). Le caséinomacropéptide, qui constitue un fragment hydrophile et chargé de la caséine κ , est hydrolysé par l'action enzymatique de la présure et est éliminé dans le lactosérum. Le fragment de caséine restant est appelé *para* caséine κ et possède des propriétés hydrophobes. Dans les premières minutes suivant l'apport de l'enzyme coagulante dans le lait, une diminution de la viscosité du lait apparaît; elle s'explique par la diminution de la dimension moyenne des micelles suite à leur hydrolyse.

La phase secondaire est le début du rapprochement des micelles. Cette phase démarre lorsque environ 85 à 90% des caséines κ sont hydrolysées. Le *para* caséine κ va alors s'agréger aux caséines hydrophobes α_{S1} et α_{S2} . Les caséines κ formant le manteau hydrophile délimitant les micelles voient alors leur hydrophobicité augmenter. Les micelles de caséine perdent alors leur affinité pour la phase aqueuse et vont se rapprocher et s'agréger entre elles

sous l'effet des interactions hydrophobes, faisant ainsi cailler le lait. Cette phase correspond à la floculation proprement dite.

La phase tertiaire est ce que l'on appelle la phase de réticulation du gel. Celui-ci devient de plus en plus organisé et structuré. Au niveau microscopique, on observe un accroissement des liaisons entre les micelles modifiées, principalement des interactions hydrophobes et électrostatiques, ainsi que la formation des ponts phosphocalciques. Elle correspond au niveau macroscopique au durcissement du gel. La coagulation enzymatique est un phénomène complexe permis par des forces d'interactions égales à la somme des répulsions électrostatiques et des interactions hydrophobes (**Horne, 1998**).

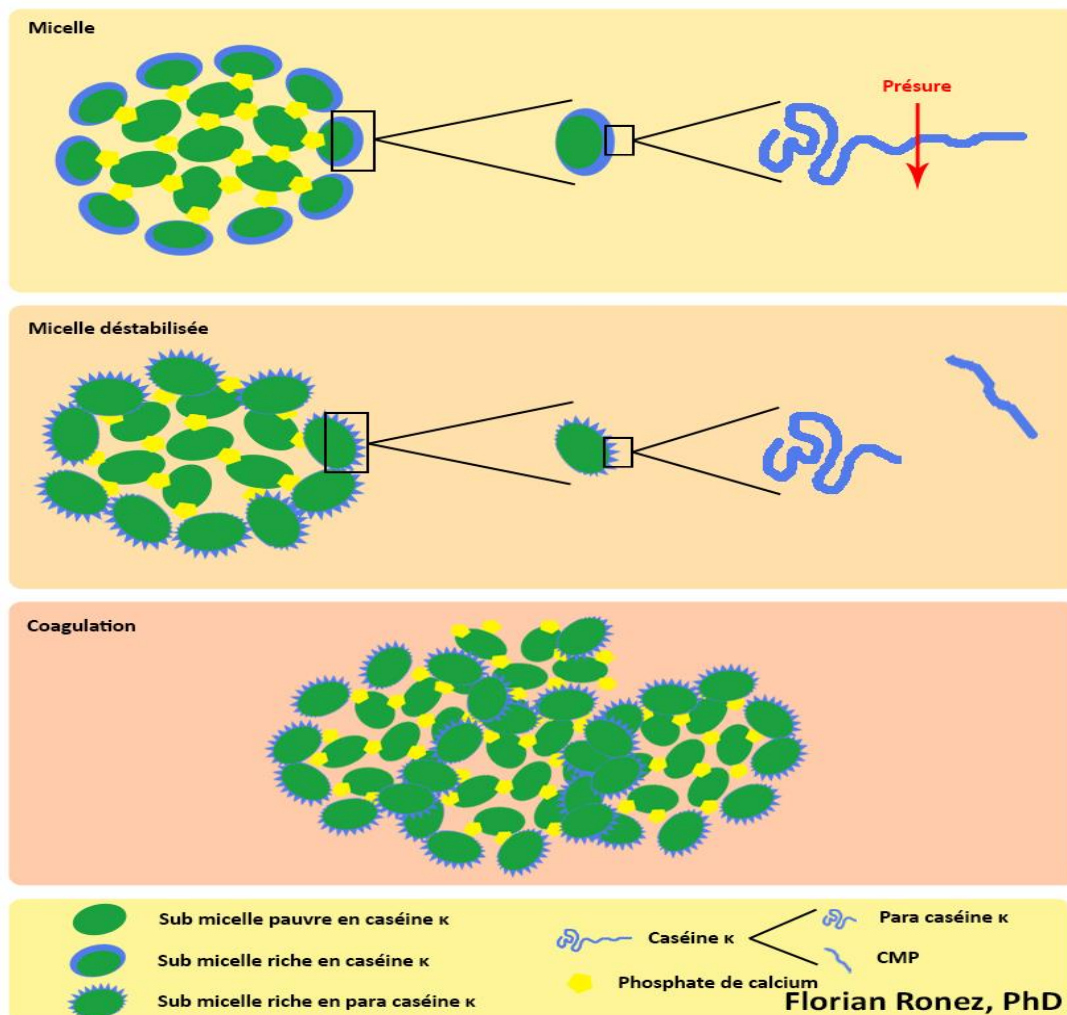


Figure 01: Formation d'un caillé présure par action de la présure sur les caséines du lait
(**Florian Ronez, 2012**)

I.3. Intérêt nutritionnel des laits fermentés

La fermentation du lait conduisant à la formation d'acides organiques, notamment d'acide lactique, entraîne une acidification du lait. Ces laits fermentés peuvent résulter d'ensemencements spontanés à température ambiante, ou d'ensemencements par une flore et à une température contrôlée. Ce contrôle porte sur le choix des espèces et des souches en fonction de leur intérêt technologique (texture du produit) ou organoleptique. En particulier, l'acidification constitue du point de vue hygiénique un atout majeur. En effet, elle prévient la croissance de la plupart des germes pathogènes et assure, par des moyens qui peuvent être très simples, la conservation du lait.

I.4. Effets de la fermentation sur la composition du lait

L'effet majeur de la fermentation lactique sera l'hydrolyse des glucides du lait. Le lactose, quantitativement le principal composant solide du lait, est présent dans le lait fermenté hydrolysé à raison de 30% environ pour donner, pour chaque molécule, une molécule de galactose et deux molécules d'acide lactique.

La production d'acide lactique au cours de la fermentation conduit à un abaissement du pH qui aura pour effet de cailler le lait. Les autres sources énergétiques, les lipides et les protéines du lait, sont peu modifiés par la fermentation.

La teneur vitaminique du lait de départ est modifiée par la fermentation; certaines vitamines sont consommées par les bactéries, d'autres sont produites. Les travaux publiés à ce jour sont souvent contradictoires.

Des travaux récents et précis peu nombreux tendent à montrer d'importantes différences dans la digestion des protéines selon la technologie subie par le lait. Ainsi, selon **Scanff et al, (1990)**, avec le lait, il se forme rapidement un caillot de caséine dans l'estomac, celle-ci étant évacuée lentement sous forme de peptides. Il a été aussi montré que le temps de transit du lait fermenté dans l'intestin est plus long que celui du lait. (**FAO, 2002**).

I.5. Effets sur la tolérance au lactose

Parmi les causes d'intolérance au lait, la mieux connue est certainement celle liée au lactose. Par défaut de lactase (ou β -galactosidase) dans la bordure en brosse de la muqueuse intestinale, le lactose n'est plus hydrolysé; il n'est donc plus absorbé dans l'intestin grêle et va

atteindre le colon, où il sera fermenté par la flore intestinale en donnant naissance à des gaz et tout particulièrement à de l'hydrogène.

Le plus souvent, chez l'enfant, l'intolérance au lactose est due à un déficit en lactase intestinale secondaire à une entéropathie. Chez l'adolescent et l'adulte, la malabsorption du lactose est le plus souvent primaire. Une réponse à l'intolérance au lactose pourrait consister en l'utilisation de laits dé lactosés (FAO, 2002).

I.6. Effets sur la flore intestinale

Un certain nombre de travaux chez l'animal montrent que l'ingestion de laits fermentés est susceptible de modifier la flore intestinale de l'hôte, en particulier de diminuer la quantité de germes indésirables. On dispose, par contre, de très peu d'informations sur son effet chez l'homme.

Parmi les activités métaboliques de la flore, on s'est particulièrement intéressé à des activités enzymatiques qui sont associées, chez l'animal de laboratoire et chez l'homme, à la formation de substances cancérogènes. L'ingestion de différents laits fermentés fait baisser l'activité de ces enzymes chez l'animal. Toutefois, il faut noter qu'il n'a pas été démontré chez l'homme de relation entre l'activité de ces enzymes et la survenue de cancers du colon (FAO, 2002).

I.7. Sensibilité aux infections et réponse immunitaire

L'ingestion de laits fermentés semble entraîner des modifications des défenses immunitaires à plusieurs niveaux. (De Simone et al, 1988)

D'autres recherches concernent une possible stimulation de la production de cytokines, protéines importantes dans la régulation du système immunitaire ainsi que pour leur action antibactérienne et antivirale, parmi lesquelles figurent les interférons. (Solis et Lemonnier, 1991 et 1992).

I.8. Type de lait fermenté traditionnels

Il existe un grand nombre de laits fermentés qui diffèrent par leur matière première, leur flore microbienne, leur technologie, leur texture, leur goût et leur durée de conservation. Certains sont voisins, mais présentés sous des noms divers.

Depuis l'époque, des fabricants cherchant de nouveaux débouchés ont repris, avec l'aide de scientifiques, l'idée émise par Metchnikoff au début du XX^{ème} siècle que la consommation des laits fermentés peut avoir un effet favorable sur la santé et constituer une

«bactériothérapie lactique». C'est ainsi que sont apparus des produits contenant des bactéries intestinales comme des bifidobactéries en association avec des bactéries lactiques.

On trouvera ci-après un bref résumé des technologies des principaux laits fermentés, fabriqués depuis une époque très ancienne ou récente.

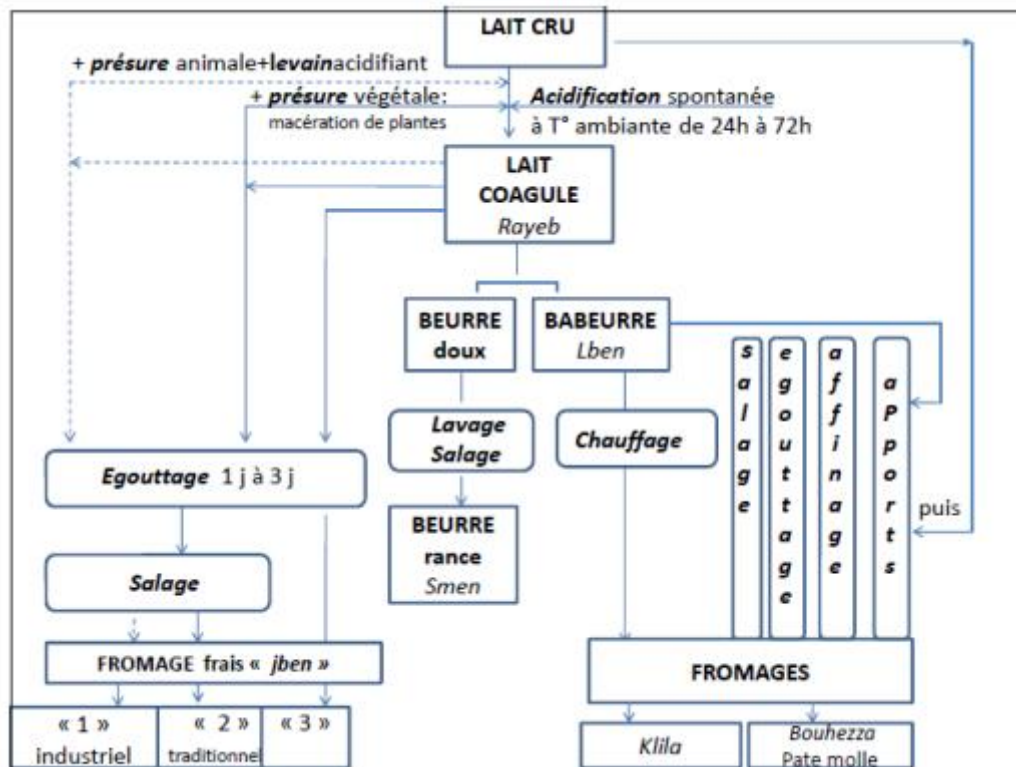


Figure 02: Schéma des méthodes de fabrication des principaux produits laitiers algériens

(Lahsaoui, 2009)

I.8.1. Lait à l'acidophile

Le lait entier ou écrémé est soumis à un traitement thermique. Selon les fabricants il est:

- Soit pasteurisé à 95 °C pendant 30 secondes.
- Soit chauffé pendant 1 heure à une température proche de l'ébullition.
- Soit chauffé deux fois de suite pendant 1 heure à 90 °C.
- Soit stérilisé sous pression à 115 °C.
- Soit traité par UHT (quelques secondes à 141-145 °C).

Après refroidissement à 37 °C, il est ensemencé avec 1 à 5 % d'une culture pure de *Lactobacillus acidophilus*. Ce germe est isolé de selles de nourrissons au sein ou d'excréments de jeunes veaux.

I.8.2. Laits fermentés alcoolisés

Les deux plus connus sont le kéfir et le koumis.

I.8.3. Kéfir

Originnaire du Caucase, ce produit s'est largement répandu, notamment dans l'ex-URSS, où il est fabriqué industriellement. Il peut être préparé avec le lait de différentes espèces (vache, chèvre, brebis).

I.8.3. Koumis

Ce produit originaire des steppes de l'Asie centrale est fabriqué avec du lait de jument. Un produit très voisin est préparé avec du lait de chamelle et quelquefois d'ânesse. Il existe des imitations industrielles faites avec du lait de vache additionné de 2,5 à 5 pour cent de sucre. Comme pour le kéfir, la fermentation résulte d'une flore mixte et complexe faite de bactéries lactiques et de levures.

Il s'agit d'un liquide laiteux, consommé abondamment comme boisson par les éleveurs lors de la saison de production. Le coagulum, finement dispersé, est peu perceptible lors de la dégustation. Fabrication du *koumis* reste très traditionnelle en raison des faibles quantités de lait de jument ou de chamelle disponibles. La méthode de préparation ci-après pour un koumis imitation au lait de vache est transposable à d'autres laits.

I.8.4. Babeurre

Dans certains pays producteurs de beurre, le babeurre issu du barattage est consommé comme boisson ou utilisé en cuisine. Lorsque la quantité de babeurre est insuffisante, on fabrique du cultured buttermilk à partir d'un lait acidifié.

On part d'un lait écrémé ou à faible teneur en matière grasse (de 0,1 à 0,8 %) et additionné de 0,1 pour cent de sel pour relever le goût. La matière sèche peut être augmentée par apport de 1 à 2 pour cent de lait écrémé en poudre. Le lait est chauffé en cuve pendant 20 à 30 minutes à 80 - 90°C ou pasteurisé à 90-95 °C pendant un temps variable (de 1 à 5 minutes). Ce chauffage poussé a pour but d'améliorer la viscosité et la stabilité du produit.

Le lait refroidi à 21-23°C estensemencé à l'aide de 0,5 à 3 % d'un levain associant diverses espèces de bactéries lactiques mésophiles. Après 14 à 16 heures d'incubation à 22 °C, on obtient un coagulum dont l'acidité est voisine de 0,8 pour cent d'acide lactique (pH 4,7-

4,6) (FAO ,1998).

I.8.5. Fromage

La dénomination " fromage " est réservée au produit fermenté ou non, affiné ou non, obtenu à partir de matière d'origine exclusivement laitière (lait entier, lait partiellement ou totalement écrémé, crème, matière grasse, babeurre), utilisées seules ou en mélange, coagulées en totalité ou en partie avant égouttage ou après élimination partielle de leur eau.

Le mot fromage vient du latin « *formaticum* » signifiant qu'il est fabriqué dans une forme appelée moule.

I.8.6. Lait filé

C'est un lait acide, de consistance visqueuse, surtout consommé dans les pays scandinaves. L'acidification est combinée à l'action des bactéries filantes.

I.8.7. Klila

Klila est préparé à partir du L4ben chauffé sur feu doux pendant 12 minutes environ pour favoriser la séparation du caillé et du lactosérum et accélérer le processus d'égouttage.

Le lait caillé est égoutté dans un tissu fin. La klila peut être consommée à l'état frais ou additionnée à certains plats traditionnels après avoir été coupé en petits cubes et séchés au soleil (**Touati, 1990**).

I.8.8. Takammarit

C'est un fromage de Hoggar, il est fabriqué par introduction d'un bout de caillette de jeunes chevreaux dans le lait. Après quelques heures, le caillé est retiré à l'aide d'une louche et déposé en petits tas sur une natte et sera ensuite pétri pour évacuer le sérum puis déposé dans une autre natte faite de tige de fenouil sauvage qui lui donne de l'arôme. Les nattes sont ensuite placées à l'ombre jusqu'au durcissement du fromage. Le fromage peut subir un affinage durant un mois (**Bousnane et Djadi, 2009**).

I.8.9. Aoules

Il est fabriqué à partir du lait qui est extrêmement aigre, après une coagulation intense, le fromage obtenu à une pâte dure (matière sèche représente 92%). L'égouttage se fait dans une paille ensuite, il est reformé sous forme des boules plates séchées au soleil (**Abdelaziz et Aitkaci, 1992**).

I.8.10. Lebaa

La matière première est le colostrum, parfois il est mélangé avec des œufs, il est salé puis bouillit pendant 15 minutes environ. Le produit obtenu est appelée lebaa (**Lemouchi, 2007**).

I.8.11. Lghaunane

Fromage fabriquée en Kabylie à partir du colostrum, la préparation se fait dans des ustensiles en terre cuite enduits d'huile d'olive dans lesquels est versée une petite quantité d'eau salée, puis le lait est chauffé et coagulé. Le caillé formé est découpé puis consommé tel quel. (**Agroligne, 2001 in Lahsaoui, 2009**).

I.8.12. Méchouna

Il est fabriqué à partir de lait cru qui est chauffé jusqu'à ébullition. Ensuite, on ajoute de lait fermenté « Lben » ou « Rayeb » et du sel. En utilisant une gaze, le mélange est laissé égoutter. Il est consommé frais ou avec la galette (**Lemouchi, 2007**).

I.8.13. Madghissa

Le fromage est connu dans la zone du Chaouia coté Est du pays. Il est préparé avec la klila fraîche après salage et incorporation du lait frais. L'ensemble est porté à ébullition sur feu doux jusqu'à séparation du caillé et de lactosérum. Après refroidissement du mélange, la marmite est basculée pour éliminer le lactosérum. Le fromage ainsi préparé est une pâte jaune salée et élastique appelée madghissa (**Aissaou, 2003**).

I.8.14. Bouhezza

C'est un fromage fermier fermenté à égouttage spontané, préparé à l'origine à partir de lait de Chèvre et éventuellement de brebis mais actuellement il est préparé à partir du lait de vache, il est très répandu dans l'est algérien plus précisément dans les régions de Oum Bouaghi, Khenchela, et dans certaines régions de Batna (**Mekentichi, 2003**). Le salage, l'égouttage et l'affinage du Bouhezza sont réalisés simultanément dans une «Chekoua», préalablement traitée aux tannins pendant 3 à 4 mois.

Au stade de la consommation le fromage est pétri avec incorporation de poudre de piment rouge, ce qui lui donne une caractéristique particulière (**Lemouchi, 2008**).

I.8.15. Djben

Le djben est un fromage traditionnel frais obtenu par coagulation enzymatique (présure extrait à partir de la caillette de veau).

Le lait destiné à la fabrication est chauffé, une fois tiède, un Fragment de caillette bovine est macéré dans le lait. Après coagulation du lait et égouttage, le Caillé ainsi obtenu peut être salé ou additionné de quelques épices ou de plantes aromatique (**Abdelaziz et Ait kaci, 1992**)

I.8.16. Zebda

La technique d'extraction de beurre par barattage du lait a été reconnue 3500 ans avant J-C Chez les envahisseurs asiatiques venus à Sumer (**Gast. 1991**).

Le codex alimentaires a défini le beurre comme un produit gras dérivé exclusivement du lait et/ou de produits obtenus à partir du lait, principalement sous forme d'une émulsion du type eau-dans-huile. La préparation de zebda ou beurre frais est passée par différentes étapes, tout d'abord le lait cru est laissé à fermenter à température ambiante 24h à 72h jusqu'à la coagulation du lait et la formation d'un Produit laitier traditionnel appelé Rayeb, ce dernier est placé dans un sac de peau appelé Chacoua (environ 10 L), puis baratté pendant 40 à 60 min jusqu'à la formation d'un liquide Appelé Lben et une matière grasse appelé beurre cru ou Zebda beldia (**Benkerroum et Tamime, 2004**).

À la fin du barattage une quantité limitée (environ 10% de volume de lait) d'eau chaude ou froide est ajoutée pour ramener la température de l'ensemble à un niveau convenable au rassemblement des grains de beurre. La récupération du beurre s'effectue généralement à la main (**Tantaoui-Elaraki et al, 1983**).

I.8.17. Yaourt

Le yaourt ou yogourt est le lait fermenté le plus consommé .C'est un lait fermenté obtenu par la multiplication dans le lait de deux bactéries lactiques spécifiques associées : *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*. Ces bactéries lactiques sont cultivées sur du lait préalablement pasteurisé, dans le but d'éliminer la plus grand partie ou la totalité de la flore microbienne préexistante .Après la fermentation le yaourt est refroidi à une température comprise entre 1 et 10°C (**Luquet, 1990**).

I.8.18. Rayeb

Le Rayeb est un produit qui n'aura aucun traitement thermique préalable et laissé s'acidifier par fermentation spontanée jusqu'à l'obtention d'un caillé (Touati ,1990).Il peut être consommé comme boisson après une simple homogénéisation, ou additionné aux autres plat traditionnels (couscous, mesfouf). Il entre dans la fabrication du Lben (**Aissaoui,Z, 2004**).

II. Lait fermenté acidifié « l'ben »

La plupart des laits fermentés « l'ben » et avant d'être introduits en bactériothérapie moderne, ont été connus et utilisés comme des aliments depuis longtemps. Le l'ben est préparé à partir de lait cru provenant de toutes les espèces animales, principalement des brebis, des chèvres et des vaches ou à partir du lait en poudre (lait écrémé ou lait en poudre partiellement écrémé). C'est un produit liquide de saveur piquante et agréable qui contient un peu d'alcool et d'acide lactique dus à la transformation des éléments de base. La méthode de fabrication diffère selon les lieux, mais la base reste la même (**Boudier, 1990**).

Ce type de lait fermenté fera l'objet de notre étude.

II.1. Matière première et ingrédients

La principale matière première pour la fabrication des laits fermentés est le lait, essentiellement le lait de vache. Il est constitué d'environ 88% d'eau et 12% de matière sèche contenant des glucides, des protéines, des lipides et des minéraux (**Tamime et Robinson, 1999**).

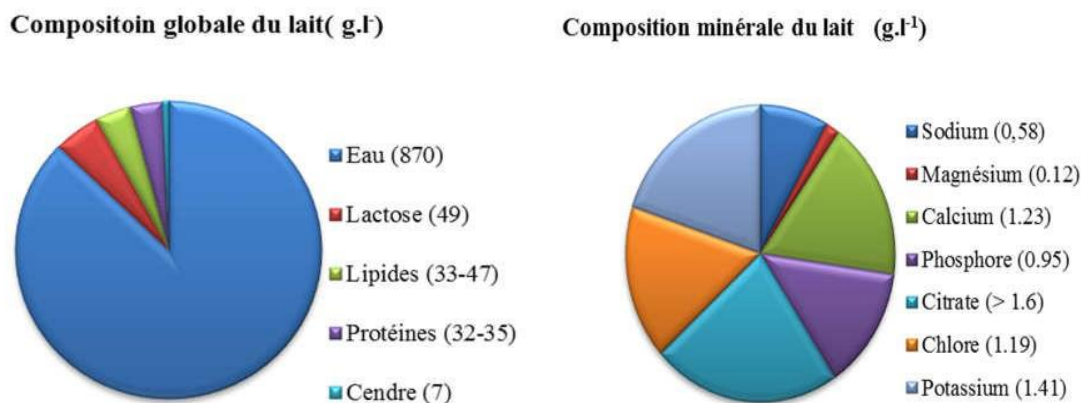


Figure 03 : Composition globale du lait de vache avec le détail de sa composition minérale. (**Romain et al, 2008**).

II.2. Composition physico-chimique

La composition chimique du «l'ben» est variable, elle dépend des localités, des régions, des fermes, de la composition chimique du lait cru de départ et de la procédure de fabrication (El Baradei et al, 2008). Néanmoins, certains indicateurs donnent une idée sur la qualité globale du produit et le processus de sa fabrication.

La fermentation du lactose augmente l'acidité titrable dans le «Lben» à plus de 0.60 % d'acide lactique, par conséquent le pH et le lactose baissent respectivement au dessous de 4.7 et 3.7 g/100g.

L'extraction du beurre diminue le contenu en lipides à environ 1.8g/100g (Benkerroum et al, 1984).

Généralement selon A.Tantaoui-Elaraki et al, 1987, les valeurs moyennes pour les principaux constituants sont les suivantes:

- pH: 4.2;
- acidité titrable: 8.2 g en acide lactique;
- graisses: 8.9 g/l;
- protéines totales: 25.6 g/l;
- lactose: 26.9 g/l et
- matière sèche totale: 89 g /l

Tableau 09: Valeurs moyennes des paramètres physicochimiques du L'ben (Tantaoui-Elaraki et El Marrakchi, 1987).

Paramètre	Valeur moyenne
PH	4.2
Humidité	90.8%
Acidité	60°D
Na Cl	0.08g /l
Lactose	26.9 g/l
Matière grasse	8.9 g/l
Protéine totale	25.6 g/l
Matière sèche totale	89 g/l

La fermentation du citrate dans le lait génère des composés carbonés volatiles (Ethanol ,acétaldéhyde, acétoine et diacétyl). On reporte aussi il a présence d'éthanol dans le «Lben», c'est un élément qui confère un arôme typique au produit, pourtant, sa concentration est trop faible pour donner un goût alcoolique au produit. (Benkerroum et al, 2004).

Tableau 10 : Valeurs moyennes des composants aromatiques du L'ben (Boubekri et al, 1984).

Composé aromatiques principaux (D'après Benkerroum et al) en mg/l	
Ethanol	179.3
Acétoïne	7.3
Diacétyle	4.2
Acédaldéhyde	1.6

Le L'ben est apprécié pour ces qualités organoleptiques rafraichissantes et sa valeur nutritionnelle importante car il ne diffère du lait que par le léger mouillage dont il fait l'objet, par élimination d'une quantité variable de la matière grasse, et par la fermentation d'une partie du lactose. La fermentation du lait par des microorganismes particuliers peut conduire à la désintoxication, la destruction d'éléments indésirables présents dans les aliments crus comme le cyanure, les tanins et les polyphénols (Blandino et al, 2003) et aussi à la dégradation du lactose (Fox et Thomson, 2007 ; Schaafsma, 2008).

II.3. Ferments lactiques spécifiques du l'ben

Les premières études sur la composition microbiologique des laits fermentés datent de la fin du 19^{ème} siècle (Obermann et al, 1998). A l'heure actuelle, des espèces de bactéries lactiques des genres *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus* et *Bifidobacterium* ont été identifiées dans les laits fermentés.

Des souches de *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, et *Bifidobacterium* sont principalement utilisées dans les cultures commerciales d'amorçage (Mogensen et al, 1993). Très peu d'information est disponible sur la flore microbienne impliquée dans la fabrication traditionnelle du lait fermenté (Cogan et al, 1997; Bizzaro et al, 2000; Randazo et al, 2002; Caridi et al, 2003; Fortina et al, 2003.).

Au Maroc, une étude de la flore microbienne impliquée dans la fermentation du lait pour produire le «L'ben» a montré que les bactéries lactiques mésophiles sont responsables de la fermentation lactique et du développement de l'arôme dans le «L'ben», elles peuvent atteindre 10^8 Ufc/ml .

Les espèces *Lactococcus* et *Leuconostoc* sont prédominantes dans le «L'ben», les *Lactobacillus* spp. Sont présents à de faibles nombres. Les espèces dominantes sont

Lactococcus lactis subsp. *Lactis* et subsp. *Lactisbiovar diacetyllactis*, et *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *Cremoris* et subsp. *lactis* (Tantaoui-Elaraki et al (1983a) et Tantaoui- Elaraki et al (1983b).

II.4. Principaux facteurs influençant le métabolisme des ferments

II.4.1. Facteurs Physiques

II.4.1.1. Température

Le premier facteur environnemental à considérer pour le développement des bactéries lactique est la température. Elle doit être aux alentours de 30°C pour les bactéries mésophiles et de 42°C pour les espèces thermophiles. Elle agit sur les vitesses des réactions chimiques et biochimiques.

II.4.1.2. Activité de l'eau

L'activité de l'eau (a_w) est liée à la présence de sels ou de sucres. Lorsqu'elle diminue, la quantité d'eau libre décroît et la disponibilité des nutriments est affectée. Concernant les laits fermentés seule la présence de saccharose (cas des yaourts sucrés) peut diminuer cette activité, c'est le cas lorsque cette dernière devient inférieure à 0.99 correspondant à une concentration en saccharose de 10%, l'activité métabolique des bactéries est alors affectée (Tamime et Robinson, 1985).

II.4.2. Facteurs chimiques

II.4.2.1. Qualité du lait

La qualité du lait est primordiale pour la croissance des bactéries lactiques puisqu'il leur apporte les composés carbonés et azotés ainsi que les facteurs de croissance indispensables. L'exigence nutritionnelle est la quantité de l'azote libre qui peut être apporté sous forme d'acides aminés libres ou sous forme de petits peptides. Certains travaux ont montré l'importance de ces acides aminés : effet stimulant de l'acide glutamique, de l'histidine, de la méthionine, effet inhibiteur par compétition de l'acide aspartique et l'isoleucine, sur la croissance de *St. thermophilus* (Bracquard, 1985).

II.4.2.2. Traitement thermique

Le traitement thermique du lait induit des réactions physico-chimiques qui agissent sur le métabolisme des bactéries lactiques, mais également sur les propriétés organoleptiques des laits (**Loones, 1994**).

Le lait enrichi subit un traitement thermique qui a pour but de détruire tous les germes pathogènes et indésirables (bactéries, levures, moisissures), ce qui favorisera le développement ultérieur des ferments, d'inactiver les α -globulines et de nombreuses γ -globulines et de nombreuses enzymes (phosphatase, peroxydase..... etc.) (**Jeant et al, 2008**).

II.4.2.3. PH

Le PH est important pour la croissance des bactéries lactiques, il intervient sur la disponibilité en nutriments du milieu, sur la perméabilité de la membrane cellulaire et sur les vitesses d'activité enzymatique (**Beal et Sodini 2003**).

II.4.3. Facteurs microbiologiques

Le taux d'ensemencement du lait avec les bactéries lactiques influence fortement sa transformation, plus il est élevé, plus rapide est la fermentation. Généralement, ce taux se situe autour de 10^6 UFC/ml pour simultanément obtenir des durées de fabrication courtes et limiter le cout d'achat des ferments. Pour un ensemencement direct cela correspond à un taux d'inoculation compris entre 2,5 g et 70 g pour 100 L de lait selon l'espèce bactérienne considérée (**Beal et Corrieu, 1991**).

Les équilibres des populations agissent également sur les cinétiques microbiennes. Ainsi dans le cas de la fabrication du yaourt la durée de la fermentation varie selon la valeur initiale du rapport entre streptocoques et lactobacilles, même si en fin de culture les streptocoques sont toujours majoritaires (**Beal et Corrieu, 1991**).

II.5. Effets bénéfiques du l'ben

L'ben a une valeur nutritive similaire au lait, puisqu'il contient une quantité importante de protéines, de lactose, de calcium, de potassium et de phosphore, et une source importante de vitamines (A, B....) et ce, en ne fournissant que peu de calories (**Deeth et Tamime, 1981**). D'autre part, le transit intestinal du lait fermenté est deux fois plus long que celui du lait, ce qui améliore l'absorption des nutriments. Ce produit se différencie du lait par le fait qu'il est plus facile à digérer, tant au niveau de son contenu protéique qu'au niveau de son contenu en carbohydrates (**Deeth et Tamime, 1981**).

D'autres effets thérapeutiques ont été associés à l'absorption de lait fermenté, plusieurs études ont évaluées l'impact bénéfique de la consommation de lait fermenté sur les désordres gastro-intestinaux (**Deeth et Tamime, 1981; Labell, 1989**).

L'addition d'agents probiotiques, prébiotiques ou synbiotiques permet d'améliorer les valeurs nutritives et thérapeutiques des laits fermentés.

II.6. Fabrication traditionnelle du l'ben

Sa préparation, très simple, est demeurée au stade familial ou artisanal : le lait est abandonné à lui-même dans une jarre en terre cuite ou une outre en peau de chèvre jusqu'à sa coagulation. Celle-ci se fait à température ambiante et dure 24 à 48 h suivant la saison.

Le barattage qui lui succède est réalisé soit dans l'outre, qu'un manipulateur doit secouer énergiquement avec les deux mains (photo 01), soit dans une jarre, en utilisant un instrument constitué d'un manche long portant à son extrémité inférieure deux disques en bois de diamètres différents (photo 02).



Photo 01 : Outre en peau de chèvre pour la fermentation et le barattage du L'ben (photo due à l'obligeance de **M. Moussa Ettalibi**).



Photo 02 : Jarre en terre cuite pour la fermentation du L'ben, et instrument en bois utilisé pour le barattage du produit dans la jarre.

Dans un cas comme dans l'autre, cette opération dure 30 à 40 min. A la fin du barattage, on ajoute généralement un certain volume d'eau (environ 10 % du volume du lait), chaude ou froide, suivant la température ambiante, de façon à ramener la température de l'ensemble à un niveau convenable au rassemblement des grains de beurre. Celui-ci est récupéré, généralement à la main, mais certains fabriquant filtrent le L'ben sur une toile, dans le but de recueillir le maximum de beurre (« beldi », produit de grande valeur marchande.

II.7.Fabrication industrielle du L'ben

L'ben est produit également à l'échelle industrielle. C'est un lait pasteurisé fermenté.

Ce produit contient plus de matière grasse, de protéines et d'extrait sec total que le *L'ben* traditionnel, mais il est moins acide l'opération de fabrication industrielle du *L'ben* comprend l'ensemble des étapes présentées dans la (**figure 04**)

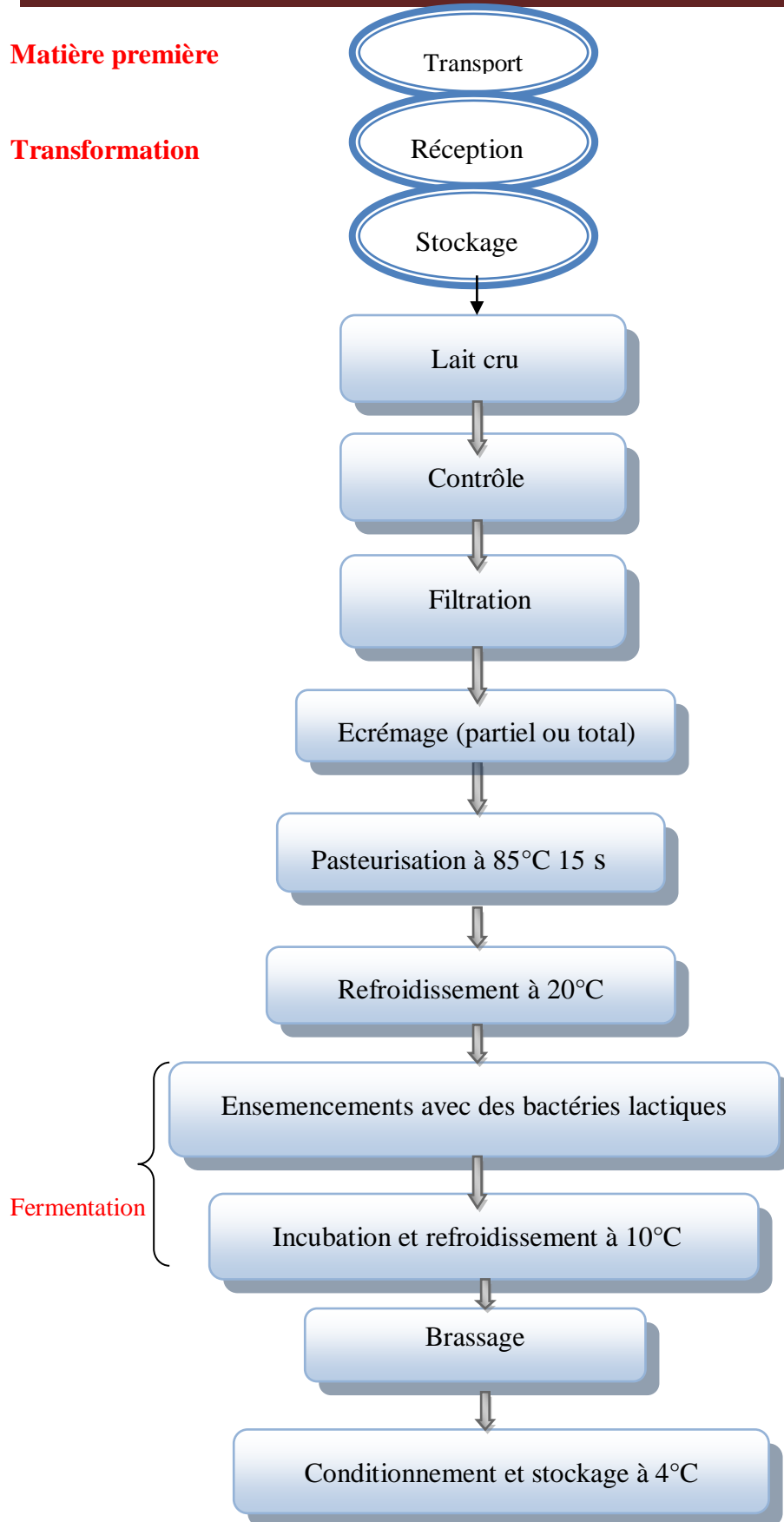


Figure 04 : Schéma de la fabrication industrielle du L'ben (Avezard et Lablee, 1990)

Tableau 11 : Les normes utilisées dans la fabrication du *L'ben* (Stoutz, 1986)

Temps (h)	Température (°C)	Taux d'ensemencement (%)
18	20 – 23	3
12	23 – 25	2
6 – 8	32	2
3 – 4	42 – 44	2

II.7.1. Processus de fabrication d'un lait fermenté au bifidus

Le lait cru est tout d'abord écrémé puis être consiste à faire chauffer le lait par pasteurisation à 83°C pendant 3 secondes ou stérilisation à 140°C pendant 2 secondes, puis faire un refroidissement à 20°C. Ensuite ensemencer avec des ferments lactiques sélectionnés, généralement sous forme de mélanges de deux ou plusieurs types de germes, le lait est laissé à une température de 18 à 20°C pendant une douzaine d'heures, de façon à obtenir un coagulum caractéristique du lait fermenté, puis il est refroidi à 10°C et subit un léger brassage avant d'être conditionné dans des emballages. Le produit présente un léger goût acide, frais, qui est apprécié des consommateurs, il est d'une consistance liquide, après brassage, et de couleur blanche. Dans ce produit, les ferments sont vivants. Ce produit peut être conservé à une température d'environ 5°C pendant environ trois semaines. Sa durée de conservation est donc très limitée et nécessite un stockage au froid.

Les germes sont avantageusement utilisés sous forme de grêlons congelés. Ils peuvent être ajoutés à l'eau stérilisée à raison d'environ 1 g/L d'eau stérilisée. L'eau contenant ces germes est ajoutée au lait stérilisé UHT avantageusement à raison d'au moins 5 ml/L de lait. Cela peut être aisément réalisé par injection de l'eau contenant des germes de fermentation lactique dans la canalisation conduisant le lait UHT, de l'installation de stérilisation UHT à l'installation de conditionnement. Le produit est conditionné de façon aseptique. Le mélange obtenu dans des récipients stériles ou on laisse développer et s'achever la fermentation lactique, on obtient ainsi un lait fermenté ne présentant pratiquement plus de germes vivants.

Le procédé se distingue de la technique traditionnelle, à la fois pour les conditions de fermentation, et fournit un produit qui bien que présentant un goût semblable au lait fermenté traditionnel, se différencie à l'utiliser.

Ainsi, en premier lieu, la nature du lait ensemencé est différente. Au lieu d'utiliser du lait pasteurisé, on utilise du lait stérilisé UHT, c'est-à-dire du lait ayant subi un traitement thermique de stérilisation continu à température élevée pendant un court laps de temps.

Ce système utilise un récipient en carton qui est formé par la machine de conditionnement après trempage dans de l'eau oxygénée et séchage à l'air chaud.

Le remplissage des récipients est effectué dans une enceinte stérile, puis les récipients sont scellés.

Les conditions de fermentation sont également différentes, puisqu'au lieu d'effectuer une fermentation pendant 24 heures à une température de 18 à 20° C, puis de la stopper par refroidissement, dans le nouveau procédé stérile on laisse se développer et s'achever la fermentation lactique. Cela peut être effectué en conservant les récipients à une température d'au moins 18°C pendant une semaine.

Au-delà de cette période, la fermentation lactique s'arrête car, d'une part, le lactose du lait est en partie épuisé et, d'autre part, les bactéries meurent par autolyse et l'on obtient un lait fermenté d'un goût légèrement acide et pratiquement dépourvu de germes, car l'autolyse les a éliminés. Un tel produit est stable et ne subit aucune dégradation physico-chimique.

C'est seulement l'étanchéité défectueuse de l'emballage qui risque de limiter la conservation de ce lait fermenté.

En pratique, il est possible de conserver un tel lait fermenté pendant au moins quatre mois à température ambiante, ce qui constitue un avantage très important par rapport au lait fermenté traditionnel.

Comme germes de fermentation lactique utilisables dans le procédé selon l'invention, on peut citer les germes suivants:

- *Streptococcus cremoris*
- *Streptococcus lactis*
- *Streptococcus diacetylactis*
- *Streptococcus thermophilus*
- *Lactobacillus bulgaricus*

- *Lactobacillus acidophilus*
- *Lactobacillus bifidus*
- *Leuconostoc citrovorum*

Ces germes sont avantageusement utilisés sous forme de grêlons congelés. Ils peuvent être ajoutés à l'eau stérilisée à raison d'environ 1 g/L d'eau stérilisée, ce qui fournit une population de 5×10^6 à 10^7 germes par ml. L'eau contenant ces germes est ajoutée au lait stérilisé UHT avantageusement à raison d'au moins 5 ml/L de lait.

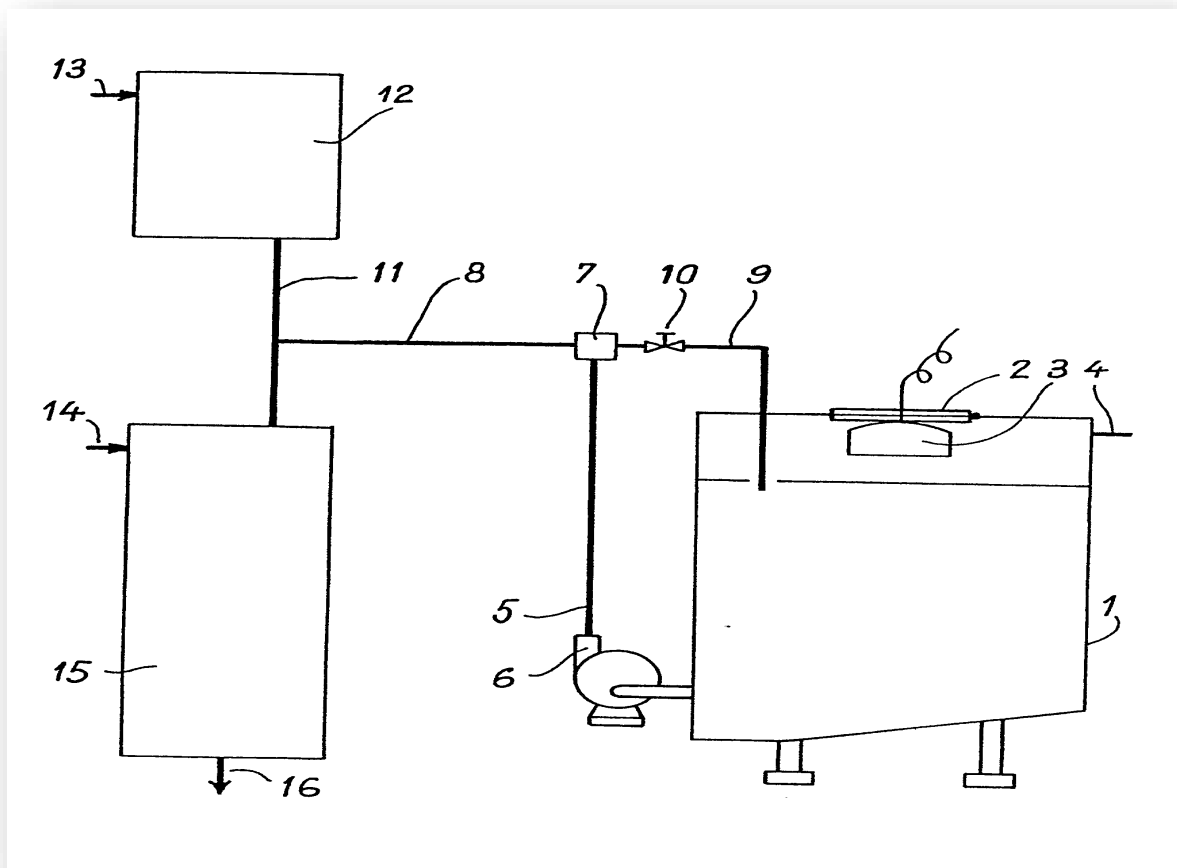


Figure 05: Schéma d'installation d'un lait fermenté (Riccardo Ferialdi, Philippe Moisan 1982)

II.7.2. Itinéraire d'installation

L'installation comprend un réservoir (1) fermé de façon étanche par un couvercle 2 basculant sur lequel est fixée une lampe à UV 3 disposée à l'intérieur du réservoir 1 lorsque le couvercle 2 est fermé.

Ce réservoir (1) est relié à un conduit (4) d'arrivée d'eau et à un conduit (5) de sortie. Le conduit (5) est muni d'une pompe péristaltique (6) qui envoie l'eau du réservoir (1) vers une vanne à trois voies 7 reliée, d'une part, à un conduit 8 d'injection et, d'autre part, à un conduit (9) de retour vers le réservoir (1) qui est muni d'un robinet (10) de réglage du débit.

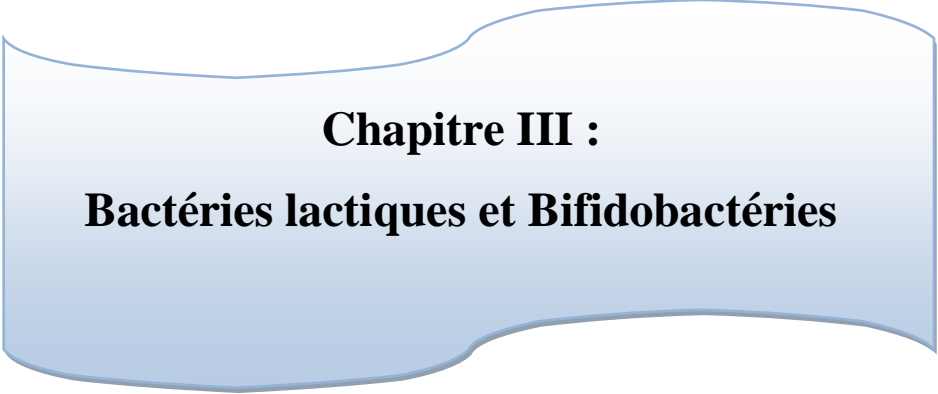
Le conduit (8) d'injection est branché sur le conduit (11) de sortie du lait UHT stérilisé d'une installation (12) de stérilisation UHT du lait entrant en (13).

Le conduit (11) est relié à une installation (14) de conditionnement stérile de type Tétra Pak, dans laquelle le carton de l'emballage entre en (15) et l'emballage contenant le laitensemencé sort en (16), après scellement.

Fonctionnement on introduit de l'eau dans le réservoir (1) par le conduit 4 et on stérilise cette eau à l'aide d'une lampe à UV 3. Puis on ouvre le couvercle (2), on introduit des germes de fermentation lactique sous forme de grêlons congelés, en maintenant pendant cette opération un courant d'air chaud ascendant de gaz chaud au-dessus de l'ouverture de façon à éviter d'introduire d'autres germes. On dispose ainsi d'un stock important de ferments lactiques dilués dans de l'eau stérile.

Par la pompe péristaltique (6), on envoie l'eau du réservoir 1 vers le conduit 8 en réglant le débit de retour vers le réservoir (1) par le robinet (10). L'eau du réservoir (1) est ainsi injectée de façon dosée dans le conduit 11 de sortie du lait stérilisé UHT de l'installation (12) de stérilisation. Le laitensemencé est alors conditionné de façon aseptique dans l'installation (15).

Les emballages pleins de laitensemencé et qui ont été scellés dans l'installation (15) sont stockés à une température d'environ 20°C pendant une semaine, avant d'être expédiés.



Chapitre III :
Bactéries lactiques et Bifidobactéries

I. Bactéries lactiques

I.1. Définition

Les bactéries lactiques sont définies comme des cellules vivantes, procaryote, hétérotrophes et chimio-organotrophes (requièrent des molécules organiques complexe comme source d'énergétique) (De Roissart, 1986).

I.2. Principales caractéristiques

Les bactéries lactiques sont un groupe de bacilles ou coccobacilles à Gram positif qui ont moins de 55mol% de contenu G+C dans leur ADN. Elles sont sporulées, généralement non mobiles, anaérobies mais aérotoles, ne possèdent ni nitrate-réductase, ni cytochrome-oxydase. En outre, elles ne liquéfient pas la gélatine, ne produisent pas d'indole ni d'hydrogène sulfureux et seulement quelques espèces hydrolysent faiblement la caséine.

Elles ont des exigences nutritionnelles complexes en ce qui concerne les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels, les acides gras et les glucides fermentescibles (Dellaglio et al, 1994 ; González et al, 2000).

I.3. Taxonomie et classification

Les bactéries lactiques sont un groupe de bactéries unies par une constellation de caractéristiques morphologiques, métaboliques, et physiologiques. Elles appartiennent à la lignée des Firmicutes, de la classe des *Bacilli*, et à l'ordre des *Lactobacillales* (Garrity et Holt, 2001). Phylogénétiquement, elles appartiennent au phylum des *clostridium* des bactéries Gram positif (G+C < 50mol%).

Selon Stiles et Holzapfel (1997) et Axelsson (1998), les bacteries lactiques englobent les genres suivants : *Aerococcus*, *Alloicoccus*, *Carnobacterium*, *Dolosigranulum*, *Enterococcus*, *Globicatella*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Lactosphaera*, *Leuconostoc*, *Melissococcus*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenecoccus*, *Vagococcus* et *Weissella*.

Néanmoins c'est surtout *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Weissella* et a grande échelle *Lactobacillus*, qui ont une certaine importance dans les aliments (Vandamme et al, 1996).

On outre il est à signaler que le nombre d'espèces lactiques d'origine alimentaire ne cesse d'augmenter. 2 nouvelles espèces lactiques ont été isolées d'un milieu viande il s'agit de

Lactobacillus versmoodensis (Krockel et al, 2003) et *Vagococcus carniphilus* (Shewmaker et al, 2004).

I.4. Bactéries lactiques et produit alimentaires fermentés

La plupart des aliments fermentés font intervenir des bactéries lactiques soit en tant qu'agent principal de la fermentation, soit en tant qu'agent secondaire, ces produits sont principalement les produits laitiers fermentés (laits fermentés, yaourt, fromages, beurre et crème), les produits carnés, Vinification et cidrerie et les produits végétaux. (Pilet et al. 1998).

I.5. Bactéries lactiques dans les produits laitiers

Il s'agit du domaine d'application le plus courant des fermentations lactiques, du fait de la contamination fréquente de bactéries lactiques dans le lait et de leur capacité à utiliser le lactose. Les ferments lactiques naturels ou commerciaux interviennent dans l'élaboration de tous les produits laitiers fermentés (Tableau 12) (Pilet et al, 1998).

Tableau 12 : Principales bactéries lactiques associées aux produits laitiers fermentés et leurs rôles (Pilet et al, 1998)

Laits Fermentés	Yaourt	<i>Lb. delbrueckii subsp. Bulgaricus</i> , <i>St. Thermophilus</i> Acidification / texture / arômes (acétaldéhyde)
	enrichis-en bactéries	idem yaourt + <i>Lb. acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium</i> *ou <i>Lb. Casei</i> rôle nutritionnel
	Kéfir, Koumiss	<i>Lb. brevis</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Lc. lactis</i> Acidification / texture / arômes
	lait ribot, buttermilk	<i>Lactococcus</i> , <i>Leuconostoc</i> texture / arômes
Beurre et	Crème	<i>Lc. Lactis</i> bv . <i>diacetylactis</i> arôme (diacétyle)
Fromages	Frais ou A pâte molle	<i>Lc. Lactis</i> subsp. <i>Cremoris</i> , <i>lactis</i> , <i>diacetylactis</i> Acidification : formation du caillé
	à pâte persillée	<i>Leuconostoc</i> Formation d'ouvertures facilitant la croissance de <i>Penicillium</i>
	à pâte pressée	<i>Lactobacillus</i> , <i>Lactococcus</i> Arômes au cours de la maturation
	à pâte pressé cuite (gruyère, emmenthal)	<i>St. Thermophilus</i> , <i>Lb . helveticus</i> , <i>Lb.delbruckii subsp. Lactis</i> Acidification: production d'acide lactique utilise par les bactéries propioniques /protéolyse

II. Bifidobactéries

II.1. Définition

Les bifidobactéries ont été découvertes, par **Tissier 1900**. Ont été isolées à partir de selles d'enfants nourris au lait maternel. **Tissier** avait alors décrit ces organismes comme des bactéries anaérobies, Gram positif en forme de bâtonnet. Ces bactéries avaient alors reçu le nom de *Bacillus bifidus cornmunis*. Au même moment, en Italie, **Moro** découvrait des bactéries semblables qu'il a identifiées comme des *Lactobacillus* (**Ballongue, 1993**).

II.2. Ecologie des bifidobactéries

Les bifidobactéries font partie de la flore prédominante de l'intestin chez les humains et les animaux à tous les stades de vie.

La composition de la flore dominante chez l'humain change au cours des différents stades de vie. Chez un jeune enfant nourri au lait maternel, la flore intestinale est composée de 85-99 % de bifidobactéries et les principales espèces retrouvées sont *Bifidobacterium infants* et *B. bifidum* les entérocoques, les coliformes et les lactobacilles représentent environ 1-15% de la flore fécale alors que les bactéroïdes et les clostridies sont absents (**Rasic et Kurmann, 1983**).

Le lait maternel contient des facteurs, tels que des oligosaccharides comme le galactose et le N-acetylglucosamine, qui stimulent la croissance des bifidobactéries (**Bezkorovainy et Miller-Catchpole, 1989**).

L'absence de ces facteurs dans les préparations de lait pourrait expliquer la différence observée entre les flores des enfants nourris au lait maternel et ceux nourris au lait de vache (**Tamime et al, 1995**).

La flore des enfants sevrés représente une transition entre la flore infantile et la flore adulte. Plusieurs espèces telles que les bactéroïdes, les eubactéries, les fusobactéries et les clostridies apparaissent dans la flore fécale. Les bifidobactéries deviennent moins prédominantes (**Rasic et Kurmann, 1983**).

La flore adulte devient plus complexe et la flore dominante est composée de bactéroïdes. Bien que les bifidobactéries ne soient plus prédominantes, elles demeurent un des groupes les plus importants de la flore intestinale. Les espèces de bifidobactéries les plus retrouvées chez l'adulte sont *Bifidobacterium adolescentis* et *B. longum* (**Tamime et al, 1995**).

Certains autres facteurs tels que l'origine ethnique de l'homme, des troubles intestinaux et le type d'alimentation expliquent la différence de composition de la flore intestinale observée entre individus.

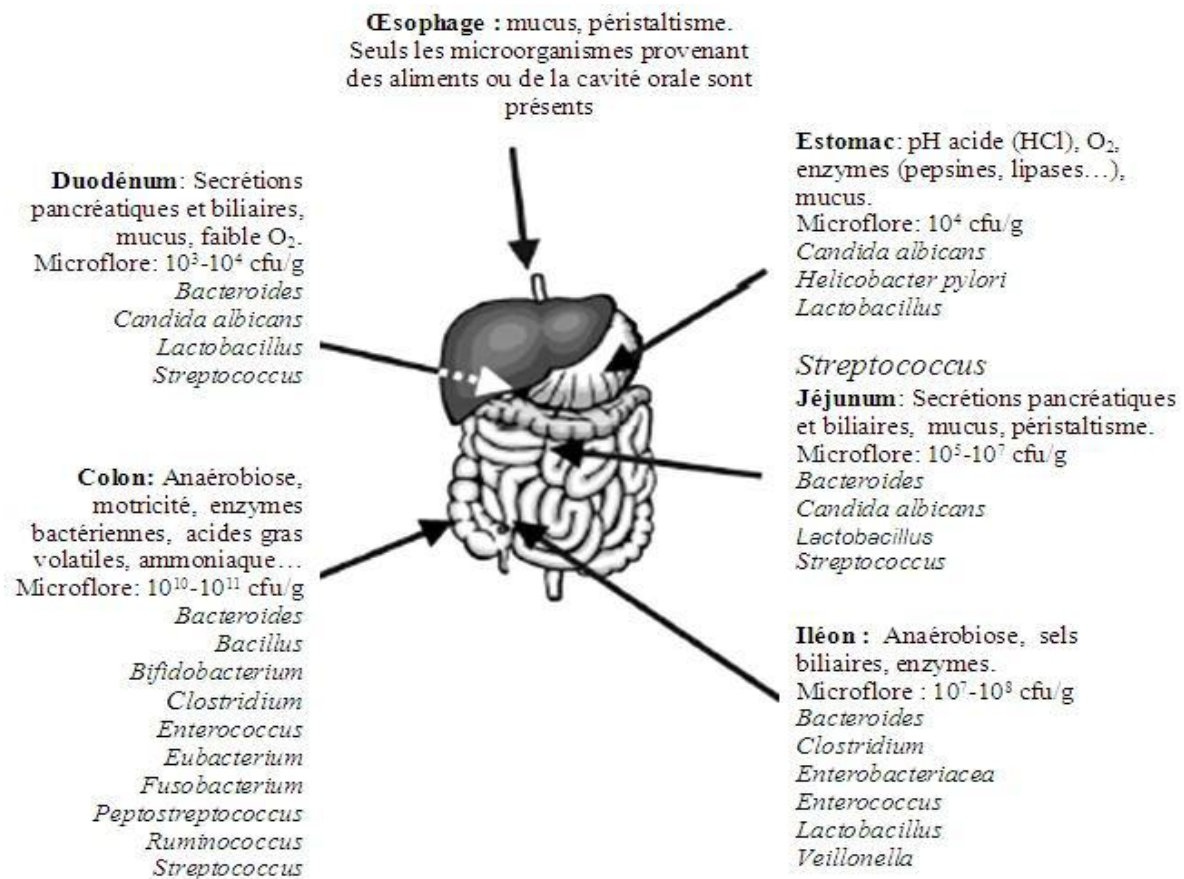


Figure 06: Schéma simplifié décrivant les compartiments de l'appareil digestif de l'homme et leurs microflores (Ouweland & Vesterlund ,2003).

II.3. Taxonomie et les différentes espèces

Pendant plusieurs années, les bifidobactéries ont été classées parmi les bactéries du genre *Lactobacillus*.

C'est d'ailleurs sous ce nom que sont retrouvées les bifidobactéries dans les quatre premières éditions du manuel Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.

Après 1965, suite à l'apparition des nouvelles technologies génétiques, deux équipes de recherche (Sebald et al, 1965 ; Werner et al, 1966) ont démontré, grâce au pourcentage G+C, que les bifidobactéries étaient différentes des lactobacilles, des corynébactéries ainsi que des propionibactéries.

Ces équipes ont démontré que le pourcentage de G+C était de 60.1% pour les bifidobactéries alors qu'il était de 67.6% pour les propionibactéries, de 54.7% pour les corynébactéries et se situait entre 33 et 49% pour les lactobacilles (Sebald et al, 1965; Werner et al, 1966).

À partir de 1974, le genre *Bifidobacterium* a été reconnu par les éditeurs du manuel Bergey's Manual of Determinative Bacteriology et à ce moment là, le genre *Bifidobacterium* était composé de 11 espèces. Selon **Crociani et al (1996)** les bifidobactéries sont répertoriées de 32 espèces, 12 seraient d'origine humaine, 3 proviendraient de l'abeille, 14 seraient d'origine animale à sang chaud et 2 proviendraient des eaux usées.

On outre les espèces de bifidobactéries ne cesse d'augmenter, l'équipe de **Crociani et al (1996)** ont pu isoler une nouvelle espèce *Bifidobacterium lactis* à partir des produits laitiers.

Selon Euzéby (2007), le nombre d'espèces citées est de 35 et le nombre de sous-espèces est de 6.

Il y aurait 32 espèces et 9 sous-espèces, *Bifidobacterium denticolens* et *Bifidobacterium inopinatum*, isolés de caries dentaires chez l'homme, ne sont plus considérés comme des espèces du genre *Bifidobacterium*. *Bifidobacterium denticolens* a été transféré dans le genre *Parascardovia* et l'espèce *Bifidobacterium inopinatum* dans le genre *Scardovia*.

Les différentes espèces de *bifidobacterium* et leurs origines selon **Vanden broek et al, (2005)** sont mentionnées au tableau 13.

Tableau 13: Liste des espèces de bifidobacterium et leurs origines (Van den broek et al, 2005)

Espèce	Source et référence
<i>B. adolescentis</i>	Selles des adultes et caries dentaire Reuter (1963)
<i>B. angulatum</i>	Selles des adultes Scardovi and Crociani (1974)
<i>B. animalis</i>	Selles des rats, poulet, lapins Scardovi and Trovatelli (1974)
<i>B. asteroides</i>	Les abeilles Scardovi and Trovatelli (1969)
<i>B. bifidum</i>	Selles des adultes et des enfants Orla-Jensen (1924)
<i>B. boum</i>	Selle des porcs Scardovi et al. (1979)
<i>B. breve</i>	selles des enfants Reuter (1963)
<i>B. catenulatum</i>	Selles des enfants et adultes Scardovi and Crociani (1974)
<i>B. choerinum</i>	Selle des porcs Scardovi et al. (1979)
<i>B. coryneforme</i>	Les abeilles Biavati et al. (1982)
<i>B. cuniculi</i>	Selle des lapins Scardovi et al. (1979)
<i>B. denticolens</i>	Caries dentaires humaines Crociani et al. (1996)
<i>B. dentium</i>	Caries dentaire humaines, selles des adultes Scardovi and Crociani (1974)
<i>B. gallicum</i>	Selles des adultes Lauer (1990)
<i>B. gallinarium</i>	Selles des Poulets Watabe et al. (1983)
<i>B. infantis</i>	Selles des enfants Reuter (1963)
<i>B. inopinatum</i>	Caries dentaire humaine Crociani et al. (1996)
<i>B. lactis</i>	Lait fermenté Meile et al. (1997)
<i>B. longum</i>	Selles des enfants et des adultes Reuter (1963)
<i>B. magnum</i>	Selles des lapins Scardovi and Zani (1974)
<i>B. merycicum</i>	eaux usées Biavati and Mattarelli (1991)

II.4. Caractéristiques morphologiques, physiologiques et biochimiques des bifidobactéries

II.4.1. Morphologie

Les bifidobactéries sont des bactéries non mobiles et non-sporulantes. Sont Gram-positif. Elles sont souvent retrouvées sous forme d'Y ou V. Leurs extrémités sont effilées, bifurquées ou spatulées elles peuvent se présenter aussi sous forme de cocoides ou sous formes de petites bacilles réguliers (**Rasic et Kurmann, 1983 ; Scardovi, 1986 ; gavini et al, 1990**).

Les cellules de certaines espèces peuvent présenter des structures semblables à des membranes enroulées en hélice ou en cercle se répartissant dans le cytoplasme et qui peuvent être colorés au bleu de méthylène.

Les colonies des bifidobactéries sont d'apparence très variable, selon les souches elles forment des colonies lisses, muqueuses de contours réguliers. (**Scardovi, 1986**).

II.4.2. Composition de la paroi cellulaire

La paroi cellulaire des bifidobactéries a une structure spécifique aux bactéries Gram positives. Elle est constituée d'une épaisse couche de muréine (peptidoglycanes) entremêlée de longues chaînes de polysaccharides ainsi que de protéines et d'acides lipoteichoïques.

Les acides aminés qui composent les bases des térapeptides du muréine diffèrent parmi les espèces et/ou les souches de la même espèce, de ce fait permettant leur différenciation (**Lauer et Kandler, 1983; Tamime et al, 1995**).

Habituellement, L-alanine, acide D-glutamique, L-ornithine et D-alanine composent les térapeptides, mais l'ornithine peut être remplacée par la lysine dans quelques souches (**Klein et al, 1998**).

Le glucose et le galactose et souvent le rhamnose sont repérés comme composant des polysaccharides de la paroi cellulaire des bifidobactéries, avec des différences qualitatives et quantitatives parmi l'espèce, les souches et les conditions de croissance (**Arunachalam, 1999**).

Abbad Andaloussi et al (1995) ont décrit que la production des polysaccharides extracellulaires par *B. longum* cultivé dans des milieux lait écrémé et de peptone-levurelactose peuvent avoir une structure résultant des sous-unités répétées du glucose, du galactose et des un peu d'acides uroniques et d'hexosamines.

Les acides lipoteichoïques forment des liaisons avec des chaînes de polysaccharide sont considérés importants pour l'adhérence des cellules à la paroi intestinale.

Plusieurs espèces de bifidobactéries ont des lipoglycans de diverses structures, avec L'alanine au lieu de D-isomère habituel (Iwasaki *et al*, 1990).

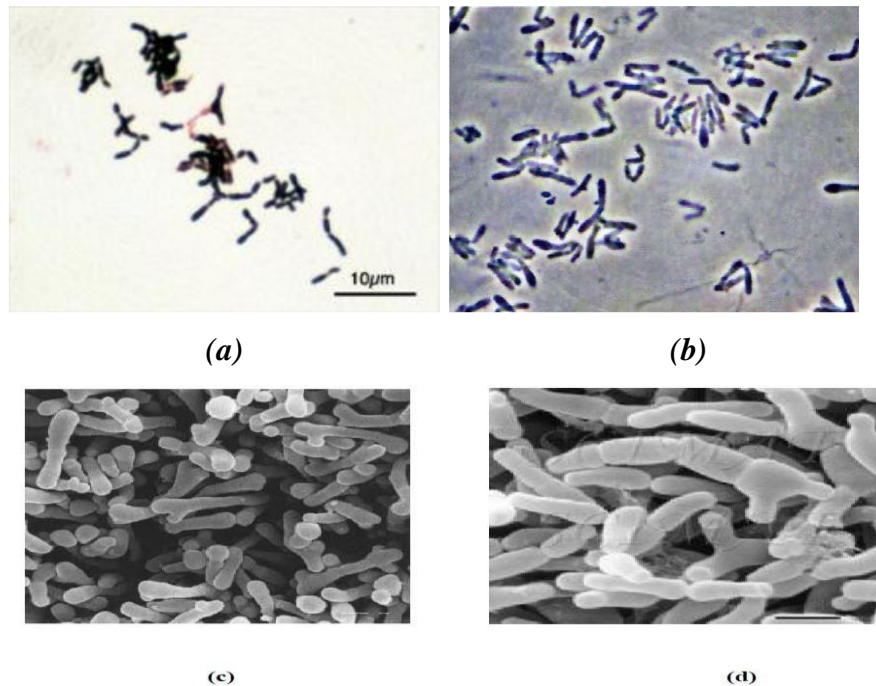


Figure 07: Observation microscopique des cellules de *Bifidobacterium* sp.

Observation au microscope optique :

(a): *Bifidobacterium adolescentis* (Bar:10µm). (Anonyme, 2008).

(b): *Bifidobacterium animalis* (x500) (Trojanova *et al*, 2006).

Observation au microscope électronique:

(c): *Bifidobacterium* sp. (Bar: 1µm) (Biavati *et al*, 2000).

(d): *Bifidobacterium breve* (Bar: 1µm). (Anonyme, 2006).

II.4.3. Physiologies des bifidobactéries

II.4.3.1. Température

Les espèces de bifidobactéries d'origine humaine montrent une croissance à une température qui varie entre 36° et 38°C par contre les espèces d'origine animales peuvent croître à des températures plus élevées qui varient entre 41° et 43°C (Scardovi, 1986 ; Martin et Chou, 1992).

L'espèce *B.thermacidophilum* pousse à une température plus élevée égale 49.5°C (Dong et al, 2000).

II.4.3.2. Oxygène

Les bifidobactéries sont des microorganismes anaérobies stricts (Scardovi 1984), mais la sensibilité à l'oxygène varie entre les espèces (De Vries et Stouthamer 1967).

Les espèces qui tolèrent l'oxygène (ex : *B.lactis*, *B.aerophilum* et *B. psychroaerophilum*) présentent une faible activité catalytique qui élimine les traces du super oxyde d'hydrogène formées (H_2O_2) ou par le fait que le NADH oxydase de ces souches ne forme pas de H_2O_2 alors l'accumulation d' H_2O_2 inhibe l'activité de F6PPK.

Pour les souches extrêmement sensibles à l'oxygène, n'accumulent pas l' H_2O_2 et l'oxygène bloque la multiplication bactérienne par l'intermédiaire d'un potentiel d'oxydoréduction trop élevé (Scardovi, 1986 ; Romond et al, 1992 ; Shimamura et al, 1992, Ventura et al, 2004).

II.4.3.3. Sensibilité au pH

Les bifidobactéries sont considérées comme des microorganismes acidophiles, mais elles ne supportent pas les pH trop bas > 4 et les pH basiques < 9 (Biaviti et al, 1992). A l'exception l'espèce *B.animalis supp lactis* résiste à un pH =3.7 (Meile et al, 1997).

La production maximale d'acide lactique et acétique chez les bifidobactéries exige un pH optimal initial proche de la neutralité qui varie entre 6-7(Collins et Hall, 1984 ; Scardovi, 1986).

II.4.3.4. Sensibilité aux antibiotiques

Les bifidobactéries sont généralement sensible aux antibiotiques du spectre Gram positif (macrolides, bacitracine, erythromcine, lincomicine, novobicine et vancomicine) aussi aux beta-lactamine (penicilline, ampicicilline, amoxicilline, piperacilline et ticarcilline) (Delgado et al, 2005 ; Moubarek et al, 2005 ; Zhou et al, 2005 ; Masco et al, 2006 ; Ammor et al, 2007).

La sensibilité des bifidobactéries au tetracycline est variables selon les espèces (Delgado et al, 2005; Masco et al, 2006 ; Ammor et al, 2007).

Beaucoup d'espèces des bifidobactérie sont résistantes aux antibiotiques du spectre Gram négatif (acide fusidique, acide nalidixique et polymixine) et les aminoglycosides

(neomycine, gentamicine, kanamicine et streptomycine) (Charteris et al, 1998 ; Delagdo et al, 2005; Moubarek et al, 2005 ; Zhou et al, 2005 ; Masco et al, 2006 ; Ammor et al, 2007).

II.4.4. Besoins nutritionnels des bifidobactéries

En générale les bifidobactéries sont capables d'utiliser les sels d'ammonium comme seul source d'azote par contre d'autres espèces comme *B.magnum*, *B. cuniculi* et *B. choerinum* exigent la présence d'azote organique (Hassinen et al, 1951).

L'activité des enzymes comme le glutamate déhydrogénase et le glutamine synthétase permet l'assimilation d'ammonium. Ces deux enzymes sont isolés et caractérisés à partir de *B.breve*, *B. pseudolongum* et *B.bifidum* (Ballongue, 1993).

Aussi la croissance des bifidobactéries est stimulée par la présence d'ions, vitamines et par d'autres facteurs qui sont métabolisés par l'hôte ou par les microorganismes du tractus gastro-intestinal comme la thréonine, extrait de levure, cystéine, dextrine, maltose et β -glycérophosphate et les facteurs bifidogènes qui sont des substances qui se trouvent dans le lait maternel ces facteurs incluent N- acétyl glycosamine, fructooligosaccharides, lactoferine, lactulose, lactitol, oligosaccharides et les polysaccharides (Modler et al, 1994).

II.4.5. Biochimie des bifidobactéries

II.4.5.1. Métabolisme

La majorité des bifidobactéries utilisent le lactose, le glucose, le galactose, le sucrose et le fructose comme sources de carbone. L'ammoniac est la seule source d'azote utilisée par la majorité des espèces de bifidobactéries. Contrairement aux autres bactéries lactiques qui dégradent le glucose via le système glycolytique ou encore par la voie des hexoses monophosphates, les bifidobactéries dégradent le glucose par la voie du fructose-6-phosphate.

La dégradation du glucose par cette voie est rendue possible grâce à l'enzyme fructose-6-phosphate phosphocétolase, qui est particulière aux bifidobactéries et qui scinde le fructose-6-phosphate en acétylphosphate et en érythrose-4-phosphate (Rasic et Kurmann, 1983).

Une étude faite sur 22 souches de bifidobactéries d'origine humaine a démontré que toutes les souches testées possédaient les activités α et β galactosidases et une activité α -glucosidase (Desjardins et al, 1990).

La voie métabolique du fructose-6-phosphate phosphocétolase produit de l'acide lactique et de l'acide acétique comme métabolites primaires en proportion de 2/ 3 (**Scardovi et Trovatelli, 1965 ; DeVries et al, 1967**).

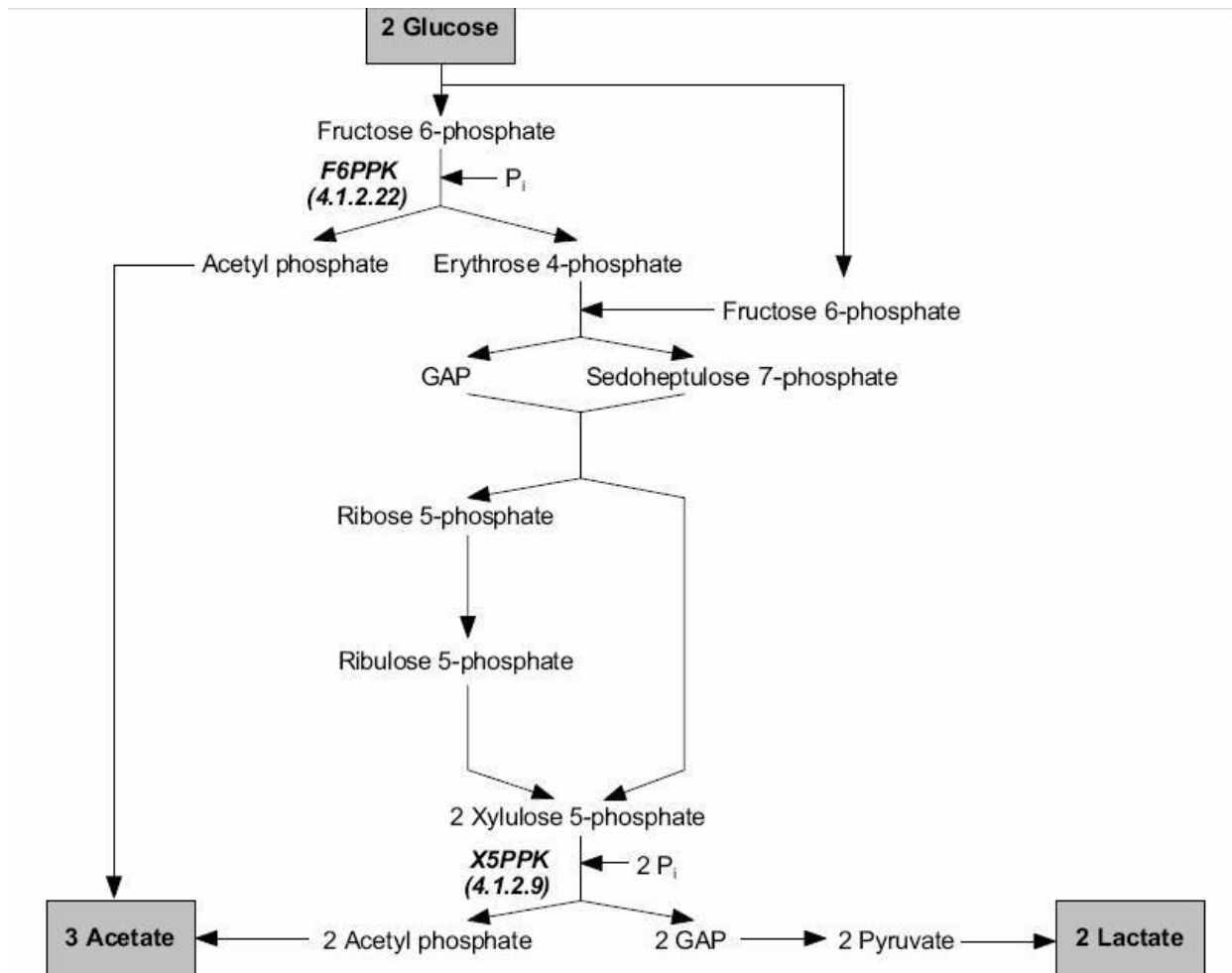


Figure 08: Voie du fructose 6-phosphate ou bifidus shunt (**Scardovi et Trovatelli, 1965 ; DeVries et al, 1967**).

Toutefois, certaines souches de bifidobactéries vont produire plus d'acide acétique et moins d'acide lactique. Le surplus d'acide acétique formé provient d'une autre voie métabolique des bifidobactéries qui convertit le pyruvate en acide formique et en acétate plutôt qu'en acide lactique. Par la suite, une partie de l'acide acétique est transformé en éthanol (**De Vries et Stouthamer, 1968;Lauer et Kandler, 1976**).

II.4.5.2. Métabolisme des vitamines

Les bifidobactéries sont capables de produire des vitamines tels que thiamine (B1), l'acide folique (B9) et l'acide nicotinique (**Tamura 1983 ; Deguchi et al, 1985**).

Les espèces *B.breve* et *B.infantis* excrète un taux trop élevé de l'acide nicotinique et la biotine, de même *B.bifidum* et *B.infantis* possèdent une bonne production des vitamines B1 et B9 (**Tamura ,1983**).

II.4.5.3 Production des substances antimicrobiennes

Chartensis et al, (1998) ont testé la sensibilité de 16 souche de bifidobactéries aux antibiotique la plupart montraient une résistance aux cefoxitine, aztreoname, kanamycine, amikacine, gentamicine, acide fusidique, polymyxine B et une sensibilité aux penecilline, chloramphenicole, eythromycin, bacitracine et rifampicine.

L'activité antimicrobienne du genre *Bifidobacterium* a été détectée en premier lieu par **Tissier 1900**), il a pu dériver plusieurs types des effets antagonistes de *B.bifidum* contre *E.coli*.

Récemment d'autres études décrivent l'activité antagoniste ou l'activité antimicrobienne spécifique des bifidobacteries liées a la production des acides lactique et acétique ou a la production des bactériocines (**Gibson et Wang 1994 ; Yildirim et johnson 1998 ; Yildirim et al.1999 ; Abd El-Salam et al, 2004 ; Bevilacqua et al, 2003 ; Cheikhyoussef et al, 2007 ; Cheikhyoussef et al, 2008**).

II.4.5.4. Bifidobactéries en tant qu'agents aromatisants

Certaines études ont été faites afin de déterminer quels composés aromatiques, résultant du métabolisme des bifidobactéries, étaient responsables du goût particulier des produits faits avec celles-ci. (**Lamoureux, 2000**).

Ainsi, **Yuguchi et al, (1989)**, ont évalué la capacité, de cinq souches de *Bifidobacterium*, de *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* ou de *Streptococcus thermophilus*, en monoculture ou en culture mixte, à produire des composés volatils. IL a été constaté que les espèces *Bifidobacterium longum*, *B.bifidum* et *B. breve* produisaient de petites quantités de composés aromatique tel l'acétaldéhyde, le diacétyle, le 2-butanone et le sulfure de diméthyle.

II.5. Utilisation des bifidobactéries dans les produits laitiers

Bien que les bifidobactéries fassent déjà partie de la flore intestinale indigène chez l'humain, un apport quotidien de bifidobactéries peut être nécessaire pour stimuler ou suppléer la population déjà existante. L'ingestion de bifidobactéries permet aussi de remplacer la flore qui est détruite par des infections ou encore par la prise d'antibiotiques (**Piquet et al, 2007**).

L'incorporation des bifidobactéries s'est faite pour la première fois par **Mayer**, en **1948** en Allemagne. *Bifidobacterim bifidum* a été incorporé à de la nourriture pour bébé qui était prescrite à des enfants ayant des carences nutritionnelles.

Par la suite, en 1968, l'équipe de **Schuler-Malyoth** a démontré que les bifidobactéries pouvaient être cultivées dans les produits laitiers (**Rasic et Kurman, 1983**).

Aujourd'hui, plus de 100 types de produits contenant des bifidobactéries sont retrouvés sur le marché à travers le monde mais plus particulièrement au Japon et en Europe (**Hugues et Hoover, 1991 ; Fuller, 1992 ; Tharmaraj, 2003**) Tableau 14.

Tableau 14: Quelques produits laitiers commercialisés contiennent de Bifidobacterium spp dans different pays (**Lourens-Hattingh and Viljoen 2001**)

Produit	Pays	Culture
Acidophilus bifidus yogurt	Allemagne	A + B + yaourt culture
LC 1	Australie	L. acidophilus +C +B+ yogurt culture
Bifidus yaourt	Plusieurs pays	B. longum + yogurt culture
Bifihurt	Allemagne	B. bifidum or B. longum + yogurt culture
Biobest	Allemagne	B. longum + S. thermophilus
Yoplus	Australie	B. bifidum or B. longum + yogurt culture
Bioghurt	Allemagne	A + B + C + yogurt culture
Philus	Suède	A + B + S. thermophilus
BA live	Grande Bretagne	A + B + yogurt culture
Vaalia	Australie	Lactobacillus +B+ yogurt culture
Kyr Italy	Italie	A + B + yogurt culture
Ofilus	France	A + B + S. thermophilus
Biodynamic yogurt	Australie	A + B + C + yogurt culture
BIO	France	A + B + yogurt culture
Biogarde	Allemagne	A + B + S. thermophilus
Mil-Mil	Japon	A + B + yogurt culture
Cultura	Danemark	A + B + yogurt culture
AKTIFIT plus	Suisse	A + B + L. casei + S. thermophilus
Ski-Divine	Australie	A + B + yogurt culture
ZabAdy	Egypte	B. bifidum + yogurt culture

A = L. acidophilus; B = Bifidobacterium spp; C = L. casei.

En Algérie plusieurs fabricants réclame la présence de *Bifidobacterium spp* dans leur produit commercialisé sur le marché tels que: Danone Djurjura bioactivia, Soummam Acti+, Trèfle probiotic et Djgurta biofide.

II.5.1. Viabilité des bifidobacteries dans les produits laitiers

Pour que l'apport de bifidobactéries soit efficace, certaines conditions doivent être observées. En premier lieu, la consommation de produits contenant des bifidobactéries doit se faire sur une base régulière et ceux-ci doivent contenir un minimum de 10^6 UFC/g de produit au moment de la consommation. Les espèces de bifidobactéries utilisées doivent survivre au passage de la barrière gastrique (**Tamime et al, 1995**).

De plus, la survie des bifidobactéries dans les produits laitiers doit être assurée jusqu'à la consommation du produit par le consommateur. Ainsi, la viabilité des bifidobactéries dépend de plusieurs facteurs parmi lesquels on retrouve le degré d'acidification, l'espèce utilisée, les conditions de fermentations, la température d'entreposage, la post-acidification et les méthodes de conservation (**Kneifel et al, 1993**).

Actuellement, les bifidobactéries sont incorporées aux produits laitiers de deux façons. Les bifidobactéries peuvent être ajoutées aux produits laitiers déjà fermentés ou encore elles peuvent être ajoutés aux bactéries lactiques lors de l'ensemencement (**Roy, 2005**). Lorsqu'elles sont ajoutées au moment de la fabrication du produit, les bifidobactéries sont utilisées en monoculture ou encore en culture mixte avec des bactéries lactiques (**Patel et al, 1991**).

Les espèces de bifidobactéries les plus utilisées dans le domaine laitier sont *Bifidobacterium adolescentis*, *B. bifidum*, *B. breve*, *B. longum*, *B. animalis*, *B. lactis* et *B. infantis* (**Roy, 2005**).

II.5.2. Propriétés thérapeutiques de Bifidobactérie

Lactobacillus et *Bifidobacterium* sont considérés comme des probiotiques organismes. En général, *Lactobacillus* obtient des scores plus élevés dans plusieurs propriétés thérapeutiques que *Bifidobacterium*. Probiotique les organismes sont définis comme des "microorganismes vivants, qui peut produire des effets bénéfiques pour l'hôte et contribuer pour maintenir un équilibre sain dans la microflore de la intestin des humains ou des animaux hôtes ". Il y a suffisamment preuves expérimentales à l'appui de l'opinion selon laquelle l'administration de *Bifidobacterium* est capable de maintenir équilibre normal de la population microbienne dans l'intestin. Dans en plus de leur rôle établi dans le domaine gastro-intestinal thérapie,

les espèces de *Bifidobacterium* sont également censées offrir divers autres avantages nutritionnels et thérapeutiques (voir annexe 01). Ces avantages comprennent les antimicrobiens et les anti-propriétés mutagènes, activité anticarcinogène, réduction du cholestérol sérique, amélioration de la tolérance au lactose, et amélioration des propriétés d'adhérence.

II.6. Génétique des bifidobactéries

II.6.1. Pourcentage en base cytosine guanine de l'ADN

Les bifidobactéries ont un pourcentage en base G+C plus élevé que la plupart des autres espèces bactériennes (**Delcenserie et al, 2002**). Ce taux est en générale supérieur à 55% par rapport aux bases A+T.

Les bifidobactéries sont classer en trois groupes : le premier regroupe les riches en G+C dont le pourcentage est de 55-67%, le deuxième regroupe les pauvre en G+C dont le pourcentage est de 45% et les bifidobacteries ayant un pourcentage de G+C intermédiaire 55% (**Delcenserie et al, 2002**).

II.6.2. Plasmides des bifidobactéries

L'intérêt pour les plasmides des bifidobactéries s'est manifesté en 1982, le groupe de Sgorbati a analysé 1 461 isolats représentant 24 différentes espèces du genre *Bifidobacterium* pour la présence d'ADN plasmidique. Environ 20% des isolats portaient des plasmides. Cependant, ces souches se regroupaient dans seulement 4 espèces : *B.longum*, *B. globosum*, *B. asteroides* et *B.indicum*.

Plusieurs profils plasmidiques ont été établis mais aucun phénotype n'a pu être corrélé avec la présence des plasmides (**Sgorbati et al, 1982**).

Dans une autre étude, un total de 42 souches de *B. breve* ont été isolées de fèces humaines et la présence de plasmides a été observée chez 40% d'entre eux (**Iwata et Morishita, 1989**).

Cinq profils plasmidiques différents ont été mis en évidence chez cette espèce bactérienne (**Iwata et Morishita, 1989**).

II.6.3. Etude de la séquence d'ADN

L'étude de la séquence de l'ADN est un moyen pour pouvoir identifier une espèce bactérienne, mais aussi pour pouvoir étudier le lien de parenté entre des souches appartenant à une même espèce. En ce qui concerne les bifidobactéries certaines régions du génome ont particulièrement été étudiées (**Delcenserie et al, 2002**).

L'étude de la séquence ADN a permis l'analyse du gène codant pour l'ARN ribosomal 16S est un moyen utile pour identifier des relations phylogéniques entre les espèces (**Mangin et al, 1999**).



Chapitre IV :
Probiotiques et prébiotiques

I. Définition des probiotiques

La notion de " probiotiques" a été développée grâce aux travaux de **Metchnikoff (1907)** qui avait constaté que les paysans bulgares, grands consommateurs de laits fermentés, vivaient très vieux et en bonne santé. Ainsi, Metchnikoff avait proposé l'ingestion de bactéries vivantes, particulièrement des bactéries lactiques, pour réduire les désordres intestinaux et améliorer l'hygiène digestive, et donc augmenter l'espérance de vie (**Gournier-Château et al, 1994**).

Le terme probiotique dérive des deux mots grecs " pros" et " bios" qui signifient littéralement "pour la vie". Ce terme a été introduit pour la première fois par **Lilly et Stillwell (1965)** pour décrire des substances produites par un microorganisme et stimulant la croissance d'autres microorganismes.

Depuis, plusieurs définitions ont été données aux probiotiques dépendamment de leurs effets sur la santé et selon la définition adoptée par le groupe de travail mixte formé par l'Organisation des Nations Unies (ONU) pour l'agriculture et l'alimentation et l'Organisation Mondiale pour la Santé (OMS) (**Report of FAO/WHO, 2002**), les probiotiques sont « des microorganismes vivants administrés en quantités adéquates et qui sont bénéfiques pour la santé de l'hôte ».

II. Découverte et historique du développement des probiotiques

La notion des probiotiques a été développée grâce aux travaux de **Matchenikoff (1907)** qui avait suggéré que la longévité des paysans bulgares était directement liée à leur consommation de laits fermentés (**Hadadji, 2007**).

Eli Metchnikoff, chercheur à l'institut Pasteur et prix Nobel en 1908, s'interroge sur l'effet bénéfique procuré sur le corps humain ou animal par la simple ingestion de certains aliments enrichis en microorganismes. Il suggère une dépendance des microbes intestinaux vis-à-vis de l'alimentation, ce qui rend possible une modification de la flore intestinale. Il suffit de « remplacer les microbes dangereux par des microbes utiles » (**FAO/OMS, 2001**).

A cette époque, **Henry Tissier**, pédiatre français, a observé que les selles des enfants souffrants de diarrhée contenaient un petit nombre de bactéries caractérisées par une morphologie particulière en forme de Y. Ces bactéries pourraient être administrées aux patients souffrants de diarrhée pour aider à rétablir une flore intestinale saine.

Metchnikoff et Tissier sont donc les premiers à émettre l'idée d'administrer des micro-organismes exogènes afin de pallier un éventuel dysfonctionnement de notre écosystème intestinal. Ainsi le concept « probiotiques » est né.

III. Définition des prébiotiques

Les prébiotiques sont des substances fermentés cibles il s'agit souvent de petits sucres comme les fructo- et galacto-oligosaccharides, ou encore des fibres, de l'inuline, du lactulose constituant une source d'énergie métabolisable par la flore intestinale, ou une partie de celle-ci (idéalement les bactéries de la flore dont on souhaite favoriser la prolifération et/ou l'activité) ou encore utilisable par les probiotiques administrés par voie exogène (orale) (**Roberfroid ,2007**).

Certains composants de la microflore intestinale, particulièrement les bifidobactéries, sont capables de fermenter des substances essentiellement non digestibles (hydrates de carbone) dans le colon grâce à son pouvoir saccharolytique important (**Kaplan et al, 2000**). Cette propriété permet d'augmenter la croissance ou l'activité des microorganismes spécifiques du tractus gastro-intestinal en influençant positivement la santé de l'hôte.

Les effets bénéfiques générés par ces interactions ont permis le développement du nouveau concept « prébiotiques » (**Roberfroid, 2007**).

IV. Définition des symbiotiques

Un symbiotique est un mélange de probiotiques et de prébiotiques qui affecte positivement l'hôte en améliorant la survie et l'implantation d'espèces microbiennes vivantes apportées sous forme de suppléments alimentaires dans le tractus gastro-intestinal, et, par conséquent, la santé et le bien-être de l'hôte (**Isolauri et al, 2002**).

Le terme symbiotique évoque la propriété de synergie et est réservé uniquement aux produits contenant les probiotiques et les prébiotiques au même temps. Dans ces produits, les prébiotiques stimulent sélectivement la croissance des probiotiques. Par exemple, un produit contenant l'oligofructose et une bifidobactérie probiotique est considéré comme un symbiotique. Cependant, lorsque un *Lactobacillus* probiotique est associé à l'oligofructose, la combinaison ne forme pas un symbiotique (**Schrezenmeir & De-Vrese, 2001**).

Cette différence serait due au fait que les bifidobactéries produisent une grande quantité de β -fructosidases, enzymes capables de dégrader sélectivement la liaison entre les fructoses présents dans l'oligofructose (**Schrezenmeir & De-Vrese, 2001**).

V. Propriétés fonctionnelles des Probiotiques

V.1. Survie des probiotiques dans le tube digestif chez l'Homme

Pour pouvoir exercer leur effet biologique, les probiotiques, ingérés oralement, doivent atteindre l'intestin grêle et le colon vivants et en quantité suffisante.

Cela suppose qu'ils puissent résister à un certain nombre de barrières physiologiques à la colonisation bactérienne digestive, parmi lesquelles la sécrétion d'acide gastrique, les acides biliaires, les peptides antimicrobiens du mucus et ceux sécrétés par certaines cellules intestinales (immunoglobulines a sécrétoires, lactoferrine, lysozyme, etc.) (Dann et Eckmann, 2007; Wehkamp et al, 2007).

Un des premiers critères de sélection des probiotiques sera donc leur survie dans le tube digestif et leur capacité à coloniser le colon, certes de manière transitoire, mais suffisamment longtemps pour pouvoir y exercer leur action. Ce processus de sélection a été à l'origine du développement de méthodes spécifiques d'étude de la survie des probiotiques chez l'Homme (Flourie et Nancey 2007).

V.2. Mécanismes d'action des probiotiques

Les mécanismes d'action des probiotiques sont encore très incomplètement connus. Il est par ailleurs vraisemblable qu'ils varient en fonction du (ou des) probiotique utilise, et peut-être de la dose administrée.

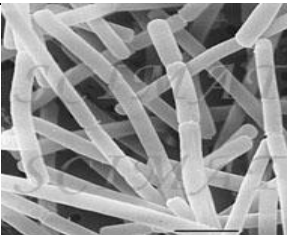
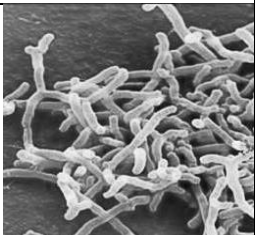
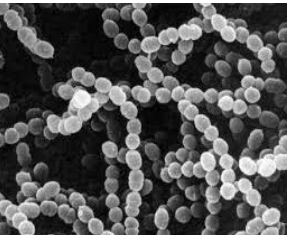
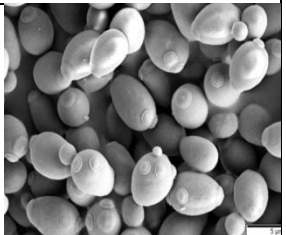
Les effets des probiotiques résultent essentiellement de leurs interactions avec le contenu digestif d'une part, à la fois avec les nutriments présents dans la lumière intestinale et avec les composants de la flore endogène, et avec le contenant d'autre part, principalement les cellules épithéliales intestinales et les cellules immunocompétentes (Backhed et al, 2005).

VI. Principales souches microbiennes à potentiel probiotique

Les souches ou espèces probiotiques sont des composants normaux de la flore intestinale (Dunne et al, 2001). En alimentation humaine, les genres microbiens les plus utilisés comme probiotiques sont *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* et *Streptococcus* (Berg, 1998). Par contre, en alimentation animale de nombreux genres bactériens et fongiques sont utilisés, comme *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Propionibacterium*, *Saccharomyces*, *Aspergillus* et *Torulopsis* (Tannock, 1997).

En général, les souches probiotiques sont sélectionnées prioritairement pour leurs effets bénéfiques et leur sécurité d'utilisation. Le tableau 15 rapporte les microorganismes considérés comme probiotiques (Holzapfel *et al*, 1998; Mercenier *et al*, 2003).

Tableau 15: Espèces utilisées comme probiotiques (Holzapfel *et al*, 1998; Mercenier *et al*, 2003)

<i>Lactobacillus</i>	<i>Bifidobacterium</i>	Autres bactéries lactiques	Non bactéries Lactiques
			
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>Bulgaricus</i>	<i>Bifidobacterium</i> <i>Breve</i>	<i>Streptococcus</i> <i>Thermophilus</i>	<i>Saccharomyces</i> sp.
<i>L. acidophilus</i> <i>L. amylovorus</i> <i>L. casei</i> <i>L. crispatus</i> <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>Bulgaricus</i> <i>L. fermentum</i> <i>L. helveticus</i> <i>L. gallinarum</i> <i>L. gasseri</i> <i>L. johnsonii</i> <i>L. paracasei</i> <i>L. plantarum</i> <i>L. reuteri</i> <i>L. rhamnosus</i> <i>L. salivarius</i>	<i>B. adolescentis</i> <i>B. animalis</i> <i>B. bifidum</i> <i>B. breve</i> <i>B. infantis</i> <i>B. lactis</i> <i>B. longum</i>	<i>Enterococcus Faecalis</i> <i>Enterococcus faecium</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Leuconostoc</i> <i>Mesenteroides</i> <i>Pediococcus</i> <i>Acidilactici</i> <i>Streptococcus</i> <i>thermophilus</i>	<i>Bacillus cereus</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Propionibacterium</i> <i>Freundenreichii</i> <i>Saccharomyces</i> <i>Cerevisiae</i> <i>Saccharomyces</i> <i>Boulardii</i>

VII. Probiotiques et leurs effets bénéfiques sur la santé

Plusieurs études montrés les effets bénéfiques sur la santé ont été associés à la consommation des probiotiques :

VII.1. Probiotiques en pathologie digestive

L'utilisation des probiotiques en thérapeutique a naturellement concerné en premier lieu les maladies de l'appareil digestif, et en particulier les maladies de l'intestin grêle et du

colon ; les travaux en pathologie digestive ont utilisé soit des « probiotiques-aliments » (c'est le cas des produits laitiers fermentés), ou, plus souvent, des « probiotiques-médicaments ». Plusieurs études ont montré l'effet thérapeutique des probiotiques sur les diarrhées aiguës infectieuses et diarrhée compliquant l'antibiothérapie (**De-Vrese et Marteau, 2007**) sur les maladies inflammatoires chroniques intestinales (**Barnich et al, 2007**). Des travaux de plus en plus nombreux suggèrent un intérêt pour les probiotiques dans le traitement de l'infection à *H. pylori* (**Goldman et al, 2006 ; Lesbros- Pantoflickova et al, 2007 ; Falagas et al, 2008**).

VII.2. Probiotiques et immunité

La plupart des travaux sont expérimentaux, *in vitro* ou *in vivo* chez l'animal, et suggèrent que certains probiotiques ont la capacité d'augmenter ou de moduler la réponse inflammatoire et immunitaire (**Matsuzaki et al, 2007**).

En clinique humaine, quelques études suggèrent que les probiotiques pourraient avoir une place dans la prévention et/ou le traitement de l'allergie (**Ouwehand, 2007**).

VII.3. Probiotiques et maladies métaboliques

Peu de travaux ont été consacrés à l'intérêt éventuel des probiotiques en prévention ou dans la prise en charge thérapeutique du diabète, des hyperlipémies ou de l'obésité (**Piquet et al, 2007**). La Figure 09 illustre la diversité des effets bénéfiques sur la santé.

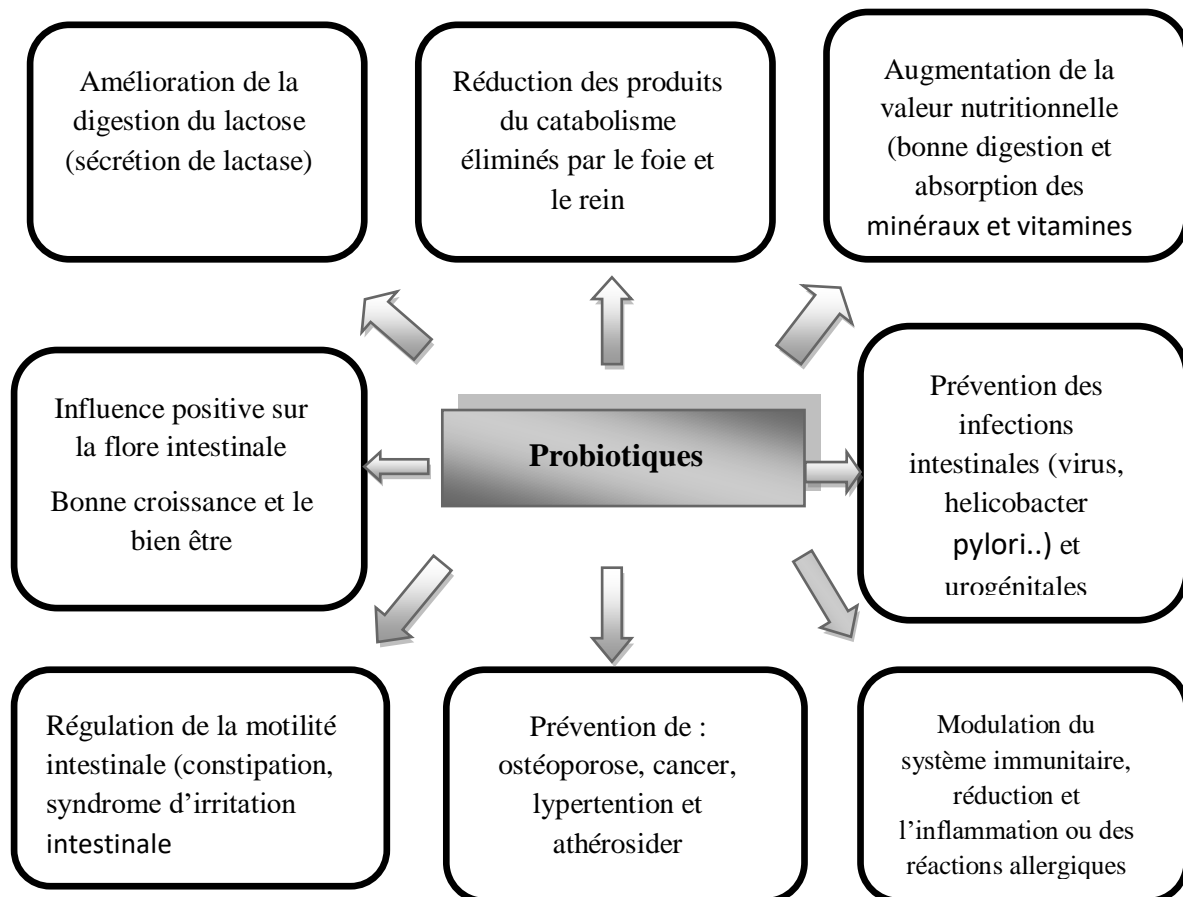


Figure 09: Principaux effets bénéfiques attribués aux probiotiques (Mercenier et al, 2002).

VIII. Effets probiotiques des bifidobactéries

Plusieurs rôles sont attribués à la présence des bifidobactéries. Un des rôles les plus importants des bifidobactéries, est l'adhésion de celles-ci aux cellules épithéliales de l'intestin ce qui permet de créer une niche écologique et ainsi d'empêcher l'invasion de bactéries pathogènes.

Certaines études ont été faites sur l'effet de l'administration de comprimés de bifidobactéries à des gens ayant la diarrhée et il a été remarqué que l'ingestion de ces comprimés aidait à diminuer les symptômes.

L'équipe de **Tojo et al, (1987)** avait remarqué que les personnes atteintes d'entérites causées par *Campylobacter* guérissaient plus vite lorsque des comprimés contenant *Bifidobacterium breve* leur étaient administrés.

Romond et Romond (1989) ont aussi constaté l'effet positif de l'administration d'un lait fermenté avec *B.longum* sur la disparition d'un rota virus. Il a aussi été remarqué que les bifidobactéries ont un rôle nutritionnel car elles produisent des vitamines du groupe B, des

acides aminés tels que la valine, l'alanine, l'acide aspartique et la thréonine (**Rasic et Kurxnann, 1983**).

Il est aussi reconnu que les bifidobactéries ont un effet probiotique qui est imputable à leur métabolisme. Ainsi, il a été reconnu que la présence de bifidobactéries chez l'humain diminuait l'intolérance au lactose puisque les bifidobactéries métabolisent le lactose. De plus, la teneur en lactose des produits laitiers fermentés par des bifidobactéries est moins importante que les produits fermentés sans bifidobactéries ce qui rend ces produits attrayants pour les gens souffrants d'intolérance au lactose. Ainsi, il a été remarqué par **Blanchette et al, (1996)** que la teneur en lactose d'un fromage fait avec *B.infanti.s* était 40% moins importante que pour le fromage sans bifidobactéries, après une journée d'entreposage.

Le même phénomène a été observé par l'équipe de **Roy et al, (1997)** dans le cas de yaourts contenant des bifidobactéries et ceux sans bifidobactéries.

La présence des bifidobactéries permet aussi de réduire le niveau de cholestérol sérique. Les bifidobactéries aident à la déconjugation des acides biliaires, la réduction des nitrosamides et l'inhibition de la réduction des nitrates (**Nagengast et al, 1988 ; Roberfroid, 2000**).

Plusieurs études ont aussi noté que les bifidobactéries pouvaient avoir un effet anticancérigène. Ainsi, certains auteurs ont suggéré que le risque du cancer pouvait être réduit en abaissant le pH de l'intestin car cet abaissement empêcherait la colonisation de l'intestin par les bactéries putréfiantes et aurait pour conséquence la réduction de composés potentiellement carcinogènes tels que les produits phénolés (**Modler et al, 1990**). Or, comme les bifidobactéries produisent de l'acide acétique et de l'acide lactique, il y a un abaissement du pH intestinal (**Modler et al, 1990**).

Partie 02

**Travaux de recherche sur les intérêts et les effets
des Bifidoctéries sur la fermentation du lait**

Article 01
Fermentation du lait par *Lactobacillus*
bifidus

Fermentation du lait par *Lactobacillus bifidus* – bf

C. Dwight Brown et P. M. Townsley

Département des sciences alimentaires

Faculté des sciences agricoles

Université de la Colombie-Britannique

Vancouver, Colombie-Britannique

I. Résumé

Des bactéries du groupe *Lactobacillus bifidus* ont été isolées de prélèvements rectaux obtenus de bébés en sante nourris au sein. Les propriétés fermentescibles de ces bactéries ont été étudiées sur du lait de vache. Les cinq lignées choisies pour une étude poussée ont produit 1.14 à 1.25% d'acide lactique et moins de 0.05% d'acides volatils. Ces organismes se sont multiples rapidement et ont coagule le lait en moins de 24h avec un inoculum de 5%. Apres l'isolation fécale, la croissance bactérienne s'est faite sans condition anaérobique spéciale. Un changement dans la morphologie bactérienne de la forme ramifiée à la forme droite a été accompagne d'un changement dans l'habilité à produire de l'acide lactique. La production de gaz n'a pas été influencée par cette transformation morphologique. On a observe beaucoup de variation parmi les lignées sur le plan de la morphologie, de l'uniformité de la croissance, de la vigueur et de la production d'acide. La population *L. bifidus* chez les bébés caucasiens n'a pas été remarquablement différente de celle chez les bébés natifs d'Inde. Toutes les cinq lignées choisies ont utilise l'inuline, la dextrine, le mannitol et le mélezitose. Une culture de lait fermente de 24 h a donne un produit au gout doux, agréable et nature qui pourrait être modifie à volonté par l'addition d'édulcorants ou de parfums.

II. Introduction

Tissier, en 1908, a été le premier à remarquer la présence d'une microflore unique dans les intestins de bébés allaités en bonne santé. Cette enquête a supposé l'importance physiologique dans la prévention des maladies intestinales et la réduction de la mortalité infantile chez les nourrissons allaités par rapport aux nourrissons nourris au biberon.

Il a été démontré que la présence de *Lactobacillus bifidus* augmente l'efficacité des préparations médicinales contenant des coliformes vivants non pathogènes utilisés pour

Article 01 : Fermentation du lait par *Lactobacillus Bifidus*

réensemencer l'intestin (**Nouvel, 1964**). L'adaptation de la flore intestinale à *L. bifidus* a amélioré la rétention d'azote et augmenté de 400% la teneur en vitamine B6 dans les selles (**Wolf, 1965**). Il a été récemment démontré (**Kaloud et Stogmann, 1968**) qu'un lait de bifidus donné aux prématurés et aux nouveau-nés créait à peine une microflore américaine bifide chez ces nourrissons.

Le but de la présente enquête était de tirer parti de la variabilité de la culture de la bactérie bifidus pour tenter de trouver des souches qui pourraient être cultivées dans le lait de vache. La présente approche ferait du produit fermenté ou d'une culture pure un inoculum massif de *L. bifidus* et, en tant que tel, ne reposerait pas sur la contamination et la sélection naturelles de la présence de bactéries dans l'intestin humain.

III. Matériels et méthodes

III.1. Organismes

Deux souches 11146 et 11147 de *Lactobacillus Bifidus* ont été obtenues auprès de l'American type culture collection.

III.2. Moyen

- Le médium a stimulé la croissance du stock et des souches isolées.
- Le lait cru a été écrémé par centrifugation pendant 20 minutes à 1400 xg puis autoclavé à 15 psi pendant 15 minutes. Tous les milieux stériles ont été conservés à 5°C.
- Dans les cubations ont été réalisées dans un pot anaérobie Gaspak (BBl., 5) qui a fourni la nécessaire anaérobie condition de culture primaire.

III.3. Détermination d'acide

- La méthode de **Barker et Summerson (1941)** a été utilisée pour les déterminations d'acide lactique, Les acides volatils ont été déterminés par la méthode suivante.
- Une petite partie aliquote de lait fermenté a été pesée et lavée dans un appareil de distillation à la vapeur micro-kjeldahl.
- Une goutte d'anti mousse (**Dow Corning Antifoam AF Emulsion**) a été ajoutée et le pH a été réduit à moins de pH 1,0 avec 10% de H₂SO₄ •
- Cinquante ml du distillat a été recueilli et titré avec NaOH 0,05 N en utilisant l'indicateur, la phénolphtaléine.

Article 01 : Fermentation du lait par *Lactobacillus Bifidus*

- Des quantités standard d'acide acétique ajoutées au lait écrémé pourraient être récupérées quantitativement en utilisant cette méthode.

III.4. Teste de catalase

- La catalase a été mesurée par une version modifiée de la méthode **Merchant et Packer (1944)**.
- À 0,5 ml de sédiment bactérien à partir de 24 heures la culture a été ajoutée 10 ml de lait contenant 1 ml de 3% H₂O₂.
- Le tube à vis a été rempli jusqu'au sommet avec de l'eau distillée, Boucher le tube
- Retourné dans un portoir support et incubé à 37 ° C pendant 3 heures.

Remarque : Les bouchons n'étaient pas serrés pour que le lait déplacé par l'O₂ dégagé puisse s'écouler par le fond du tube.

- ❖ L'activité de la catalase a été déterminée par la présence d'oxygène gazeux piégé dans les tubes inversés.

III.5. Sous-culture

- En utilisant une pipette stérile, 0,1 ml du sédiment a été transféré pendant 48 h dans un nouveau milieu.
- Après, cette culture été incubé pendant 24 heures

Pour minimiser le transfert du milieu de Gyorgy modifié pour des expériences sur l'utilisation du sucre

- Les cellules ont été centrifugées aseptiquement à 3000 x g pendant 10 min.
- Puis lavées une fois dans 5 ml une solution saline physiologique stérile et finalement remise en suspension dans 5 ml de solution saline.
- Inoculation de 0,5 ml de cette suspension bactérienne constituée à 10% d'inoculum.

III.6. Fermentation du Sucre

Le milieu de Gyorgy modifié sans lactose ajouté a été préparé contenant la source de carbone à une concentration finale de 1,75%, puis autoclavé.

- Après l'inoculation, le milieu a été incubé pendant 48 heures à 37 ° C.
- L'acidité totale a été mesurée par titrage avec NaOH 0,1 N en utilisant la phénolphtaléine comme indicateur.
- La croissance a été estimée par turbidité visuelle.

III.7. Isolation de *Lactobacillus bifidus*

- Les bactéries fécales présentes sur les prélèvements rectaux de nourrissons en bonne santé allaités âgés de 15 jours à 5 mois ont reçu dilution appropriée (10^4 à 10^5) dans une solution saline stérile et cultivées en utilisant la méthode de la plaque de gélose (Standard Methods for Examination of Dairy Products 12 éd., 1967) dans le pot anaérobie Gaspak.
- Un total de 31 prélèvements rectaux ont été traités de cette manière.
- Les souches ATCC 11146 et 11147 se sont bien développées dans ces conditions. Toutes les incubations duraient 48 heures à 37 ° C.
- Vingt colonies ont été sélectionnées au hasard à partir de cultures sur plaques pour chaque échantillon fécal et inoculées dans des cultures en bouillon contenant du bromocrésol vert.
- Cinq souches de bactéries souhaitables ont été sélectionnées au cours de la 3ème à la 7ème sous-culture sur la base d'une coloration Gram positive et d'une morphologie bifide, sur la capacité à coaguler le lait écrémé stérilisé, et sur la capacité à produire des acides organiques (en particulier l'acide lactique) et non gaz de lactose. Les cinq souches ont été repiquées 20 fois supplémentaires et des changements de morphologie et de production d'acide ont été notés.
- Les déterminations d'acide lactique ont été effectuées lorsque les bactéries avaient la morphologie de ramification et également après avoir perdu leur capacité à se ramifier. La teneur en acide volatil, l'activité catalase et les sucres fermentescibles n'ont été effectués que sur ces derniers.
- Ensuite ces souches ont été classées en fonction des sucres qu'elles pouvaient utiliser selon le manuel de Bergey (éd. 1957).

Le lactose, le dextrose, le galactose, le saccharose, l'arabinose, la xylose, le maltose, l'inuline, la dextrine, l'amidon, le mannitol et le mélézitose ont été utilisés dans ce test.

IV. Résultats et discussion

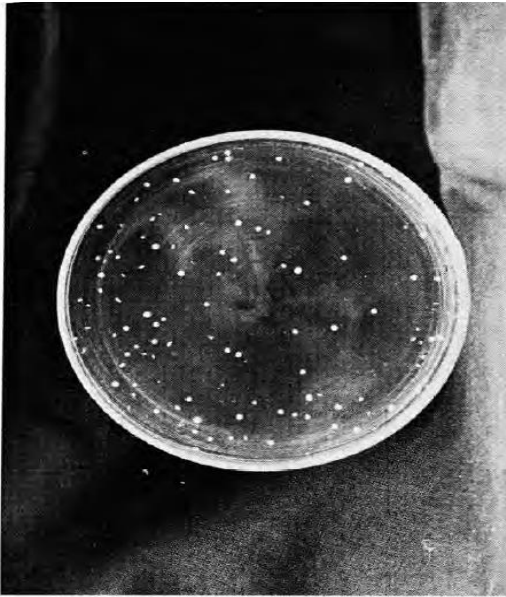


Fig10 Des cultures de quarante-huit heures de bactéries bifides montrent une variabilité morphologique des colonies.

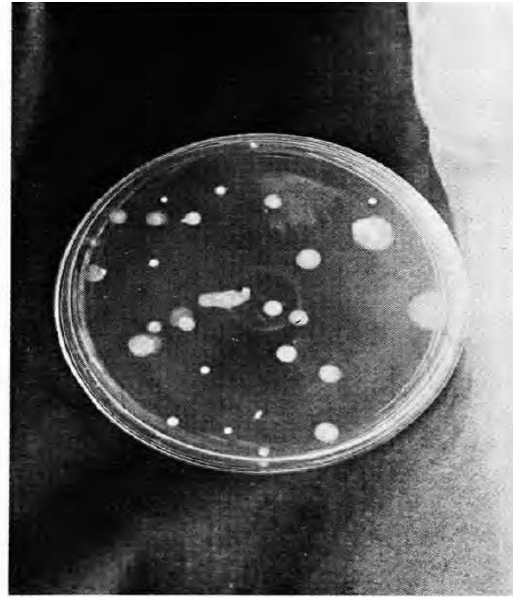


Fig11 Cultures de quarante huit heures de bactéries bifides montrant variabilité morphologique des colonies

1. La culture primaire des organismes dans le milieu de Gyorgy modifié a montré une variation dans la taille et la morphologie des colonies.
2. Les colonies variaient en taille 0.7 et 12 mm de diamètre.
3. La vitesse de croissance des colonies sur les plaques reflétait leurs taux de croissance dans les tubes de bouillon.

Article 01 : Fermentation du lait par *Lactobacillus Bifidus*

Tableau 16 : Schéma d'isolement pour la sélection de souches de bactéries souhaitables dans les intestins des nourrissons allaités

N° tube	Première isolation			1 ^{ère} sous-culture		2 ^{ème} Sous-culture		3 ^{ème} Sous- culture		
	Souche	PH	crois	morphologie	PH	crois	PH	crois	PH	crois
AVII4	5.2	Ex °		Ramifié	5.2	Ex	5.4	Ex	5.1	Ex
AVII5	5.2	Ex		Ramifié	5.2	Ex	5.3	Ex	5.2	Ex
AVII8	5.1	Ex		Ramifié	5.2	Ex	5.2	Ex	5.1	Ex
AVII9	5.0	Ex		Ramifié	6.0	P	Mis au rebut			
AVII10	5.2	Ex		Ramifié	5.7	Ex	5.4	Ex	5.3	Ex
AVII17	5.5	Ex		Ramifié	6.0	Ex	5.2	Ex	6.0	Ex
AVII19	5.3	Ex		Ramifié	5.2	Ex	5.3	Ex	5.2	Ex

° Mesures de croissance effectuées arbitrairement par comparaison visuelle.

Ex = excellent, p = médiocre

Crois= croissance

- La capacité d'une culture à produire de l'acide varie considérablement.
- La production d'acide n'était pas nécessairement fonction du taux de croissance.
- Dans tous les cas, les bactéries se sont colorées à Gram positif et aucune des souches n'a produit de gaz.

Article 01 : Fermentation du lait par *Lactobacillus Bifidus*

Tableau 17 : Acide lactique produit par des souches ramifiées et non ramifiées de bactéries bifides dans un milieu de Gyorgy modifié

Souche	Morphologie	% Acide lactique
VIII6	Ramifié	0.58
VIII8	Ramifié	0.50
VIII14	Ramifié	1.46
VIII16	Ramifié	1.44
XIII17	Ramifié	1.65
AIII13	Quelques ramifications	1.52
AIII11	Tiges courtes et courbées	1.54
AVI7	Tiges pléomorphes granulaires	0.52
AVI13	Tiges pléomorphes granulaires	0.57
AVI20	Tiges pléomorphes granulaires	0.59
XI5	Bâtonnets pléomorphes	1.67
XI11	Tiges droites	1.86
XI20	Bâtonnets pléomorphes	1.70
AIII15	Tiges courtes et courbées	1.45

- ✓ L'analyse de l'acide lactique a indiqué que la quantité d'acide produite n'était pas fonction de la morphologie bactérienne, car les souches ramifiées et non ramifiées produisant à la fois de grandes et de petites quantités de lactase.
- ✓ Cependant, lorsqu'un changement morphologique se produit en culture, il y a un changement d'accompagnement dans la production d'acide.

Article 01 : Fermentation du lait par Lactobacillus Bifidus

Tableau 18 : Variation de la quantité d'acide lactique produite avec le changement de morphologie chez Lactobacillus bifidus.

souche	Morphologie au 7 ^{ème} transfert	% Acide lactiq ue	Morphologie Au 20 ^{ème} transfert	% Acide lactique	% Acide volat- ile
AXI8	très ramifié	0.79	tiges courtes et courbées	1.24	0.05
AVII8	très ramifié	0.54	pleo. et tiges pliées	1.26	0.05
AV17	pleo. Et ramifié	0.60	pleo. et tiges pliées	1.20	0.05
AII13	tiges pliées, chaînes	1.38	tiges pliées	1.14	0.05
AI6	pleo. tiges	1.47	pleo. et tiges pliées	1.23	0.05

Can. Inst. Technologie alimentaire. J. Vol. 3. No 4, 1970

*Les résultats indiquent que lorsque les 3 souches ramifiées se sont transformées en bâtonnet pléomorphes ou courbés, il y avait un changement d'accompagnement dans la production d'acide.

*Des augmentations d'environ 60 à 225% d'acide lactique ont été observées (souches AVI6, AVII8 et AV17). Tandis que les autres souches (sous forme non ramifiée) diminué légèrement.

*On peut également noter que bien qu'aucune mesure d'acide volatil n'ait été prise alors que les bactéries étaient encore sous forme ramifiées.

*La quantité d'acides volatils formés par ces souches après la perte de ramification était très faible, comme le montre le tableau 18. Là encore, ces souches sont assez différentes de ceux rapportés dans la littérature car ces derniers ont été déclarés produire 18 à 25% des acides totaux comme acides volatils.

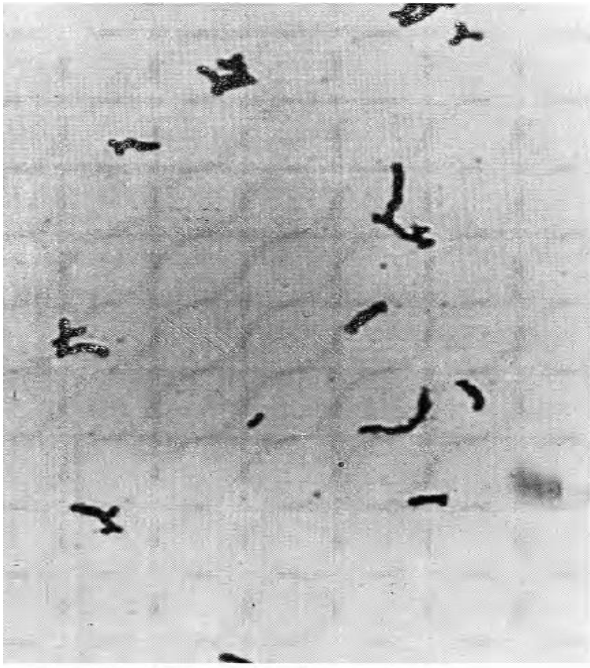


Fig. 12: Souche AXI6 dans sa morphologie ramifiée.

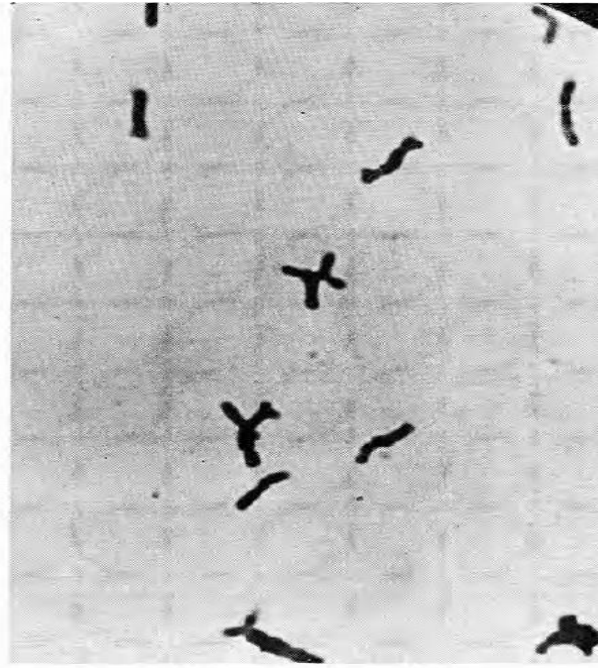


Fig13 : Souche AVII8 dans sa morphologie ramifiée.



Fig14 : Souche AV17 dans sa morphologie ramifié J. Inst. Pouvez. Techno!. Aliment.

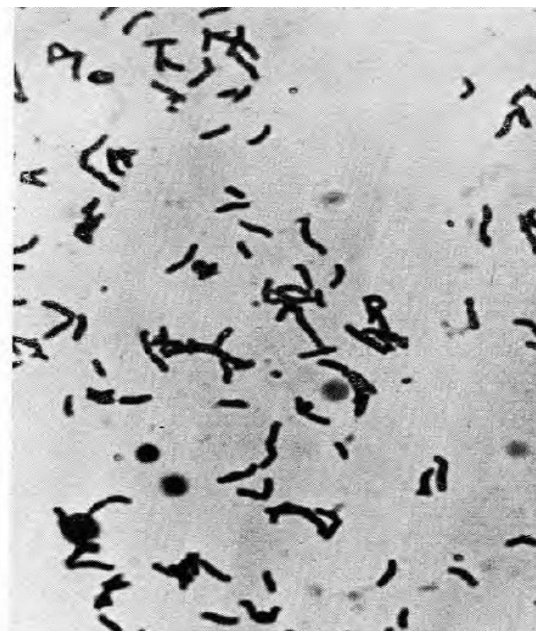


Fig15 : Souche AII3 dans sa morphologie ramifiée.

Vo !. 3, n ° 4, 1970



Fig.16 Souche AI6 dans sa morphologie ramifiée.

*Les plaques 12 à 16 montrent les souches AX16, AVII8, AV17, AII13 et A16 respectivement dans leurs morphologies ramifiées dans le support.

*Les deux formes bactériennes, ramifiées et non ramifié, a bien poussé dans le milieu de Gyorgy modifié et dans le lait de vache.

Article 01 : Fermentation du lait par *Lactobacillus Bifidus*

Ces résultats (voir annexe 02) montrent que :

- La quantité d'acide est donnée en ml de NaOH 0,1 N nécessaire pour titrer 10 ml. de milieu épuisé corrigé par rapport à un milieu non ensemencé.
- Les bactéries isolées dans cette enquête sont étroitement conformes aux bactéries *lacobacillus Bifidius* sur la base de sucre fermentescibles.
- Le tableau montre que les bactéries utilisaient tous les sucres testés, à l'exception de la souche AVII8 qui ne pouvait pas fermenté l'amidon.
- Toutes les cinq lignées choisies ont utilisé l'inuline, la dextrine, le mannitol et le mélézitose.
- Les chercheurs ont rapporté que les bactéries bifides sont fastidieuses et assez difficiles à cultiver, mais l'expérience de ce laboratoire montre que les cinq souches ci-dessus se développent facilement, en effet, à la fois dans le milieu de Gyorgy modifié et dans le mille de vache. Des souches isolées ont coagulé du lait cru autoclaver et frais même à des températures inférieures à 37 ° C.
- La viabilité des bactéries peut être maintenue pendant au moins 4 jours à 37 °C, temps pendant lequel le pH est inférieur à 4,5.
- Les souches AVII8, AV17 et AII 13 en particulier utilisent le saccharose dans une mesure très limitée pour la production d'acide (voir annexe 02) et ne modifierait probablement pas les composés aromatisants contenant du saccharose ajoutés.
- Le produit contient un arôme naturel acceptable, très doux, qui pourrait être modifié avec divers agents sucrants ou additifs d'arôme selon la demande du marché.

Article 02

**Utilisation de Bifidobacterium bifidum dans la fabrication
du lait de bifidus et de son activité antibactérienne**

Utilisation de *Bifidobacterium bifidum* dans la fabrication du lait de bifidus et de son activité antibactérienne

AK Misra, RK Kuila

Département de bactériologie laitière, Bidhan Chandra Krishi Viswavidyalaya

(WB Agriculture University), Mohanpur 741 252, Nadia, Bengale occidentale, Lodia

(Reçu le 8 avril 1991; accepté le 21 octobre 1991)

I. Résumé

Un lait au bifidus a été préparé industriellement par addition de 10% d'inoculum de *Bifidobacterium bifidum* NORI à 9% de lait écrémé reconstitué (0,5% de matière grasse, 8,7% de matière sèche non grasse) chauffé à 95 °C/30 min, et incubé à 37°C pendant 18 h. Le produit présentait toutes les propriétés technologiques et diétiques requises pour un produit de qualité. L'effet de plusieurs facteurs influençant l'activité antibactérienne du lait au bifidus contre 4 types de microorganismes, à savoir *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*, a été déterminé. Une variation significative ($P < 0,05$) de l'activité antibactérienne du lait au bifidus était observée entre les différents types de lait (lait écrémé reconstitué, lait de vache, lait de bufflesse, lait infantile reconstitué) et entre les traitements thermiques. Le lait écrémé reconstitué était recommandé pour la préparation de lait au bifidus. Le chauffage du lait à des températures de stérilisation ou à 95 °C/30 min avait l'effet maximal sur l'activité antibactérienne. Par contre, les niveaux d'inoculation (5, 10 et 15%) et la teneur en sucre n'avaient pas d'influence significative ($P > 0,05$). L'activité inhibitrice maximale était observée avec une incubation à 37°C. Après 3 semaines de conservation au réfrigérateur, le goût et le niveau de population microbienne (1 ufc/g) du lait au bifidus étaient considérés comme satisfaisant aux critères requis pour l'alimentation infantile.

II. Introduction

La microflore bifodogène a été étudiée dans divers pays en vue de leur utilisation dans la fabrication de divers produits fermentés produits laitiers, fromages frais et laits secs pour la nutrition humaine.

La technologie de la culture du bifidus dans l'industrie de la transformation du lait et l'utilisabilité de la culture du bifidus dans la fabrication de laits fermentés ont été décrites pour la première fois par **Schuler-Malyoth et al (1968)**.

La présente communication comprend un rapport sur la préparation du lait de bifidus et une évaluation de son activité antibactérienne ainsi que de son acceptabilité pour les consommateurs.

III. Matériels et méthodes

III.1. Source et entretien des cultures

- Bifidobacterium bifidum NORI a été obtenu et les cultures d'organismes pathogènes testés, tels que Bacillus cereus, E. coli, Shigella dysenteriae et Staphylococcus aureus ont été obtenues auprès de la Collection nationale d'organismes laitiers, Institut national de recherche laitière, Karnal, Inde.
- B.bifidum a été conservé dans du lait écrémé stérile supplémenté avec 1% de dextrose et 0,1% d'extrait de levure.
- Les cultures de tests pathogènes ont été maintenues sur des fentes d'agar nutritif (Oxoid) et activées par 3 transfusions consécutives à 24 h d'intervalle dans un bouillon nutritif.

III.2. Préparation du lait de bifidus

La méthode de **Nahaisi et Robinson (1985)** a été adoptée avec des modifications mineures pour préparer une boisson destinée à la consommation directe par l'alimentation artificielle des nourrissons.

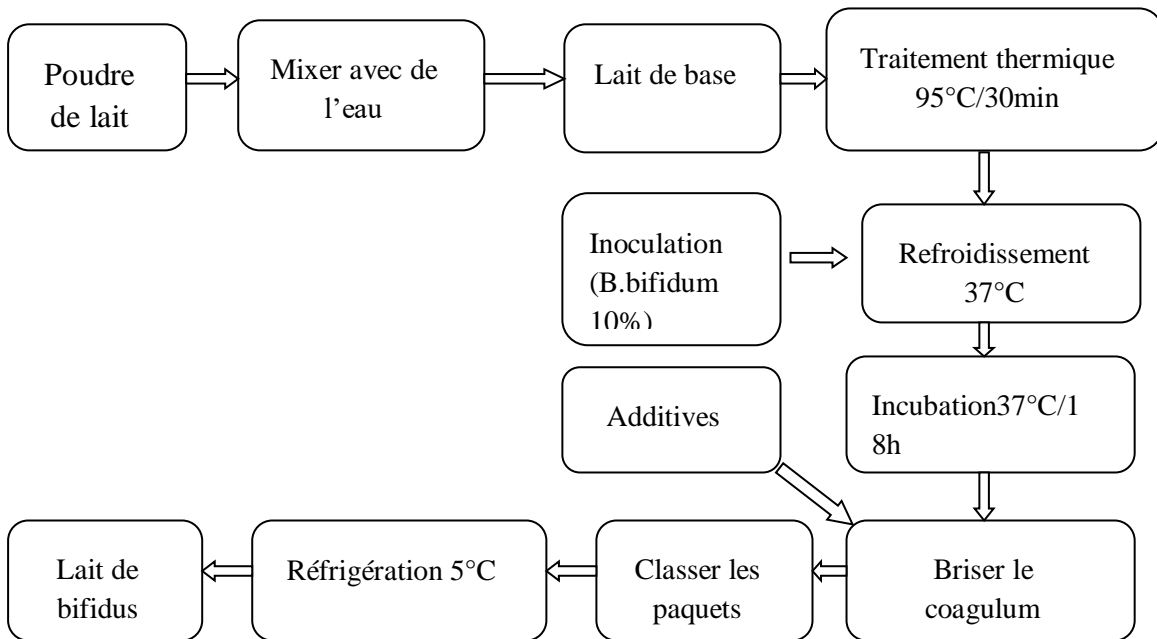


Figure 17 : Diagramme schématique de fabrication de lait fermenté au bifidus.

L'influence de certains facteurs tels que:

- 1) Le type de lait, c'est-à-dire le lait écrémé reconstitué, le lait de vache, le lait de bufflonne et les préparations pour nourrissons reconstituées.
- 2) Traitement thermique, soit 121 ° C pendant 15 minutes, 85 ° C pendant 30 minutes, 95 ° C pendant 30 minutes et à la vapeur pendant 30 minutes.
- 3) La taille du pollen, c'est-à-dire 2,5, 10, 15 et 20%.
- 4) Température d'incubation, c'est-à-dire 32, 37, 40 et 45 ° C.
- 5) Concentration en saccharose, soit 0, 6, 8 et 12%.
- 6) Stockage à température de refroidissement (5-8 ° C) pendant 3, 10, 17, 24 et 30 jours.

L'activité antibactérienne du lait de Bifidus préparé par Bifidobacterium bifidum NORI (National Oairy Research Institute) a également été examinée.

III.3. Analyse

-Les produits laitiers Bifidus ont été analysés pour :

- 1) l'acidité titrable (**ISI, 1960**).
- 2) l'acidité volatile (**Hempeniens et Liska, 1968**).
- 3) l'acide lactique (**Barker et Summerson, 1941**).

4) l'activité protéolytique (**Hull, 1947**) et la combinaison de diacétyl et d'acétoïne (**King, 1948**).

-L'activité antibactérienne du produit a été estimée par la technique de test de cup agar modifiée (**BSI, 1968**).

-Les filtrats de culture ont été recueillis par centrifugation à 3 000 tr / min pendant 15 à 20 min.

-Des puits de 5,0 mm de diamètre ont été réalisés sur de la gélose nutritive solidifiée (ensemencée avec les organismes d'essai pathogènes) dans chaque plaque, en utilisant un foreur creux stérile.

-A l'aide d'une pipette sérologique stérile, 0,05 ml de l'extrait acellulaire a été transféré dans différents puits.

-Les plaques ont été incubées sans inversion à 37 ° C pendant 18 à 24 heures.

-Les diamètres des zones d'inhibition formées autour des puits ont été mesurés.

Les résultats ont été statistiquement analysés pour l'analyse de la variance selon la méthode de **Snedecor et Cochran (1967)**.

Lait sucré bifidus, ont été soumis à une évaluation sensorielle par un panel de 7 juges utilisant l'échelle hédonique à 9 points (**Amerine et al, 1967**) et analysés statistiquement par classification à 2 voies.

IV. Résultats et discussion

IV.1. Caractéristiques du produit

Le produit final avait :

- ✓ Une acidité titrable de 0.78 à 0.86%.
- ✓ Une acidité volatile de 1.9 à 2.2 ml.
- ✓ Une acidité protéolique de 30 mg% de tyrosine.
- ✓ Une saveur légèrement acide et comptage viable de 4×10^9 Ufc/ml.
- ✓ Le produit a également montré une activité antibactérienne souhaitable contre les 4 microorganismes (*E.coli*, *Shigella dysenteriae*, *S.aureus* et *Bacillus cereus*).

Article 02 : Utilisation des Bifidobactérium dans la fabrication du lait et son activité antibactérienne

- ✓ Le critère le plus important définissant l'utilité du lait de Bifidus pour la thérapie intestinale est la capacité de Bifidus à être implanté avec succès dans l'intestin.
- ✓ Le pourcentage d'inoculum de Bifidocatéries utilisé par nombreux travailleurs variait entre 2 et 5%.

IV.2. Effet de certains facteurs sur les antibactériennes activités du lait de Bifidus

IV.2.1. Effet du type de lait

Tableau 19 : Effet de différents types de lait sur l'activité antibactérienne du lait fermenté au bifidus +

Type de lait	Graisse (%)	SNF (%)	Acidité (% AL)	Diamètre de la zone d'inhibition (en mm)			
				E Coli	Shigella dysenteriae	staphylococcus aureus	bacillus cereus
Lait écrémé reconstitué	0.5	8.7	0.86	11	11	8.5	10.5
Lait de vache	3.5	8.5	0.81	11.5	8.5	8.0	9.5
Aliments pour nourrissons reconstitués	3.3	8.7	0.83	8.0	8.5	6.0	9.0

+ Inoculé avec 10% de levain et incubé à 37°C pendant 48 h. •: incluant le diamètre du puits (5 mm); SNF: matière sèche non grasse; (0,05 ml de surnageant ajouté dans le puits)

- Une variation significative ($P < 0.05$) de l'activité antibactérienne du lait au Bifidus était observée entre les différents types de lait (lait écrémé reconstitué, lait de vache, lait infantile reconstitué) et entre les traitements thermiques.

IV.2.2. Effet de traitement thermique

Tableau 20 : Effet du traitement thermique du lait sur l'activité antibactérienne du lait fermenté au bifidus+.

Type de traitement thermique	acidité (% AL)	Nombre total de cellules (ufc / ml)	Diamètre de la zone d'inhibition (en mm)			
			E Coli	Shigella dysenteriae	staphylococcus aureus	bacillus cereus
Stérilisation 121°C, 15 psi /min	0.87	14x10⁸	11.5	11.5	8.5	11.0
Vaporisation 30 min	0.84	1x10⁸	8.5	11.0	9.0	10.0
95°C/30min	0.91	10x10⁸	11.0	11.0	8.5	10.50
85°C/30 min	0.85	11x10⁸	8.5	8.5	8.0	9.0

+ Lait écrémé (0.5% matière grasse. 8.7% matière sèche non grasse) inoculé avec 10% de levain et incubé à 37 °C pendant 48 h. • incluant le diamètre du puits (5 mm) (0.05 ml de surnageant ajouté dans le puits).

- Le chauffage du lait à température de stérilisation ou à 95°C/30min avait l'effet maximal sur l'activité antimicrobienne.

IV.2.3. Effet des niveaux d'inoculum et l'addition de sucre

- L'activité antibactérienne contre les 4 organismes d'essai était presque idem aux niveaux de 5, 10 et 15% d'inoculum.
- Observations similaires pour 1, 2 et 3% inoculum de L.acidophilus ont été signalés par **Gandhi (1978)**. Il a été observé que lorsque le niveau d'addition de sucre augmentait, il n'y avait pas de variation significative de l'activité antibactérienne (P> 0,05).

IV.2.4. Effet de température d'incubation

L'activité inhibitrice maximale était observée avec une incubation à 37°C. (Tableau 21)

Tableau 21: Effet de la température d'incubation sur l'activité antibactérienne du lait fermenté du bifidus

Température d'incubation	acidité (% AL)	Diamètre de la zone d'inhibition (en mm)			
		E Coli	Shigella dysenteriae	staphylococcus aureus	bacillus cereus
32	0.56	-	7.5	-	8.0
37	0.86	8.5	10.0	8.0	8.0
40	0.71	8.0	-	-	10.0
45	0.65	-	-	-	6.5

+ Lait écrémé inoculé avec 10% de levain et incubé pendant 48 h; • incluant le diamètre du puits (5 mm);

- : pas d'inhibition observée; (0.05 ml de surnageant ajouté dans le puits).

IV.2.5. Effet de stockage à température de réfrigération

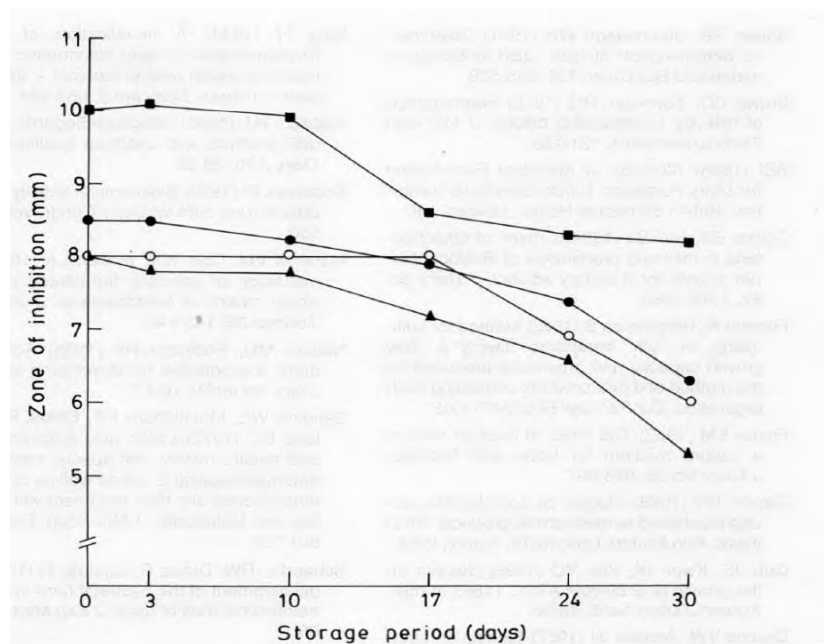


Figure 18 : Effet de la conservation au réfrigérateur sur l'activité antibactérienne du lait fermenté au bifidus.

- E coli;
- Shigella dysenteriae;
- ▲ Staphylococcus aureus;
- Bacillus cereus.

Après 3 semaines de conservation au réfrigérateur le gout et le niveau de population microbienne (10^8 ufc/g) du lait au Bifidus étaient considérés comme satisfaisant aux critères requis pour l'alimentation infantile.

V. Conclusion

Des études d'évaluation sensorielle ont révélé que le lait de bifidus sucré était préféré au lait de bifidus normal. Ainsi, la consommation directe de lait de bifidus sucré peut être recommandée pour les nourrissons au biberon dans le but de fournir des cellules viables adaptées à une implantation intestinale.

Article 03 :
Études comparatives sur la fabrication
d'Acidophilus, Bifidus et Laits Acido-bifidus

Études comparatives sur la fabrication d'Acidophilus, Bifidus et Laits Acido-bifidus

N. Moayednia ^{a*}, A. F. Mazaheri ^a

Département des sciences et technologies alimentaires, Faculté de génie industriel et mécanique, Qazvin Branche, Université islamique d'Azad, Qazvin, Iran.

I. Résumé

L '«Encyclopédie du lait frais fermenté» a classé les laits Acidophilus et Bifidus comme produits laitiers fermentés non traditionnels. Ces produits contiennent respectivement *Lactobacillus acidophilus* et *Bifidobacterium spp*, Connus sous le nom de micro-organismes probiotiques. Dans cette étude, certains aspects du développement de l'acidité, de la mesure du pH et du nombre de bactéries ont été surveillés lorsque ces micro-organismes étaient cultivés dans le lait. Les cultures starter de *L. acidophilus* La-5 et *Bifidobacterium lactis* Bb-12, obtenues auprès de Chr. Hansen au Danemark, ont été chacun inoculés à raison de 0,01 g 100 ml⁻¹ dans du lait UHT et incubés à 37 ° C pendant une durée de 5 h (laits Acidophilus et Bifidus). La même procédure a été réalisée avec les mêmes taux d'inoculation des deux démarreurs mentionnés que la culture mixte (lait Acidobifidus). Les mesures d'acidité titrable et les valeurs de pH des laits fermentés de souches individuelles étaient similaires, mais le goût acidulé du lait Acido-bifidus de la culture de démarrage mixte était plus tangible par rapport aux deux autres produits fermentés.

Mots clés: Lait *Acidophilus*, Lait *Acido-bifidus*, *Bifidobacterium lactis*, Lait Bifidus, *Lactobacillus acidophilus*.

II. Introduction

De nos jours, les aliments probiotiques sont fermement implantés sur le marché des pays industrialisés (Gibson et al, 2000; Menrad et al, 2000; Sanders et Huis in't Veld, 1999). Ici, ils constituent une part importante des produits laitiers fermentés, alors que le nombre de produits non laitiers augmente. Compte tenu des enjeux et des perspectives de la recherche sur les probiotiques, notre point de vue sur la technologie alimentaire, la microbiologie alimentaire et l'introduction de nouveaux aliments (Hammes et Hertel, 2002) et constituant certains produits de culture appliqués par les bactéries lactiques (LAB), en particulier les lactobacilles et les bifidobactéries, en tant que cultures probiotiques (Richardson, 1999),

sont des affaires importantes. La consommation de ces produits a le potentiel de faciliter la digestion du lactose (Vesa *et al*, 1996), de prévenir la diarrhée du voyageur (Oksanen *et al*, 1990), de réduire la durée de la diarrhée à rotavirus (Guarino *et al*, 1998), pour exercer une activité antitumorale (Kato *et al*, 1994), pour renforcer l'activité du système immunitaire (Meydani *et al*, 2000) et pour aider à contrôler le cholestérol sérique (Gilliland *et al*, 1985).

Dans ce travail de recherche, certains aspects de la fabrication de trois boissons lactées probiotiques, en utilisant deux des souches uniques de cultures de démarreur probiotiques commerciales, ont été comparés les uns aux autres.

III. Matériels et méthodes

- Deux souches probiotiques appliquées, *Lactobacillus acidophilus* et *Bifidobacterium lactis* avec les noms commerciaux de La-5 et Bb-12, respectivement, ont été fournies par Christian Hansen au Danemark et ont été lyophilisées.
- Ces deux souches ont été ajoutées au lait UHT à raison de 0,01% P / V séparément et sous forme conjointe pour préparer respectivement les laits Acidophilus (A), Bifidus (B) et Acidobifidus (AB).

Remarque : L'inoculation a été réalisée à 37°C, puis les laits inoculés préparés ont été transférés dans un incubateur à 37°C pendant une période d'incubation de 5 h.

IV. Analyse microbienne

1. Analyser chaque échantillon microbiologique à 0, 2, 4 et 5 h après l'incubation.
2. Diluer un ml de chaque échantillon de manière aseptique dans 9 ml de solution de Ringer et après préparation, des dilutions en série appropriées pour chaque échantillon et le nombre de microorganismes vitaux ont été dénombrés en utilisant la technique de la plaque coulée.
3. Appliquer MRS-agar avec des incubateurs aérobies et anaérobies, à 37°C pendant 72 h, respectivement pour dénombrer la teneur en *L.acidophilus* des échantillons A et AB et la teneur en *B. lactis* de l'échantillon B.
4. Lors du pré-dénombrement d'un nombre vital de bactéries *B.lactis* dans l'échantillon AB, des milieux MRS-NNL (néomysine sulfate, acide nulidixique et chlorure de lithium) (Laroia *et Martin*, 1991) ont été utilisés avec les conditions d'incubation anaérobie susmentionnées.

5. Après incubation, le nombre de colonies bactériennes a été compté entre 30 et 300 et les résultats ont été exprimés en nombre de bactéries par millilitre (Ufc/ml) d'échantillons.
 - Les données présentées sont la moyenne des résultats obtenus à partir de doubles panels d'échantillons analysés en ufc / ml.

V. Analyse chimique

- L'acidité titrable et les valeurs de pH des échantillons ont été mesurées à des intervalles de temps régulés au cours de la période de fermentation.
- Les valeurs de pH des échantillons ont été mesurées à 20-25°C en utilisant un pH-mètre Crison après étalonnage avec des tampons standard et l'acidité titrable a été déterminée par titrage de 10 ml d'échantillons avec 0,1 N NaOH en utilisant une phénolphthaléine à 0,5% comme indicateur à la fin point de couleur rose pâle.

VI. Évaluation sensorielle

- Pour l'évaluation du niveau d'acceptabilité de ces laits produits, de tels goûts, selon le test de graduation unidirectionnel, un questionnaire a été conçu et avec les laits A, B et AB et le lait UHT (comme contrôle) ont été remis à 20 évaluateurs comme groupe d'évaluation.
 - Les résultats extraits des questionnaires étaient statistiquement (**Kramer, 1966**) analysés.

VII. Analyses statistiques

- Toutes les expériences et analyses ont été effectuées en triple ordre.
- Toutes les données ont été analysées à l'aide d'une analyse unidirectionnelle de la variance et des procédures de comparaison par paires de Tukey de MINITAB.

VIII. Résultats et discussion

Les changements de numérations viables de *L. acidophilus* et le développement de l'acidité et du pH de l'échantillon A ont été indiqués dans le tableau 22.

L'acidité titrable, dans toutes les évaluations, pendant la période de fermentation a augmenté de manière significative (figure 19). De même, les valeurs de pH de l'échantillon, sauf dans la dernière heure d'incubation, ont significativement diminué (Figure 20).

Le nombre viable de *L.acidophilus* augmentait au cours de la période de fermentation de 5 h, mais cette tendance n'était significative qu'entre les deux dernières évaluations de la 4e et de la 5e heure d'incubation. Cela peut donc être un symbole de la haute activité de *L. acidophilus* à ce stade (Figure 21).

Tableau 22 : Acidité, pH et numérations probiotiques titrables du lait Acidophilus pendant la période de fermentation.

Échantillon A (lait <i>Acidophilus</i>)	Temps d'incubation (h)			
	0	2	4	5
Acidité titrable (°D)	13.5	16	19	21.3
PH	6.63	6.36	6.15	6.08
<i>L.acidophilus</i> viable (ufc/ml)	2.50×10^7	4.60×10^7	2.70×10^7	1.35×10^8

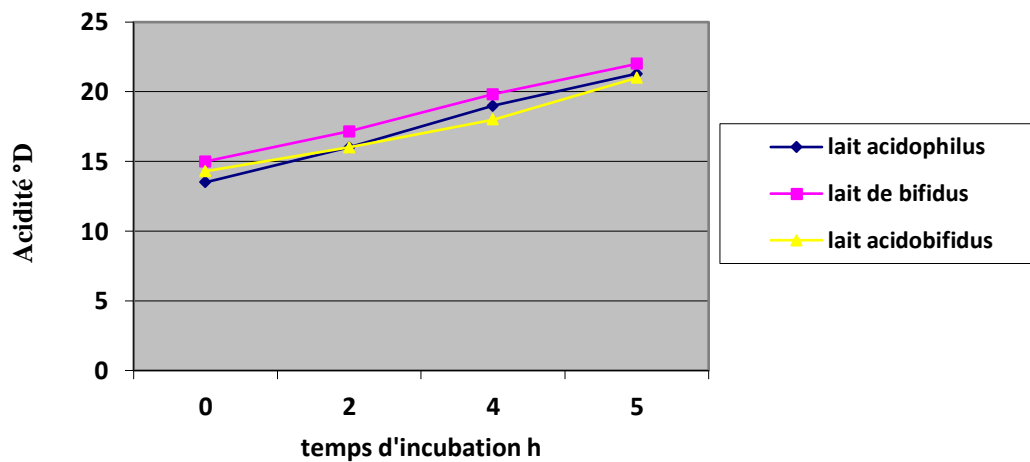


Figure 19 : Évaluation de l'acidité dans le lait A, B et AB pendant la période de fermentation

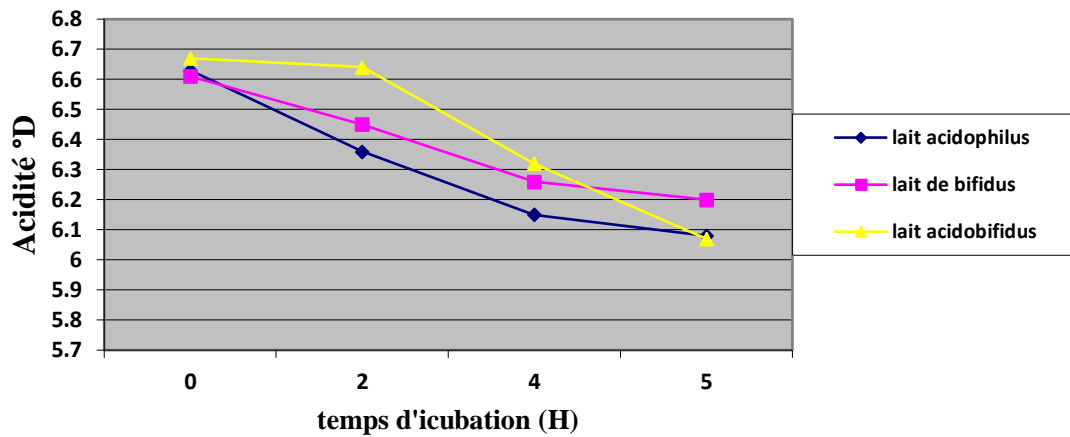


Figure 20 : Évaluation du pH dans le lait A, B et AB pendant la période de fermentation.

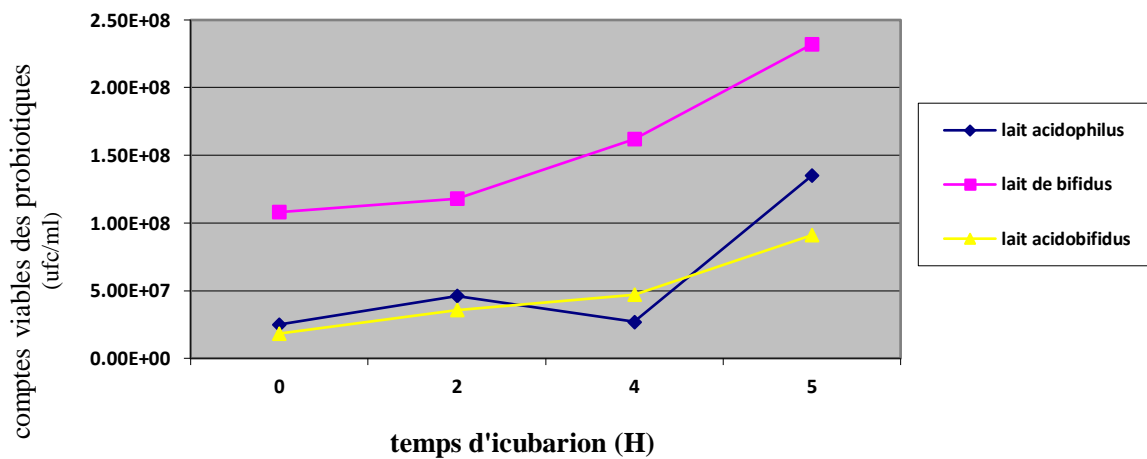


Figure 21 : Dénombrements viables des bactéries probiotiques dans les laits A, B et AB pendant la période de fermentation

Tableau 23 : Acidité, pH et numérations probiotiques titrables du lait Bifidus pendant la période de fermentation.

Echantillon B (Lait de bifidus)	Temps d'incubation (h)			
	0	2	4	5
Acidité titrable (°D)	15	17.16	19.83	22
Ph	6.61	6.45	6.26	6.10
<i>B.lactis</i> viable (ufc/ml)	1.08x10 ⁸	1.18x10 ⁸	1.62x10 ⁸	2.32x10 ⁸

Les déplacements des numérations viables de *B. lactis* et le développement de l'acidité et du pH de l'échantillon B ont été indiqués dans le tableau 23.

Comme indiqué, des augmentations significatives de l'acidité se sont produites parallèlement aux diminutions significatives des valeurs de pH (figures 19 et 20). Les dénombrements viables de *B. lactis* dans l'échantillon B seulement dans la 5ème heure d'incubation ont montré une augmentation significative (Figure 21).

Tableau 24 : Acidité, pH et numérations probiotiques titrables du lait Acidobifidus pendant la période de fermentation.

Echantillon AB (lait lactobifidus)	Temps d'incubation (h)			
	0	2	4	5
Acidité titrable (°D)	14.3	16	18	21
PH	6.67	6.64	6.32	6.04
Bactéries probiotiques viables totales (ufc/ml)	6.30x10 ⁷	9.00x10 ⁷	1.41x10 ⁸	2.52x10 ⁸
L.acidiphilus viable (ufc/ml)	1.83x10 ⁷	3.57x10 ⁷	4.70x10 ⁷	9.10x10 ⁷
B.lactis viable (ufc/ml)	2.33x10 ⁷	4.03x10 ⁷	6.83x10 ⁷	1.29x10 ⁸

Le tableau 24 montre les dénombrements viables de bactéries probiotiques, séparément et sous forme conjointe, et les changements d'acidité titrable et des valeurs de pH de l'échantillon AB.L'acidité titrable de l'échantillon AB avait considérablement augmenté dans toutes les évaluations au cours des cinq heures d'incubation et ses valeurs de pH ont montré des diminutions significatives dans toutes les évaluations sauf dans la 4ème heure d'incubation (figures 19 et 20).

Le développement de dénombrements viables de bactéries probiotiques (*L. acidophilus* et *B.lactis*) dans l'échantillon AB, du premier au dernier dénombrement a eu une tendance à la croissance significative, mais le dénombrement individuel de chaque bactérie en culture mixte a montré que l'augmentation significative dans le nombre de *L.acidophilus* et *B.lactis* viables s'est produit à exactement la 4ème heure et autour de la 4ème heure d'incubation respectivement, (Figure 21).

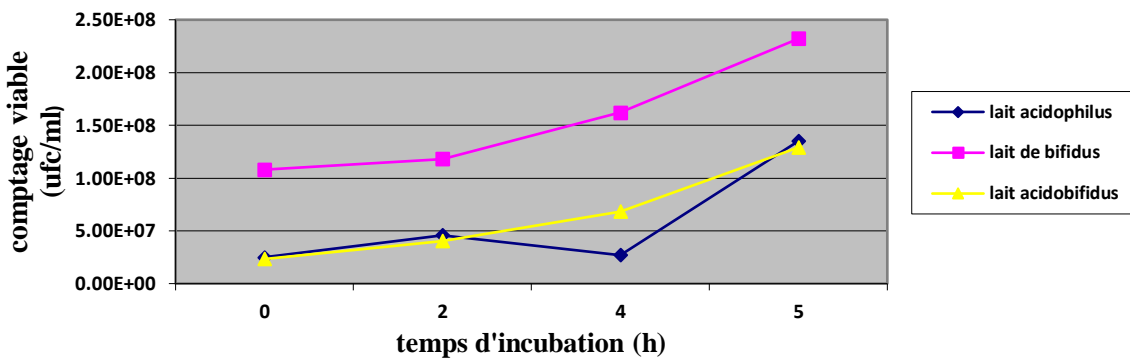


Figure 22 : Comparaison des dénombrements viables de *B. lactis* dans le lait B et AB pendant la période de fermentation.

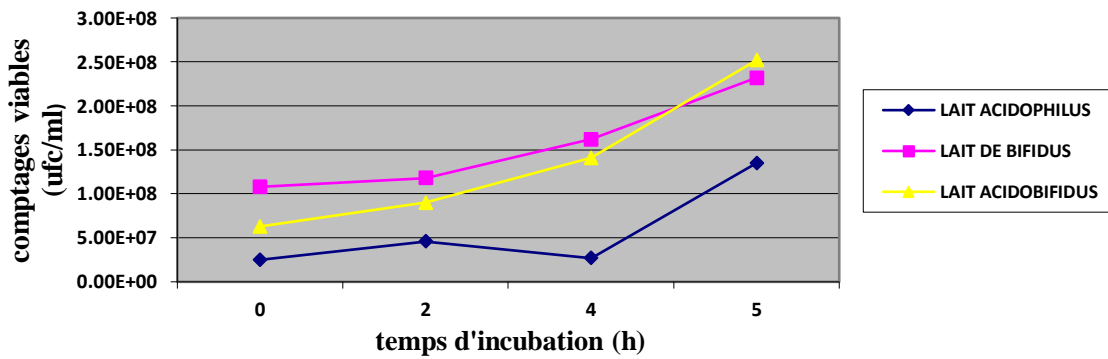


Figure 23 : Comparaison des dénombrements viables de *L. acidophilus* dans le lait A et AB pendant la période de fermentation

La comparaison des taux de croissance de *B. lactis* dans les laits B et AB (Figure 22) a mis en évidence certains effets positifs ou stimulants de *L. acidophilus* sur le taux de croissance de *B. lactis*, donc la courbe de croissance de *B. lactis* dans le lait AB était significativement différente de sa courbe de croissance dans le lait B., mais le taux de croissance de *L. acidophilus* dans les laits A et AB était similaire, expliquant des effets de coexistence très faibles, voire positifs, de ces deux bactéries sur le taux de croissance de *L. acidophilus* (Figure 23).

Le degré de perception du goût amer a été évalué par un test de graduation à sens unique. Les résultats extraits (tableau 25) des questionnaires conçus pour estimer le degré de perception du goût acide dans les laits A, B, AB et D, ont indiqué que la perception du goût amer dans le lait AB était significativement plus élevée que les autres laits (Figure 24).

Tableau 25: Extrait des scores des questionnaires désignés du groupe d'évaluateurs de 20 personnes pour les évaluations des laits A, B et AB

Scores attribués de non à très élevés perception du goût amer	Lait-A	Lait-B	Lait-AB	Lait-D
1	12	11	4	13
2	4	7	8	4
3	3	1	1	2
4	1	1	4	1
5	-	-	3	-
6	-	-	-	-
Sommes des scores	33	32	54	31
Moyenne des scores	1.65	1.60	2.70	1.55

D: lait UHT comme témoin

* Différences significatives montrées statistiquement ($p \leq 0,05$)

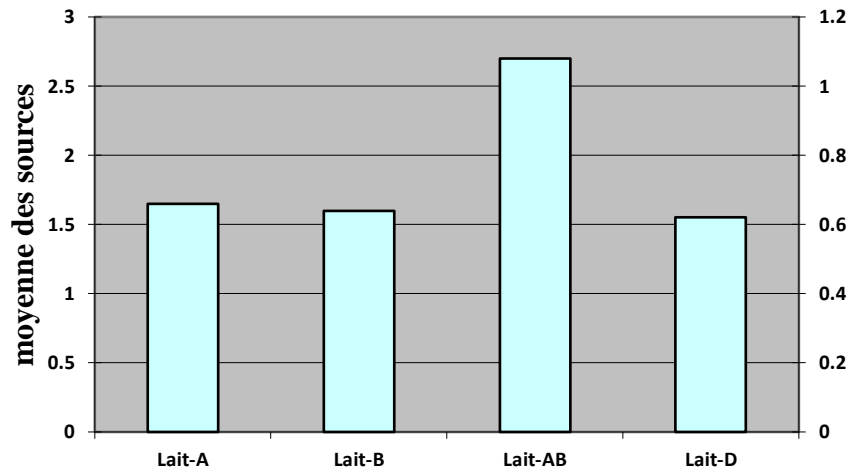


Figure 24 : Perception du goût amer dans les laits A, B et AB comparée au lait D (UHT) comme témoin.

IX. Conclusion

Tableau 26 : Caractéristiques microbiennes et chimiques finales des laits A, B et AB

Nom du produit	Acidité °D	PH	Compte viable de probiotiques bactéries (ufc / ml)	Moyenne des scores en perception du goût amer
Lait-A	21.3	6.08	1.35×10^8	1.55
Lait-B	22	6.10	3.20×10^8	1.6
Lait-AB	21	6.04	2.52×10^8	2.7

Le tableau 26 montre la caractéristique finale de 3 laits produits. Compte tenu du même taux d'inoculation et des mêmes conditions d'incubation pour les trois produits, il n'y avait pas de différences significatives entre les caractéristiques chimiques finales et leur contenu final en bactéries probiotiques viables et les propriétés se situaient dans la plage attribuée aux produits probiotiques (10^6 - 10^7 ufc / ml), mais la perception du goût amer dans le lait AB, comme expliqué ci-dessus, était significativement plus élevée que les autres laits étudiés.

Concernant les taux de croissance de souches uniques en cultures pures (laits A et B) et en culture mixte (lait AB), des changements ont été observés dans le taux de croissance de B.lactis en présence de L. acidophilus. En d'autres termes la coexistence de ces deux souches provoque probablement la production de certains métabolites spéciaux qui affectent l'évaluation sensorielle, donc insipide de la même acidité et du même pH, la perception du goût aigre dans le lait AB était considérablement plus que les laits A et B. Ainsi, sur la base de ces données trouvées, le taux d'inoculum inférieur des cultures de départ et même le temps d'incubation plus court pourraient être recommandés pour la production de lait AB.

Conclusion

Conclusion

Au terme de leprésent étude consacrée du process de fabrication d'un lait feremnté type l'ben au Bifidus ; il est important de signaler que nos traveaux n'ont pu aboutir en terme d'exprimmentation, en raison des conditions sanitaires difficiles qu'à travesé notre pays.

A travers les traveaux réalisés; ont s'est limité à une étude bibliographique qui comporte des informations sur le lait fermenté, les bactéries lactiques en particulier les Bifidobactéries, les probiotiques et les prébiotiques.

Pour le deuxième partie, on s'est uniquement limite à présenter le process de fabrication d'un lait fermenté pasteurisé ou stérilisé, qui servire de base du travail au laboratoire pour la promotion future.

En vue de la fermeture des laboratoires de l'université, on n'a malheureusement pas pu finaliser le present travail par untravail pratique.

Vu l'intérêt nutritionnel et sanitaire que revet notre étude, on souhate que se travail puisse etre repri sur le lait au bifidus et pourquoi pas avec d'autres bactéries utilisés à la santé humaine.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

- **Abdelaziz S et Ait Kaci F., 1992.** Contribution à l'étude microbiologique et physico-chimique d'un fromage traditionnel algérien fabriqué à partir du lait de chèvre le "djben". Mémoire d'ingénieur d'état en agronomie. Institut national agronomique d'El Harrach, Alger. 67p.
- **Adrian J. 1973.** , Valeur alimentaire du lait. Un vol., Paris, La Maison Rustique, edit.
- **Aissaoui, Z. 2004.** Le fromage traditionnel algérien « bouhezza». Séminaire D'animation régional. "technologies douces et procédés de séparation au service de la qualité et de l'innocuité des aliments", INSAT-Tunis (communication orale), Tunisie/27-28-29 novembre Actes des sommaires p 118 à 124.
- **Amerine MA, Pangborn RM, Roessler EM (1967)** *A Principle of Sensory Evaluation of Foods*. Academie Press, New York
- **Amiot J et Lapointe-vignola C. 2002.** Science et technologie du lait : transformation du lait. *Presses intl.polytechnique*. quebec. 600.
- **Amiot J., Fournier S., Lebeu 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).
- **Amiot, Laurent, Boutonnier. , 2002.** Science et technologie du lait. Edition presses internationales polytechnique. P 1-91 : 221-225
- **Ammor Mohammed Salim, Ana Belen Florez,Baltasar Mayo.(2007).** Antibiotic resistance in non-enterococcal lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Journal of Food Microbiology* 24:559–570.
- **Anonyme(2008).**[www.ebabylone.com/encyclopedie Image:Bifidobacterium adolesc_entis_Gram.jpg](http://www.ebabylone.com/encyclopedie_Image:Bifidobacterium_adolesc_entis_Gram.jpg)
- **Audrey V (2012).** La fermentation : définition et applications, GRALON.
- **Avezard , C.L et Lablee, J. (1990).** Laits et produits laitiers recombines, In Luquee F.M,
- **Axelsson (1998).** Lactic acid bacteria: classification and physiology.p1-72 *In:Salminen S, Won Wright (ed). Lactic acid bacteria Microbiology and functional aspects. 2nd ed.: Marcel Dekker Inc, New York.*

Références bibliographiques

B

- **Babel FJ (1967)** Techniques for cultured products. *J Dairy Sci* 50, 431-433 220 AK Misra, RK Kuila
- **Backhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, et al. (2005)**. Hostbacterial mutualism in the human intestine. *Journal of Appl Science* 307:1915-1920.
- **Balley, R. W. and Clarke. R. T. J. (1959)** Bacterial dextranase. *Biochem. J.* 72, 49.
- **Balley, R. W., Hutson, D. H. and Weigel, H. (1961)** Action of Lactobacilli on a branched dextran. *Biochem. J.* 80, 514.
- **Ballongue ,J., Grill J.P.et Baratte-eulooge, P.(1993)**. Action sur la flore intestinale de laits fermentés au *Bifidobacterium*. *Laits* 73 : 249-256.
- **Barker SB, Summerson WH (1941)** Colorimetric determination of lactic acid in biological material. *J Biol Chem* 138, 535-538
- **Béal C. & Sodini I. (2003)**. Fabrication des yaourts et des laits fermentés. Techniques de l'Ingenieur, traite Agroalimentaire, Doc. F6 315.
- **Béal C.& Corrieu G. (1991)**. Influence of pH, temperature, and inoculum composition on mixed cultures of *Streptococcus thermophilus* 404 and *Lactobacillus bulgaricus*398. *Biotechnol. Bioeng*, 38: 90-98
- **Benkerroum, N., Tamime, A.Y. (2004)**. Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (lben, jben and smen) to small industrial scale. *Food microbiology*, 21(4) : 399-413.
- **Benkerroum, N., Tantaoui-Elaraki, A. and El Marrakchi, A. (1984)**. Qualité hygiénique du Lben marocain. *Microbio. Aliment Nutr.* 2: 199-206
- Berg R. D., 1998. Probiotics, prebiotics or ‘conbiotics’. *Trends in Microbiology*, 6, 89-92.
- **Bevilacqua, L., Ovidi, M., Mattia, E.D., Trovatielli, L.D., Canganella, F., (2003)**. Screening of *Bifidobacterium* strains isolated from human faeces for antagonistic activities against potentially bacterial pathogens. *Microbiological Research* 158, 179–185.
- **Bezkorovainy, A. et Miller-Catchpole, R.(1989)**. Biochemistry and physiology of bifidobacteria. In Étude de l'impact de l'ajout des bifidobactéries sur les cinétiques de fermentation des bactéries lactiques mésophiles utilisées dans la production de fromage frais ; Martine Baron, Mémoire (M-Sc.) l'Université Laval Canada .
- **Biavati B., Vescovo M., Torriani S. and Bottazzi V. (2000)**. Bifidobacteria : history,

Références bibliographiques

- **Boubekri C, Tantaoui Elaraki A., Berrada M. et Benkerroum N. (1984)** Caractérisation physicochimique du Iben marocain. Le Lait, INRA Editions, 1984, 64 .pp.436-447.
- **Boudier, J. F. (1990).** Produits frais In « lait et produits laitiers Vache, Brebis, Chèvre » Vol II. Luquet. F. M. *Techniques et Documentation*, Lavoisier (Ed) Paris. 39-56.
- **Bousnane ., Djadi . 2009.** Caractérisation d'un fromage traditionnel algérien « takammerite » de la région de Ghardaïa. Mémoire d'ingénieur d'état en industrie agro-alimentaire .Université Mentouri de Constantine, Algérie ,72p.
- **Bracquard P. (1985).** These Université Nancy I. In : Bacteries lactiques Vol. II, De
- **Brewer, J. H. and Allgeier, D. L. (1966)** Self-contained carbon dioxide-hydrogen anaerobic system. *APPI. Microbial.* 14, 985.
- **Brown CD, Townsley PM (1970)** Fermentation of milk by *Lactobacillus bifidus*. *J Inst Can Technol Aliment* 3, 121-129
- **Bruno Ebel. (2012).** Selection de bacteries probiotiques et amelioration de la survie.
- **BSI (1968)** Méthodes d'examen micrabil à des fins laitières. British Standards Institution, British Standards House, Londres, Royaume-Uni.

C

- **Caridi, A. (2003).** Identification and first characterization of lactic acid bacteria isolated from the artisanal ovine cheese Pecorino del Poro, *Int. J. Dairy Technol.* 56: 105–110.
- **Charteris, W.P., Kelly, P.M., Morelli, L. and Collins, J.K.(1998).** Development and application of an in vitro methodology to determine the transit tolerance of potentially probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species in the upper human gastrointestinal tract. *Journ Appl Microbiol* 84, 759–768.
- **Cheikhyoussef Ahmad, Natascha Pogori, Wei Chena and Hao Zhang(2008).** Antimicrobial proteinaceous compound obtained from bifidobacteria: from production to their application. *International Journal of Food Microbiology, In press.*
- **Cheikhyoussef, A., Pogori, N., Zhang, H., (2007).** Study of the inhibition effects of *Bifidobacterium* supernatants towards growth of *Bacillus cereus* and *Escherichia coli*. *International Journal of Dairy Science* 2, 116-125.
- **Cogan, T.M., Barbosa, M., Beuviel, E., Bianchi- Salvadori, B., Cocconcelli, P.S., Fernandes, I., Gomez, J., Gomez, R., Kalantzopoulos, G., Ledda, A., Medina, M.,**

Références bibliographiques

- Reac, M.C. and Rodriguez, E. (1997).** Characterization of lactic acid bacteria in artisanal dairy products. *J. Dairy Res.* 64: 409–421
- **Collins EB, Hall BJ (1984)** Growth of bifidobacteria in milk and preparation of *Bifidobacterium infantis* for a dietary adjunct. *J Dairy Sei* 67,1376-1380.
 - **Coppola et al.1988** The microflora of natural whey cultures utilized as starters in the manufacture of Mozzarella cheese from water-buffalo milk
 - **Coulon J.B., Delacroix-Buchet A., Martin B., Pirisi A., 2005,** Prod. Animales, 18, 49-62.
 - **Crociani, F., Biavati, B., Alessandrini, A., Chiarini, C, et Scardovi, V. (1996).***Bifidobacterium inopatum* sp. nov. and *Bifidobacterium denticolens* sp nov., two new species isolated from human dental caries. *Int. J. Syst. Bacteriol* 46:564-571.
 - **Croguennec T., Jeantet R. et Brulé G., 2008.** Fondements Physicochimiques de la Technologie Laitière. Ed. Tec. Et Doc .Paris. 6 ,8 page (160 page).
 - **Cummins, C. S., Glendenning, O. M. and Harris, H. (1957)** Composition of the cell wall of *Lactobacillus bitidus*. *Nature* 180, 337.
 - **Dann SM, Eckmann L (2007).** Innate immune defenses in the intestinal tract. *Curr Opin Gastroenterol* 23: 115-120.
 - **De Roissart,H. (1986)** .Bactéries lactiques,p : 443.*In* Ecosystème microbien d'un atelier fermier de salaison identification et propriétés des bactéries lactiques thèse de doctorat université de Rennes France .
 - **De Vrese M, Marteau PR (2007).** Probiotics and prebiotics : effects on diarrhoea. *Journal of Nutrition* 137(suppl 2): S803-S811.
 - **De Vries, W. and Southamer, A. H. (1968)** Fermentation of ~lucose, lactose, galactose, mannitol, and xylose by Bifidobacterla. *J.Bacteriol.* 96, (2) 472.
 - **De Vries,W. et Stouthamer,A.H.(1967).** Pathway of glucose fermentation in relation to the taxonomy of bifidobacteria. *J.Bacteriol.*, 93:574-576.
 - **Deguchi, Y., Morishita, T., & Mutai, M. (1985).** Comparative studies on synthesis of water soluble vitamins among human species of bifidobacteria. *Agricultural and Biological Chemistry*, 49, 13–19.
 - **Delcenserie V, China B, Gavini F, Beerens H, Daube G.(2002).** Proposition pour un nouveau standard indicateur de la contamination d'origine fécale dans les aliments : le genre *Bifidobacterium*.*Ann Méd Vét*, 146, 279-293.

Références bibliographiques

- **Delgado S., Florez A.B. and Mayo B. (2005).** Antibiotic susceptibility of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species from the human gastrointestinal tract. *Curr. Microbiol.*, 50: 202–207.
- **Dellaglio,F., DeRoissart,H., Torianni,S., Curk,MC,Janssens,D.(1994).** Caractéristiques générales des bactéries lactiques,p25-116 *In* Ecosystème microbien d'un atelier fermier de salaison identification et propriétés des bactéries lactiques thèse de doctorat université de Rennes France .
- **Desjardins,M.-L., Roy,D. et Goulet,J. (1990).** Growth of bifidobacteria and their enzyme profiles. *Journal of Dairy Science.*; 73(2): 299-307.
- **Dillon, J.C. 2008.** Place du lait dans l'alimentation humaine en région chaude. Edition A. P.G (Agro Paris Tech).
- **Dong, X., Xin, Y., Jian, W., Liu, X. and Ling, D. (2000).** *Bifidobacterium thermacidophilum* sp. nov., isolated from an anaerobic digester. *International Journal Systematic Evol Microbiolg.*, 50, 119–125.
- **Dufrenne et al.1995** Characteristics of some psychrotrophic *Bacillus cereus* isolates. ecology, physiology and applications. *Ann. Microbiol.*, 50 :117-131.

E

- **Eggerth, A. H. (1935)** The gram-positive non-spore bearing anaerobic bacilli of human feces. *J. Bacteriol.* 30, 277.
- **EI Akkod, I. and Hobson, P. N. (1966)** Effect of antibiotics on some rumen and intestinal bacteria. *Nature* 209, (5027) 1046.
- **Euzéby J.P. (2007).** List of prokaryotic names with standing in nomenclatures, list of genera included in families. Update: September 04, 2007. <http://www.bacterio.cict.fr/classifgenerafamilies.html#Bifidobacteriaceae>. Date de visite du site vendredi 07 septembre 2007, 16h: 32min.

F

- **Falagas Matthew E., Petros I. Rafailidis, Gregory C. Makris (2008).** Bacterial interference for the prevention and treatment of infections, *International Journal of Antimicrobial Agents*.In press.
- **FAO /OMS. (2001).** Report of a joint FAO/OMS Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional properties of Probiotics in food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. Cordoba, ARGENTINE

Références bibliographiques

- **FAO., 1998.** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collecti FAO: Alimentation et nutrition N° 28. Catalogage avant publication de la Bibliothèque David Lubin FAO. Rome. Italie.
 - **FAO/WHO (2002)** Report of a Joint FAO-WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. <ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/wgreport2.pdf>.
 - **Flourie B, Nancey S (2007).** Propriétés fonctionnelles des probiotiques. *Cah Nutr Diet* 42(3 Hors-série 2): 2S 38-44.
 - **Fonden R, Hoigerson S (1985)** Method for cultivating, in milk, organisms having a slow growth capacity and organisms produced by the method and milk products containing such organisms. *Eur Pat Appl EP0154614 A2*
 - **Fortina, M.G., Ricci, G., Acquati, A., Zeppa, G., Gandini, A. and Manachini, P.L. (2003).** Genetic characterization of some lactic acid bacteria occurring in an artisanal protected
 - **Foster EM (1952)** The effect of heat on milk as a culture medium for lactic acid bacteria.
 - **Fox, A. T. and Thomson, M. (2007).** Adverse reactions to cow's milk. *Paediatr. Child Health.* 17(7): 288–294.
 - **Franworth E. et Mainville I., 2010.** Les produits laitiers fermentés et leur potentiel thérapeutique, Centre de recherche et de développement sur les aliments, Saint-Hyacinthe. <http://www.dos.transf.edwa.pdf>.
 - **Fredot, 2012 ;** Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier: 25 (397 pages).
 - **Fujita, C. (1961)** Influence of the bifidus factor and *Lactobacillus bifidus* on the Intestinal flora and fecal pH. *Toho. Igakkai Zasshi* 8, 1206.
 - **Fuller R , (1992).** Probiotics in human medicine. *Gut.*32: 439-442
- G**
- **Gandhi ON (1978)** Studies on *Lactobacillus acidophilus* based fermented milk products.
 - **Garrity,GM., Holt, JG.2001.** "Taxonomic outline of the archaea and Bacteria"p 155-166. *In* Ecosystème microbien d'un atelier fermier de salaison identification et propriétés des bactéries lactiques thèse de doctorat université de Rennes France
 - **Gast, M. (1991).** Beurre. *Encyclopédie berbère*, (10) : 1482-1486.

Références bibliographiques

- **Gavini F, Pourcher A.M, Bahaka D, Freney J, Romond C, and Izard D (1990)** . Le genre *Bifidobacterium* .classification, identification, aspect critiques, *Méd. Mal infect.*20: 53-62.
- **Gibson G.R. and Wang X. (1994)**. Enrichment of Bifidobacteria from Human Gut Contents by Oligofructose using Continuous Culture. *FEMS Microbiol. Lett.*, 118: 121-128.
- **Gibson, G. R., Ottaway, P. B. & Rastall, R. A. (2000)**. Prebiotics-new developments in functional foods. Oxford, UK: Chandos Publishing Limited.
- **Gilliland, S. E., Nelson, C. R. & Maxwell, C. (1985)**. Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. *Applied Environmental Microbiology*, 49, 377–381.
- **Goh JS, Kwon IK, Kim YO (1986)** Studies on the growth of *B bifidum* ATCC 11863 in milk.*Korean J Dairy Sei* 8, 48-56
- **Goldman, B.S., Domingo A. Barrado, B.S., Norma Balcarce, M.D., Eduardo Cueto Rua, Ph.D., Masaru Oshiro, M.D.d, María L. Calcagno, B.S., Mariana Janjetic, B.S., Julián Fuda, Ricardo Weill, B.S., María J. Salgueiro, B.S., Mauro E. Valencia, Ph.D., Marcela B. Zubillaga, Ph.D., and José R. Boccio, Ph.D.(2006)**. Effect of a probiotic food as an adjuvant to triple therapy for eradication of *Helicobacter pylori* infection in children, *Nutrition* 22 :984–988
- **Gonzàlaz,CJ.,Encinas,JP.,Garcia-Lopez,ML.,Otero,A.(2000)** Characterization and identification of lactic acid bacteriafrom fresh water fishes. *Food Microbiol* 17:383-391.
- **Gournier-Chateau N, Larpent JP, Castellanos MI, Larpent JL (1994)**. Les probiotiques en alimentation animale et humaine. *Lavoisier, Technique et Documentation (ed). Paris, France, 1-192*.
- **Greene VW, Jezeski JJ (1957)** Studies on starter metabolism. 1. The relationship between starter activity and the predrying heat history of reconstituted non fat dry milk solids. *J Dairy Sei* 40, 1046-1052
- **Guarino, A., Canani, R. B., Spagnuolo, M. I., Albano, F. & Benedetto, L. D. (1998)**. Oral bacterial therapy educes the duration of symptoms and of viral excretion in children with mild diarrhea. *Journal of Pediatric astroenterology and Nutrition*, 25, 516–519.
- **Guéguen L. ,1979**. Apports minéraux par le lait et les produits laitiers. *Cahiers de nutrition et diététique*, 14 (3), 215.

Références bibliographiques

- **Guiraud J.P., 2003.** Microbiologie Alimentaire. *Tec & Doc, Dunod.* Paris. 90-292.
- **Gyllenberg, H. G. (1955)** The development of the 'straight rod' type of *Lactobacillus bifidus*. *J. Gen. Microbial.* 13, 371.
- **Gyllenberg, H. G. (1958)** Specific contaminants In cultures of *Lactobacillus bifidus*. *Acta. Pathol. Microbial. Scand.* 44. 293.
- **Gyllenberg, H. G. and Carlberg, G. (1958)** The nutritional characteristics of Bifid Bacteria (*Lactobacillus bifidus*) of infants. *Acta. Pathol. Microbial. Scand.* 44, 887.
- **Gyllenberg, H. G., Rossander, M. and Roine, R. (1954)** Growth inhibition of *Lactobacillus bifidus* by certain fatty acids. *Acta. Chern. Scand.* 8, 133.
- **Gyorgy, P. (1952)** A hitherto unrecognized biochemical difference between human milk and cow's milk. *Pediatrics.* 11, 98.
- **Gyorgy, P. and Rose, C. S. (1955)** Microbiological studies on the growth factor for *Lactobacillus bifidus* var. *pennsylvanicus*. *Proc.Soc. Exptl. Biol. Med.* 90, 219.
- **Hassinen, J. B., Durbin, G. T., Tomarelli, R. M., Bernhart, F. W. (1951)** The minimal nutritional requirements of *Lactobacillus bifidus*. *J. Bacteriol.* 62, 771.

H

- **Hadadji M. (2007).** Caractérisation technologique des bifidobactéries à thérapeutiques. Thèse de doctorat d'état. Université d'Oran. Algérie. 173p.
- **Hallal A., 2001.** Fromages traditionnels Algériens. Quel avenir ? *Revue agroligne* n°14, Avril-Mai.
- **Hammes, W. P. & Hertel, C. (2002).** Research approaches for pre- and probiotics: challenges and outlook. *Research International*, 35,165–170.
- **Hassinen, J. B., G. T. Durbin, R. M. Tomarelli, and F. W. Bernhart. (1951).** The minimal nutritional requirement of *Lactobacillus bifidus*. *Journal. Bacteriology.* 62:771-776.
- **Hempnien WL, Liska BJ (1968)** Method for determining volatile acids in cultured dairy products. *J Dairy Sci* 51, 221-222
- **Hermier, J., Lenoir, J., Weber, F. 1997.** Rôle des bactéries lactiques dans la production des facteurs antimicrobiens, les groupes microbiens d'intérêt laitier. Ed. Cepil. Paris. pp. 9-60.
- **Hoier, E. (1992).** Use of Probiotic Starter Cultures. Dairy Products' in Food Australia

Références bibliographiques

- **Holzapfel, W. H., Haberer, O., Snel, J., Schillinger, U., & Huis in't Veld, J. H. J. (1998).** Overview of gut flora and probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 41, 85-101.
- <http://fr-wikipedia.org/wiki/Bifidobactérium>
- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi>
- **Hughes, D. B., and D. G. Hoover. (1991).** Bifidobacteria-their potential for use in American dairy products. *Food Technol.* 45(4):75.
- **Huhtanen, C. N. (1955)** Pantethine and casein hydrolysate in the growth of certain Lactobacilli. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 88,311.
- **Hull ME (1947)** Studies on milk protein. II. Colorimetric determination of the partial hydrolysis of the proteins in milk. *J Dairy Sci* 30, 881-883

I

- **Idoui.1994** .Purification caractérisation et identification de souches des bactéries lactiques isolées du beurre traditionnel local (Jijel). Etude de quelques aptitudes technologiques, inhibition inter bactériennes. Mémoire d'ingénieur d'état en sciences agronomiques, option : Technologie agroalimentaire et nutrition.
- **ISI (1960)** Indian Standard: 1479 (Part 1) *Methods of Test for Dairy Industry. Rapid Examination of Milk.* Indian Standard Institution,
- **Isolauri E, Rautava S, Kalliomaki M, Kirjavainen P, Salminen S. (2002).** Role of probiotics *In Probiotic research: learn from the evidence Allergy*, 57: 1076–1077.
- **Iwata M. and Morishita T.(1989).** The presence of plasmids in *Bifidobacterium breve.* *Lett. Appl. Microbiol.* 9: 165–168.

J

- **Jeanet R., Croguenc T., Mahaut M., Shuck P., Brule G. (2008).** Les produits Laitiers 2eme ed. Ed. Tec & Doc. Paris. pp. 22-32.

K

- **Kaloud, H. and Stogmann, W. (1968)** Clinical experience with a bifidus milk feed. *Arch. Kinderheilk* 177 (1). 29.
- **Kaplan H. and Hutkins R.(2000).** Fermentation of fructooligosaccharides by lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Applied Environment Microbiology* 66: 2682–2684.
- **Kato, I., Endo, K. & Yokura, T. (1994).** Effects of oral administration of *Lactobacillus casei* on antitumor responses induced by tumor resection in mice. *International Journal of Immunopharmacology*, 16, 29–36.

Références bibliographiques

- **King N (1948)** A modification of Voges-Proskauer test for rapid colorimetric determination of acetyl methyl carbinol + diacetyl in butter cultures. *Dairy Ind* 8, 860-864
- **Klupsch HJ (1983)** Bioghurt-Biogarde-acidified milk products with optimum qualities. *N Eur Dairy J* 49, 29-32
- **Kneifel, W., Jaros, D., et Erhard, F. (1993)**. Microflora and acidification properties of yogurt and yogurt-related products fermented with commercially available starter cultures. *Int. J. Food Microbiol.* 18: 179-189.
- **Kojima, M., Suda, S., Hotta, S. and Hamada, K. (1968)** Induction of pleomorphism in *Lactobacillus bifidus*. *J. Bacteriol.* 95 (2). 710.
- **Kosikowa M (1978)** Biochemical activity of *Bifidobacterium*. 20th Int Dairy Congr, vol E, 549-550
- **Kramer, A. (1966)**. Fundamentals of Quality Control for the Food Industry.
- Krockel, L., Schilinger, U., Franz, C.M., Bantleon, A., Ludwig, W. (2003). *Lactobacillus verismoldensis* sp. nov., isolated from raw fermented sausage *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 53: 513-517.
- **Kurmann, J. A. (1998)**. Starters for Fermented Milks: Starters with Selected Intestinal Bacteria. Bulletin of the International Dairy Federation 227, 41-55.

L

- **Lahsaoui S. (2009)** Étude du procédé de fabrication d'un produit laitier traditionnel algérien "Klila". Mémoire d'ingénieur d'état, Université El Hadj Lakhdar-Batna, 72p
- **Lambert. R., Saito, Y. and Veerkamp, J. H. (1965)** Incorporation of labelled derivatives of 2-deoxy-2-amino-D-glucose into the cell walls of *Lactobacillus bifidus* var. pennsylvanicus. *Arch. Biochem. Biophys.* 110 (2). 341.
- **Lambert. Rand Zilliken, F. (1965)** Novel growth factors for *Lactobacillus bifidus* var. pennsylvanicus. *Arch. Biochem. Biophys.* 110 (3), 544.
- **Lamontagne Michel Claud P., Champagne J., Reitz A., Sylvain M., Nancy G., Maryse L., Julie J. et Ismail F. (2002)**. Microbiologie de lait. Science et technologie de lait. Ecole polytechnique de Montréal.
- **Lamoureux .L.(2000)**. Exploitation de l'activité B-galactosidase de cultures de bifidobactéries en vue d'enrichir des produits laitiers en galactooligosaccharides ; Mémoire M.Sc. l'université Laval Canada.

Références bibliographiques

- **Laroia, S. & Martin, J. H. (1991).** Methods for enumerating and propagating Bifidobacteria. *Cultured Dairy products Journal*. 262, 32-33.
- **Larpent, J.P. 1997.** Mémento technique de microbiologie .3eme Ed. Techniqu et Documentation Lavoisier. Paris. 910 pages.
- **Lauer. E, Kandler.O, (1976).** Mechanismus der Variation der Verhältnisses AcetaVLactat bei der Verqârung von Glucose durch Bifidobakterien. *Arch Mikrobiol* ,10: 271-277.
- **Le décret n°88-1206 du 30 décembre 1988**
- **Lemoinier et al. 1989.** Le lait fermenté. Ed .ISPN.N°2-5-205:34.3
- **Lemouchi et al .,2007.** Le fromage traditionnel *bouhezza* : enquête dans la wilaya de Tébessa et suivie de l'évolution des caractéristiques physico-chimiques de deux fabrications. Mémoire d'ingénieur, INATAA, Constantine, Algérie, 65p.
- **Lemouchi. 2008 .**Le fromage traditionnel Bouhezza : enquête dans la wilaya de Tébessa et suivie de l'évolution des caractéristiques physico-chimique de deux fabrication .mémoire d'ingénieur, INATAA, Constantine, 65p.
- **Lesbros-Pantoflickova.D, Corthesy-Theulaz I, BlumAL (2007).** *Helicobacter pylori* and probiotics. *Journal of nutrition 137(suppl 2):* S812-S818.
- **Leyral, G., Vierling, E. 2001.** Microbiologie et toxicologie des aliments .3éme édition Doin. France. P. 87-114.
- **Lilly,D.M. et Stillwell,R.H.(1965).** Probiotics : Growth-promoting factors produced by microorganisms. *Science.*; 147: 747-748.
- **Loones A. (1994).** Laits fermentes par les bacteries lactiques. In Bacteries lactiques. pp.37- 151.ed. De Roissart, H. et Luquet,F.M ,II ,Lorica,paris.
- **Lourens-Hattingh A, Viljoen BC.(2001).** Review: Yoghurt as probiotic carrier food. *Int Dairy J 11: 1-17.*
- **Luquet.F.M ,1994 :** Lait et produit laitiers Ed/Tec et Doc. Lavoisier.

M

- **Mahaut M., Jeantet R., et Brule G. (2000)** Initiation à la technologie fromagère. Edition
- **Manak Bhavan, New Delhi, India Kim SH (1988)** Characterization of lactobacilli and bifidobaeteria as applied to dietary adjuncts. *Cult Dairy Prad J 8, 5-6*
- **Mangin I , Bouhnik Y, Bisetti N, Descaris B (1999).** Molecular monitoring of human intestinal bifidobacterium strain diversity .*Res Microbiol, 150: 343-350.*

Références bibliographiques

- **Marshall VM, Cole WM, Mabbit LA (1982)** Fermentation of specially formulated milk with single strains of bifidobacteria. *J Soc Dairy Techno/35,143-144*
- **MARTIN A. (2002).** Apports nutritionnels conseillés pour la population française. Paris, édition : Tec et Doc.
- **Martin J.H, et Chou K.M , (1992).** Selection des bifidobacteria for use as Dietary adjuncts in cultured dairy food: I-Tolerance to pH of yoghurt Cultured. *Dairy product J 27(4) : 21-26.*
- **Masco, L., Van Hoorde, K., De Brandt, E., Swings, J., & Huys, G. (2006).** Antimicrobial susceptibility of Bifidobacterium strains from humans, animals and probiotic products. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy,58, 85–94.*
- **Mathieu., 1998** initiation à la physico-chimie du lait ED. Tec et Doc .Lavoisier. Paris.
- **Matsuzaki T, Takagi A, Ikemura H, et al. (2007).** Intestinal microflora: probiotics and autoimmunity. *Journal Nutrition 137(suppl 2): S798-802.*
- **Meile L., Ludwig W., Rueger U., Gut C., Kaufmann P., Dasen G., Wenger S. and Teuber M. (1997).** *Bifidobacterium lactis* sp.nov., a moderately oxygen tolerant species isolated from fermented milk. *System. Appl. Microbiol., 20: 57-64.*
- **Menrad, M., Husing, B., Menrad, K., Reib, T., Beer-Borst, S. & Zenger, C. A. (2000).** Functional food, (TA 37/2000). Bern, Switzerland: Zentrum für Technologiefolgen-Abschätzung beim Schweizerischer Wissenschafts- und Technologierat.
- **Mercenier A ,Pavan M and Pot B. (2002).** Probiotics as biotherapeutic agents: Present knowledge and future prospect. *Current pharmaceutical design.8:99-110.*
- **Merchant, I. A. and Packer, R A. (1944)** Etiology, diagnosis and control of Infectious bovine mastitis. Burgess Pub. Co. Minneapolis.
- **Metchnikoff E. (1907).** Lactic acid as inhibiting intestinal putrefaction. *In: The prolongation of life: Optimistic studies.* W. Heinemann, London: 161-183.
- **Meydani, S. N. & Ha, W-K. (2000).** Immunologic effects of yoghurt. *American Journal of Clinical Nutrition, 71, 861–872.*
- **Meyer, J. B., Tewes, G. and Dittman, J. (1965)** Metabolism of *Lactobacillus bifidus*. VI Lactic acid content of several cultures. *Z. Klnderhellk 92 (3), 274.*
- **Meyer, J. B., Tewes. G. and Dittman, J. (1964)** Metabolism of *Lactobacillus blfidus*. II Formation of lactic In Tomarelli's solution. *Z. Klnderhellk 90 (4), 368.*

Références bibliographiques

- **MITTAINE J., 1980**, Les laits autres que le lait de vache, [http://whqlibdoc.who.int/monograph/ who mono](http://whqlibdoc.who.int/monograph/who_mono)
- **Modler HW, McKellar RC, Yaguchi M (1990)** Bifidobacteria and bifidogenic factors. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.* 23:29-41.
- **Modler, H.W. (1994)**. Bifidodogenic Factors-Sources, Metabolism and Applications . *Int. Dairy J.*, 4: 383-407.
- **Mogensen, G. (1993)**. Starter cultures, In: J. Smith (Ed.), *Technology of Reduced-additive Foods*, Blackie Academic and Professional, London, UK, pp. 1–25.
- **Moubareck, C., Gavini, F., Vaugien, L., Butel, M.J., Doucet-Populaire, F., (2005)**. Antimicrobial susceptibility of bifidobacteria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 55, 38–44.

N

- **Nagengast, F. M., Hectors, M. P. C., Buys, W. A. M., et van Tongeren, J. H. M.(1988)**. Inhibition of secondary bile acid formation in large intestine by lactulose in healthy subjects of two different age group. *Eur. J. Clin. Inves.* 18:51-61.
- **Nahaisi MH, Robinson RK (1985)** Acidophilus drink: the potential for developing countries. *Dairy Ind Int*50, 16-17
- **Nashizawa, Y., Komada. T., Seki, Y. and Nogami, K. (1959)** Physiological action of *Lactobacillus bifidus*. *Arch. Pediat.* 76, 97.
- **Noblet B. 2012**. Le lait: produits, composition et consommation en France. *Cah. Nutr.Diet.*, 47(5): 242-249.
- **NorriS, R. F., Flanders, T., Tomarelli. RM.. and Gyorgy, P. (1950)** Isolation of *Lactobacillus blfidus*: A comparison of branched and unbranched strains. *J. Bacteriol.* 60, 681.
- **Nouvel, L. (1964)** Medicinal compositions containing antibiotic reSistant coliform bacteria. *Belg.* 644, 455 Aug. 27. 1964.

O

- **Oberman, H. and Libudzisz, Z. (1998)**. Fermented milks, In: B.J.B. Wood (Ed.), *Microbiology of Fermented Foods*, second ed., vol. 1, Blackie Academic & Professional, pp. 308–350.
- **Oksanen, P., Salminen, S., Saxelin, M., Hamalainen, P., Ihantola Vormisto, A., Muurasniemi-Isoviita, L., Ikkara, S., Oksanen, T., P. Orsti, T., Salminen, E.,**

Références bibliographiques

- Siitonen, S., Stuckey, H., Toppila, A. & Vapaatalo, H. (1990).** Prevention of traveler's diarrhea by Lactobacillus GG. *Annals of Medicine*, 22, 53–56.
- **Olsen. E. (1949)** Studies on the intestinal flora of Infants. Ejnar Munksgaard, Copenhagen.
 - **Orla-Jensen, S .. Orla-Jensen. A. D. and Winther, O. (1936)** Bacterium bifidum and Thermobacterium intestinale. *Zentr. Bakt. Parasitenk. II.* 93, 321.
 - **Orla-Jensen, S. (1943)** The lactic acid bacteria. Copenhagen: Einar Munksgaard.
 - **Ouwehand AC, Salminen SJ (1998).** The health effects of cultured milk products with viable and non-viable bacteria. *Int. Dairy J.* 8:749-758.
 - **Ouwehand. A.C.(2007).** Antiallergic effects of probiotics. *J Nutr* 137(suppl 2):S794-S797.
 - **Ouwehand. A.C.(2007).** Antiallergic effects of probiotics. *J Nutr* 137(suppl 2): S794-S797.

P

- **Patel, J. R., Dave, R. I., Sannabhadti, S. S., et Dave, J. M.(1991).** Use of bifidobacteria in fermented dairy products. *Indian Daj.man.*43 : 181-185
- **Perreau .M.J, 2014.**Conduire son troupeau de vaches laitières. Editeur : ÉDITIONS FRANCE AGRICOLE Collection : Produire mieux. Paris Page 31, 34,47, 50, 71,403.
- **Pilet M.F , C Magras et M Federighi (1998).**Bactéries lactiques. p :235-237 *In* Sutra ,L., Jouve,JL Manuel de bactériologie alimentaire polytechnica ,Paris.
- **Pine. L. (1956)** Fixation of carbon dioxide by Actinomycetes and Lactobacillus bifidus. *Proc. Soc. Exptl. BioI. Med.* 93, 468.
- **Pine. L. and Howell. Jr., A. (1956)** Comparison of physiological and biochemical characteristics of Actinomycetes Spp. with those of Lactobacillus bifidus, *J. Gen. Microbiol.* 15, 428.
- **Piquet M.-A, R. Gloro, A.-M. Justum , J.-M. Reimund (2007).**Les probiotiques, des outils thérapeutiques pour moduler les effets biologiques de la flore intestinale : une introduction. *Springer Obes . 2:* 227–233.
- **Pougheon S .et Goursaud J., 2001.** Le lait caractéristiques physicochimiques In DEBRY G., Lait, nutrition et santé, Tec et Doc, Paris : 6(566 pages).

Références bibliographiques

Q

- **Quigley et al., 2013.** The complex microbiota of raw milk. *FEMS Microbiol. Rev.*, 37. 664.

R

- **Randazzo, C.L., Torriani, S., Akkermans, A.D.L., de Vos, W.M. and Vaughan, E.E. (2002).** Diversity, dynamics, and activity of bacterial communities during production of an artisanal Sicilian cheese as evaluated by 16S rRNA analysis, *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 1882–1892.
- **Rasic, J.Lj. et Kurmann, J.A. (1983).** Bifidobacteria and their role. Microbiological, nutritional-physiological, medical and technological aspects and bibliography. Birkhauser Verlag, Basel, Suisse.
- **Renner E, Schaafsma G, Scott KJ., 1989 .** Micronutrients in milk. In: Micronutrients in milk and milk based food products (Renner E, ed) Elsevier, New York, I-70
- **Richardson, D. (1996).** Probiotics and product innovation. *Nutrition and Food Science*, 4, 27-33.
- **Roberfroid M (2007).** Prebiotics: the concept revisited. *Journal of Nutrition* 137(suppl 2): S830-837.
- **Roberfroid MB (2000).** Prebiotics and probiotics: are they functional foods. *Am J Clin Nutr* 71(suppl): S16-S27.
- **Robinson et al. 2002** Microbiology of fermented milks
- **Romond M.B, Romond C, and Izard D in Hermier J, Lenoir J et Weber F (1992).** Les groupes microbiens d'intérêt laitiers. *Ed Tec Et Doc .Paris.* 61-80.
- **Romond, A. F. et Romond, M. B. (1989).** Intérêt de l'apport d'un lait fermenté à *Bifidobacterium longum* dans les diarrhées à rotavirus du nourrisson. *Bifidobacterim et santé*; 1989 Juin 8-1989 Juin 9; Faculté de médecine, Paris, France. Ludres, France: Association pour la recherche sur les bifidobactéries et les bactéries anaérobies, 145-152.
- **Roy, D. (2005).** Technological aspects related to the use of bifidobacteria in dairy products, *Lait* ;85: 39–56.
- **Roy, D., Mainville, I. et Mondou, F. (1997).** Bifidobacteria and their role in yogurt related products. *Micro ecology and Therapy*, ; 26: 167-180.

Références bibliographiques

S

- **Sachiko. K., Makajlma, T. and Tamura, Z. (1965)** Purification of a new bifidus factor from carrot root. *Chern. Pharm. Bull. (Tokyo)* 13 (10), 1262.
- **Salminen, S., Ouwehand, A., Benno, Y. & Lee, Y. K. (1999).** Probiotics: how should they be defined? *Trends Food Sci. Technol.* 10, 107–110.
- **Sanders, M. E. & Huis in't Veld, J. (1999).** Bringing a probiotic-containing functional food to the market: microbiological, product, regulatory and labeling issues. *Antonie Leeuwenhoek*, 76(1), 293–315. *N. Moayednia et al.* 36
- **Sandine WE, Muralidhara KS, Elliker PR, England OC (1972)** Lactic acid bacteria in food and health: review with special reference to enteropathogenic *E coli* as well as certain enteric disease and their treatment with antibiotics and lactobacilli. *J Milk Food Techno/35*, 691-702
- **Scardovi, V. (1986)** Genus *Bifidobacterium*. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 2 ed. Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E. and Holt, J.G. pp. 1418–1434. Baltimore, MD: Williams and Wilkins.
- **Scardovi, V. and Trovatelli, L.D. (1965).** The fructose-6-phosphatase as peculiar pattern of hexose degradation in the genus *Bifidobacterium*. *Annali di Microbiologia* 15, 19-29.
- **Schaafsma, G. (2008).** Lactose and lactose derivatives as bioactive ingredients in human nutrition. *Int. Dairy Sci.* 18(5): 458–465.
- **Schaedler RW, Dubos R, Costello R (1965)** The development of the bacterial flora in the gastrointestinal tract of mice. *J Exp Med* 122, 59-66
- **Schleiffer K.H et al .1991, Bonix .1992** .Microbiologie industrielle (Les microorganismes d'intérêt industriel). Collection sciences et techniques agroalimentaires .Coordonnateurs : J-Y-LEVEAU/MBOUIX, 1996.
- **Schrezenmeir, J., & de Vrese, M. (2001).** Probiotics, prebiotics and synbiotics approaching
- **Schuler Malyoth VR, Ruppert A, Muller F (1968)** A survey of the theoretical and practical principles of using bifidus cultures in the dairy industry. II. Technology of bifidus culture in the milk processing factory. *Milchwissenschaft* 23,554-558
- **Schulz,M.E., Voss,E., et Kley,W.(1954).** Studies on the adaptability of the acetaldehyd colour reaction for testing yoghurt. *Milchwissenschaft.* 9:361-369.

Références bibliographiques

- **Sebald, M; Gasser, F, et Werner, H.(1965).** DNA base composition and classification. Application to group of bifidobacteria and to related genera. *Ann. Institut de Pasteur* 109:SS 1-269.
- **Semenikhina. V. F. (1967)** Acid forming and antibiotic activity of *Lactobacillus bifidus*. *Moloch. Prom.* 28 (3), 17.
- **Sgorbati, B., V. Scardovi et D. J. Leblanc. (1982).** Plasmid in the genus *Bifidobacterium*. *J. Gen. Microbiol.* 128 : 2121-2131.
- **Shahani KM, Vakil JR, Kilara A (1976)** Natural antibiotic activity of *Lactobacillus acidophilus* and *bulgaricus*. 1. Cultural conditions for the production of antibiosis. *Cult Dairy Prad J* 11,14-17
- **Sheggs. H. R., Spizzen, J., and Wright, R D. (1950)** Competition antagonism of ribonucleic and deoxyribonucleic acid in the nutrition of *Lactobacillus bifidus*. *J. Am. Chern. Soc.* 72, 811.
- **Shewmaker,PL., Steigerwalt,AG., Morey, RE., Carvalho, MDG., Elliot,JA., Joyce, K., Barret, TJ.(2004).** *Vagococcus carniphilus* sp.nov., isolated from ground beef. *Int.J.Syst.Evol.Microbiol* 54:1505-1510.
- **Shimamura S., Abe F., Ishibashi N., Miyakawa H., Yaeshima T., Araya T.,Tomita M.,(1992).** Relationship between oxygen sensitivity and oxygen metabolism of *Bifidobacterium* species, *J. Dairy Sci.* 75 ; 3296–3306.
- **Shimomura, F. (1956b)** Bacterial synthesis and destruction of thiamine. II. Synthesis of thiamine by *Lactobacillus bifidus* In the caecum of rats, *Vitamins (Japan)* 10, 195.
- **Shimomura. F. (1956a)** Bacterial synthesis and destruction of thiamine. I. Synthesis of thiamine by *Lactobacillus bifidus*. *Vitamins (Japan)* 10, 191.
- **Simpson P.J., Stanton C., Fitzgerald G.F. and Ross R.P. 2003.** Genomic diversity and relatedness of bifidobacteria isolated from a porcine cecum. *J. Bacteriol.* 185: 2571–2581.
- **Singh et al.2012** The use of carbon dioxide in the processing and packaging of milk and dairy products: A review.
- **Snedecor GW, Cochran WG (1967)** *Statistical Methods*. Oxford and IBH Publ Co, Calcutta, India
- **Springer. G. F., Rose, C. S., and Gyorgy, P. (1954)** Blood group mucoids: distribution and growth promoting properties for *J. Inst. Can. Technol. Aliment.* Vol. 3, No 4, 1970 *Lactobacillus bitidus* var. *pennsilvanicus*. *J. Lab. Clinical Med.* 43. 532.

Références bibliographiques

- **Standllrd Methods for the Examination of Dairy Products 12 ed. (1967)** Published by the American Public Health Assoc. Inc.
- **Stoutz, P. W et Voisin, J. L. (1986).** Laits acidifiés in « Lait et produits laitiers vache, brebis, chèvre » Vol 1. *Technique et Documentation* Lavoisier. 441.
- **Sundman, V. and AF Bjorksten, K. (1958)** The globular involution forms of the Bifid Bacteria. *J. Gen. Microbiol.* 19, 491.
- **Sundman, V., At. Bjorksten, K. and Gyllenberg, H. G. (1959)** Morphology of the Bifid Bacteria (Organisms previously Incorrectly designated *Lactobacillus bifidus*) and some related genera. *J. Gen. Microbiol.* 21, 371.

T

- **Taisho Pharmaceutical Co.. Ltd. (1960)** Dried pharmaceutical preparations containing lactic acid bacillus. *Japan* 10. 900 Aug. 10. 1960.
- **Talsho Pharmaceutical Co.. Ltd. (1965)** Chemical compounds to improve milk. *Neth. Appl.* 6, SOI, 124 (CI. A. 23c) Aug. 2, 1965. Japan.
- **Tamime A. Y. & Robinson R.K. (1985).** Background to manufacturing practice. In yoghurt
- **Tamime A.Y. & Robinson R.K. (1999).** Yogurt science and technology, 2nd Ed. Cambridge woodhead Publishing.
- **Tamime, A.Y., Marshall, V.M.E. et Robinson, R.K. (1995).** Microbiological and technological aspects of milks fermented by bifidobacteria. *Journal of Dairy Research*, 62(1): 151-187.
- **Tamura, Z. (1983).** Nutriology of bifidobacteria. *Bifidobacteria and Microflora*. 2(1): 3-16.
- **Tanaka M, Iwanami T, Arai K, Nakagawa K, Joko K, Muroto I, Yamaduki M (1982)** Cultured milk production method. German Federal Republic Pat DE, 3048-438
- **Tannock, G.W., (1997).** Probiotic properties of lactic-acid bacteria: plenty of scope for fundamental R & D. *Trends Biotechnol*, 15, 270-74.
- **Tantaoui-Elaraki, A. and El Marrakchi, A. (1987).** Study of the Moroccan dairy products : Lben and smen. *Mircen J.* 3 : 211–220.
- **Tantaoui-Elaraki, A., Berrada, M., El Marrakchi, A. and Berramou, A. (1983a)** Préparation de leben Marocain à l'aide de souches bactériennes sélectionnées. *Actes de l'Int. Agro. Vet. (Maroc)* 3 : 49–58.

Références bibliographiques

- **Tantaoui-Elaraki, A., Berrada, M., El Marrakchi, A. and Berramou, A. (1983b)** étude sur le leben marocain. *Le lait* 63 : 230–245.
- **TEC & DOC.** Paris France. 194P.
- **Tervalon, N. V. (1956)** Additives for baby foods. Dutch 82. 509. Aug. IS, 1956.
- **Tervalon, N. V. (1961)** Bifidus-active food preparations. Neth. 97, 911. May IS, 1961.
- **Tharmaraj, N., Shah, N.P.,(2003).** Selective enumeration of *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacteria*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, and *Propionibacteria*. *J. Dairy Sci.* 86, 2288–2296.
- **Tissier, H. (1900).** Recherches sur la flore intestinale des nourrissons (Etat normal et pathologique). *Thesis, ed. Georges Carre' et C.Maud, University of Paris (medecine)[Fr], Paris, France*, pp. 253.
- **Tissler, H. (1908)** Recherches sur la flore Intestinale normale des enfants ages d'un an a cinq ans. *Ann. Inst. Pasteur.* 22, 189.
- **Tojo, M., Oikawa, T., Morikawa, Y., Ymashita, S., Iwata, S., Satoh, J., Hanada, J., et Tanaka, R.(1987).** The effects of Bifidobacterium breve administration on Campylobacter enteritis. *Acta Paediatr.Jpn*, 29:160-167.
- **Tomarelli, R M., Norris, R. F .• Rose, C. S., Gyorgy, P. (1950)** The effect of fatty acids on the growth of strains of Lactobacillus bifidus, *J. BioI. Chern.* 187, 197.
- **Tomarelli, R. M., Norris, R. F., Gyorgy, P., Hasslnen. J. B., and Bernhart. F. W. (1949)** Nutrition of variants of Lactobacillus bifidus. *J. BioI. Chern.* 181, 879.
- **Tomarelli, R. M., Norris. R. F. and Gyorgy, P. (1949)** Inability of vitamin B₁₂ to replace the deoxyribonucleic acid requirements of Lactobacillus bifidus. *J. BioI. Chern.* 179, 485.
- **Tomarelli. R. M., Eckhardt, E. R. and Bernhart, F. W. (1957)** Biologically active material for promoting of the growth of Lactobacillus bifidus. U.S. 2. 792, 389. May 14, 1957.
- **Touati K., 1990.** Contribution à l'étude microbiologique et physico-chimique d'un fromage artisanal algérien "la klila". Mémoire d'ingénieur, INATAA, Constantine, Algérie, 83p.

Références bibliographiques

- **Trojanova I., Vlkova E., Rada V. and Marounek M. (2006).** Different utilization of glucose and raffinose in *Bifidobacterium breve* and *Bifidobacterium animalis*. *Folia Microbiol.*, 51(4) :230-324.

V

- **Vacheyrou M., Normand A. C., Guyot P., Cassagne C., Piarroux R., Bouton Y. 2011.** Cultivable microbial communities in raw cow milk and potential transfers from stables of sixteen French farms. *Int. J. Food Microbiol.* 146, 253–262. 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.02.033•
- **Vandamme P., Pot B., Gillis M., de Vos P., Kersters K. and Swings J.(1996).** Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiology Reviews* . 60: 407–38.
- **Varnam et al, 2001** Lait et produits laitiers: technologie, chimie et microbiologie
- **Veerkamp, J. H., Lambert, R and Saito. Y. (1965)** Composition of the cell wall of *Lactobacillus bifidus* var. pennsilvanicus, *Arch. Biochem. Biophys.* 112 (I), 120.
- **Ventura Marco., Douwe van Sinderen., Gerald Fitzgerald., and Ralf Zink (2004).** Insights into the taxonomy, genetics and physiology of bifidobacteria. *Antonie van Leeuwenhoek* 86: 205–223
- **Vesa, T. H., Marteau, P., Zidi, S., Pochart, P. & Rambaud, J. C. (1996).** Digestion and tolerance of lactose from yogurt and different semi-solid fermented dairy products containing *Lactobacillus acidophilus* and bifidobacteria in lactose maldigesters. Is bacterial lactase important? *European Journal of Clinical Nutrition*, 50, 730–733.
- **Vignola C.L., 2002.** Science et technologie du lait: transformation du lait. *Presse internationale polytechnique, Montréal (Canada)*, 5, 14-15, 25, 28, 29, 79, 90 (600 p).
- **Vilain A. C. , 2010,** Qu'est-ce que le lait ? , *Revue française d'allergologie*, 50 : 124–127.
- **Vinchen J.P Voragen A.G.J (2005).** Glycosyl hydrolases from *bifidobacterium adolescentis* dsm, *lait* 87: 125-133.

W

- **Wang, M., Steers. E. and Norris. R. F. (1963)** Extracellular polysaccharide of mucoid *Lactobacillus bifidus*, *J. Bacteriol.* 86 (5), 898.
- **Wehkamp J, Schauber J, Stange EF (2007).** Defensins and cathelicidins in gastrointestinal infections. *Curr Opin Gastroenterol* 23: 32-38.
- **Weiss, J. E. and Rettger, L. F. (1934)** *Lactobacillus bifidus*. *J. Bacteriol.* 28, 501.

Références bibliographiques

- **Werner, H., Gasser, F, et Sebald, M.(1966).** DNA-Basenbestimmungen an 28 Bifidus Sthunen und Ansthmen Morphologisch Ahnlicher GaMinger. Zbl. Bak. *I.Brig. 198S :504-516.*
- **Williams N. B., Norris, R. F. and Gyorgy. P. (1953)** Antigenic and cult.lral relationships of Lactobacillus bifidus and Lactobacillus parabifidus. J. Infect. Dis. 92, 121.
- **Wolf, H. (1965)** Effect of bifldus colonization on the metabolism of fat, protein and vitamin BG• Ernaehrungsforschung 10 (2-3),"4.

Y

- **Yanai T. (1960)** Thiamine synthesis by bacterial cells. I. SyntheSiS of thiamine by washed cells of Lactobacillus bifidus, Vitamins (Kyoto) 19 (3), 391.
- **Yildirim, Z., Johnson, M.G., 1998.** Characterization and antimicrobial spectrum of bifidocin B, a bacteriocin produced by *Bifidobacterium bifidum* NCFB 1454. *Journal of Food Protection* 61, 47-51.
- **Yildirim, Z., Winters, D.K., Johnson, M.G., 1999.** Purification, amino acid sequence and mode of action of bifidocin B produced by *Bifidobacterium bifidum* NCFB 1454.*Journal of Applied Microbiology* 86, 45-54.
- **Yoshioka, M., Yoshioka, S., Tamura, Z. and Ohta, K. (1968)** Growth responses of Bifidobacterium bifldum to coenzyme A. its precursors and carrot extract. Japan J. Microblol. 12 (4), 395.
- **Yuguchi, H., Hiramatsu, A., Doi, K., Idach, et Okogoni, S. (1989).**Studies on the flavor of yogurt fermented with Bifidobacteria: Signifiame of volatils components and organic acids in the sensory acceptance of yogurt. *Jpn J.Zootech Sci.*; 60:734-741.

Z

- **Zhou. J.S, C.J. Pillidge, P.K. Gopal, H.S. Gill (2005).** Antibiotic susceptibility profiles of new probiotic *Lactobacillus and Bifidobacterium* strains ;International Journal of Food Microbiology 98 (2005) 211 – 217.
- **Zilliken, F., Smith, P. N., Rose, C. S. and Gyorgy, P. (1955)** Synthesis of 4_0_B_D_galactopyranosyl_N.Acetyl.D.glucosamlne by intact cells of Lactobacillus bifidus var. pennsllvanicus, J. BioI. Chern. 217, 79

Annexes

Annexe 01 : Quelques-uns des avantages pour la santé établis et potentiels de Bifidobactérium

Effet sur la santé	Mécanismes
<p>Scientifiquement établi Réduction de l'intolérance au lactose</p>	<p>Administration de la galactosidase intracellulaire à l'homme tube digestif</p>
<p>Prévention et réduction des symptômes du rotavirus et diarrhée associée aux antibiotiques</p>	<p>Exclusion concurrentielle Translocation / effet barrière Meilleure réponse immunitaire</p>
<p>Potentiel Traitement et prévention des allergies (eczéma atopique, allergie alimentaire) Réduction du risque associé à la mutagénicité et à la cancérogénicité</p>	<p>Translocation / effet barrière Exclusion, élimination et régulation Immunitaires Métabolisme des mutagènes Altération de la microécologie intestinale Altération de l'activité métabolique Intestinale Normalisation de la perméabilité intestinale Immunité intestinale améliorée</p>
<p>Effet hypocholestérolémique Inhibition d'Helicobacter pylori et d'agents pathogène intestinaux</p>	<p>Déconjugaison des sels biliaires Exclusion concurrentielle Effet barrière Production de composés antimicrobiens</p>
<p>Prévention des maladies inflammatoires de l'intestin</p>	<p>Exclusion concurrentielle Amélioration des jonctions serrées épithéliales Modification de la perméabilité intestinale Modulation de la réponse immunitaire Production de produits antimicrobiens Décomposition des antigènes pathogènes</p>
<p>Stimulation du système immunitaire</p>	<p>Reconnaissance par des récepteurs de type Pége –induction immunité adaptative Régulation à la baisse des cytokinines pro-inflammatoires et chimiokines Régulation à la hausse de l'activité phagocytaire Régulation de la balance Th1 / Th2</p>

Annexe 02 : Fermentation de différents sucres par des bactéries bifides non ramifiées isolées à partir d'écouvillons rectaux pour nourrissons allaités.

Source de Carbone	AX6°			AVII8			AVI7			AII13			AI8		
	croi	gaz	Ac	croi	gaz	Ac	croi	gaz	Ac	croi	gaz	Ac	croi	gaz	Ac
Lactose	+++	-	14.1	+++	-	6.6	+++	-	5.8	+++	-	14.3	+++	-	12.5
Dextrose	+++	-	13.3	++	-	2.3	+++	-	9.2	+++	-	13.9	+++	-	13.8
Galactose	+++	-	11.5	++	-	3.5	+++	-	6.2	+++	-	12.3	+++	-	12.0
Sucrose	+++	-	10.5	+	-	0.1	+++	-	0.5	++	-	0.7	+++	-	5.7
Arabinose	++	-	2.0	+	-	1.3	+++	-	6.5	++	-	1.8	+	-	1.8
Xylose	++	-	0.3	+	-	0.3	+++	-	4.0	++	-	0.9	++	-	1.0
Maltose	+++	-	6.1	+++	-	5.5	+++	-	2.9	+++	-	5.7	+++	-	2.4
Inulin	+++	-	10.9	++	-	0.4	+++	-	2.8	++	-	0.7	+++	-	9.8
Dextrin	++	-	1.6	++	-	0.5	+++	-	0.7	+++	-	0.5	+++	-	0.7
Amidon	++	-	0	-	-	0	+++	-	0.6	++	-	0	+++	-	0.7
Mannitol	+++	-	2.3	++	-	0	+++	-	0.5	++	-	0.3	+++	-	1.8
Melezitose	+	-	0	+	-	0	+++	-	9.5	+++	-	15.4	++	-	0

Croi = croissance

Ac = Acidité

Année universitaire : 2019/2020

Présenté par :

GUEBLI ikram

BENDACHA asma

Fabrication d'un lait fermenté type l'ben au bifidus

Memoire de fin de cycle pour l'obtention du diplome de Master en Biotechnologies alimentaires

Résumé

Les produits laitiers ont toujours été perçus auprès des consommateurs comme des produits nutritifs et constituent une partie importante du régime alimentaire. Depuis quelques années, l'incorporation de bactéries probiotiques comme additifs alimentaires a donné lieu à une consommation de plus en plus importante des produits laitiers. L'efficacité de bifidobactéries dépend de leur viabilité qui doit être maintenue au cours du processus technologique, de stockage et de conservation.

L'objet visé pour la réalisation du présent travail était, la fabrication d'un lait fermenté au bifidus, en raison de l'intérêt qu'il peut procurer à la santé du consommateur au raison de la situation exceptionnelle des conditions du stage, on s'est limité à une étude bibliographique dans laquelle s'est limité aux chapitres se rapportant aux généralités sur le lait, la présentation des produits laitiers fermentés principalement le lait fermenté de type L'ben, les caractéristiques des bactéries lactiques genre bifidobactérium. Enfin une chapitre qui portera sur les caractéristiques des probiotiques et prébiotiques. Pour la deuxième partie ont s'est proposer de décrire le processus de fabrication d'un lait fermenté au bifidus et la présentation, de trois articles en relation avec la recherche sur l'intérêt et l'effet sur la fermentation d'un lait.

Mots clés: Lait, Fermentation, processus, Probiotique, bifidobactéries, Lactobifidus.

Jyru d'évaluation :

- M. KEDDAM remdhan Encadreur Univ. Mostaganem
- M. BENMILOUD Djamel Président Univ. Mostaganem
- M. BENBOUZIANE Asri Examineur Univ. Mostaganem

