

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
و وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة جيلالي بونعامة خميس مليانة  
Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana  
Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre  
Département de Biologie



## *Mémoire de fin d'études*

En vue de l'obtention de diplôme de **Master** en

**Domaine:** Science de la nature et de la vie

**Filière:** Biotechnologie

**Spécialité:** Biotechnologie microbienne

# *Intérêt de la flore lactique dans l'industrie laitière*

**Présenté par:**

- *MAHREZ Rafiq*
- *BEKRAOUA Aicha*

**Devant le jury :**

Mme SAADI Fadhila	MCA	Président	(U.D.B Khemis Miliana)
Mme BOUKHALFA Nabila	MAA	Promotrice	(U.D.B Khemis Miliana)
Mme ABDELLI Wafae	MCB	Examinatrice	(U.D.B Khemis Miliana)

**Année universitaire : 2021/2022**

## **Remerciements**

*Nous remercions tout d'abord ALLAH le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.*

*Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à Mme Boukhalifa N., notre encadreur pour avoir dirigé ce travail, pour ses efforts, conseils et orientation. Nous lui exprimons notre profond respect et nos chaleureux remerciements.*

*Nos vifs remerciements s'adressent à Mme Saadi F. et Mme Abdelli W. d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nos plus vifs remerciements s'adressent aussi au personnel de laboratoire de microbiologie de la laiterie d'ARIB et ceux du laboratoire de microbiologie de l'université de Khemis Miliana en particulier les responsables Mme « Sara » et « Latifa ».*

*Un spécial clin d'œil à ma chère amie Zouatni Salima, pour son aide, sans elle, ce travail n'aurait pas pris fin.*

*Nous remercions tous ceux qui nous ont rendu service et qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*



## Dédicaces

*Je dédie ce travail à*

*Mon père, la base de toute ma carrière, le plus cher qui existe sur terre, école de mon enfance, qui a été mon ombre durant toutes les années des études, et qui à veiller tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner l'aide et à me protéger.*

*Ma chère mère qui s'est toujours sacrifiée pour mon éducation, qui m'a entourée de son amour, qui a été à mes côtés et m'a soutenu durant toute ma vie.*

*Mes chers frères Yazid et Nadjib pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral,*

*Tous mes oncles et tantes, et toute la famille Mahrez.*

*Ma chère amie Bekraoua Aicha, en souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble.*

*Enfin à toute mes amies de la promotion biotechnologie microbienne 2021/2022 pour tous les moments que nous avons partagé ensemble.*

***Rafika***



## ***Dédicaces***

*Je dédie ce travail très spécialement à :*

*La plus chère au monde ma mère Fatima Zohra , qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, les sacrifices consentis et ses précieux conseils.*

*Mon père Abes, qui peut être fier de trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie.*

*Mes chers frères Alaa eddine et Amir et Islam et mes chères et adorable sœurs Rania et Ranime.*

*Tous mes oncles et tantes, cousins et cousines, et toute la famille Bekraoua et Otesmane.*

*Ma chère amie Mahrez Rafiqa, en souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés en semble.*

*Mes adorables copines*

*Fatiha Mouna, , Yousra, Assia Fadwa , Fatima zohra*

*Et enfin à toute mes amies de la promotion biotechnologie microbienne 2021/2022 pour tous les moments que nous avons partagés ensemble.*

***Aicha***

## Résumé

Le lait est un aliment bénéfique à tous les âges de la vie, il occupe une place primordiale dans le régime alimentaire. Les produits laitiers sont considérés comme une bonne source de bactéries lactiques. La qualité de lait est souvent placée en deuxième position après la quantité de lait produite. La recherche des propriétés microbiologiques (dénombrement des bactéries lactiques) du lait et certain de ses dérivés constitue notre objectif.

La présente étude a été réalisée au niveau de la laiterie de «ARIB, wilaya de Ain Defla, elle est étalée durant une période allant de 02 mars 2022 jusqu'au 15 mai 2022. L'isolement et le dénombrement des bactéries lactiques sur les milieux M17 et MRS à partir du yaourt aromatisé, fromage frais, lait fermenté et le beurre ont donné les résultats suivant : la charge des bactéries lactiques dans le yaourt aromatisé est de  $30,27 \times 10^7$  UFC/g pour *Streptococcus thermophilus* et  $45,8 \times 10^7$  UFC/g pour *Lactobacillus bulgaricus*. Le fromage frais :  $0,12 \times 10^2$  UFC/g, le lait fermenté (L'ben) :  $25 \times 10^9$  UFC/g et  $20 \times 10^9$  UFC/g, le beurre :  $15 \times 10^4$  UFC/g.

Ces résultats peuvent être compatibles avec une bonne qualité microbiologique des produits laitiers et les conditions hygiéniques acceptables lors de la fabrication.

**Mots clés :** Lait, yaourt aromatisé, fromage frais, lait fermenté, beurre, bactéries lactiques

## Abstract

Milk is a beneficial food at all ages and is an important part of the diet. Dairy products are considered a good source of lactic acid bacteria. Milk quality is often placed second to the quantity of milk produced. The investigation of the microbiological properties (lactic acid bacteria count) of milk and some of its derivatives is our objective.

The present study was carried out at the dairy of "ARIB, wilaya of Ain Defla, it is spread over a period from March, 02<sup>nd</sup>, 2022 until May, 15<sup>th</sup>, 2022. The isolation and enumeration of lactic bacteria on M17 and MRS media from flavoured yoghurt, fresh cheese, fermented milk and butter gave the following results: the load of lactic bacteria in flavoured yoghurt is  $30.27 \times 10^7$  CFU/g for *Streptococcus thermophilus* and  $45.8 \times 10^7$  CFU/g for *Lactobacillus bulgaricus* fresh cheese:  $0.12 \times 10^2$  CFU/g, fermented milk (L'ben):  $25 \times 10^9$  CFU/g and  $20 \times 10^9$  CFU/g, butter:  $15 \times 10^4$  CFU/g.

These results may be consistent with good microbiological quality of dairy products and acceptable hygienic conditions during manufacture.

**Key words:** Milk, flavored yoghurt, fresh cheese, fermented milk, butter, lactic acid bacteria

## ملخص

الحليب غذاء مفيد لجميع الأعمار وجزء مهم من النظام الغذائي. تعتبر منتجات الألبان مصدرًا جيدًا لبكتيريا حمض اللاكتيك. غالبًا ما يتم وضع جودة الحليب في المرتبة الثانية بعد كمية الحليب المنتجة. هدفنا هو التحقيق في الخصائص الميكروبيولوجية (عدد بكتيريا حمض اللاكتيك) للحليب وبعض مشتقاته.

أجريت الدراسة الحالية في مصنع ألبان "ARIB" بولاية عين الدفلة ، ووزعت على مدى الفترة من 02 مارس 2022 حتى 15 مايو 2022. عزل وتعداد بكتيريا اللاكتيك على وسط M17 و MRS من الزبادي المنكه والجبن الطازج والحليب المخمر والزبدة أعطت النتائج التالية: حمولة بكتيريا اللاكتيك في الزبادي المنكه  $30.27 \times 10^7$  CFU / g للمكورات العقدية الحرارية و  $45.8 \times 10^7$  CFU/g للجبن الطازج ، **Lactobacillus bulgaricus:  $0.12 \times 10^2$  CFU / g** ، الحليب المخمر:  $25 \times 10^9$  CFU / g و  $20 \times 10^9$  CFU / g ، الزبدة:  $15 \times 10^4$  CFU / g.

قد تكون هذه النتائج متوافقة مع الجودة الميكروبيولوجية الجيدة لمنتجات الألبان والظروف الصحية المقبولة أثناء التصنيع.

**الكلمات الأساسية:** الحليب ، الزبادي المنكه ، الجبن الطازج ، الحليب المخمر ، الزبدة ، بكتيريا حمض اللاكتيك.

**Page de garde**

**Remercîment**

**Dédicace**

**Résume**

## **Table des matières**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Liste des abréviations**

<b>Introduction Générale</b>	<b>1</b>
<b>Synthèse bibliographique</b>	
<b>Chapitre 1 : Le lait</b>	
1.1 Généralités sur le lait	3
1.2 Composition de lait de vache	3
1.2.1 L'eau	4
1.2.2 Matière grasse	4
1.2.3 Glucides	5
1.2.4 Protéines	6
1.2.4.1 Caséines	6
1.2.4.2 Protéines du lactosérum	7
1.2.5 Les minéraux	8
1.2.6 Les Vitamines	9
1.2.7 Les enzymes	10
1.3 Propriétés physico-chimiques du lait	11
1.3.1 Masse volumique	12
1.3.2 Densité du lait	12
1.3.3 Acidité du lait	12
1.3.4 PH	12
1.3.5 Point d'ébullition	13
1.3.6 Point de congélation	13
1.4 Caractéristiques microbiologique du lait	13
1.4.1 Flore originelle	13
1.4.2 Flore de contamination	14
1.4.2.1 Flore pathogène	14
1.4.2.2 Flore d'altération	14
<b>Chapitre 2 : Les Bactéries Lactiques</b>	
2.1 Historique	15
2.2 Définition	15

2.2.1	Critères morphologiques et biochimiques	15
2.2.2	Structure des bactéries lactiques	17
2.3	Habitat	17
2.4	Culture des bactéries lactiques	18
2.5	Taxonomie	18
2.6	Classification	18
2.6.1	Classification selon les méthodes phénotypiques	18
2.6.2	Classification selon les méthodes génotypique	19
2.7	Les principaux genres	19
2.7.1	Le genre <i>Lactobacillus</i>	19
2.7.2	Le genre <i>Streptococcus</i>	21
2.7.3	Le genre <i>Entérocooccus</i>	21
2.7.4	Le genre <i>Lactococcus</i>	22
2.7.5	Le genre <i>Leuconostoc</i>	23
2.7.6	Le genre <i>Bifidobacterium</i>	24
2.8	Biodiversité des bactéries lactiques dans les produits laitiers	25
2.8.1	Le lait	25
2.8.2	Le yaourt	26
2.8.3	Fromage frais	26
2.8.4	L'ben	27
2.8.5	Beurre	27
2.9	Intérêt des bactéries lactiques	27

### **Partie Expérimentale**

#### **Chapitre 3 : Matériels et méthodes**

3.1	Présentation de la zone d'étude	30
3.2	La période de l'étude	30
3.3	Matériel	30
3.4	Les méthodes	31
3.4.1	Analyses microbiologiques	31
3.4.2	Échantillonnage	31
3.4.3	Protocole de dénombrement	31
	Dilutions décimales de l'échantillon	31
	Ensemencements	32
3.4.4	Les produits analysés	33
	le yaourt aromatisé	33
	Fromage frais	33
	Lait fermentés (l'ben)	34
	Beurre	34

#### **Chapitre 4 : Résultats et discussion**

4.1	Résultat des produits analysé	35
4.1.1	le yaourt aromatisé	35
4.1.2	Fromage frais	35
4.1.3	Lait fermentés (l'ben)	35
1.1.4	Beurre	36
4.2	Discussion	37

<b>Conclusion</b>	<b>40</b>
<b>Références bibliographiques</b>	<b>41</b>
<b>Les Annexes</b>	

## **Liste des tableaux**

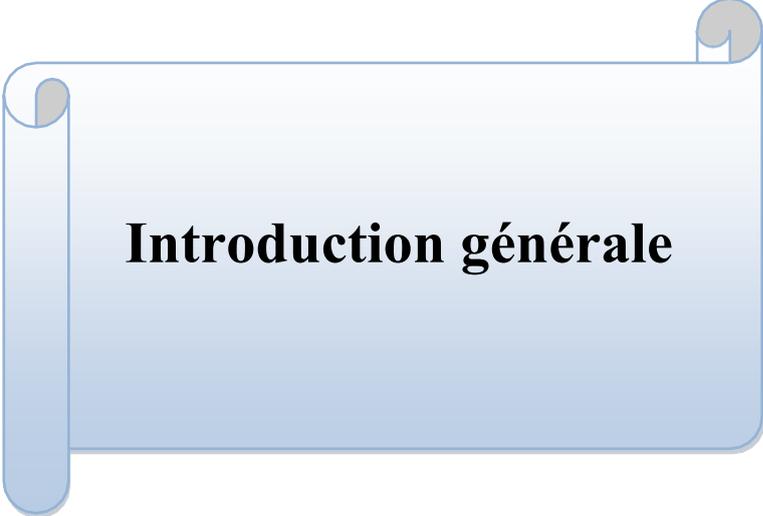
<b>Tableaux 1.1</b>	La composition globale du lait de vache	<b>3</b>
<b>Tableaux 1.2</b>	Classification des protéines du lait de vache	<b>8</b>
<b>Tableaux 1.3</b>	Composition minérale du lait de vache	<b>9</b>
<b>Tableaux 1.4</b>	Teneur en vitamine du lait de vache cru	<b>10</b>
<b>Tableaux 1.5</b>	Caractéristiques des principaux enzymes du lait	<b>11</b>
<b>Tableaux 1.6</b>	Flore originelle de lait cru	<b>14</b>
<b>Tableaux 4.1</b>	Dénombrement des colonies des bactéries lactiques dans les différents produits analysés.	<b>37</b>

## Liste des figures

<b>Figure 1.1</b>	Structure d'un globule de matière grasse	<b>5</b>
<b>Figure 1.2</b>	Structure d'une micelle et sous-micelle de caséine	<b>6</b>
<b>Figure 2.1</b>	Représentation schématique des principales voies de fermentation des hexoses chez les bactéries lactiques	<b>16</b>
<b>Figure 2.2</b>	<i>Lactobacillus</i> observé au microscope électronique à transmission (M.E.T.) (x10000)	<b>20</b>
<b>Figure 2.3</b>	<i>Streptococcus thermophilus</i> , observé au microscope optique (x10000)	<b>21</b>
<b>Figure 2.4</b>	<i>Enterococcus faecalis</i> observé au microscope optique (Gx 1000)	<b>22</b>
<b>Figure 2.5</b>	<i>Lactococcus lactis</i> observé au microscope optique (x 1000)	<b>23</b>
<b>Figure 2.6</b>	<i>Leuconostoc</i> observé au microscope électronique à transmission. (Gx 10000)	<b>24</b>
<b>Figure 2.7</b>	<i>Bifidobacterium</i> sp. observé au microscope optique (Gx 1000)	<b>25</b>
<b>Figure 2.8</b>	Utilisation industrielle des bactéries lactiques	<b>29</b>
<b>Figure 3.1</b>	Préparation des dilutions à partir de la solution mère de yaourt	<b>32</b>
<b>Figure 3.2</b>	Ensemencement en masse de yaourt aromatisé sur le milieu MRS	<b>33</b>
<b>Figure 3.3</b>	Ensemencement en masse de Le Fromage frais sur milieu MRS	<b>33</b>
<b>Figure 3.4</b>	Ensemencement en masse du L'ben sur le milieu MRS.	<b>34</b>
<b>Figure 3.5</b>	Ensemencement en masse de beurre sur milieu MRS	<b>34</b>
<b>Figure 4.6</b>	Bactéries lactiques sur milieu MRS+M17	<b>35</b>
<b>Figure 4.7</b>	Résultats de Fromage frais sur le milieu MRS	<b>35</b>
<b>Figure 4.8</b>	Résultats de lait fermenté sur le milieu MRS	<b>36</b>
<b>Figure 4.9</b>	Résultats de beurre sur le milieu M17	<b>36</b>

## Liste des abréviations

<b>pH</b>	Potentiel d'hydrogène
<b>MRS</b>	Man-Rogosa et Sharp
<b>UFC /ml</b>	Unité formant colonie par millilitre
<b>°D</b>	Degré Dornic
<b>°C</b>	Degré Celsius
<b>MG</b>	Matière Grasse
<b>ADN</b>	Acide Désoxyribonucléique
<b>ARN</b>	Acide Ribonucléique
<b>%</b>	Pourcentage
<b>EST</b>	Extrait sec total
<b>G+C</b>	Teneur en Guanine+Cytosine
<b>ATP</b>	adénosine triphosphate
<b>ADP</b>	adénosine diphosphate
<b>NAD+/NADH,</b>	Couple oxydant/réducteur du nicotinamide adénine dinucléotide
<b>H+</b>	
<b>Pi</b>	phosphate inorganique
<b>NaCl</b>	Chloride de Sodium
<b>BL</b>	bactérie lactique
<b>CO<sub>2</sub></b>	Dioxyde de Carbone
<b>FAO</b>	Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture.
<b>ISO</b>	Organisation Internationale de Normalisation.
<b>JORA</b>	Journal Officiel de la République Algérienne
<b>MRS</b>	Man, Rogosa et Sharpe.
<b>M 17</b>	Terzaghi et Sandine, 1975
<b>ARNr 16S</b>	Sous-unité 16S de l'ARN ribosomique.



**Introduction générale**

### **Introduction**

L'Algérie est le premier consommateur de lait au Maghreb. Le lait occupe une place prépondérante dans la ration alimentaire des algériens, et apporte la plus grande part des protéines d'origine animale (**Benhedane, 2011**).

Les algériens consomment plus que la moyenne mondiale en matière de lait. La consommation annuelle des algériens de ce produit est estimée à 145 litres par an et par citoyen, alors que, la moyenne mondiale selon la FAO est de 90 litres/an par citoyen. La consommation annuelle de lait en Algérie est de 5 milliards de litres, dont 3,5 milliards de litres produites localement tandis que, 1,5 milliards de litres sont importés sous forme de Introduction x poudre qui une fois subventionnée elle sera transformée dans les laiteries en lait reconstitué ([www.algerie-eco.com/](http://www.algerie-eco.com/), Consulté le 05/07/2021).

Le lait est un produit indispensable à l'équilibre de l'alimentation humaine. Il contient de nombreux nutriments bénéfiques pour l'organisme : protéines, glucides, lipides, sels minéraux, vitamines et oligo-éléments. Il représente un milieu biologique fortement altérable par voie microbienne en raison de sa forte teneur en eau, de son pH voisin de la neutralité et de sa richesse en composants biodégradables (lactose, protéines et lipides) (**Huyghebaert, 2006**). L'industrie laitière s'intéresse à la transformation du lait comme matière première, ses produits sont nombreux, telle que le yaourt, fromage, petit lait et d'autre. (**Benaissa, 2018**).

Lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, le lait cru contient peu de germes (103 germes par ml). Il s'agit de germes saprophytes et parmi eux, on trouve les streptocoques lactiques (*Lactococcus*) et les Lactobacilles. Durant la traite et le stockage, le lait peut se contaminer par une flore variée constituée essentiellement de bactéries lactiques appartenant aux genres suivants : *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc* et *Lactobacillus* (**Bekhouche, 2006**).

Les bactéries lactiques présentent un grand intérêt dans l'industrie (**Bekhouche, et Boulahrouf, 2005**). Elles sont considérées parmi les plus d'importants groupes de micro-

organismes utilisés dans les fermentations alimentaires. (**Hikmate, *et al.*, 2012**).

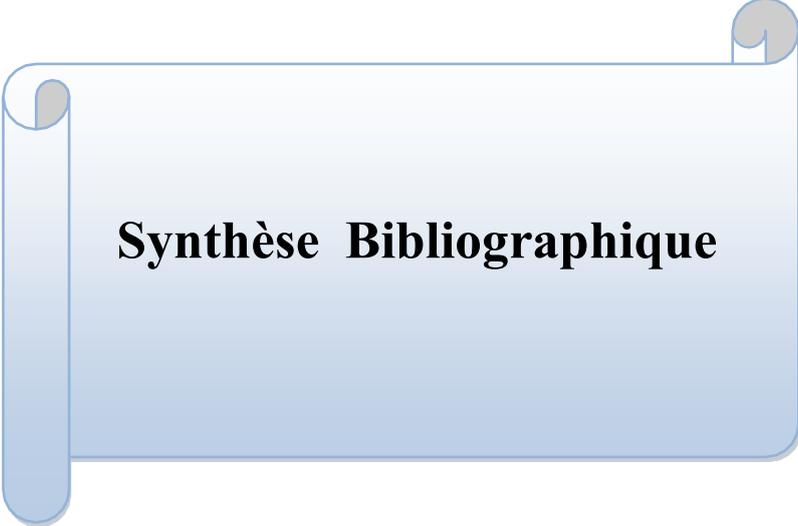
La qualité de lait est souvent placée en deuxième position après la quantité de lait produite, cela à cause de déficit de production nationale. Parmi les soucis de la qualité, on a les paramètres physico-chimiques et microbiologiques.

Le présent travail s'articule sur deux parties :

- Une partie bibliographique composée de deux chapitres. Le premier chapitre présente des généralités sur le lait de (les propriétés physico-chimiques et microbiologiques du lait). Le second comporte un aperçu sur les bactéries lactiques.
- La deuxième partie est expérimentale, elle présente le matériel et les différentes méthodes utilisées pour d'étudier morphologiquement et dénombrer des bactéries lactiques des produits laitiers. En fin la discussion et la conclusion.

Ce travail a pour objectifs :

- donner un aperçu sur l'intérêt de la flore lactique dans l'industrie laitier.
- étudier les caractéristiques microbiologiques (morphologie et dénombrement) correspondants à la flore lactique spécifique de certain produit laitier.



**Synthèse Bibliographique**

## *Chapitre 1 : Le Lait*



## **Chapitre 1 : Le Lait**

### **1.1. Généralités sur le lait**

Le lait est « le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée » il doit être en outre collecté dans de bonnes conditions hygiénique et présenter toutes les garanties sanitaires. Il peut être commercialisé à l'état naturel mais le plus souvent après avoir subi des traitements de standardisation lipidique et d'épuration microbienne pour limiter les risques hygiéniques et assurer une plus longue durée de conservation (**Jeantet, et al., 2008**).

Le lait apparait comme un liquide opaque, blanc mat, plus moins jaunâtre selon sa teneur en  $\beta$ -carotènes et en matière grasse. Il a une odeur peu marquée mais reconnaissable (**Cniel, 2006**). 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 ébullition avant consommation car il peut contenir des germes pathogènes. Il doit être conservé au réfrigérateur et consommé dans les 24h (**Fredot, 2006**). Rapportent que le lait doit être en outre collecté dans de bonnes conditions hygiéniques et présenter toutes les garanties sanitaires. (**Jeantet, et al., 2008**).

### **1.2. Composition de lait de vache**

La composition du lait de vache (tableau 1) est un mélange complexe constitué à 90% d'eau et qui comprend : une solution vraie contenant les sucres, le lactose, les protéines solubles, les minéraux (phosphore, zinc) et les vitamines hydrosolubles, une solution colloïdale contenant les protéines, en particulier les caséines, une émulsion de matières grasses dans l'eau (**Foroutan, et al., 2019**).

**Tableau 1.1 : La composition globale du lait de vache (Lapointe et Vignola, 2002)**

<b>Critères</b>	<b>Variation limites (%)</b>	<b>Valeurs moyenne (%)</b>
Eau	85.5-89.5	87.5
Matières grasses	2.4-5.5	3.7
Protéines	2.9-5.0	3.2
Glucides	3.6-5.5	4.6
Minéraux	0.7-0.9	0.8

### 1.2.1. L'eau

La valeur nutritive du lait est particulièrement élevée grâce à l'équilibre entre les nutriments qu'il contient. L'eau apparaît comme l'élément le plus important du lait. Selon **Pougheon et Goursaud (2001)**, le lait est un milieu hétérogène dans lequel trois phases distinctes coexistent :

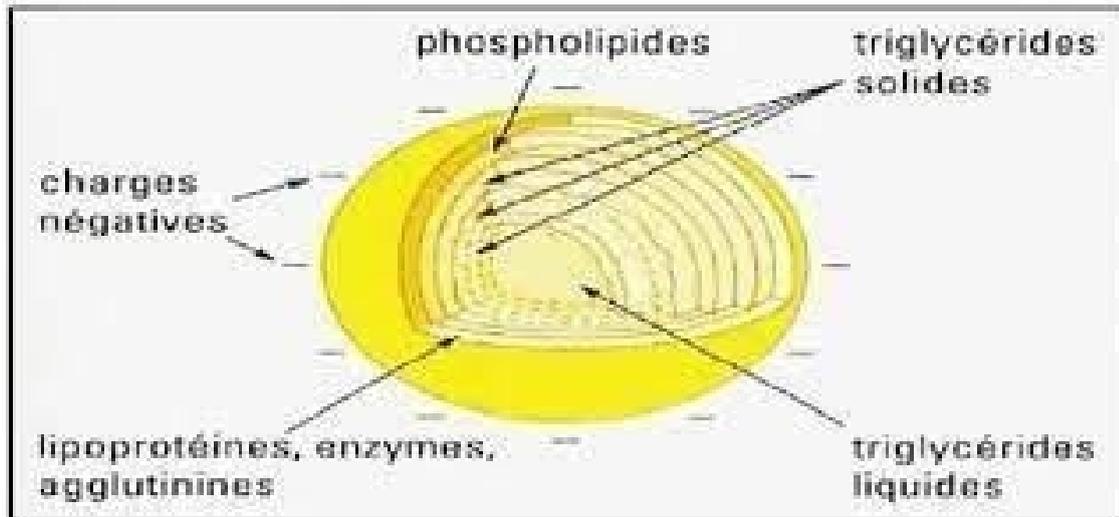
- La phase aqueuse, qui contient l'eau (87% du lait) et les produits solubles pouvant donner naissance au lactosérum (lactose, sels, protéines solubles, composés azotés non protéiques, vitamines hydrosolubles et enzymes) ;
- La suspension colloïdale micellaire (2.6%), qui peut donner naissance au caillé obtenu par la coagulation des caséines suite à l'action de microorganismes ou d'enzymes.
- L'émulsion (4.2%), qui peut donner naissance à la crème, une couche de globules gras rassemblés à la surface du lait par effet de gravité.

### 1.2.2. Matière grasse

Le lait de vache contient naturellement 42g/l de la matière grasse elle confère au lait entier la moitié de la valeur énergétique du lait (**Gnadig et Sébédio, 2001**).

La matière grasse est présente dans le lait sous forme de globules gras de diamètre de 0,1 à 10 µm et est essentiellement constitué de triglycérides (98%). Elle est constituée de 65% d'acides gras saturés et de 35% d'acides gras insaturés (**Jeantet *et al.*, 2008**). Elle renferme :

- Une très grande variété d'acides gras (150 différents) ;
- Une proportion élevée d'acides gras à chaînes courtes, assimilés plus rapidement que les acides gras à longues chaînes ;
- Une teneur élevée en acide oléique (C18 :1) et palmitique (C16 :0) ;
- Une teneur moyenne en acide stéarique (C18 :0)



**Figure 1.1 : Structure d'un globule de matière grasse (Lapointe et Vignola, 2002).**

Les phospholipides représentent moins de 1% de la matière grasse, sont plutôt riches en acides gras insaturés. Le lait de vache est pauvre en acides gras essentiels par rapport au lait d'origine humaine (1.6% contre 8.5% en moyenne) (Jeantet, *et al.*, 2008).

La matière grasse du lait est produite principalement à partir des acides gras volatils (acides acétique et butyrique). Le premier est formé principalement à partir des glucides pariétaux des fourrages (cellulose) et le deuxième à partir des glucides rapidement fermentescibles (par exemple le sucre de betterave). Une partie de la matière grasse du lait provient de la mobilisation des réserves lipidiques de la vache (jusqu'à 60 kg). Sous certaines conditions, des graisses alimentaires peuvent aussi contribuer à la formation de la matière grasse du lait (Stoll, 2003).

### **1.2.3. Glucides**

Dans le lait de vache, les glucides sont représentés essentiellement par le lactose qui est synthétisé dans la glande mammaire. Il est l'un des constituants majeurs de la matière sèche du lait, il représente environ la moitié de l'extrait sec total (EST), sa concentration est relativement constante et peu sujette aux variations saisonnières (Jeantet, *et al.*, 2008). C'est un disaccharide à saveur relativement peu sucrée, peu soluble, qui possède un groupement réducteur. Le lactose joue un rôle important dans les produits laitiers en tant que substrat de fermentation pour les bactéries lactiques qui l'hydrolysent en glucose et galactose, puis transforment ces hexoses en acide lactique ; le galactose subit d'abord une isomérisation en glucose-1-phosphate (Cheftel et Cheftel, 1992 ; Perreau, 2014). Globalement, le lactose,

représente 97% des glucides totaux du lait, les autres glucides étant associés à la caséine  $\kappa$ , l' $\alpha$ -lactalbumine et aux immunoglobulines (Jeantet, *et al.*, 2008).

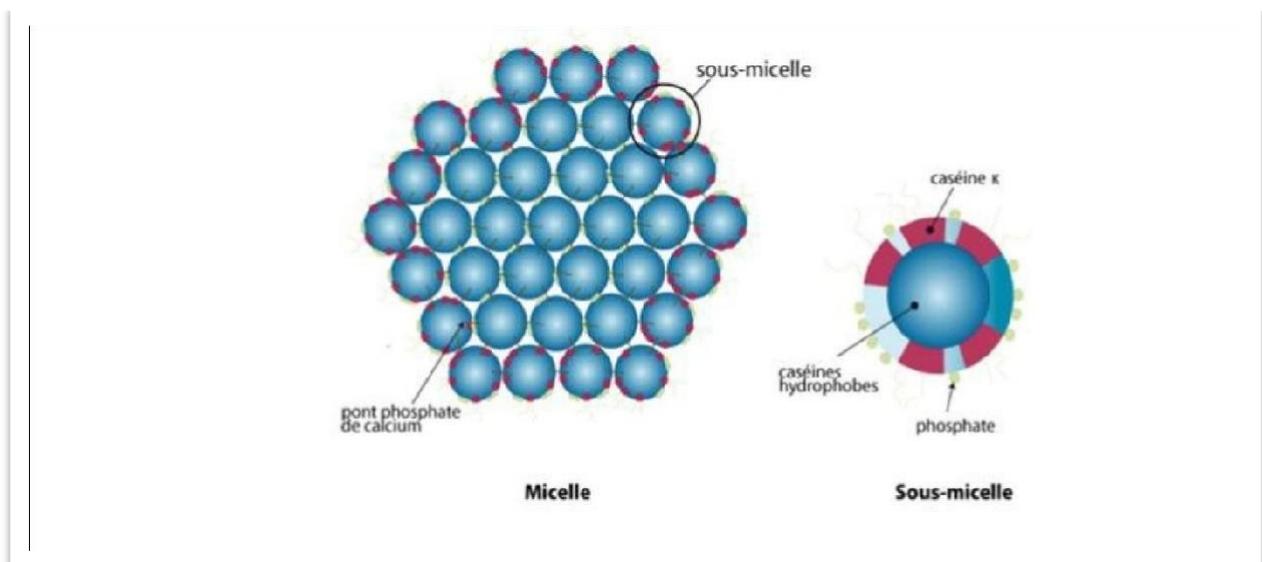
#### 1.2.4. Protéines

Les protéines sont des éléments essentiels au bon fonctionnement des cellules vivantes et elles constituent une part importante du lait et des produits laitiers (Amiot, *et al.*, 2002). On les classe en deux catégories, d'après leur solubilité dans l'eau :

- Les caséines : ( $\alpha$ -S1B,  $\alpha$ -S2A,  $\beta$ -A2,  $\kappa$ ) qui sont en suspension colloïdale, qui se regroupent sous forme de micelles.
- Les protéines de sérum : (bêta-lactoglobuline, alpha-lactalbumine) qui se retrouvent sous forme d'une solution colloïdale et qui précipitent sous l'action de la chaleur.

##### 1.2.4.1. Caséines

Les caséines forment près de 80% de toutes les protéines présentes dans le lait, leur point isoélectrique moyen est de 4,65. Les caséines se regroupent sous forme sphérique appelée micelle (100-500 nm de taille). Les micelles de caséine (figure 02) sont constituées de 92% de protéines ( $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$ ,  $\kappa$ ) et de 8% de minéraux (Amiot, *et al.*, 2002). Cependant les  $\alpha$ - caséines représentent 46%, alors que, les  $\beta$  et les  $\kappa$ -caséines représentent respectivement 13 et 7% (Wolter et Ponter, 2012).



**Figure 2.1 : Structure d'une micelle et sous-micelle de caséine (Amiot *et al.*, 2002).**

### **1.2.4.2. Protéines du lactosérum**

Les protéines du lactosérum représentent 15 à 28% des protéines du lait de vache et 17% des matières azotées (**Debry, 2001**).

**Thapon (2005)**, définit les protéines du lactosérum comme protéines d'excellente valeur nutritionnelle, riches en acides aminés soufrés, en lysine et tryptophane. Elles ont de remarquables propriétés fonctionnelles mais sont sensibles à la dénaturation thermique.

#### **a. L' $\alpha$ -lactalbumine**

L' $\alpha$ -lactalbumine est une protéine de 123 acides aminés comportant trois variantes génétiques (A, B, C). Métalloprotéine (elle possède un atome de calcium par mole) du type globulaire (structure tertiaire quasi sphérique). Elle représente environ 22% des protéines du sérum (**Vignola, 2002**).

#### **b. La $\beta$ -lactoglobuline**

La  $\beta$ -lactoglobuline est la plus importante des protéines du sérum puisqu'elle en représente environ 55%. Son point isoélectrique est 5.1 la  $\alpha$ -lactoglobuline est une protéine de 162 acides aminés comportant 7 variantes génétiques (A, B, C, D, E, F, G). Lors du chauffage la fixation d'une molécule de caséine K et d'une  $\beta$ -lactoglobuline se fasse également par un pont disulfure (**Debry, 2001**).

#### **c. Le sérum-albumine**

Représente environ 7% des protéines du sérum. Elle est constituée de 582 résidus d'acides aminés. Comptant un seul variant génétique A est identique au sérum albumine sanguine (**Vignola, 2002**).

#### **d. Les immunoglobulines**

Ce sont des glycoprotéines de haut poids moléculaire responsable de l'immunité. On distingue trois grandes classes d'immunoglobulines: IgA, IgG, IgM. Elles sont très abondantes dans le colostrum. Les immunoglobulines sont les protéines du lactosérum les plus sensibles à la dénaturation thermique (**Thapon, 2005**).

**e. Protéoses-peptones**

Elles forment la fraction protéique soluble après chauffage du lait acidifié à pH 4.6 vers 95°C pendant 20 à 30 minutes. C'est un groupe hétérogène issu de la protéolyse par la plasmine de la caséine  $\beta$  (Debry, 2001).

**Tableau 2.1 : Classification des protéines du lait de vache (Pougheon, 2001).**

Noms	% des protéines	Nombres d'AA
<b>Caseines</b>	75-85	
Caséine $\alpha$ 1	39-46	199
Caséine $\alpha$ 2	8-11	207
Caséine	25-35	209
Caséine k	8-15	169
Caséine g	3-7	
<b>Protéines du lactosérum</b>	15-22	
$\beta$ -Lactoglobuline	7-12	162
$\alpha$ -Lactoglobuline	2-5	123
Sérum-albumine	0.7-1.3	582
Immunoglobulines (G1, G2, A, M)	1.9-3.3	-
Protéoses-peptones	2-4	-

**1.2.5. Les minéraux**

La quantité des minéraux contenus dans le lait après incinération varie de 0,60 à 0,90 %. Cette composition variée selon les saisons et l'alimentation des vaches. Les minéraux du lait se trouvent sous deux formes principales, surtout sous forme de sels ionisés et solubles dans le sérum et sous une forme liée aux micellaires insolubles (Amiot *et al.*, 2002).

Le lait contient des quantités importantes de différents minéraux. Les principaux sont : calcium, magnésium, sodium et potassium pour les cations et phosphate, chlorure et citrate pour les anions (Gaucheron, 2004).

**Tableau 3.1: Composition minérale du lait de vache (Jeantet *et al.*, 2007).**

<b>Eléments minéraux</b>	<b>Concentration (mg.kg<sup>-1</sup>)</b>
Calcium	1043-1283
Magnésium	97-146
Phosphate inorganique	1805-2185
Citrate	1323-2079
Sodium	391-644
Potassium	1212-1681
Chlorure	772-1207

### **1.2.6. Les Vitamines**

Les vitamines sont des substances biologiquement indispensables à la vie puisqu'elles participent comme cofacteurs dans les réactions enzymatiques et dans les échanges à l'échelle des membranes cellulaires. L'organisme humain n'est pas capable de les synthétiser (**Vignola, 2002**). D'une manière générale, le lait ne permet pas de satisfaire tous les besoins vitaminiques. En revanche ce sont surtout les vitamines A, B<sub>1</sub> et B<sub>2</sub>, qui constituent la valeur nutritive du lait (**Amiot *et al.*, 2002 ; Jeantet *et al.*, 2008**).

Le lait contient des vitamines liposolubles et des vitamines hydrosolubles :

- Les vitamines liposolubles sont : vitamines A, D, E et K ; ces vitamines sont soit associées à la matière grasse soit au centre du globule gras et d'autres à sa périphérie.
- Les vitamines hydrosolubles du groupe B et vitamine C ; ce sont les vitamines de la phase aqueuse du lait (**Perreau, 2014**).

**Tableau 4.1 : Teneur en vitamine du lait de vache cru (Amiot *et al.*, 2002).**

Vitamines	Teneur moyenne
<b>Vitamines liposolubles</b>	
Vitamine A (+ carotènes)	40 µg/100ml
Vitamine D	2.4 µg/100ml
Vitamine E	100 µg/100ml
Vitamine K	5 µg/100ml
<b>Vitamines hydrosolubles</b>	
Vitamine C (acide ascorbique)	2 mg/100g
Vitamine B1 (Thiamine)	45 µg/100ml
Vitamine B2 (Riboflavine)	175 µg/100ml
Vitamine B6 (Pyridoxine)	50 µg/100ml
Vitamine B12 (Cyanocobalamine)	0.45 µg/100ml
Niacine et niacinamide	90µg/100ml
Acide pantothénique	350 µg/100ml
Acide folique	5.5 µg/100ml
Vitamine H (Biotine)	3.5 µg/100ml

### 1.2.7. Les enzymes

Les enzymes sont des substances organiques de nature protidique, produites par des cellules ou des organismes vivants, agissant comme catalyseurs dans les réactions biochimiques. Environ 60 enzymes principales ont été répertoriées dans le lait dont 20 sont des constituants natifs. Une grande partie se retrouve dans la membrane des globules gras mais le lait contient de nombreuses cellules (leucocytes, bactéries) qui élaborent des enzymes : la distinction entre éléments natifs et éléments extérieurs n'est donc pas facile (**Pougheon, 2001**).

**Tableau 5.1 : Caractéristiques des principaux enzymes du lait (Vignola, 2002)**

Groupe d'enzymes	Classes d'enzymes	pH	Température (°C)	Substrats
<b>Hydrolases</b>	<b>Estérases</b>			
	Lipases	8.5	37	Triglycérides
	Phosphatase alcaline	9-10	37	Esters phosphoriques
	Phosphatase acide	4.0-5.2	37	Esters phosphoriques
	<b>Protéases</b>			
	Lysozyme	7.5	37	Paroi cellulaire microbienne
	Plasmine	8	37	Caséines
<b>Déshydrogénases ou oxydases</b>	Sulfhydrileoxydase	7	37	Protéines, peptides
	Xanthine oxydase	8.3	37	Bases puriques
<b>Oxygénases</b>	Lactoperoxydase	6.8	20	Composés réducteurs + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
	Catalase	7	20	

### 1.3. Propriétés physico-chimiques du lait

Il est important de comprendre les propriétés physico-chimiques du lait indiscutable car il évalue mieux la qualité des matières premières et prédit les traitements et les opérations techniques appropriés (El Marnissi *et al.*, 2013).

Les principales propriétés physico-chimiques utilisées dans l'industrie laitière sont la masse volumique et la densité, le point de congélation, le point d'ébullition et l'acidité, le pH (Ghaoues, 2011).

### **1.3.1-Masse volumique**

Le lait contient différents éléments dispersés (micro-organismes) globules gras, micelle de caséine qui peuvent être séparés selon leur masse volumique.

Selon **Pointurier, (2003)**, La masse volumique du lait est définie par le quotient de la masse d'une certaine quantité de lait divisée par son volume.

La masse volumique, le plus souvent exprimé en grammes par millilitre ou en kilogrammes par litre, une propriété physique qui varie selon la température, puisque le volume d'une solution varie selon la température (**Vignola, 2002**).

### **1.3.2. La densité**

La densité du lait varie entre 1,028 et 1,034. Elle doit être supérieure ou égale à 1,028 à 20°C. La densité des laits de grand mélange des laiteries est de 1,032 à 20°C. Celle des laits écrémés est supérieure à 1,035. Un lait à la fois écrémé et mouillé peut avoir une densité normale (**Labioui et al., 2009**).

### **1.3.3. Acidité du lait**

Dès sa sortie du pis de la vache, le lait démontre une certaine acidité. Cette acidité est due principalement à la lactalbumine, de substances minérales telles que les phosphates et le CO<sub>2</sub>, et d'acide citrique. On l'appelle acidité apparente ou acidité naturelle du lait. Elle varie entre 0,13 et 0,17 % d'équivalent d'acide lactique (**Amiot et al., 2002**). Le lait peut avoir un comportement à la fois acide et basique. A la sortie du pis de la vache, le lait frais ne contient qu'environ 0,002 % d'acide lactique. En se développant, les bactéries lactiques vont former de l'acide lactique par fermentation du lactose. Cette nouvelle acidité se nomme acidité développée. C'est cette acidité qui conduit à la dénaturation des protéines (**Amiot et al., 2002**).

### **1.3.4. pH**

C'est une caractéristique qui permet de fournir des renseignements précisément sur l'état de fraîcheur du lait. Un lait de vache frais a un pH de l'ordre de 6,7. S'il y a une action des bactéries lactiques, une partie du lactose du lait sera dégradée en acide lactique ce qui augmente la concentration du lait en ions hydronium (H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>) et donc une diminution du pH, car :  $\text{pH} = \log 1/[\text{H}_3\text{O}^+]$  (**Kouamé-Sina et al., 2010**).

### **1.3.5. Point d'ébullition**

Selon **Amiot *et al.*, (2002)**, le point d'ébullition est défini comme la température lorsque la pression de vapeur d'une substance ou d'une solution est égale à la pression appliquée. Comme le point de congélation, le point d'ébullition est influencé par la présence de solides dissous. Il est légèrement supérieur au point d'ébullition de l'eau, 100,5°C.

### **1.3.6. 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 à -0,55°C. Un point de congélation supérieur à -0,530°C permet de soupçonner une addition d'eau au lait. Le point de congélation du lait est mesurable à l'aide d'un cryoscope (**Belitz *et al.*, 2009**).

## **1.4. Caractéristiques microbiologique du lait**

Le lait est un aliment dont la durée de vie est très limitée. En effet, son pH voisin de la neutralité, le rend très facilement altérable par les microorganismes et les enzymes, sa richesse et sa fragilité font du lait un milieu idéal aux nombreux microorganismes comme les moisissures, les levures et les bactéries qui se reproduisent rapidement (**Balezi et Mushagalusa, 2018**).

Les micro-organismes du lait, selon leur importance sont repartis en deux grandes classes : la flore indigène ou originelle et la flore de contamination. Cette dernière est subdivisée en deux sous classe : la flore d'altération et la flore pathogène (**Lapointe-Vignola, 2002**).

### **1.4.2. Flore originelle**

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, à partir d'un animal sain (moins de  $10^3$  germes /ml). Il s'agit essentiellement des germes saprophytes de pis et des canaux galactophores : microcoques, streptocoques lactiques, lactobacilles. Des germes pathogènes et dangereux du point de vue sanitaire peuvent être présents lorsque le lait est issu d'un animal malade (*Streptococcus pyogenes*, *Corynebacterium pyogenes*, des *Staphylococcus*) qui sont des agents des mammites et peut s'agir aussi de germes d'infection générale *Salmonella*, *Brucella*, et exceptionnellement *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium*, *Bacillus anthracis* et quelques virus (**Guiraud, 2003**).

**Tableau 6.1: Flore originelle de lait cru (Lamontane *et al.*, 2002)**

Microorganismes	Pourcentage (%)
<i>Micrococcus</i> sp.	30-90
<i>Lactobacillus</i>	10-30
<i>Streptococcus</i> ou <i>Lactococcus</i>	< 10
Gram négatif	< 10

### 1.4.2. Flore de contamination

Cette flore est l'ensemble des micro-organismes ajoutés au lait de la récolte jusqu'à la consommation. Elle peut se composer d'une flore d'altération, qui causera des défauts sensoriels de goût, d'arômes ou qui réduira la durée de conservation des produits, et d'une flore pathogène capable de provoquer des malaises chez des personnes (Lamontagne *et al.*, 2002).

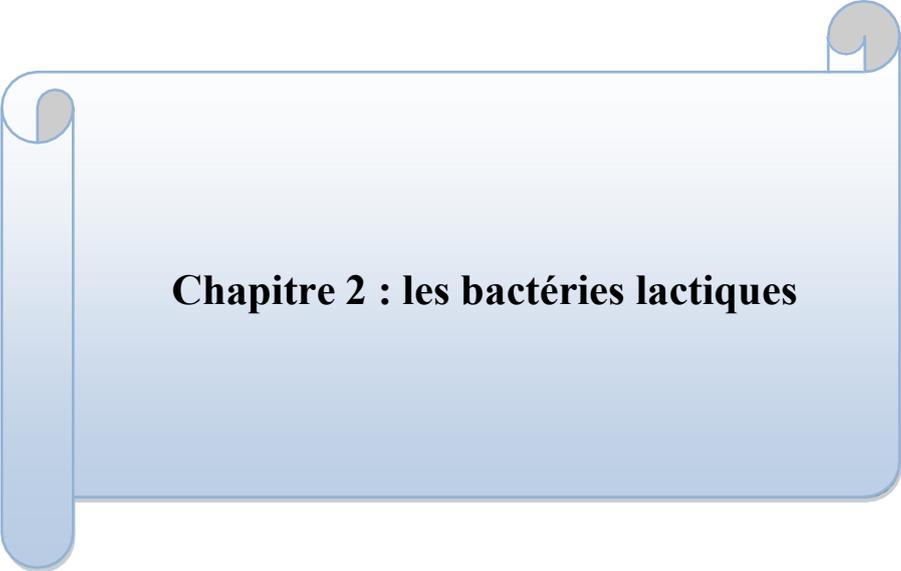
#### 1.4.2.1. Flore pathogène

Elle fait partie de la flore contaminant du lait. Les bactéries pathogènes pour l'homme peuvent être présentes dans le lait cru, ou dans les produits laitiers qui en dérivent. Elles sont capables de provoquer des malaises chez les personnes qui consomment ces produits.

Les bactéries les plus importantes de cette flore pathogène sont le plus souvent mésophiles et les principaux microorganismes pathogènes associés aux produits laitiers sont : *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*, *Shigella sonnei* et certaines moisissures (Vignola, 2002).

#### 1.4.2.2. Flore d'altération

Incluse dans la flore contaminant, la flore d'altération cause des défauts sensoriels de goût, d'arômes, d'apparence ou de texture et réduit la vie de tablettes du produit laitier. Parfois, certains microorganismes nuisibles peuvent aussi être pathogènes. L'un n'exclut pas l'autre. Les principaux genres identifiés comme flore d'altération sont : *Pseudomonas* sp. Proteussp. les coliformes soit principalement les genres : *Escherichia* et *Enterobacter*, les sporulées telles que *Bacillus* sp, *Clostridium* sp. et certaines levures et moisissures (Richard, 1990 ; Vignola, 2002).



## **Chapitre 2 : les bactéries lactiques**

## **Chapitre 2 : Les bactéries lactiques**

### **2.1. Historique**

Les bactéries lactiques ont été retrouvées dans des sédiments datant de 2,75 milliards d'années bien avant l'apparition d'oxygène dans l'atmosphère, ce qui pourrait expliquer leur caractère anaérobie. De plus, des études sur la phylogénie bactérienne mentionnent leur apparition avant celle des cyanobactéries (**Makhlifi, 2011**).

### **2.2. Définition**

Les bactéries lactiques sont définies comme des micro-organismes vivants et unicellulaires (procaryotes) très répandus dans la nature car se reproduisant rapidement, hétérotrophes et chimio-organotrophes. Elles forment un groupe hétérogène composé de coques, coccobacilles et bacilles, leur principale fonction métabolique est la production d'acide lactique provenant de la fermentation des sucres (glucose, fructose, mannose, galactose, saccharose et lactose) (**Badis et al., 2005, Labioui et al., 2005**).

### **2.3. Critères morphologiques et biochimiques**

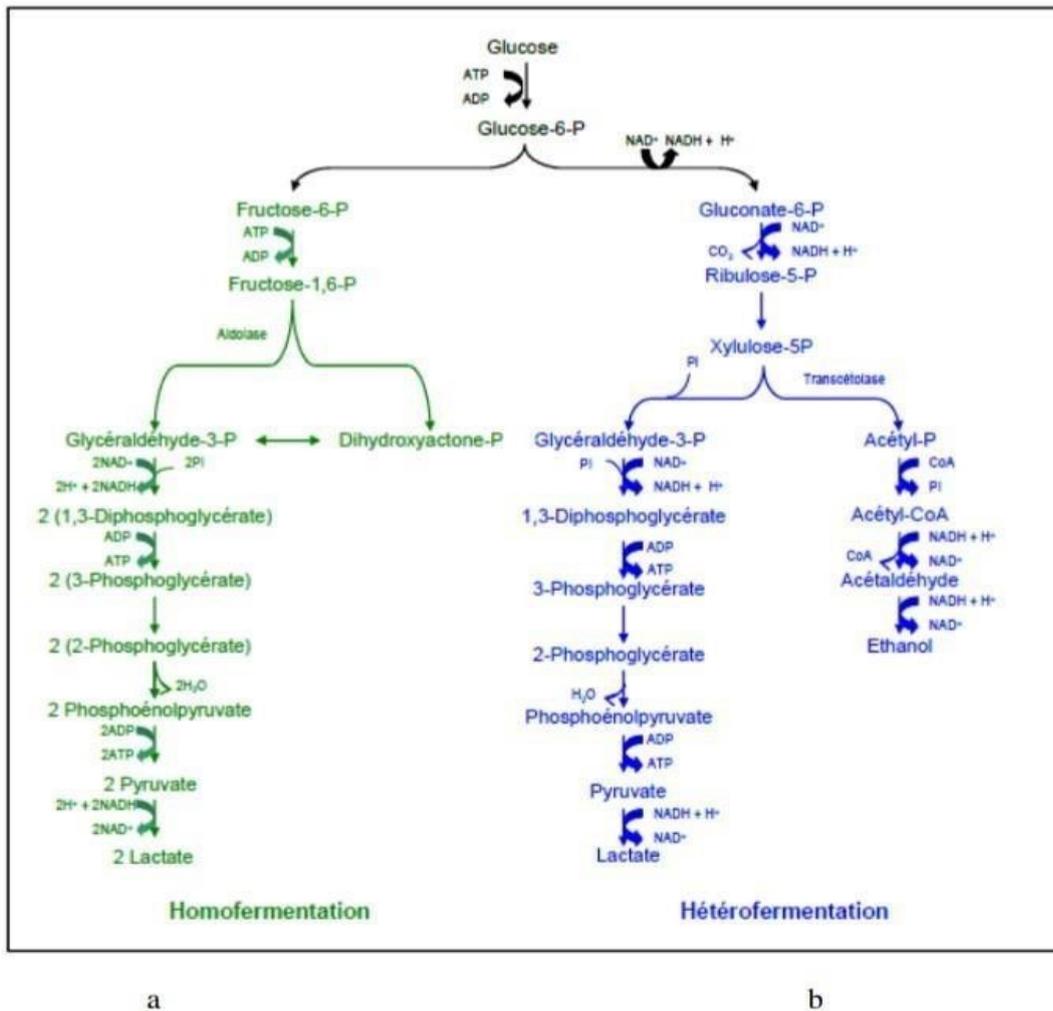
Les bactéries lactiques sont des bactéries Gram positif, généralement immobiles, catalase et oxydase négative, l'absence de catalase est caractéristique, mais certaines espèces acquièrent cette activité sur des milieux riches en hème, anaérobies ou aérotoles et nitrate réductase négative. (**Mameche Doumandji, 2008**).

Elles sont protéolytiques, ne liquéfient pas la gélatine, et ne forment pas d'indole ni de l'hydrogène sulfureux, ces bactéries sont également incapables de fermenter le glycérol. (**Zhangh et Caiy, 2014**). La plupart sont mésophiles mais certaines espèces peuvent se développer à +4°C ou à des températures supérieures à 40°C (psychrotolérantes ou thermotolérantes). Leur ADN présente un pourcentage de G+C compris entre 30 et 60 % et une taille du génome comprise entre 1,8 et 3,3 Mpb (**Makhloufi, 2012**).

Exception faite pour certaines espèces du genre *Vagococcus*, très proches du genre *Lactococcus*, homofermentaires ou hétérofermentaires, anaérobies mais aérotoles, ne possédant ni la nitrate réductase ni cytochrome oxydase et étant catalase négative (**Dellaglio et al., 1994., POT, 2008, Rigaux, 2008**).

Les bactéries lactiques peuvent être divisées en deux groupes homofermentaires et hétérofermentaires basées sur les produits fabriqués à partir de la fermentation du glucose. (Priyanka et Prakash, 2009).

- ❖ Homofermentaires : l'acide lactique est le seul produit de la fermentation du glucose.
- ❖ Hétérofermentaires : la fermentation du glucose aboutit à la formation d'acide lactique et d'autres composés : éthanol, CO<sub>2</sub> et autres acides organiques (Priyanka et Prakash, 2009).



**Figure 2.1 : Représentation schématique des principales voies de fermentation des hexoseschez les bactéries lactiques. (Makhloufi, 2012).**

### 2.4. Structure des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont constituées d'une enveloppe, d'un cytosol, et d'une série d'éléments ultra structures internes : les granules intra cytoplasmiques (responsable du stockage de polymère énergétique comme le glycogène), les polysomes (renfermant de nombreux ribosomes) et de nucléide, une structure dense associée à l'ADN chromosomique de la bactéries d'autres éléments structurales comme un flagelle, une vacuole gazeuse, des pilais, une capsule ou des éléments associés à la sporulation mais ces composants sont absents chez les bactéries lactiques Gram positives (**Hadjab, et al., 2010**).

Elles se composent d'une membrane plasmique superposée d'une épaisse couche de peptidoglycane. La membrane plasmique est constituée d'une bicouche phospholipidique dépourvue de stérols, elle séquestre les ancras hydrophobes des acides lipotéichoïques, et abrite diverses protéines intégrales (**Hadjab, et al., 2010**).

Le peptidoglycane des bactéries lactiques est associé à des acides téichoïques, à de multiples protéines, à des polysaccharides neutres et est surmonté, chez certaines espèces, d'une couche de protéines assemblées sous forme para cristalline (**Hadjab, et al., 2010**).

### 2.5. Habitat

Grâce à leur souplesse d'adaptation physiologique, les bactéries lactiques sont généralement associées aux habitats riches en nutriments, comme divers produits alimentaires. Elles sont associées aux produits laitiers, céréaliers et carnés, aux poissons, à la bière, aux vins, aux fruits, aux légumes marinés, à la choucroute, et aux ensilages (**Desmazeaud, 1992, Horvath, et al., 2009**).

Les principaux genres de bactéries lactiques associées à l'alimentation sont *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Streptococcus*.

Les bactéries lactiques existent à l'état libre ou vivent dans l'environnement attachant à un hôte, tel que les humains ou les animaux, dans un écosystème bactérien tel que l'appareil digestif ou l'appareil reproducteur des mammifères (**Klein, et al, 1998**).

### 2.4.1. Culture des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques demandent des milieux riches en nutriments pour se multiplier (sucre, acide aminés, acide gras, sels, vitamines) et pauvre en oxygène. Elles sont essentiellement cultivées dans le milieu Man Rogosa Sharpe (**Hammes et Hertel., 2006**).

### 2.5. Taxonomie

Les bactéries lactiques appartiennent au phylum *Firmicutes*, à la classe des Bacilles et à l'ordre des *Lactobacillales*. Elles sont divisées en trois familles :

- Famille des *Lactobacillaceae* comportant le genre : *Lactobacillus*, *Paralactobacillus* et *Pediococcus*.
- Famille des *Leuconostocaceae* contenant le genre : *Leuconostoc*, *Oenococcus* et *Weissella*.
- Famille des *Streptococcaceae* comportant le genre : *Streptococcus*, *Lactococcus* et *Lactovum* (**Sharma, et al., 2018**).

### 2.6. Classification

Traditionnellement, les bactéries lactiques ont été classées en fonction des caractéristiques phénotypes : morphologie, méthode de fermentation du glucose, croissance en différentes températures, l'isomère d'acide lactique produit une fermentation différente hydrate de carbone (**De Roissart, et Luquet, 1994., Holzapfel, et al., 2001**).

Les genres les plus étudiés sont *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus* et *Pediococcus* (**Drouault et Corthier, 2001**).

#### 2.6.1. Classification selon les méthodes phénotypiques

Pendant des décennies la différenciation entre les genres lactiques était basée sur les caractères phénotypiques, morphologiques, physiologiques et biochimiques des bactéries.

##### ➤ Caractères morphologiques

Sous le microscope les bactéries lactiques apparaissent sous forme de coques ou bacilles à Gram positif. Cependant, la morphologie cellulaire est souvent instable et peut être identique

pour plusieurs genres. (Coeuret, *et al.*, 2003).

### ➤ **Caractères physiologiques**

La classification est basée sur leur type respiratoire, leur croissance à différentes températures et en présence de diverses valeurs de pH et concentrations de NaCl permettant ainsi la différenciation des genres (Temmerman, *et al.*, 2004).

### ➤ **Caractères biochimiques**

S'intéresse quant à elle à leur type fermentaire (homo /hétéro fermentaire), leur capacité d'utiliser les carbohydrates ou l'arginine et à leur sensibilité aux antibiotiques (Badis, *et al.*, 2004, Franciosi, *et al.*, 2009, Ismaili, *et al.*, 2016).

### **2.6.2. Classification selon les méthodes génotypique**

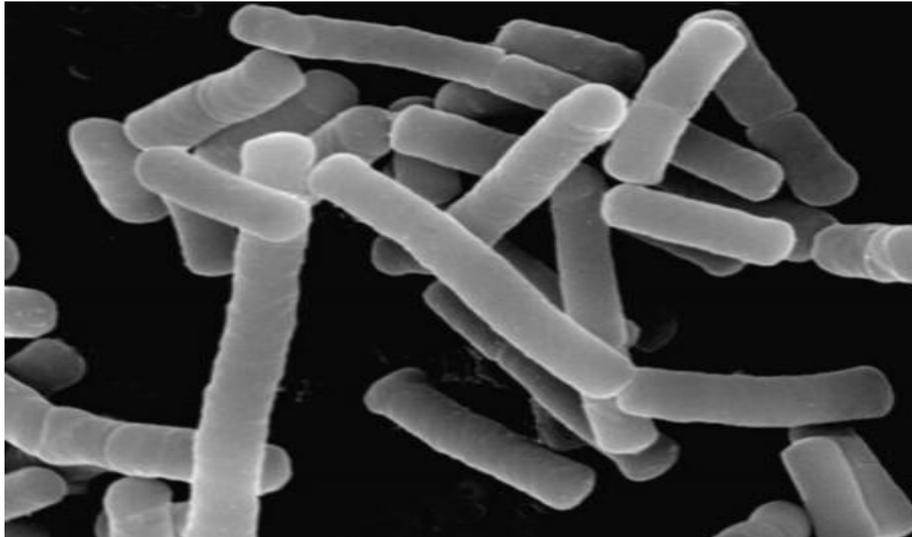
Elle permet une nouvelle approche phylogénétique. Le génome des bactéries lactiques varie selon le genre et selon l'espèce (1 à 5 millions de paires de base). Cette variabilité peut servir pour différencier les groupes bactériens. L'ARN 16S est utile à la classification phylogénétique et à l'identification bactérienne puisqu'il est présent chez toutes les bactéries (Zergoug, 2017).

## **2.7. Les principaux genres**

### **2.7.1. Le genre *Lactobacillus***

*Lactobacillus* est le genre principal (figure 2), le plus grand et le plus commun de la famille des lactobacilles. Les espèces de ce genre sont caractérisées par la réduction des nitrates, l'utilisation du lactose, du glucose et d'autres sucres comme source de carbone et production de lactate par métabolisme optimal. Rendement supérieur à 85% acide lactique à partir de glucose, ou fermentation hétérogène.

Ces bactéries produisant des acides peuvent se développer à des environnements à faible pH et inhibent la croissance d'autres microorganismes (Herbel, *et al.*, 2013 ; Al kassaa, *et al.*, 2014).



**Figure 2.2 : *Lactobacillus* observé au microscope électronique à transmission (M.E.T.)(x10000). (Makhloufi, 2012).**

Les lactobacilles sont très utiles en microbiologie alimentaire et notamment dans la nutrition humaine en raison de leur contribution à la production des aliments fermentés ainsi que leur utilisation comme probiotiques dans les produits pharmaceutiques (Foschi, *et al.*, 2017).

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

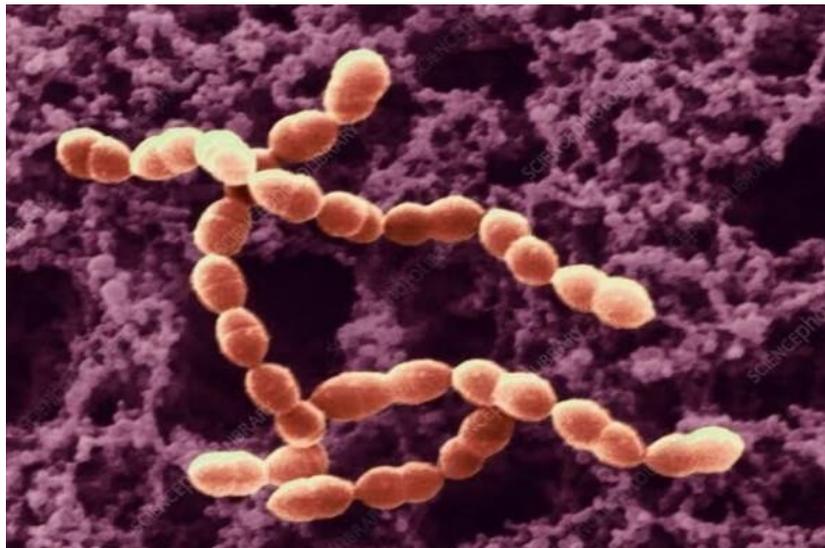
- **Groupe I** : Ce groupe est constitué d'environ 25 espèces, la plupart thermophiles (croissance à 45°C) dont *Lb. delbrueckii*, *Lb. acidophilus* et *Lb. helveticus*. La plupart des espèces sont présentes dans le lait et les produits laitiers.
- **Groupe II** : ce sont les espèces hétéro fermentaires facultatives, c'est-à-dire capables d'utiliser la voie hétéro fermentaire dans certaines conditions comme une concentration en glucose limitante. Il est constitué d'une vingtaine d'espèces dont *Lb. casei*, *Lb. curvatus*, *Lb. sake* et *Lb. plantarum*, majoritairement mésophiles (Laurent *et al.*, 1998).
- **Groupe III** : il est constitué des espèces hétérofermentaires obligatoires, c'est-à-dire utilisant la voie des pentoses phosphatent pour la fermentation des hexoses et des pentoses. C'est un groupe qui rassemble des espèces relativement hétérogènes, surtout mésophiles, comme *Lb. brevis*, *Lb. kefir* et *Lb. sanfransisco*. Outre leur présence dans les produits laitiers et carnés, certaines espèces se développent dans le tube digestif de l'homme, et participent à l'équilibre de la flore intestinale (Laurent *et al.*, 1998).

### 2.7.2. Le genre *Streptococcus*

Le genre *Streptococcus* est toujours large et sa classification est très mouvementée dont elles représentent les premières bactéries connues par les microbiologistes( figure 3), vu leur association à plusieurs maladies humaine et animale. Il contient :

- *Streptococcus* sensu stricto : peuvent être divisées en streptocoques pyogènes comme *S. pyogenes* et *S. agalactiae*.
- Streptocoques oraux (viridans) comme *S. salivarius* (Sun *et al.*, 2014).

Les cellules de ce genre sont immobiles, sphériques ou ovales de diamètre inférieur à 2 micromètres disposés par paires ou en longues chaînes. Température optimale de croissance est de 37°C. La seule espèce de *Streptococcus* utilisée en technologie alimentaire est *Streptococcus thermophilus* (Stiles et Holzapfel, 1997, et Sun *et al.*, 2014).



**Figure 2.3 : *Streptococcus thermophilus*, observé au microscope optique (x10000).  
(Corrieuet Luquet, 2008).**

### 2.7.3. Le genre *Enterococcus*

Les entérocoques sont des coques à Gram positif, se présentant de manière isolée ou en paires ou en courtes chaînes ou en petits amas. Leur morphologie peut varier selon les conditions de culture.

Les entérocoques sont des bactéries ubiquistes présentes dans l'intestin de l'homme et des animaux, dans les eaux usées, l'eau douce, l'eau de mer, le sol et sur les végétaux. La plupart des espèces du genre *Enterococcus* participent à la composition des microflores intestinales. Chez les animaux domestiques, *E. durans* n'est retrouvé que dans l'intestin de veaux et les jeunes poulets, alors qu'*E. hirae* est fréquemment isolé de la microflore intestinale de nombreuses espèces domestiques (Devriese *et al.*, 2002).

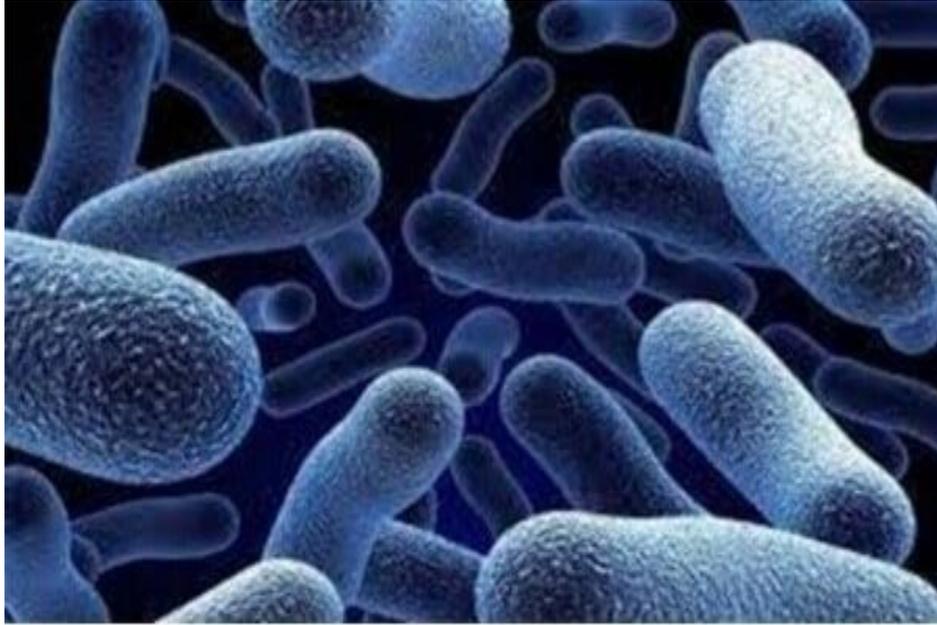
On retrouve couramment les entérocoques dans le lait et les produits laitiers, les produits carnés et de la pêche. Dans les produits laitiers, ils atteignent au maximum des niveaux de  $10^7$  cellules par g). (Foulquié-Moreno *et al.*, 2006).



**Figure 2.4 : *Enterococcus faecalis* observé au microscope optique (Gx1000) (Wallace *et al.*,2003).**

### **2.7.4. Le genre *Lactococcus***

Les lactocoques se présentent sous forme de cellules ovoïdes ou sphériques de 0,5 à 1mm de diamètre formant des chaînes de longueur variable (Sun *et al.*, 2014).



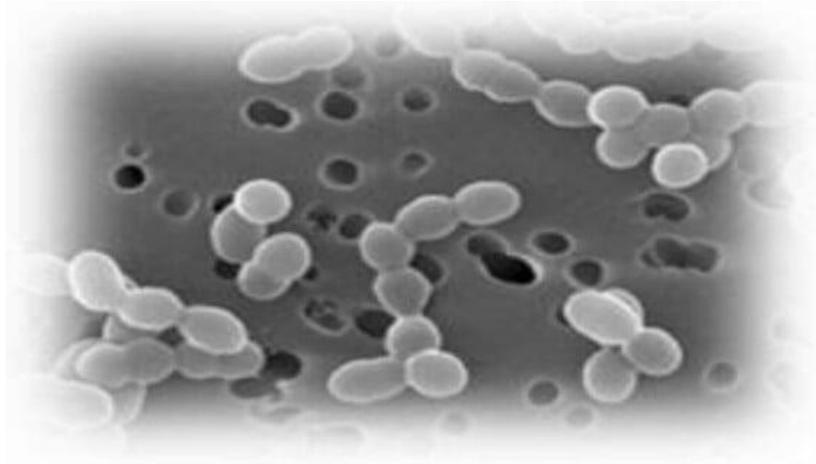
**Figure 2.5 : *Lactococcus lactis* observé au microscope optique (x 1000). (Corrieu et luquet,2008).**

Les lactocoques sont trouvés sur les végétaux et dans les produits laitiers, Les lactocoques se trouvent en grande quantité dans le lait cru et une large gamme de produits laitiers tels que le beurre et les laits fermentés, et de nombreuses variétés de fromages (soit parce qu'ils y ont été ajoutés comme levains, soit parce que les produits laitiers ont été fabriqués à partir de lait cru à des températures favorables au développement des lactocoques. Les végétaux sont le réservoir naturel des lactocoques laitiers. Les lactocoques laitiers utilisés depuis longtemps dans les levains ont perdu certains phénotypes et acquis d'autres phénotypes suite à la domestication de lactocoques issus de végétaux (**Bachmann *et al.*, 2012**).

### **2.7.5. Le genre *Leuconostoc***

La première description du genre *Leuconostoc* a été rapportée par Van Tieghem en 1878 (**Zhang et Cai, 2014**). Les *Leuconostoc* sont naturellement présents sur les végétaux. On les retrouve dans le lait, sur les végétaux cultivés (en particulier la betterave à sucre d'où leur ancien nom de *Betacoccus*) et, comme bactérie levain ou naturelle, dans de nombreux produits fermentés laitiers, carnés, végétaux (choucroute, olives, ensilage) et de panification aliments fermentés qui peuvent contenir les *Leuconostoc* (**Hemme et Foucaud Scheunemann, 2004**).

Les leuconostocs laitiers nécessitent pour leur développement les trois acides aminés branchés et la glutamine (Hemme et Foucaud-Scheunemann, 2004). Elles sont généralement mésophiles, avec une température optimale de croissance de 25 - 30°C (Bjorkroth *et al.*, 2009).

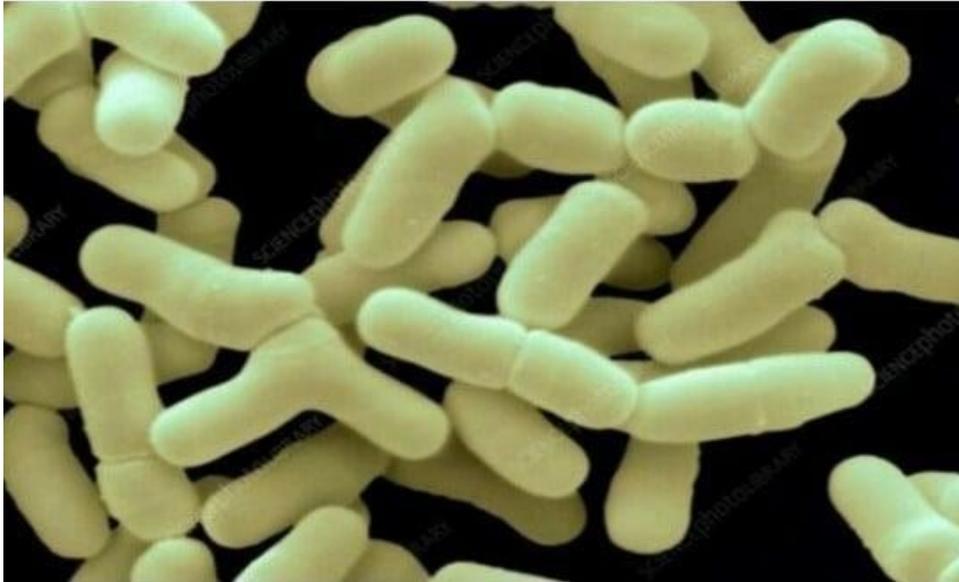


**Figure 6.2 : *Leuconostoc* observé au microscope électronique à transmission. (Gx10000). (Wallace *et al.*, 2003).**

### **2.7.6. Le genre *Bifidobacterium***

Les bactéries de genre *Bifidobacterium* se caractérisent par leur forme très irrégulière, souvent en V et Y, mais pouvant être coccoïde. Elles se différencient des autres bactéries lactiques par leur caractère anaérobie, leur G + C % élevé, et la présence d'une enzyme, la fructose-6-phosphate phosphocétolase et du fait qu'elles partagent certaines niches écologiques communes aux bactéries lactiques tel que le tractus gastro-intestinal (Klein *et al.*, 1998., Laurent, 1998).

En effet, elles ont généralement un pH optimal de croissance autour de 6.5 à 7 et une température de croissance comprise entre 37 et 41 °C. Elles sont hétérofermentaires et dégradent les hexoses en produisant de l'acide lactique et acétique (Gomez *et al.*, 1998., Leahy *et al.*, 2005).



**Figure 2.7 : *Bifidobacterium* sp. observé au microscope optique (Gx 1000). (wallace *et al.*,2003)**

## **2.8. Biodiversité des bactéries lactiques dans les produits laitiers**

Le lait se transforme en de nombreux produits laitiers qui sont au cœur de notre alimentation: fromage, yaourt, beurre, crème, desserts lactés et autres dérivés. Ainsi, cela fait partie de notre quotidien et nous y contribuons de différentes manières et riches en goût (**Borleaux *et al.*, 2011**).

Les produits laitiers partagent des points communs, la nature des matières grasses, et calcium (hors crème et beurre), type protéines et peptides ; et pour certains la présence de probiotiques (**Lecerf, 2010**).

### **2.8.1. Le lait**

Le lait contient peu de microorganismes, lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, à partir d'un animal sain. Il s'agit essentiellement des germes saprophytes du pis et des canaux galactophores : microcoques, streptocoques lactiques, lactobacilles (**Guiraud, 2004**).

Ces micro-organismes, plus ou moins abondants, sont en relation étroite avec l'alimentation, la race et d'autres facteurs (**Larpent, 1996**).

### 2.8.2. Le yaourt

L'appellation « yaourt » est réservée au lait fermenté obtenu, selon le faitet Constant, grâce au développement des seules bactéries lactiques thermophiles appelées : *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* qui doivent survivre dans le produit final à un taux d'au moins 10 millions Bactéries par gramme liées à la fraction laitière. Le yaourt est une source saine de protéines, de calcium, de magnésium et des vitamines.

Le yaourt joue un rôle protecteur contre les infections gastro-intestinales. Son intérêt en raison des bactéries lactiques qui produisent des substances antimicrobiennes. L'influence des principaux antimicrobiens sécrétés par ces bactéries sont dus à la production d'acides organiques principalement l'acide lactique, ce qui conduit à un pH bas qui entrave le développement micro-organismes pathogènes (**Janet et al., 2008**). En plus de l'acide lactique, les bactéries lactiques ont la capacité de synthétiser d'autres métabolites dont le peroxyde d'hydrogène, le diacétyle et les bactériocines (**babillage, 2012**).

Les microorganismes vivants se trouvent habituellement dans le yaourt : *lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* et *streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*. *lactobacillus bulgaricus* apporte essentiellement de l'acidité, il se développe bien à une température allant de 47 à 50 ° C. *Streptococcus thermophilus* est moins acidifiant que le précédent. Il se développe à une température allant de 42 à 45 °C. (**Mahaut et al., 2000**).

### 2.8.3. Fromage frais

La BL est introduite dans le lait sous forme de « souches » lactiques, aussi appelées "fermente". Leur travail dans l'industrie fromagère est principalement lié à deux aspects de leur métabolisme :

- Production d'acide lactique : Cet acide est un sous-produit de la fermentation, un processus Glycolyse en conditions anaérobies (absence d'O<sub>2</sub>).
- Activité protéolytique (fragmentation des protéines).

La composition microbiologique du fromage dépend de celle du lait de départ, du processus de fabrication qu'il a subi et de l'âge du fromage (**Ercolini et al., 2009**). Généralement, elle est dominée par les bactéries lactiques en l'occurrence les *Lactococcus* et les *Enterococcus* qui influencent les caractéristiques sensorielles du produit fini (**Randazzo et al., 2009**).

La microflore du « Jben » marocain est dominée par les bactéries lactiques ( $10^8$  - $10^9$  UFC.g<sup>-1</sup>) qui sont principalement représentées par *L. lactis* subsp. *lactis*, *Leuc. Mesenteroides* subsp. *lactis* et *Lact. Casei* subsp. *Casei* (Hermier, 1997). En plus des bactéries lactiques dans le «Jben», d'autres micro-organismes peuvent être présents en assez grand nombre (Benkerroum, et Tamime, 2004).

### 2.8.4. L'ben

L'ben est également un produit à l'échelle industrielle. C'est du lait fermenté pasteurisé. L'acidification a été causée par la fermentation lactique mésophile de l'inoculum. Le Lait Les matériaux utilisés dans la préparation ont été substantiellement reconstitués. Il est pasteurisé à 84°C 30 secondes, puis refroidi à 22°C etensemencé avec de l'acide lactique starter (*Streptococcus Cremory* ; *Streptococcus nisica* et *Streptococcus diacetyl* ; *Leuconostoc, leuconostoc citrovorum* et *leuconostoc mesenteroides*). (Benkerroom et Tamime, 2004).

### 2.8.5. Beurre

Le beurre est un aliment préparé, conformément aux bonnes pratiques industrielles, à partir du lait ou des produits du lait et doit contenir au moins 80% de matière grasse du lait. Il peut également contenir des solides du lait, des cultures bactériennes, du sel et un colorant alimentaire. Conformément au Codex Alimentarius, le beurre est un produit gras dérivé exclusivement du lait ou de produits obtenus à partir du lait, principalement, sous forme d'une émulsion du type eau dans l'huile (Paul, 2010).

Il contient de 80 à 81% de matière grasse laitière, 17% d'humidité, 1% de glucides et de protéines, et 1,2 à 1,5% de chlorure de sodium (Kornacki *et al.*, 2001).

## 2.9. Intérêt des bactéries lactiques

Les BL. Ont été parmi les premières bactéries étudiées en raison de leur implication dans les fermentations alimentaires ainsi que dans la santé humaine. Elles ont bénéficié d'une attention précoce des scientifiques aboutissant à un premier isolement d'une culture bactérienne pure *Bacterium lactis* par Lister en 1873.

L'utilisation de ferments lactiques pour la production de fromage et de lait caillé a été introduite presque simultanément par Weigmann (**Stiles et Holzapfel, 1997**), mais les premières preuves de fermentation impliquant forte probablement des BL, remontent à 7000 ans avant J.-C. Elles consistent en la découverte, principalement en Egypte, en Mésopotamie et dans le bassin méditerranéen, d'ustensiles et de contenants ayant servi à la fabrication de produits laitiers fermentés. De nombreux documents et monuments historiques font référence à la production de fromage, de yaourt et de beurre (**Muñoz et al., 2010**), leur assurant un statut communément appelé GRAS (Generally Recognized As Safe).

La combinaison d'une variété de caractéristiques métaboliques intéressantes, a conduit à un large éventail d'applications industrielles. L'activité acidifiante, l'amélioration de la saveur et la texture, la production de substances antimicrobiennes permettent la préservation et la conservation de nombreux aliments fermentés tels que les fromages, le yaourt, les saucisses, les pains et l'ensilage (**Holzapfel et al., 2001**), sont imputés à sept genres clés de BL: *Lactobacillus* (lait, viande, légumes, céréales), *Lactococcus*, *Enterococcus* et *Streptococcus* (lait), *Leuconostoc* (lait, légumes), *Pediococcus* (légumes, viande), *Oenococcus* (vin) (**Klaenhammer et al., 2002**). Les genres *Bifidobacterium*, *Propionibacterium* et *Brevibacterium*, bien que phylogénétiquement n'appartenant pas aux BL, sont utilisés dans l'industrie alimentaire pour leurs propriétés similaires aux BL.

En plus de leur implication dans l'industrie alimentaire, et en raison de leur potentiel bénéfique pour la santé, les propriétés de certaines espèces de BL sont actuellement utilisées comme probiotiques (**Fuller, 1989**). Notamment, les lactobacilles dans le traitement de l'intolérance au lactose, la prévention et la réduction de la durée des diarrhées à *Rotavirus* chez l'enfant, diminution du cholestérol, régulation du transit intestinal, rééquilibrage de la flore intestinale après une antibiothérapie ou une infection par un pathogène et traitement des maladies inflammatoires du tube digestif (**Stiles et Holzapfel, 1997**).

La figure 8 indique les différentes utilisations industrielles des BL.

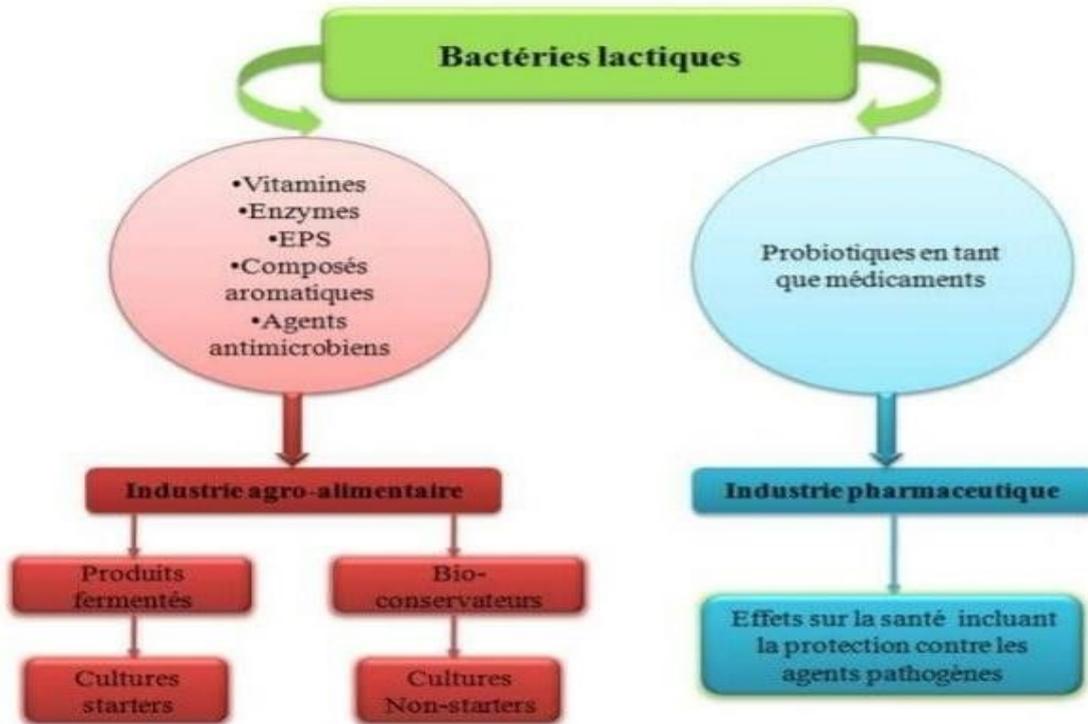


Figure 2.8 : Utilisation industrielle des bactéries lactiques (Florou-Paneri *et al.*, 2013).



**Partie Expérimentale**

## Chapitre 3: Partie expérimentale



## **Chapitre 3: Partie expérimentale**

### **Matériel et méthodes**

#### **3.1. Présentation de la zone d'étude**

L'étude a été menée au niveau de la laiterie de «ARIB », elle est située au sud-est de la commune d'Arib wilaya d'Ain Defla.

L'unité ARIB est l'une des plus importantes organisations productrices de lait et de produit laitiers dans la wilaya d'Ain Defla avec une capacité de production de plus de trois millions de litre de lait par jour. Cette unité produit essentiellement le lait pasteurisé, lait fermenté (L'ben)et cru de vache, yaourt étuvé, yaourt brassé fruité aromatisé, raib, petit suisse, fromage frais, crème fraîche, beurre, crème dessert.

Le groupe a aussi pour mission de développer la production nationale de lait, comme il participe activement à la régulation du marché national du lait.

Le laboratoire qui assure le suivi de la production comporte deux salles de manipulation, la première est réservée pour les analyses physico-chimiques, tandis que la seconde est réservée pour les analyses microbiologiques.

#### **3.2. La période de l'étude**

Notre étude est étalée durant une période allant de 02 mars 2022 jusqu'au 15 mai 2022.

#### **3.3. Matériel**

Le matériel habituel du laboratoire de microbiologie (matériel de stérilisation, matériel d'incubation, les verreries et les instruments de prises d'essai) utilisé dans ce travail :

- Verrerie (tubes à essais, pipettes Pasteur, éprouvettes, béchers, flacons, erlenmeyer,)
- Micropipette
- Portoir des tubes à essai
- Boîtes de Pétri
- Balance électrique
- Bec Bunsen
- Autoclave
- Etuve
- Agitateur de type vortex
- Plaque chauffante agitant
- Bain- Marie

### **3.4. Les méthodes**

#### **3.4.1. Analyses microbiologiques**

L'analyse microbiologique des produits laitiers est indispensable pour contrôler la qualité et assurer une bonne conservation du produit. Les analyses microbiologiques utilisées se résument dans :

- L'isolement des bactéries lactiques dont les lactobacilles en utilisant le milieu : MRS (Man-Rogosa-Sharpe) dans les yaourts (**Luquet et Corrieu, 2008**), et les streptocoques en utilisant le milieu M17 (Gélose de Terzaghi) (**Guiraud, 2003**).
- Le dénombrement des colonies selon l'équation :  $N = \sum c / (V \times 1,1 d)$ . (**Guiraud, 2003**).

#### **3.4.2. Échantillonnage**

Des échantillons ont été prélevés à partir des produits laitiers disponibles au niveau de la laiterie ARIB qui sont : le yaourt, fromage frais, beurre, lait entier, l'ben et crème fraîche.

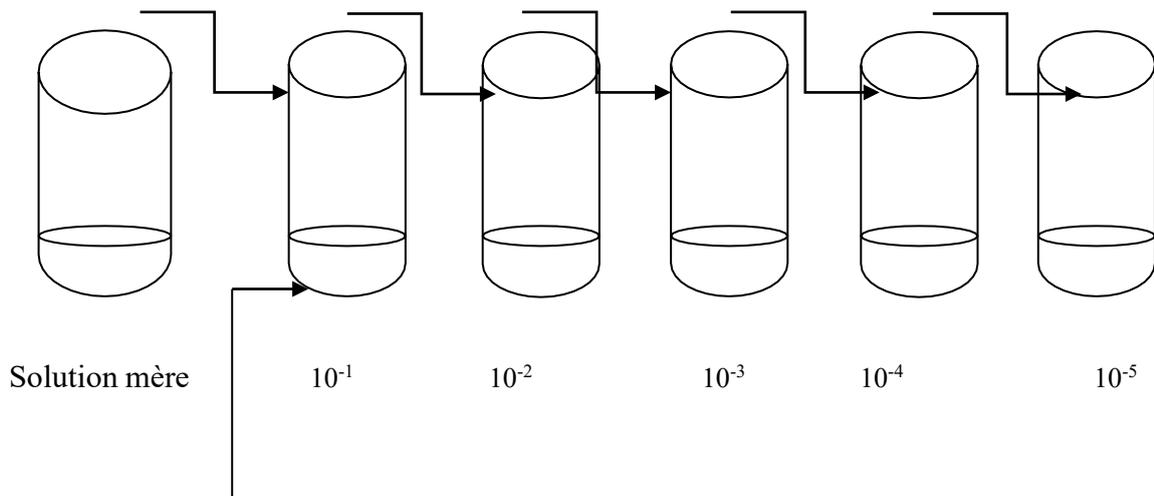
#### **3.4.3. Protocole de dénombrement**

##### **▪ Dilutions décimales de l'échantillon**

Avant d'ouvrir le pot de yaourt et les autres produits laitiers et afin d'éliminer toute source de contamination, prendre soin de nettoyer soigneusement la surface extérieure du récipient autour de la zone d'où sera prélevé l'échantillon. Le nettoyage s'effectue avec l'alcool, afin d'éviter toute contamination supplémentaire.

Un échantillon est obtenu en mélangeant 10 g de produit à étudier dans 90 ml de diluant.

Des dilutions successives au 1/10ème de la suspension de produit fournie jusqu'à la dilution  $10^{-5}$ . Les tubes fournis pour ces dilutions contiennent 9 ml de diluant (eau physiologique stérile).



9ml d'eau physiologique

**Figure 3.2 : Préparation des dilutions à partir de la solution mère de yaourt.**

▪ **Ensemencements**

Un ensemencement en simple essai des dilutions  $10^{-3}$  à  $10^{-5}$ , dans la masse d'une gélose MRS.

Les boîtes de Pétri ainsi ensemencées ont été mises dans une jarre d'anaérobiose, qui a été ensuite mise à l'étuve de  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 72h.

Choisir deux dilutions successives dont :

- l'une au moins présente un minimum de 10 colonies.
- le "nombre maximal de colonies en totalité est de 300 par boîte" ; en présence d'un agent de différenciation, le "nombre maximal des colonies caractéristiques est de 150 par boîte"

Equation:  $N = \sum c / (V \times 1,1 \text{ d})$  (Guiraud, 2003).

- $N$  = concentration en nombre d'UFC par millilitres
- $\sum c$  = somme des colonies comptées sur les deux boîtes retenues.
- $V$  = volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte en millilitres.

### 3.4.4. Les produits analysés

- le yaourt aromatisé

La gélose MRS a été utilisée pour le dénombrement des *Lactobacillus bulgaricus* dans les échantillons de yaourt. (ISO 7889/FIL117B)

La gélose M17 a été utilisée pour le dénombrement des *Streptococcus thermophilus* dans les échantillons de yaourts. (ISO 7889/FIL 117B)



**Figure 3.2 : Ensemencement en masse de yaourt aromatisé sur le milieu MRS.**

- Fromage frais



**Figure 3.3 : Ensemencement du fromage frais sur milieu MRS.**

- **Lait fermentés (l'ben)**



Figure 3.4 : Ensemencement en masse du L'ben sur le milieu MRS.

- **Beurre**



Figure 3.5 : Ensemencement en masse du Beurre sur le milieu MRS.

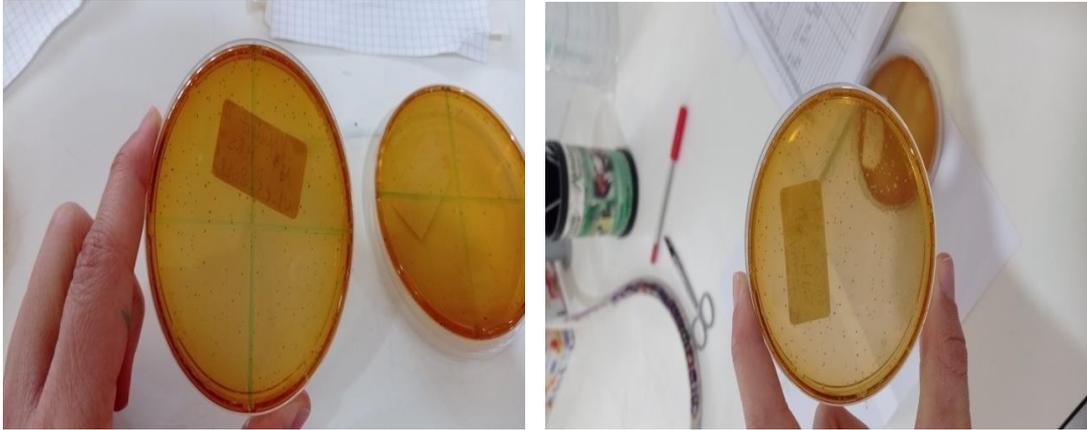
## Chapitre 4 : Résultats et Discussion



## Chapitre 4 : Résultats et Discussion

### 4.1. Résultats

#### 4.1.1. Le yaourt



*Lactobacillus bulgaricus* sur gélose MRS *Streptococcus thermophilus* sur gélose M17

**Figure 4.1 : Bactéries lactiques sur milieu MRS+M17**

#### Examen macroscopique

Les colonies obtenues sont de petite taille, de forme circulaire ou lenticulaire, avec une couleur blanchâtre et d'un contour régulier ou irrégulier.

#### 4.1.2. Fromage frais



dilutions 10<sup>-3</sup>

dilution 10<sup>-5</sup>

**Figure 4.2 : les colonies obtenues après ensemencement du fromage frais sur le milieu MRS.**

#### 4.1.3. Lait fermentés (L'ben)

Les bactéries lactiques utilisées dans la fabrication du L'ben sont des bactéries mésophiles (Benkerroum et Tamime, 2004).



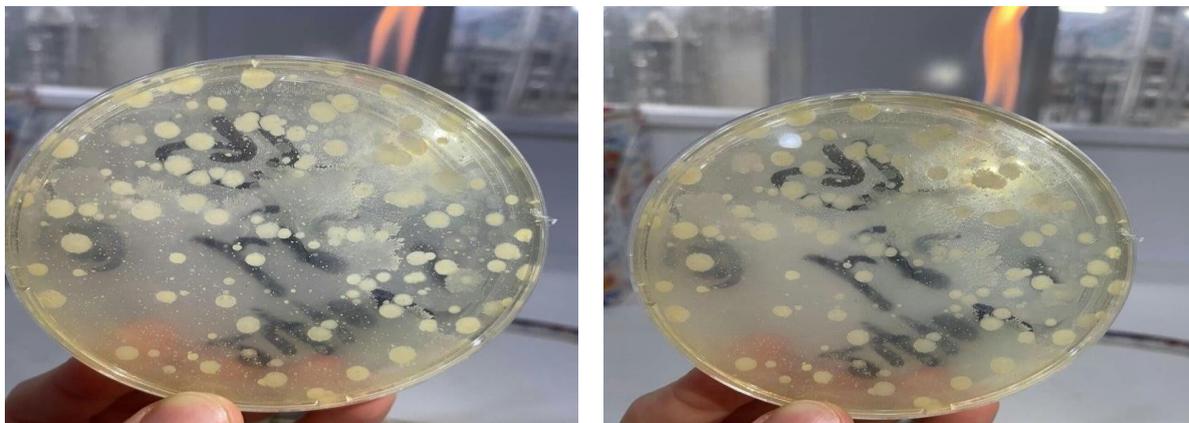
Dilution  $10^{-5}$

dilution  $10^{-3}$

**Figure 4.3 : les colonies obtenues après ensemencement du lait fermenté sur le milieu MRS.**

#### 4.1.4. Beurre

La flore naturelle est constituée par *Lactococcus diacetylactis* et *Lactococcus cremoris*. Ces deux espèces sont responsables de la production d'arôme dans le beurre (Bettach *et al.*, 2012).



dilutions  $10^{-3}$

dilution  $10^{-5}$

**Figure 4.4: les colonies obtenues après ensemencement du beurre sur le milieu M17.**

Les résultats des analyses microbiologiques des différents échantillons analysés exprimés en UFC/ml sont présentés, dans le tableau suivant :

**Tableau 4.1: Dénombrement des colonies des bactéries lactiques dans les différents produits analysés.**

Les produits laitiers	Le Nombre des microorganismes
Yaourt Aromatisé	30,27x10 <sup>7</sup> UFC/g pour <i>Streptococcus thermophilus</i> . 45,8x10 <sup>7</sup> UFC/g pour <i>Lactobacillus bulgaricus</i> .
Fromage Frais	0,12x10 <sup>2</sup> UFC/g
L'ben	entre 25x10 <sup>9</sup> UFC/g et 20x10 <sup>9</sup> UFC/g
Beurre	0,15x 10 <sup>4</sup> UFC/g

### 4.2. Discussion

Les analyses de yaourt aromatisé montrent que le nombre des bactéries lactiques était 30,27x10<sup>7</sup> UFC/g pour *Streptococcus thermophilus* et de 45,8x10<sup>7</sup>UFC/g pour *Lactobacillus bulgaricus*. Nos résultats sont conformes aux normes établies par **Savado** *et al.*, (2011) et **Traoré** *et al.*, (2011) dont le nombre de la flore lactique dans le yaourt dépassent 10<sup>7</sup> UFC/g. D'après le codex alimentaires, le nombre de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* doivent être supérieur ou égale à 10<sup>7</sup> UFC/g – ( **Normes concernées FIL 117B: 1997 et ISO 7889**).

Les réglementations gouvernementales diffèrent d'un pays à l'autre, toutefois le statut des probiotiques en tant que composante d'un aliment n'est pas établi actuellement à l'échelle internationale (FAO/OMS, 2001). La réglementation Algérienne recommande une concentration totale de bactéries lactiques d'au moins 10<sup>7</sup>UFC/g. En effet, selon l'arrêté interministériel du 16 Jomada Ethania 1419 correspondant au 7 octobre 1998 relatif aux spécifications techniques des yaourts et aux modalités de leur mise à la consommation : « Les bactéries lactiques thermophiles spécifiques doivent êtreensemencées simultanément et se trouvées vivantes dans le produit fini à raison d'au moins 10 millions de bactéries par gramme rapportées à la partie lactée ». Alors, Nous déduisons que le yaourt aromatisé est conforme à la réglementation Algérienne.

Cette stabilité microbiologique concernant les bactéries lactiques du yaourt aromatisé peut être expliquée par la bonne qualité des ferments utilisés et le taux d'inoculation départ. Le dénombrement des bactéries lactiques obtenues après ensemencement du fromage frais, montre que le nombre des bactéries lactique est  $0,12 \times 10^2$  UFC/g est non conforme au résultat trouvé par (Guiraud, 2003) qui rapporte que le nombre de la flore lactique dans le fromage frais est proche de  $10^4$  UFC/g.

Nous remarquons une diminution relativement importante du nombre de la flore lactique, cette diminution est, peut-être due à l'accumulation de l'acide lactique ce qui inhibe la croissance de la majorité des bactéries lactiques du fromage frais.

Toutefois, malgré la diminution du nombre des bactéries lactiques, la charge microbienne trouvée dans les échantillons du yaourt analysé est toujours conforme à la norme établie par (Traoré *et al.*, 2011).

Les résultats trouvés dans cette étude montrent la grande importance de l'utilisation d'un lait cru de très bonne qualité microbiologique dans la fabrication du fromage frais.

Les textes réglementaires algériens relatifs au lait et produits dérivés comme le fromage frais limitent aux aspects qui touchent à la qualité hygiénique et sanitaire de ces aliments. C'est l'ensemble de textes utilisés comme références pour la réalisation des analyses de contrôle de qualité par le Centre Algérien de Contrôle de la Qualité et de l'Emballage (CACQE), concernant le lait et dérivés ainsi que l'étiquetage des denrées alimentaires. Selon l'article no 3 du décret exécutif (n° 03-318 du 4 Chaâbane 1424 correspondant au 30 septembre 2003) modifiant et complétant le décret exécutif n° 89-147 du 8 août 1989 portant création, organisation et fonctionnement du centre algérien du contrôle de la qualité et de l'emballage "CACQE"

Le dénombrement des bactéries lactiques dans le lait fermenté (L'ben) a donné une charge moyenne entre  $25 \times 10^9$  UFC/g et  $20 \times 10^9$  UFC/g. Nos résultats sont similaires à ceux trouvés dans l'étude réalisée par (Belyagoubi et Abdelouahid, 2013) dont la charge était de  $(3,47 \times 10^9)$  UFC/g).

Les résultats trouvés par (Benhamada, *et al.*, 2007) dans l'étude réalisée à Jijel permettent de noter une très grande différence dans la charge des bactéries lactiques dans le lait fermenté à raison de  $1,7 \times 10^6$  UFC/ml, (Tormo *et al.*, 2006). La justification était que la diminution de la charge totale en microorganismes du lait fermenté s'accompagne d'une

réduction en microorganismes utiles, et l'inverse est juste.

En effet nos résultats de dénombrement de la charge microbienne des bactéries lactiques semblent en ligne parallèle avec ceux trouvés par **(Belyagoubi et Abdelouahid ,2013)**.

Le nombre total des bactéries lactiques du beurre comptées sur le milieu M17 est  $0.15 \times 10^4$  UFC/g. **Belyagoubi et Abdouahid,( 2013)**, ont trouvé que le beurre comportait une charge de  $10^6$  UFC/g.

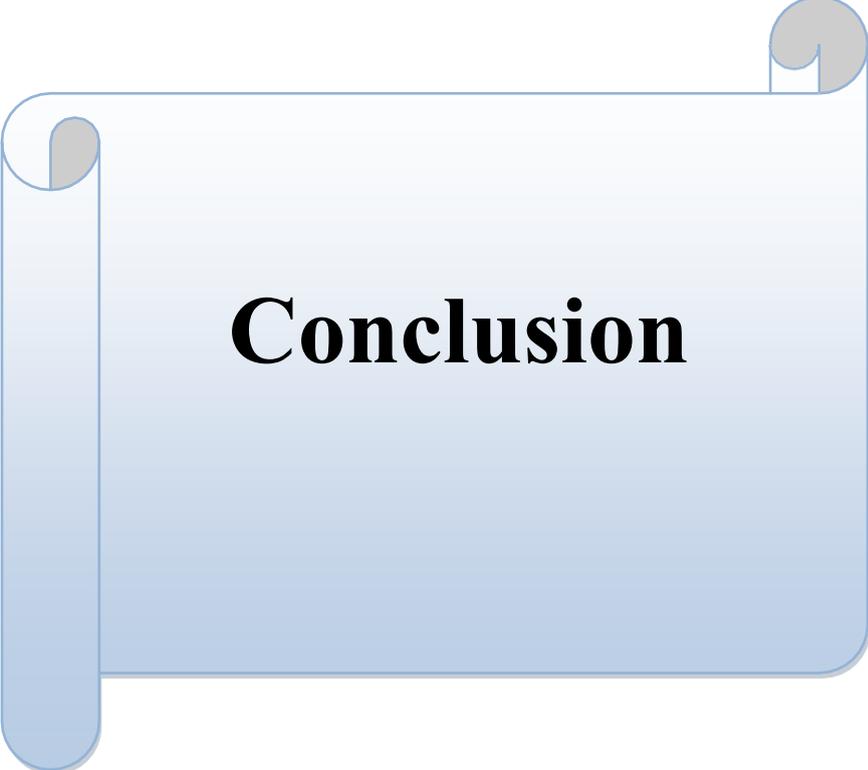
Nos résultats sont proches de ceux trouvés par **Benhamada, et al., (2007)** dans les études réalisées dans la région El-Aouana ( $1.36 \times 10^4$  UFC/g) et Taher ( $1.04 \times 10^4$  UFC/g) respectivement.

La présence de ces germes dans le beurre indique vraiment qu'il existe un transfert des bactéries du lait vers le beurre, ainsi, **Beerens et Luquet, (1987)** ont rapporté que les bactéries lactiques constituent la flore dominante du beurre, et interviennent dans l'acidification dans ce dernier.

Nous avons remarqué qu'il y a toujours une corrélation entre les résultats trouvés pour le beurre et ceux du lait analysés précédemment.

D'après les résultats des analyses de nos échantillons, la différence entre la charge microbienne des bactéries lactiques indique probablement que la méthode de préparation du beurre qui se diffère d'une région à une autre peut influencer la flore, aussi il y a d'autres facteurs tels que le climat et la période de prélèvement qui ont un fort effet sur le développement des bactéries lactiques **(Lairini et al., 2014)**.

Les résultats obtenus par les produits analysés peuvent être compatibles avec une bonne qualité microbiologique des produits laitiers et les conditions hygiéniques acceptables lors de la fabrication.



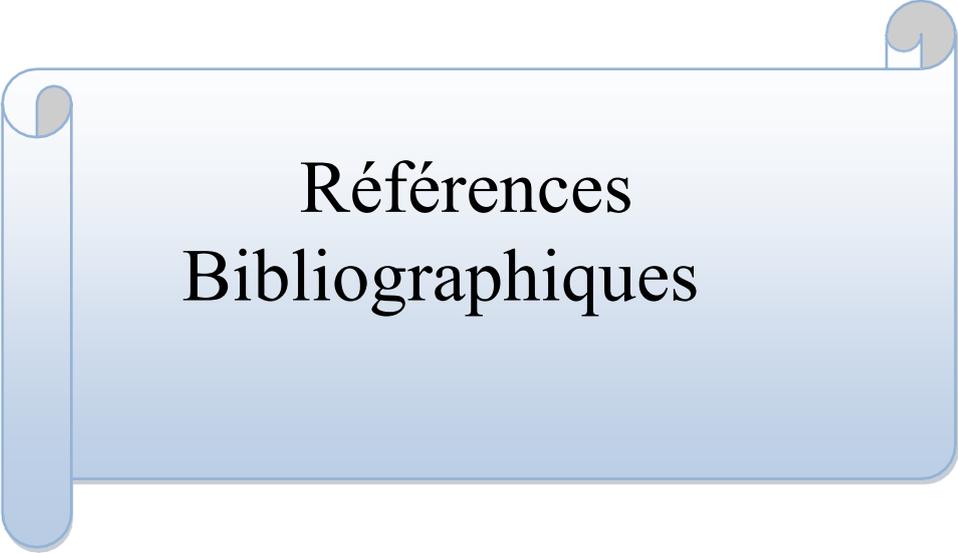
**Conclusion**

## **Conclusion**

Les bactéries lactiques (ou ferments lactiques) représentent un groupe hétérogène de microorganismes produisant de l'acide lactique comme produit principal du métabolisme. Elles interviennent dans l'industrie laitière et dans la fermentation de nombreux autres produits alimentaires comme la viande, les végétaux et les céréales, elles font partie de la flore intestinale et vaginale humaine et animale.

La qualité de lait et des produits dérivés représente une notion complexe parce qu'elle possède plusieurs dimensions telles que la qualité physicochimique et microbiologique. Au cours de cette étude, nous avons atteint un certain nombre d'objectifs fixés au début de notre travail. Nous avons pu d'une part, réaliser et bien maîtriser les analyses microbiologiques dans le laboratoire sur des produits finis d'un yaourt aromatisé, d'un lait fermenté (L'ben) et d'un fromage frais et beurre dans le but d'assurer d'une part, aux produits une bonne qualité et une bonne conservation. Et d'autre part assurer la garantie hygiénique et la sécurité des consommateurs.

D'après les résultats obtenus, nous pouvons dire que le contrôle impératif du produit fini et la maîtrise du processus de fabrication notamment les barèmes de stérilisation permettent d'assurer aux consommateurs des produits de bonne qualité tout en gardant ses qualités nutritionnelles et organoleptiques et en détruisant la majorité des germes éventuellement présents.



Références  
Bibliographiques

## Références bibliographiques

- Al Kassaa, I., Hamze ,M., Hober, D. et al, "Identification of vaginal lactobacilli with potential probiotic properties isolated from women in North Lebanon. *Microb Ecol*". *V. 67*,(2014), 722–734.
- Alioua, H., Ferrache, A. N., and Bouchefra, A. E., *Contrôle de la qualité des yaourts probiotiques et enquête alimentaire* (Doctoral dissertation, Université de Jijel),( 2018).
- Amiot, J., Fournier, S., Lebeuf, Y., Paquin, P., Simpson, R., Turgeon, H.,"Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologiqueet techniques d'analyse du lait" :01-71 In Vignola, C.L. "Science et technologie du lait -Transformation du lait", École polytechnique de Montréal,(2002),600.
- Badis, A., Guetarni, D., Boudjema, B. M., Henni, D.et Kihal, M. "Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races". *Food Microbiology*, *V. 21*, (2004), 579-588.
- Badis, A., Laouabdia-Sellami, N., Guetarni, D., Kihal, M. and Ouzrout, R. "Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir du lait cru de chèvre de deux populations caprines locales « arabia et kabyle » ". *Science and Technologie*, *V. 23*, (2005) ,30-37.
- Balezi, Z., Mushagalusa, G N. "Effets des techniques de transformation sur la qualité du fromage blanc traditionnel «Mashanza» produit au Sud-Kivu", RD Congo. *Journal of Animal & Plant Sciences*. *V.38, n°1*, (2018) ,6097-6110.
- Beal, C., et Sodini, I., " Fabrication des yaourts et des laits fermentés", *Techniques de l'Ingénieur*, Paris, France,(2012), 16.
- Beerens, H., and Luquet, F.M., "Guide pratique d'analyse microbiologique des laits et des produits laitiers". (1987).
- Bekhouche, Boulahrouf, " Etudes quantitative et qualitative des bactéries lactiques de lait cru produits par des vaches locales appartenant a six stations d'élevage de Constantine". *Sciences & Technologie C – N°23*, (2005) ,38-45.
- Belitz, H-D., Grosch, W. & Schieberle, P. "Milk and DairyProducts. *Food Cemistry*»: 498-517, (2009).
- Belyagoubil L., Abdelouahid D.E., « Isolation, identification and antibacterial activity of lactic acid bacterai from traditional Algerian dairy products ». *Advances in Food Science*,*V. 35,n ° 1*,(2013) ,84-85.
- Benaissa, M. A., & Bouguenafed, K. " Contribution à L'étude de l'effet d'hyssopus officinalis sur des paramètres de la reproduction chez le lapin et la souris". (2018).
- Benhamada, N., Bourghoud, R., and Idoui, T. E. » *Contrôle de qualité du beurre traditionnel de*

*la région de Jijel et valorisation », exploitation de ses constituants en industries agro-alimentaires* (Doctoral dissertation, Université de Jijel) (2007).

- Benhedane , N., "Qualité microbiologique du lait cru destiné à la fabrication d'un type de camembert dans une unité de l'est Algérien". Thèse de Magister, Université MENTOURI, Constantine,(2011), 3.
- Benkerroum, N., and A. Y. Tamime. "Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (lben, jben and smen) to small industrial scale." *Food Microbiology* ,**V.21,n °4** ,(2004), 399-413.
- Bettach, N., Chellouli, M., Hajjaji, N., Srhiri, A., Decaro, P., " International Journal of Engineering Research." **V.3,n ° 4** ,(2012).
- Cheftel, J-C.,&Cheftel, H.,"Introduction à la bio chimie et à la technologie des aliments", v. 1, Edition technique et documentation, Lavoisier, Paris, France.(1992).
- Cniel." Produit laitier". Maison de lait.θ(2006).
- Coeuret, V., Dubernet, S., Bernardeau, M., Gueguen, M. et Vernoux, J. P. «Isolation, caractérisation and identification of lactobacilli focusing mainly on cheeses and other dairy products. Le Lait",**V. 83**, (2003), 269-306.
- Corrieu, G., Luquet, F. M. " Bactéries lactiques : de la génétique au ferment". Paris : Edition Tec et Doc Lavoisier. (2008) , 153 - 849.
- Danthine, S., Blecker, C., Paquot, M., Innocente, N., Deroanne, C. "Evolution des connaissances sur la membrane du globule gras du lait". INRA, EDP Sciences Revue. (2000). 209–222.
- De Roissart, H. et Luquet, F.M., " Les bactéries lactiques. Uriage, Lorica, France", (1994), 1 : 1-286.
- Debrye, G., " Lait, nutrition et santé", Tec et Doc, Paris : **V. 21**, (2001),566.
- Desmazeaud, M., " Les bactéries lactiques in Hernier, J., Lenoir, J., et Webert, Les groupes microbiens d'intérêt laitier. Lavoisier". (1992), 9-57.
- Devriese, L.A., et Pot, B., " The genus Enterococcus .In The Genera of lactic Acid Bacteria, Edited by wood B .j.B et Holzapfel W.H. London : Blackie academic et Professional". (2003), 327-367.
- Drouault, S. et Corthier, G., " Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés". (2001).
- El Marnissi, B., Belkhou, R ., Bennani, L., "Caractérisation microbiologique et physicochimique du lait cru et de ses dérivés traditionnels Marocains (Lben et Jben)". Les technologies de laboratoire,**V. 8,n°33** ,(2013),100-111.
- Ercolini, A. M., and S. D. Miller. "The role of infections in autoimmune disease." *Clinical and Experimental Immunology* ,**V.155 ,n °1**, (2009), 1-15.

- Ercolini, D., Russo, F., Ferrocino, I. and Villani, F. " Molecular identification of mesophilic and psychrotrophic bacteria from raw cow's milk". *Food Microbiol.* (2009),*V.26*, 228–231.
- Etude physicochimique et microbiologique de laits crus. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux* *V.148*,(2009), 7-16.(2005),77 .
- Florou-Paneri, P., Christaki, E., Bonos, E." Lactic acid bacteria as source of functional ingredients". *Lactic Acid Bacteria-R and D for Food, Health and Livestock Purposes.* IntechOpen ,(2013).
- Foroutan, A., Guo AC., Vazquez-Fresno, R., Lipfert, M., Zhang, L., Zheng, J."Chemical Composition of Commercial Cow's Milk". *J Agric Food Chem .V. 67, n°17*, (2019),897-914.
- Foschi, C., Laghi, L., Parolin, C., Giordani, B., Compri, M., Cevenini, R., et al. "Novel approaches for the taxonomic and metabolic characterization of lactobacilli: Integration of 16S rRNA gene sequencing with MALDI-TOF MS and 1 H-NMR. *PLoS ONE".V.12, n°2*: e0172483.(2017).
- Franciosi, E., Settanni, L., Cavazza, A., et Poznanski, E., " Biodiversity and technological potential of wild lactic acid bacteria from raw cows' milk. *International dairy journal",V.19*, (2009), 3-11.
- Fredot, E., "Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique", Tec et Doc, Lavoisier:*V.25*,(2006) ,397.
- Gaucheron, F., » Minéraux et produits laitiers », Tec et Doc, Lavoisier: *V.783*,(2004), 922.
- Gnadig, S., Sébédio, J,l." Lipides In : Lait, nutrition et santé". Debry, G. Lavoisier. Tec et Doc. Paris, (2001),105-122.
- Guiraud , J. P., " Microbiologie alimentaire". Technique et ingénierie, Dunod, série Agroalimentaire, Paris, (2003), 652.
- Guiraud, J.P. " Microbiologie Alimentaire". Edition DUNOD. Paris. Pp : 136-139. (2003).
- Guiraud, J.P. et Rosec, J.P. (2004).Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Edition AFNOR. (2004), 95p.
- Hadjab, I., et Noui MehidiI, I. ; « memoire pour obtenir le diplôme des etudes superieurs en biologie (DES) option mirobiologie par Hadjab I et Noui MehidiI I; theme tnteret des bactéries lactiques ;23/06/2010.
- Herbel. S., Vahjen, W., Wieler, L.H., et Guenther, S., " Timely approaches to identifyprobiotic species of the genus *Lactobacillus*". *Gut Pathogens ,V.5, n°27*,(2013).
- Hermier, J., Lenoir, J., Weber, F. " Rôle des bactéries lactiques dans la productiondes facteurs anti microbien, les groupes microbien d'intérêt laitier". Ed. Cepil. Paris,(1997), 9-60.

- Hikmate, A., Benomar, N., Antonio, C., Caballero, N., Miguel, Á. F.F., Pérez-Pulido, R. Gálvez, A. " Characterization of lactic acid bacteria from naturally-fermented Manzanilla Aloreña green table olives". *Food Microbiology*, *V. 32* ,(2012),308-316.
- Holzapfel, W.H., Haberer, P., Geisen, R., Björkroth, J. and Schillinger, U. " Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition". *American Journal of Clinical Nutrition*, *vol. 73*,(2001).
- Horvath, P., Coûté-Monvoisin, A. C., Romero, D. A., Boyaval, P., Fremaux, C., and Barrangou, R. " Comparative analysis of CRISPR loci in lactic acid bacteria genomes". *International journal of food microbiology*,*V. 131, n°1*, (2009), 62-70.
- Horvath, P., Coûté-Monvoisin, A. C., Romero, D. A., Boyaval, P., Fremaux, C., and Barrangou, R. Comparative analysis of CRISPR loci in lactic acid bacteria genomes. *International journal of food microbiology*, *V. 131, n°1*, (2009), 62-70.
- Huyghebaert, "Stratégies des produits à base de lait cru". Bruxelles.(2006).
- Ismaili , M. A., Guilal, J., Hamama, A., Saidi, B., et Zah, M. " Identification de bactéries lactiques du lait cru de chamelle du sud du Maroc". *IJMS.*, *V. 1*, (2016),81- 94.
- Jeantet, R., Croguennec, T., Mahaut, M., Schuck, P. & Brulé, G. " Les produits laitiers, 2 emeEdition technique et documentation", Lavoisier, Paris, France.(2008).
- Jeantet, R., Croguennec, T., Schuck, P., et Brule, G., *Science des aliments-technologie des produits alimentaires tec et doc*, Lavoisier : *V. 17* ,(2007),456 .
- Klaenhammer, T., Altermann, E., Arigoni, F., Bolotin, A., Breidt, F., Broadbent, J., Cano, R., Chaillou, S., Deutscher, J. & Gasson, M. " Discovering lactic acid bacteria by genomics. *Lactic Acid Bacteria: Genetics, Metabolism and Applications*". Springer.(2002).
- Klein, G., Pack, A., Bonaparte, C., and Reuter, G. " Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria". *International journal of food microbiology*, *V. 41, n°2*,(1998) ,103-125.
- Kornacki, J.L., Flowers, R.S., Robert, L., Bradley, J.R. " Microbiology of butter and related products". Dans: Marth, E.H., Steele, J.L. *Applied dairy Microbiol*, 2 eme édition, revised and expanded,(2001),128.
- Kouamé-Sina, S., Bassa, A ., Dadié, A .,Kmakita, K.,Grace, D.,Dje, M. Et Bonfoh, B. "Analyse des risques microbiens du lait cru local à Abidjan (Côte d’Ivoire)". *Revue Africaine de sante et de production animales .RASPA .V.8* ,(2010),35-36.
- Labioui, H., Elmoualdi, L., Benzakour, A., El yachioui, M., Berny, E et Ouhssine, M . Lairinti, S., Beqqali, N., Bouslamti, R., Belkhou Zerrouqf, R. « Isolement des bactéries lactiques à partir des produits laitiers traditionnels Marocains et formulation d’un lait fermenté proche du Kéfir », *vol. 10, n°4*, (2014), 267-277.
- Lapointe, Vignola, C., "Science et technologie du lait: transformation du lait". Presses

internationales Polytechnique. *V.3*(2002).

- Lecerf, T., et al. "Indice d'aptitude général pour le WISC-IV: normes francophones." *Pratiques* , *V.16 ,n°1*, (2010), 109-121.
- Luquet, F.M. et Corrieu, G., " Bactéries lactiques et probiotiques". Edition Lavoisier, Paris.(2005), 307.
- Mahaut, M, Schuck, P., Jeantet, R., and Brulé, G.. Les produits industriels laitiers, (2000),178.
- Mahaut, M., Jeantet, R., Schuck ,P. et Brulé, G., " Les produits industriels laitiers".Edition : Technique et Documentation, Lavoisier, Paris, France, (2000),178p.
- Makhloufi .K. M. Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolée du boza. Thèse de doctorat de l'université pierre et marie curie. Spécialité : microbiologie, biochimie (école doctorale iviv), (2012).
- Muñoz, R., Arena, M. E., Silva, J. & Gonzalez, S. N. " Inhibition of mycotoxin- producing *Aspergillus nomius* VSC 23 by lactic acid bacteria and *Saccharomyces cerevisiae*. Brazilian Journal of Microbiology", *V.41*,(2010), 1019-1026.
- Paul, A., " beurre et fractions de matière grasse laitière", Dans: Vingole, C.L. Science et Technologie du lait, presses polytechnique, n°5,(2010), 323-347.
- Perreau , J-M.,"Conduire son troupeau de vaches laitières", Edition Franceagricole,Paris, France.(2014).
- Pointurier, H., "La gestion matière dans l'industrie laitière". Tec et Doc, Lavoisier,France, (2003),388 .
- Pons-Guiraud, A. "Sensitive skin: a complex and multifactorial syndrome." *Journal of cosmetic dermatology V.3,n° 3* (2004), 145-148.
- Pougheon, S., " Contribution a l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière", Ecole Nationale Vétérinaire Toulouse, France, *V.34* ,(2001), 102 .
- Pougheon, S., "Contribution a l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière, thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire", Ecole Nationale Vétérinaire Toulouse, France: *V.59* ,(2001),102 .
- Pougheon, S., et Goursaud, J., " Le lait et ses constituants caractéristiques physicochimiques", In : Debry, G., « Lait, nutrition et santé » , Tec & Doc, Paris, (2001), 3-42.
- Priyanka, S., et Prakash, A., Screening of Lactic Acid Bacteria for Antimicrobial Properties Against *Listeria monocytogenes* Isolated from Milk Products at Agra Region. Internet Journal of Food Safety, *V. 11* , (2009),81-87.

- Randazzo, C.L., Caggia, C., and Neviani, C.L.E. " Application of molecular approaches to study lactic acid bacteria in artisanal cheeses". *J. Microbiol. Methods*, **V.78**,(2009), 1–9.
- Richard, V J., 1990. Production de lait cru de bonne qualité bactériologique. *Microb-Hyg-alim* **V. 2, n°1**,(1990), 30-33.
- Savadogo, A., TRAOR, ALa flore microbienne et les propriétés fonctionnelles des yaourts et laits fermentes, *International of biological and chemical sciences*, **V. 5, n °5**. (2011),2057-2075, P 2060.
- Stiles, M. E. & Holzapfel, W. H. " Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International journal of food microbiology*", **V.36**,(1997), 1-29.
- Stoll, W., " Vaches laitières-alimentation influence la composition du lait", Éditionsagri.france. (2003).
- Sun, Z., Yu, J., Dan, T., Zhang, W., & Zhang, H. « Phylogenesis and evolution of lactic acid bacteria. In *Lactic acid bacteria* ,Springer », (2014), 1-78.
- Sun, Zh., Yu, J., Dan, T., Zhang, W., Zhang, H., " Phylogenesis and evolution of lactic acid bacteria. In: *Lactic acid bacteria: fundamentals and practice*". Springer, (2014) ,1-78.
- Temmerman, R., Huys G. et Swings, J., "Identification of lactic acid bacteria: culture dependent and culture-independent methods". *Trends in Food Science & Technology*, **V.15**,(2004),348- 359.
- Thapon, J.L., "Science et technologie du lait", Agrocampus-Rennes, France :V. 14, (2005).
- Tormo, H., Ali Haimoud Lekhal L,D., and Laithier,C., "Les microflores utiles des laits crus de vache et de chèvre: principaux réservoirs et impact de certaines pratiques d'élevage." *Rencontres autour des recherches sur les ruminants* (2006), 305-308.
- Transformation du lait". Vignola C.L. Ecole Polytechnique Montreal, pp: 75- 128(2002).
- Traoré, D., Sy, I., Koita, M., Keita, M., Lo, B., Tanner, M., & Cisse, G. Vulnérabilité sanitaire et environnementale dans les quartiers défavorisés de Nouakchott (Mauritanie): analyse des conditions d'émergence et de développement de maladies en milieu urbain sahélien. *VertigO : la revue électronique en sciences de l'environnement*, **V. 11, n ° 2**, (2011).
- Versalovic, M., and Wilson, T., " Therapeutic Microbiology: Probiotics and Related Strategies". ASM Press. (2008), 420.
- Vignola, C.L., "Science et technologie du lait –Transformation du lait", Écolepolytechnique de Montréal, ISBN: 29-34,(2002), 600.
- Wallace, T. D., Bradley, S., Buckley, N. D. & Green-Jonhson, J. H. " Interactions of lactic acid bacteria with human intestinal epithelial cells: Effects on cytokine production". *Journal of Food Protection* 2003. **V. 66, n°3**, (2003), 466-472.
- Wolter, R.,& Ponter, A., "Alimentation de la vache laitière", 4eme édition, EditionFrance

agricole, Paris, France. (2012).

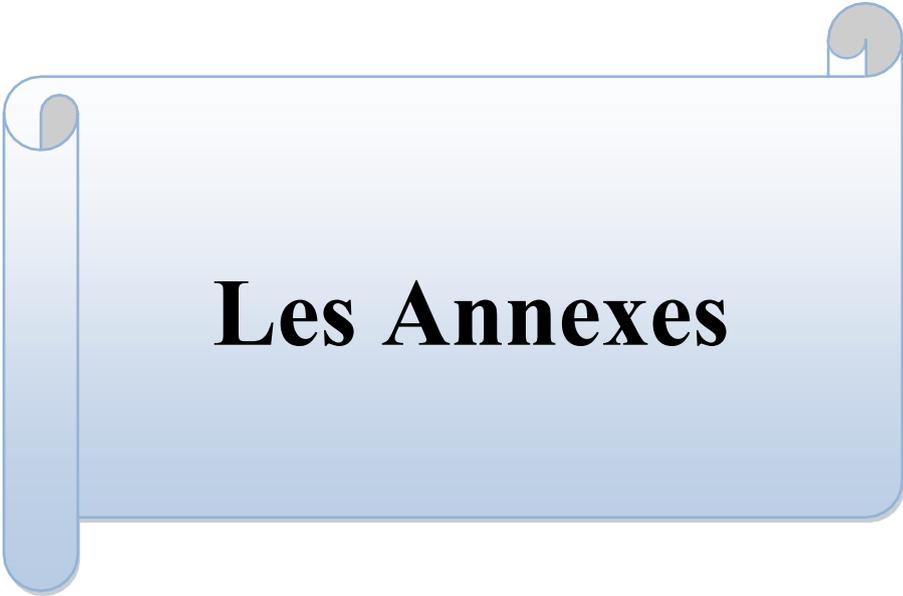
- Zergoug, A., " Effet des probiotiques et bactériocines vis-à-vis des pathogènes responsables des infections urinaires".Thèse pour l'obtention du diplôme de Doctorat 3ème cycle LMD". (2017), p.10.
- Zhang, H., Cai, Y. " Lactic acid bacteria: fundamentals and practice.Springer",*V. 2*, (2014).
- Zhang, M., Yan, L., Zhu, G., Holifield, M., Todd, D., Zhang, S., Streptococcus troglodytidis sp. nov., isolated from a foot abscess of a chimpanzee (Pan troglodytes). *J Syst Evol Microbiol*, *V. 63*, n° 2, (2013), 449–53.

### **Textes règlementaires**

- FAO/ OMS World Health Organization. Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria:*V.34* , (2001).
- FAO/ OMS, (2001). World Health Organization. Evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria:*34*.
- **ISO 2017**. Microbiologie de la chaîne alimentaire — Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique — Partie 1: Règles générales pour la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales. Disponible sur : <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:6887:-1:ed-2:v1:fr> (consulté en septembre 2020).
- Normes concernées FIL 117B: 1997 et ISO.

### **Sit web**

- <https://www.algerie-eco.com/>, Consulté le 05/07/2021 ,actualité archives - algerie Eco(actualité nationale et internationaleAlgerie-eco .com).(Algérie) Houssam, KHALEF. Ramzi, ZAGHBA .ACTUALITÉ.

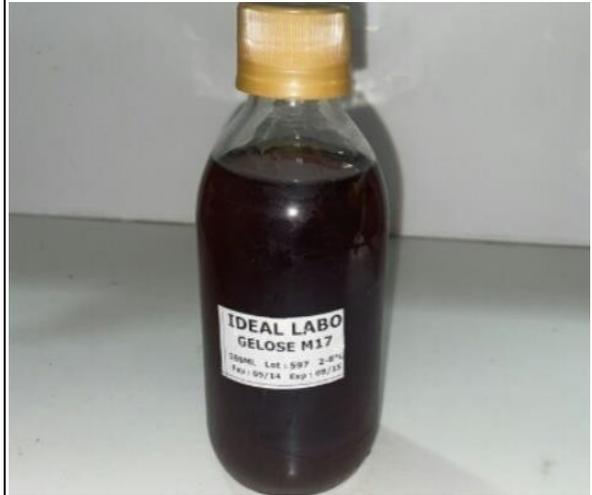


# **Les Annexes**

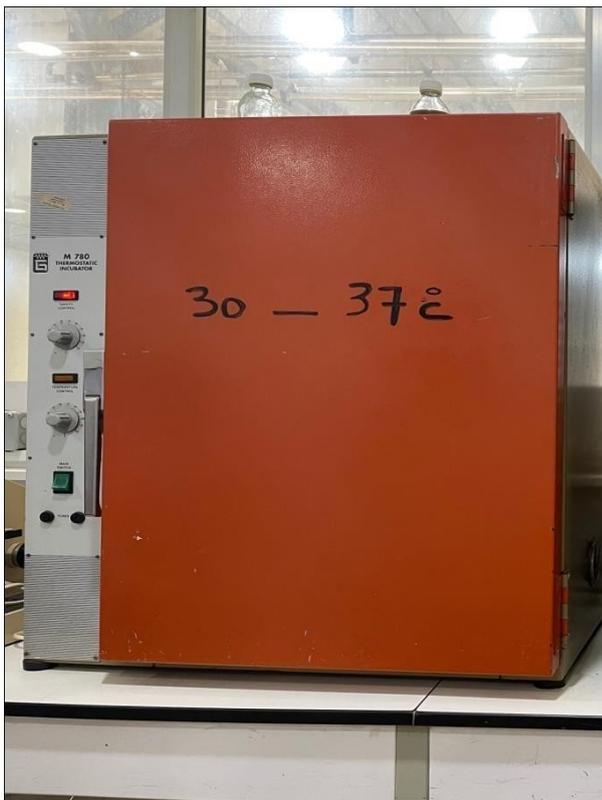
**Annexes 01 : Matériel et produits utilisés pour les analyses.**



Milieu Gélose MRS (Man Rogosa et Sharpe,1960)



Milieu Gélose M17 (Terzaghi et Sandine,1975)



Etuve de 30-37°C



Etuve de 44°C



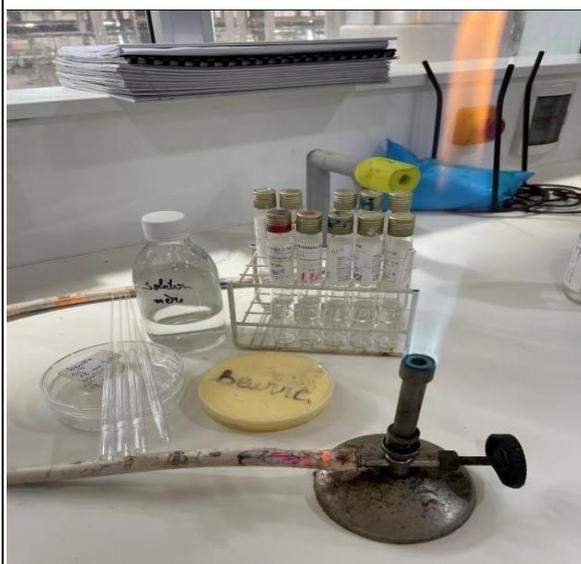
Bain- marie



Plaque  
chauffante



Balance analytique électrique



Boîtes de pétri, Pipette pasteur stériles, Tubes à  
essai, Bec benzène.

**Annexes 02 : Les produits laitiers du laitier d'Arib**



Lait fermenté (l'ben)



Yaourt aromatisé



Fromage frais



Beurre traditionnel (Zebda)

**Annexe 03: Formules des milieux de culture (Institut Pasteur, 2003)**➤ **Milieu MRS** (De Man, Rogosa et Sharpe, 1960)

Milieu utilisé pour le dénombrement des Lactobacilles.

Composition	Quantité g/L
Extrait de levure	5g
Extrait de viande	5g
Peptone	10 g
Acétate de sodium	5g
Citrate de sodium	2g
Glucose	20g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2g
MgSO <sub>4</sub>	0.1 g
MnSO <sub>4</sub>	0.05 g
Agar	12g
Tween80	1 ml
Eau distillée	1000 ml
Autoclavage : 121°C /15min. pH=6.5±0.2 à 37°C	

➤ **Milieu M17**

Milieu utilisé pour le dénombrement des Streptocoque.

Constituants	Quantité en g/l
Extrait de levure	2, 5g
Extrait de viande	5g
Peptone decaséine	2, 5g
Peptone de viande	2, 5g
Peptone de soja	5g
Acide ascorbique	0, 5g
B -glycérophosphate de sodium	19g
Agar	12, 75g
Sulfate de magnésium	0.25g
Eau distillée	1000 ml
Autoclavage : 121°C pendant 15min. pH=7.1±0.2 à 37 °C	

**Annexe 04 : Composition des diluants (g/l) (Institut Pasteur, 2003)**

➤ Composition et Préparation Eau physiologique :

Constituants	Quantité en g/l
Chlorure	9
Dissoudre 9 g dans un litre d'eau distillée; autoclave 15 min à 121 °C; pH= 7	