

République Algérienne Démocratique et Populaire الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
 Ministère de l'enseignement supérieur ووزارة التعليم العالي و البحث العلمي
 et de la recherche scientifique
 Centre Universitaire المرکز الجامعي
 Abdelhak Ben Hamouda de Jijel - جامعة عبد الحق بن حمودة - جيجل -
 Institut des Sciences de la Nature معهد العلوم الطبيعية

MEMOIRE

03/03

En vue de l'obtention de diplôme d'étude supérieur
 en biologie moléculaire et cellulaire

Option : Microbiologie

Thème

Contribution a l'étude du pouvoir acidifiant de
 quelques souches de
Streptococcus salivarius subsp.
thermophilus
 isolées des yaourts commerciaux

Jury :

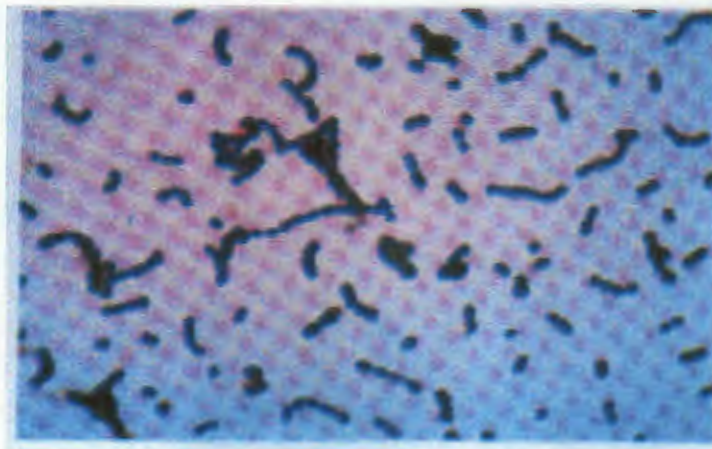
M^{me} : BAHRI Fathia Président
 M^{er} : HAMAMES Nour Eddine Encadreur
 M^{er} : BRIHMOCHE Mohamed Examineur

Présenté par :

-FANIT Razika
 -LARIT Taous
 -LARIT Ibtissam



Promotion 2000/2001



Chainettes de cellules streptococciques provenant d'une culture en bouillon (coloration de Gram.)

Remerciement

La louange à dieu seul qui nous a accordé cette compréhension, et qui a facilité le chemin dans nos études dès notre enfance et c'est grâce à dieu, que nous avons pu réaliser ce mémoire .

Nous remercions beaucoup :

-Notre encadreur Monsieur HAMAMES N qui nous a vraiment dirigé par ses conseils.

-Egalement nos professeurs ,et nous remercions infiniment monsieur BOUCHRIT (ISS à l'hôpital D'El Milia), Monsieur BOUCHAKRI (professeur à l'école paramédicale de JIJEL).

-L'équipe de laboratoire de biologie du centre universitaire de JIJEL

Sans oublier les techniciens du service de stérilisation à l'hôpital

« MOHAMED SADIK BEN YAHIA »(JIJEL).

SOMMAIRE

1^{ère} Partie : Etude Bibliographique

| | |
|--|----|
| Introduction | 1 |
| I- Microbiologie Du Lait. | 2 |
| I-1- Flore microbienne du lait. | 2 |
| I.1.1. Flore originelle. | 2 |
| I.1.2 Flore de contamination. | 2 |
| • Contamination endogène. | 2 |
| • Contamination exogènes. | 3 |
| II. Les Bactéries Lactiques. | 4 |
| II.1. Définition | 4 |
| II.2. Origine. | 4 |
| II.3. Classification. | 5 |
| II.3.1 <u>Streptococcus</u> | 5 |
| II.3.2 <u>Lactobacillus</u> | 6 |
| III. Taxonomie. | 10 |
| III.1. Caractères morphologiques. | 10 |
| III.2. Caractères physiologiques. | 10 |
| III.3. Caractères structuraux. | 11 |
| IV. Exigences Nutritionnelles Des Bactéries Lactiques. | 13 |
| IV.1. Utilisation des hydrates de carbone. | 15 |
| IV.2. Utilisation des acides de amines. | 18 |
| IV.3. Utilisation des peptides. | 19 |
| IV.4. Exigences vitaminiques. | 20 |
| IV.5. Influence des minéraux sur le métabolisme. | 21 |
| V. Intérêt Des Bactéries Lactiques En Industrie Alimentaire | 21 |
| V.1. Produits laitiers. | 21 |
| V.2. Panification | 26 |
| V.3. Produits carnés. | 26 |
| V.4. Produits végétaux. | 26 |
| - Le cas du yaourt..... | 26 |
| 1- Acidification | 27 |
| 2- Production d'arôme..... | 28 |
| 3- La texture..... | 29 |
| VI. Les Rôles Bénéfiques Des Bactéries Lactiques Sur La Santé Humaine..... | 29 |

2^{ème} Partie : Matériel Et Méthodes

| | |
|---|----|
| I. Matériels | 34 |
| II. Méthodes | 34 |
| II.1. Techniques d'isolement | 34 |
| II.1.1. Echantillonnage et technique de prélèvement | 34 |
| II.1.2. Méthodologie d'isolement | 35 |
| a. Milieu de cultures | 37 |
| b. Techniques d'isolement, d'enrichissement, de purification et de conservation. | 37 |
| II.1.3. Méthode de mesure du pouvoir acidifiant | 37 |

3^{ème} Partie : Résultats Et Discussion

| | |
|--|----|
| I. Résultats | 40 |
| I.1. Résultats d'isolement | 40 |
| I.1.1. Aspect des colonies isolées | 40 |
| I.1.2. Résultat de l'examen microscopique | 40 |
| I.2. Résultats de mesure du pouvoir acidifiant | 40 |
| II. Discussion | 45 |
| Conclusion générale | 47 |
| Bibliographie | |
| Annexes | |

1ère Partie

Étude Bibliographique

Liste des annexes :

- (1) :Milieu de TEZZAGHI et SANDINE
(M17-agar-MERCK).
- (2) :Méthode de préparation de NaOH (N/9).
- (3) :Préparation de lait écrémé à 10%.
- (4) :Coloration de Gram.

Liste des abreviations :

AC : Acidité.

Lb : *Lactobacillus*.

St : *Streptococcus*.

°D : Degré Dornic .

N : Normalité.

LDH : Lactate deshydrogénase

Lc : *Lactococcus*

Ln : *Leuconostoc*

DH : deshydrogénase.

PM : Poids moléculaire .

ppm : partie par million .

PEP-PTS : Phosphoénol Pyruvate- Phospho Transférase

D : La forme D dextrogène de l'acide lactique

L : La forme L dextrogène de l'acide lactique

B-gal : B-galactosidase

PK: Phospho-Kinase

Liste des tableaux :

TABLEAU (1) : Les différents genres de bactéries lactiques et leurs principales caractéristiques (SUTRA et al.,1998).

TABLEAU (2) : caractéristiques de quelques espèces de *Latobacillus* (SUTRA et al.,1998).

TABLEAU (3) : Les différents genres de bactéries lactiques (LEUVEAU et BOUIX,1993).

TABLEAU (4) : Exigence de croissance de quelques bactéries lactiques(LEVEAU et BOUIX,1993).

TABLEAU (5) : Exigence en acides aminés des bactéries lactiques (HAMAMES,1996).

TABLEAU (6) : Emploi des levains lactiques en industrie laitière (HEMME et al.,1986).

TABLEAU (7) : Principales bactéries lactiques associées aux produits laitiers fermentés et leurs rôles(SUTRA et al.,1998).

Liste des figures :

Figure (1) :Métabolisme hétérofermentaire du lactose et du galactose chez les bactéries lactiques (DEROISSART,1996).

Figure (2) : Pénétration et métabolisme du lactose et du galactose chez les bactéries lactiques(DEROISSART,1986).

Figure(3) :Méthode d'isolement et de purification de *Streptococcus salivarius subsp.thermophilus*.

Figure (4) :Méthode de mesure de pouvoir acidifiant.

Figure (5) :Acidification produite par les souches de *Streptococcus Salivarius subsp.thermophilus* incubés dans le lait à 37°C.

Figure (6) : Production d'acide lactique par les souches de *Streptococcus salivarius subsp.thermophilus* incubés dans le lait à 37°C.



Introduction

Introduction :

Voilà au moins quatre mille ans que l'homme se sert des bactéries lactiques pour la fermentation d'aliments. Les bactéries lactiques sont utilisées dans le monde entier du fait de leurs grande importance dans l'industrie alimentaire et particulièrement dans l'industrie laitière. Elles permettent d'obtenir des produits ayant des caractéristiques finales souhaitées, tel que, l'acidité, l'arôme, la texture, la saveur ...etc.

Pour cela, elles sont utilisées dans les laitages fermentés comme par exemple : yaourt, fromage, beurre, kefir, koumiss..etc (DESMAZEAUD, 1996).

Le rôle principale des bactéries lactiques dans l'industrie laitière est de produire des quantités importantes d'acide lactique par fermentation du lactose du lait (SUTRA et al ., 1998).

Dans le but d'avoir une idée sur le pouvoir acidifiant de quelques souches de *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* utilisées comme levain dans le yaourt commercial.

Nous avons assigner de réaliser un travail qui comporte les étapes suivantes :

- Isolement de quelques souches de *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* des yaourts commerciaux.
- Etude de leur pouvoir acidifiant.

I. Microbiologie du lait :

Le lait est un aliment complet qui provient de la traite d'animaux domestiques, le lait est de par sa composition un aliment de choix :

Il contient des graisses, du lactose, des protéines, des sels minéraux, des vitamines et 87% d'eau, son PH est de 6,6. Il va être un substrat très favorable au développement des micro-organismes (GUIRAUD et GALZY, 1980).

I.1. Flore microbienne du lait :

I.1.1. Flore originelle :

Le lait contient peu de micro-organismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 1000 germes/ml). Il s'agit essentiellement de germes saprophytes du Pis : microcoques mais aussi Streptocoques lactiques et Lactobacilles. D'autres micro-organismes peuvent se trouver dans le lait lorsqu'il est issu d'un animal malade: il sont généralement pathogènes et dangereux au point de vue sanitaire. Il peut s'agir d'agents de mammites: (*Streptocoques pyogenes*, *Corynebactéries pyogènes*). Il peut s'agir aussi de germes d'infection générale qui peuvent passer dans le lait en l'absence d'anomalies du Pis : *Brucella* agent de la fièvre de malte; Exceptionnellement *Mycobactérium* agent de la tuberculose, *Bacillus anthracis* agent du charbon, *Coxiella burnettii* agent de la fièvre Q, et quelques virus. (GUIRAUD et GALZY, 1980).

I.1.2. Flore de contamination :

D'une façon générale, la contamination du lait par les micro-organismes peut être d'origine endogène ou exogène :

* Contamination endogène :

- la contamination par voie cutanée de la mamelle due au micro-traumatisme que subie cette dernière. C'est pourquoi, on recommande toujours de procéder à la désinfection totale de la mamelle avant la traite.
- Fécès et téguments de l'animal : coliformes, Clostridies, éventuellement Entérobactéries pathogènes (*Salmonella*...).

- La contamination par les micro-organismes responsables d'autres foyers infectieux dans l'organisme. En effet ; ces germes peuvent être véhiculés par le sang jusqu'à la mamelle constituant par la même occasion un transfert de foyers infectieux.
- La contamination endogène la plus habituelle et la plus incriminée est la contamination par les trayons.

En effet, les micro-organismes de l'environnement passent à travers le sphincter du trayon et remontent par le canal pour s'éjourner et se multiplier dans la citerne. C'est pourquoi on recommande toujours, non seulement d'éliminer les premiers jets de la traite, mais aussi et surtout de les récupérer dans un récipient à part dans le but d'éviter la contamination de l'environnement immédiat des femelles laitières (GUIRAUD et GALZY, 1980 ; LEBRES, 2000).

* **Contamination exogène** : peut être due à plusieurs facteurs à savoir :

- Sol : Streptomyces sporulees, spores fungiques.
- Air et eau : flore diverse.
- Matériel du traite : dans ce cas, on redoute l'hygiène et la propreté de la machine à traire avec toute la tuyauterie qu'elle comporte.
- L'habitat des femelles laitières : dans ce cas on redoute l'hygiène d'ensilage et le fourrage, car ils peuvent être porteurs de germes dangereux et très virulents.
- Flore de contamination fécale : *Streptococcus faecalis*.
- Manipulateurs : *Straphylocoque* dans le cas de traite mamelle, mais aussi germes provenant d'expectoration, de contamination fécales (GUIRAUD et GALZY, 1980 ; LEBRES, 2000).

II. Les Bactéries Lactiques :

II.1. Définition :

Le groupe des bactéries lactiques a été défini pour la première fois par ORLA-JENSEN en 1919 et réunit plusieurs genres caractérisés par leurs capacités à fermenter les glucides en produisant de l'acide lactique. La fermentation est dite : homolactique si l'acide lactique est pratiquement le seul produit formé (voie d'EMBDEN MEYERHOF PARNAS), et hétérolactique si d'autres composés sont aussi présents : acide acétique, Ethanol, CO₂ ... (voie de Dickens-Horecker et d'éthner Deudoroff). (LE VEAU ; BOUIX, 1990).

Les bactéries lactiques constituent un groupe hétérogène qui n'est pas clairement défini du point de vue taxonomique elle rassemble en effet un certain nombre de genres de bactéries dont les principales caractéristiques sont les suivantes :

- Gram positives, immobiles, asporogènes, anaérobies, mais aérotolérantes.
- Ne possèdent ni catalase ni nitrate réductase, ni cytochrome-oxydase.
- Possédant des caractéristiques physiologiques et métaboliques communes (SUTRA et al., 1998).

II.2. Origine :

Les bactéries lactiques ont été isolées de nombreux milieux naturels : végétaux (plantes et fruits), animaux et humains (cavités buccales et vaginales, fécès, lait...). (LONDON, 1976 cité par DEROISSART, 1986). Certaines espèces sont adaptées à un environnement spécifique :

- Espèces du genre *Streptococcus* : se trouvent surtout chez l'homme, les animaux et oiseaux, d'autres espèces ont été isolées à partir des plantes.
- Espèces du genre *Lactobacillus* : se rencontrent dans la nature où elles sont associées aux plantes, animaux et humains.

Les bactéries lactiques se trouvent généralement associées à d'autres micro-organismes dans de nombreux produits d'origine animale et végétale fermentés ; lait fermentés (fromage, beurre...), viande fermentées (saucisson, viande

faisandée), boisson alcoolisées à base de fruits (cidre, bières...) légumes et fruits fermentés. (MEDJOU DJ, 1993).

II.3. Classification :

La production d'acide lactique en proportion élevée dans les produits de fermentation anaérobie des sucres est un caractère biochimique important, et peut justifier la réunion dans une même unité de bactéries présentant des différences dans leur morphologie (ALAIS, 1984). Cette classification dérivé des travaux d'ORLA JENSEN (1919) et se base sur le caractère homofermentaire et hétérofermentaire. (TABLEAU 1) (MEDJOU DJ, 1993).

III.3.1. **Streptococcus** : de nombreux changements ont eu lieu relativement au genre Streptococcus, depuis la parution de la neuvième édition du manuel de systématique bactérienne de Bergey. En effet, on y ajouté plusieurs espèces nouvelles, dont des anaérobies stricts. Il est probable que d'autre changement surviendront lorsque l'on disposera de plus d'information. Par exemple des études réalisées sur les acides nucléiques des enterocoques ont révélé qu'il serait préférable de regrouper ces germes dans un nouveau genre : Enterococcus (FREEMAN, 1979 cité par COUTURE, 1990).

Le genre Streptococcus appartient à la famille des Streptococaceae et comprend actuellement une trentaine d'espèces. Dans ce genre, les Streptocoques lactiques forment un groupe distinct des autres espèces qui sont soit pathogènes pour l'homme: (Streptococcus pyogenes) ou pour les animaux (Streptococcus agalactiae) soit saprophytes de la cavité orale: (Streptococcus mutans, Streptococcus salivarius) ou de l'intestin (Streptococcus faecalis). Ces espèces diffèrent principalement entre elles par la présence d'un antigène de groupe dit antigène de LANCEFIELD et par leur capacité de croître à des températures extrêmes 45°C pour les thermophiles, 10°C pour les mésophiles.

Des critères moléculaires permettent aussi de les distinguer : la composition de leur peptidoglycane (PTG) variable selon la nature de la liaison peptidique, la composition de leur ADN mesurée par le GC%, l'homologie de séquence entre

ADN et ARNr (GARUIE et FARROW, 1981) et enfin l'homologie de séquence de leur génome mesurée par hybridation ADN-ADN.

Récemment les résultats d'hybridation ADN-ADN et ADN-ARN et le séquençage des ARNr ont permis d'exclure du genre *Streptococcus* proprement dit les Streptocoques lactiques mésophiles sont classées dans le genre *Lactococcus* (SCHELEIFER et al., 1985). Les Streptocoques fécaux ont été placés dans le genre *Enterococcus*. Les Streptocoques lactiques se composent en fait de deux groupes distincts : les Streptocoques mésophiles possédant l'antigène de groupe N, d'où leur nom de Streptocoque du groupe N et l'espèce thermophiles, *Streptococcus thermophilus* qui ne possède pas d'antigène de LANCEFIELD (LEUVEAU et BOUIX, 1993).

II.3.2. *Lactobacillus* :

Les espèces du genre *Lactobacillus* sont caractérisées par des cellules en forme de batonnets souvent groupés en chaînes avec une forte exigence en facteurs de croissance. Ces espèces sont caractérisées par l'hétérogénéité de la composition de leur ADN : le GC% varie de 32 à 53% originellement elles ont été classées en trois groupes, des sous genres, par ORLA-JENSEN (1919) :

- *Thermobactérium* : homofermentaire et thermophile.
- *Streptobactérium* : homofermentaire et mesophile.
- *Betabacterium* : hétérofermentaire, soit mesophile soit thermophile.

La classification actuelle est loin d'être définitive, mais les résultats de la taxonomie moléculaire, la détermination du type de peptidoglycane (PTG), les propriétés de certains enzymes dont la LDH, la détermination de l'isomère de l'acide lactique, la taille du génome et l'hybridation ADN-ADN ont permis à KANDLER et WEISS 1986 de diviser les lactobacilles en 3 groupes qui recouvrent sous de nouvelles définitions, les groupes d'ORLA-JENSEN (TABLEAU 2) (LEVEAU et BOUIX, 1993).

TABLEAU (1) : les différents genres de bactéries lactiques et leurs principales caractéristiques (SUTRA et al., 1998).

| Genre | Morphologie | Fermentation | T°opt | Nb espèces |
|------------------------|----------------------|--|----------------------------------|-------------------------------------|
| <u>Lactobacillus</u> | Bacilles | Homofermentaires ou Hétérofermentaires | Thermophiles ou Mesophiles | G.I : 23 G.II : 16 G.III : 22 |
| <u>Carnobactérium</u> | Bacilles | Hétérofermentaires | Psychrotrophes | 6 |
| <u>Lactococcus</u> | Coques | Homofermentaires | Mesophiles | 5 |
| <u>Streptococcus</u> | Coques | Homrofermentaires | Mesophiles ou Thermophiles | 19 |
| <u>Enterococcus</u> | Coques | Homofermentaires | Mesophiles | 13 |
| <u>Vagococcus</u> | Coques mobiles | Homofermentaires | Mesophiles | 2 |
| <u>Pediococcus</u> | Coques tétrades | en Homofermentaires | Mesophiles | 7 |
| <u>Tetragenococcus</u> | Coques tétrades | en Homofermentaires | Mesophiles | 1 |
| <u>Leuconostoc</u> | Coques | Hétérofermentaires | Mesophiles | 11 |
| <u>Oenococcus</u> | Coques | Hétérofermentaires | Mesophiles | 1 |
| <u>Bifidobacterium</u> | Forme irrégulière | Acide acétique et lactique | | 25 |

T°opt : température optimale de développement ;
nb. espèces : nombre d'espèces connues

- **Groupe I :** il comprend les espèces homofermentaires obligatoires. Ils sont incapables de fermenter les pentoses et le gluconate. Ce groupe est constitué d'environ 25 espèces, la plupart thermophiles (Croissance à 45 °C) dont *Lactobacillus delbrueckii* , *Lactobacillus acidophilus* et *Lactobacillus helveticus*. La plupart des espèces sont présentes dans le lait et les produits laitiers, mais un grand nombre a été isolé chez l'homme et les animaux (tractus digestif, organes génitaux) et participe à l'équilibre de la microflore de l'organisme ; (SUTRA et al., 1998).
- **Groupe II :** ce sont les espèces hétérofermentaires facultatives, c'est à dire capables d'utiliser la voie hétérofermentaire dans certaines conditions comme une concentration en glucose limitante, il est constitué d'une vingtaine d'espèces dont *Lactobacillus casei* , *Lactobacillus curvatus* , *Lactobacillus sake* et *Lactobacillus plantarum*, majoritairement mésophiles, ils sont isolés dans les fourrages, les produits laitiers et les produits carnés (SUTRA et al., 1998).
- **Groupe III :** il est constitué des espèces hétérofermentaires obligatoires, c'est à dire utilisant la voie des pentoses phosphates pour la fermentation des hexoses et des pentoses, c'est un groupe qui rassemble des espèces relativement hétérogènes, surtout mésophiles, comme *Lactobacillus brevis* , *Lactobacillus kefir* et *Lactobacillus 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 (SUTRA et al., 1998).

Tableau (2) : caractéristique de quelques espèces de Lactobacillus
(SUTRA et al., 1998)

| Groupe | Espèce | AND GC% | Type de peptidoglycane | Acide lactique | Habitat |
|--|--|-------------------------------|------------------------|----------------|--------------------|
| I | - <u>Lb.delbrueckii sub.sp.delbrueckii</u> | 49-51 | Lys-Asp | D | Végétaux |
| | - <u>Lb.delbrueckii sub.sp.bulgaricus</u> | 49-51 | Lys-Asp | D | Yaourt, fromage |
| | - <u>Lb.delbrueckii sub.sp.lactis</u> | 49-51 | Lys-Asp | D | Fromage |
| | - <u>Lb.Acidophilus</u> | 34-37 | Lys-Asp | DL | Bouche, Vagin |
| | - <u>Lb.gasseri</u> | 33-35 | Lys-Asp | DL | Bouche, Vagin |
| | - <u>Lb.helveticus</u> | 38-40 | Lys-Asp | DL | Fromage |
| | II | - <u>Lb.casei subsp.casei</u> | 45-47 | Lys-Asp | L |
| - <u>Lb.casei subsp.pseudopantarum</u> | | 45-47 | Lys-Asp | DL | Fromage, fourrage |
| - <u>Lb.casei subsp.tolerans</u> | | 45-47 | Lys-Asp | L | Bouche, vagin |
| - <u>Lb.casei subsp.rhamnosus</u> | | 45-47 | Lys-Asp | L | Tractus intestinal |
| - <u>Lb.sake, Lb.curvatus</u> | | 42-44 | Lys-Asp | DL | Végétaux |
| - <u>Lb.bavaricus</u> | | 42-44 | Lys-Asp | L | Végétaux |
| - <u>Lb.plantarum</u> | | 44-46 | méso-DAP | DL | Végétaux, fromage |
| III | - <u>Lb.bifermentans</u> | 44-46 | Lys-Asp | DL | Fromage |
| | - <u>Lb.brevis</u> | 45-47 | Lys-Asp | DL | Végétaux, fromage |
| | - <u>Lb.buchneri</u> | 44-46 | Lys-Asp | DL | Végétaux, fromage |
| | - <u>Lb.kefir</u> | 40-42 | Lys-Asp | DL | Kéfir |
| | - <u>Lb.renteri</u> | 40-42 | Lys-Asp | DL | Tractus intestinal |
| | - <u>Lb.fermentum</u> | 52-54 | Om-DASP | DL | Végétaux, fromage |
| | - <u>Lb.confusus</u> | 45-47 | Lys-ALA | DL | Végétaux |
| | - <u>Lb.viridescens</u> | 45-47 | Lys-Ala-ser | DL | Produits carnés |
| | - <u>Lb.sanfrancisco</u> | 36-38 | Lys-Ala | DL | Pain panattone |



III. Taxonomie :

La différenciation des bactéries lactiques reçu l'attention des microbiologistes de faire une taxonomie basée sur des caractères précises :

III.1. Caractères morphologiques :

Selon les caractères morphologiques des bactéries lactiques il existe deux types ; les cocci et les bacilles :

- **Les cocci** : se sont des petites sphères plus ou moins ovoïdes de 0,5 à 1,5 μ .m de diamètre dont la division peut engendrer des paires, des tétrades, des chaînes (HAMAMES, 1996).
- **Les bacilles** : sont des petites bâtonnets plus ou moins allongés, à des formes longues de 0,5 à 2 μ .m de diamètre et 1,5 à environ 10 μ .m de long, se présentent en paire ou en chaînettes de longueur variable.

La distinction entre genres se fait par l'examen microscopique et par le teste de fermentation de GIBSON et ABDELMALEK.

On distingue 4 genres bactériens : *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Lactobacillus*.

- *Streptococcus* : homolactique, division cellulaire donnant des sphères ovoïdes groupées en paire ou en chaînettes.
- *Leuconostoc* : hétérolactiques (production de CO₂) cellules de formes lenticulaires groupées en paires ou en chaînettes courtes.
- *Pediococcus* : homolactiques, leur division cellulaire donne des sphères groupées en paires ou en tétrades.
- *Lactobacillus* : homo ou hétérolactiques, les cellules sont des batonnets plus ou moins allongés, groupées en paires ou en chaînettes qui sont quelques fois disposées en spirales (MEDJOUJ, 1993).

III.2. Caractères physiologiques :

Les tests les plus couramment appliqués pour différencier entre les espèces sont :

- l'aptitude à fermenter les sucres.
 - Les recherches de reductase et d'arginine dihydrolase.
 - La détermination des températures de croissance et de thermorésistance.
 - La tolérance au NaCl.
- D'autres tests peuvent être pratiqués pour l'identification tel que :
- Le caractère homolytique.
 - L'hydrolyse de l'amidon.
 - La production d'acétoïne.
 - Les besoins en vitamine et la culture sur teepol (LEVEAU ET BOUIX, 1993).
 - Croissance à PH 9,6 et dans le lait au bleu de méthylène
 - Liquéfaction de la gélatine.
 - Culture sur lait tournesolé.
 - Hydrolyse de l'esculine.

La différenciation entre biotype ou souches d'une même espèce s'appuie sur un ensemble de caractères tels que : les degrés de résistance aux inhibiteurs, bactériophages, antibiotiques, lactenines, agglutinines ainsi que les aptitudes acidifiante, aromatisante, protéolytique, gazogène (DEROISSART, 1986).

III.3. Caractères structuraux :

En 1986 DEROISSART rapporte que les techniques d'investigation de la biologie cellulaire ont ouvert la voie à une taxonomie plus rigoureuse, ces techniques ont trouvé une application dans la sélection des souches à hautes performances technologiques (MEDJOUDJ, 1993).

L'évolution de ces techniques permet d'étudier la composition de l'ADN d'une bactérie qui est exprimé en guanine + cytosine (G + C%) et permet de connaître l'homogénéité des espèces constituant les genres: *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*. Le pourcentage en bases G+C (GC%) de leur ADN montre une composition assez proche pour les genres *Streptococcus* (34, 46%), *Leuconostoc* (36, 43%), *Pediococcus* (34, 42%) (LEVEAU et BOUIX, 1993). Par contre le genre *Lactobacillus* est caractérisé par l'hétérogénéité de ces espèces :

(32–53 %) et cette variabilité retrouve à l'intérieur même des subdivisions du genre. Cette hétérogénéité laisse douter de la validité taxonomique du genre Lactobacillus.

Le GC% des espèces de Bifidobacterium varie de (55 à 67 %) et le tableau 3 résumé les différents caractéristiques des bactéries lactiques.

Tableau 3: les différents genres de bactéries lactiques (LEVEAU et BOUIX, 1993)

| | Cellules | | Fermentation | ADN GC% |
|------------------------|----------|-------------|---------------------------------|---------|
| | Forme | Arrangement | | |
| <u>Streptococcus</u> | Coque | Chaînes | Homolactique | 34-46 |
| <u>Leuconostoc</u> | Coque | Chaînes | Hétérolactique | 36-43 |
| <u>Pediococcus</u> | Coque | Tétrades | Homolactique | 34-42 |
| <u>Lactobacillus</u> | Bacille | Chaînes | Homolactique- hétérolactique | 32-53 |
| <u>Bifidobacterium</u> | Variée | Variée | Acétique et lactique | 55-67 |

GC% : pourcentage molaire de l'ADN en bases G et C.

IV. Exigences nutritionnelles des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques sont caractérisés par des exigences nutritionnelles nombreuses (tableau 4), elles ne peuvent croître facilement, que dans des milieux riches en vitamines, bases nucléiques et en sources de carbone et d'azote : lait, produits laitiers, végétaux en décomposition, viandes. Les vitamines nécessaires sont présentes dans le lait en concentration généralement suffisante mais l'addition au lait d'extrait de levure riche en vitamines améliore la croissance bactérienne ; certaines vitamines ne sont pas exigées mais ont un effet stimule leur croissance (DESMAZEAUD, 1993).

TABLEAU (4) : Exigence de croissance de quelque bactéries lactiques
(LEVEAU et BOUIX, 1993)

| Exigences Pour Croissance | | | | | | |
|---------------------------|---|--|--|------------------------------------|----------------------|-------------------------------|
| Métabolites | <u>Lc.lactis</u> <u>Subsp.lactis</u> | <u>Lc lactis</u> <u>Subsp.lactis</u> <u>diacety lactis</u> | <u>Lc.lactis</u> <u>Subsp.</u> <u>cremoris</u> | <u>Sc.ther-</u> <u>mophilus</u> | <u>Lactobacillus</u> | <u>ln.</u> <u>cremoris</u> |
| Acides | | | | | | |
| Aminés | | | | | | |
| Asp | - | - | - | + | + | ? |
| Thr | - | - | - | ? | ? | ? |
| Ser | - | ? | +/- | ? | ? | +/- |
| Glu | + | + | + | +/- | + | ? |
| Pro | - | ? | + | ? | ? | ? |
| Gly | - | ? | +/- | ? | ? | ? |
| Ala | - | ? | +/- | ? | ? | +/- |
| Cys | S | S | + | + | S | + |
| Val | + | + | + | + | + | +/- |
| Met | + | + | + | +/- | + | +/- |
| Ile | + | + | + | +/- | + | +/- |
| Leu | + | + | + | + | + | + |
| Tyr | ? | ? | ? | +/- | ? | +/- |
| Phe | +/- | ? | + | ? | | |
| Lys | - | - | +/- | + | + | +/- |

| | | | | | | |
|-------------------------|-----|-----|-----|---|---|---|
| His | + | + | + | + | + | ? |
| Trp | - | ? | +/- | ? | ? | ? |
| Arg | +/- | +/- | +/- | ? | ? | ? |
| Vitamines | | | | | | |
| B12 | + | + | + | + | + | ? |
| Biotine | + | + | + | + | + | ? |
| Nicotinamide | + | + | + | + | + | + |
| Pantothenate | + | + | + | + | + | + |
| Riboflavine | + | + | + | + | + | + |
| thiamine | + | + | + | + | - | + |
| Pyridoxal | + | + | + | + | - | + |
| Acide folique | + | + | + | + | - | + |
| Acide organique | | | | | | |
| Acide acétique | + | + | + | ? | ? | ? |
| Acide oleïque | + | + | + | ? | S | + |
| Acide orotique | ? | ? | ? | ? | S | ? |
| Acide formique | ? | ? | ? | ? | S | ? |
| Bases Nucleiques | | | | | | |
| Hypoxan -thine | S | - | - | ? | - | + |
| Adenine | S | S | - | ? | S | + |
| Guanine | S | - | - | ? | S | + |
| Thiamine | S | - | - | ? | - | - |
| Thymidine | S | - | - | ? | - | - |
| Uracile | S | - | - | ? | S | + |

IV.1. Utilisation des hydrates de carbone :

Le métabolisme des sucres va conduire, notamment, à la production de l'acide lactique et à un fort abaissement du PH, ce qui est recherché pour la fabrication des produits alimentaires. Mais, ce processus est avant tout indispensable aux bactéries elles même, en leur fournissant de l'énergie (DESMAZEAD, 1996).

Lorsque la fermentation est homolactique, la production de lactate passe par la voie d 'EMBDEN- MEYERHOF- PARNAS (EMP).Fig1.

Lorsque la fermentation est hétérolactique, la voie employée est celle des pentoses- Phosphate et aboutit à la production de lactate, d'éthanol et éventuellement d'acétate (Fig 2).

IV.1.1. Les différentes formes d'acide lactique forme et la sortie du lactate :

Dans la fermentation homolactique, à partir des deux trioses-phosphate formés par mole d'héxoses se forment deux molécule de lactate. L'hydrolyse d'une mole de lactose aboutit donc à la production de quatre moles de lactate après réduction du pyruvate, le lactate formé est excrété dans le milieu.

Contrairement au plantes et aux animaux supérieurs, les bactéries lactiques dans leurs ensemble peuvent synthétiser non seulement la forme L(+), mais aussi la forme D(-) ou les deux. Le type d'isomères formé dépend de l'espèce ou du genre de la bactérie, mais aussi des conditions de la croissance.

La production de chacun des deux isomères dépend de l'activité d'une lactate déshydrogénase (LDH) Spécifique: L(+)-LDH et D(-)-LDH.

La présence du mélange racémique chez *Lb.acidophilus* résulte de l'activité des deux LDH : La concentration relative des deux isomères variant avec l'activité relative des deux enzymes. selon la phase de croissance (LAWER et al.,1980; LEVEAU et BOUIX, 1993).

Figure 1 : Métabolisme. heterofermentaire du lactose et du galactose chez les bactéries lactiques(DEROISSART,1986).

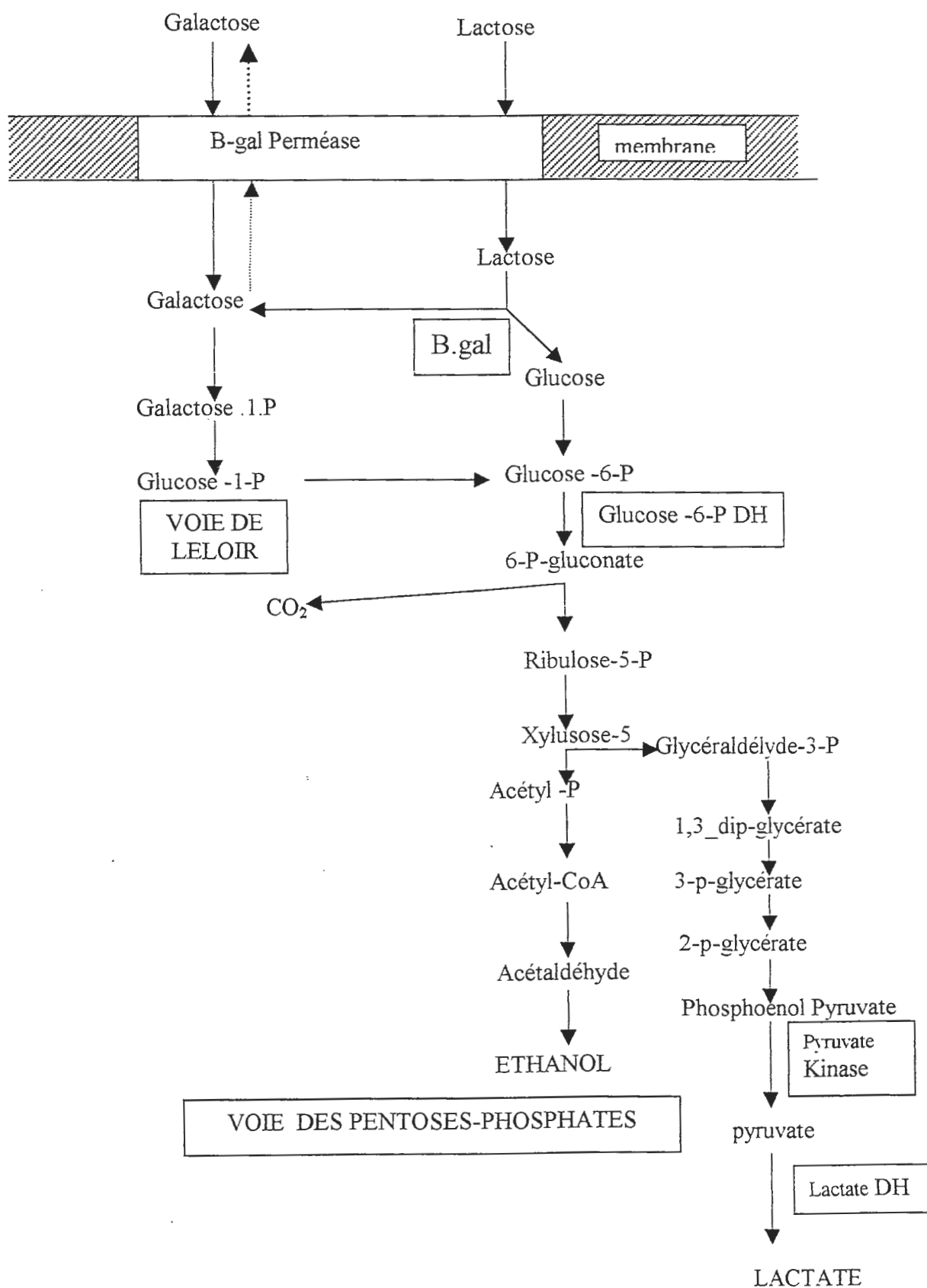
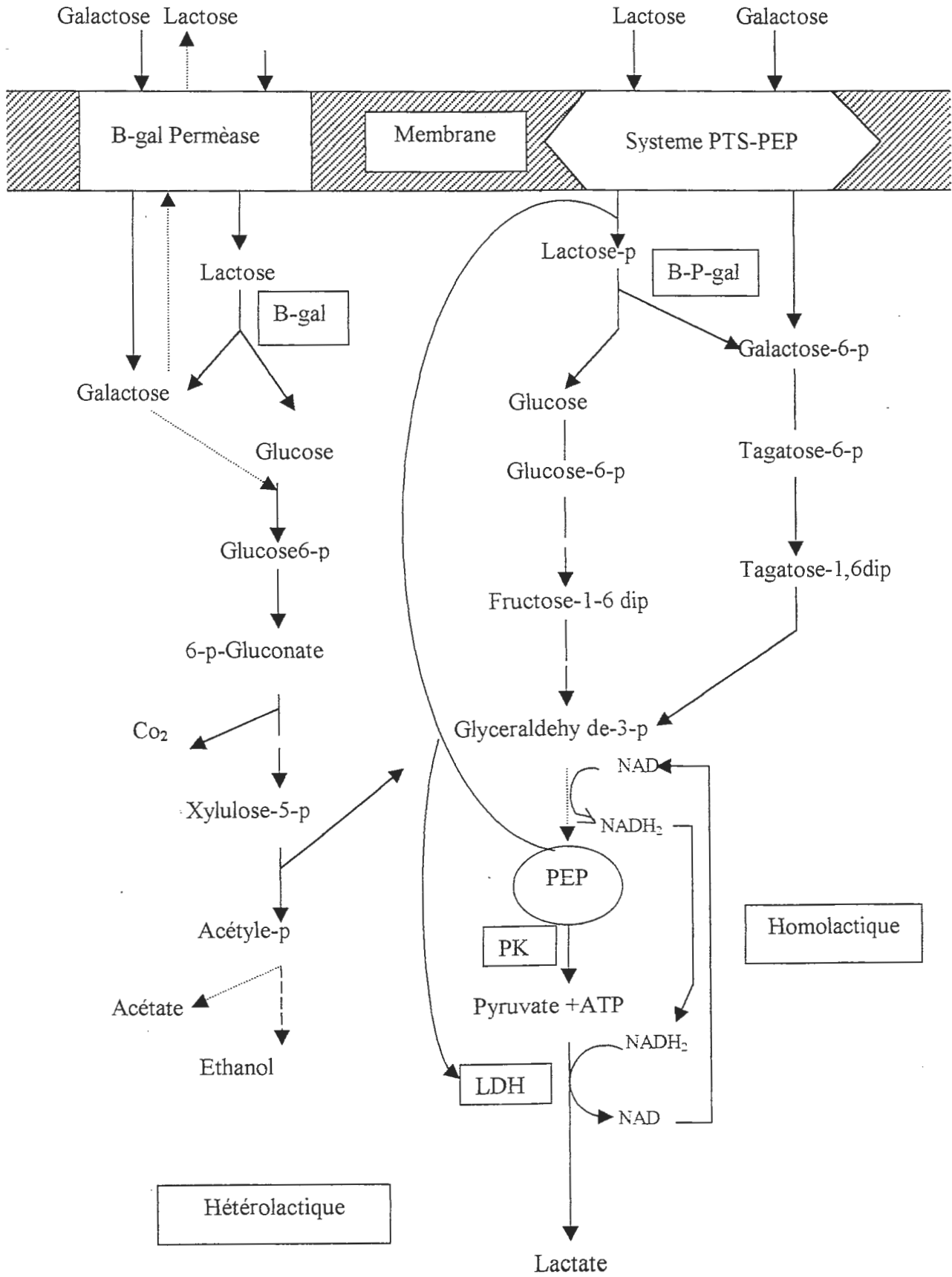


Figure 2 : Pénétration et métabolisme du lactose et du Glucose chez les bactéries lactiques (DEROISSART, 1986)



IV.1.2. Métabolisme du citrate et d'autres substrats carbonés :

Les bactéries lactiques, en dehors de leur pouvoir fondamental d'acidification et d'assainissement, sont aussi recherchées pour leur capacités aromatisante, les milieux naturels conduisant aux aliments renferment souvent de l'acide citrique, mais aussi, pour certains végétaux, de l'acide malique, tartrique ou du glycérol. l'acide citrique peut être utilisé par de nombreuses espèces des genres *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostac* et *Lactobacillus*.

Dans les produits laitiers fermentés, le co-métabolisme sucre fermenté cible/acide citrique est considéré comme le principal précurseur de l'arôme du beurre (le diacétyle). En œnologie, on attribue aussi la formation d'acétate, d'acétoïne et de diacétyle au catabolisme de l'acide citrique.

Par ailleurs, le pyruvate peut aussi être hydrolysé par la pyruvate formiate lyase en acétate et formiate chez les *Bifidobacterium*, *pediococcus halophilus*. Produit uniquement de l'acide formique et de l'acide acétique à partir du pyruvate. L'acide citrique est aussi métabolisé par cette voie par *Lactobacillus brevis*, *lactobacillus casei* et *lactobacillus plantarum*.

Un petit nombre de bactéries lactiques fermentent le glycérol. C'est le cas de *Pediococcus halophilus*, *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus helveticus* ou *Lactobacillus reuteri*. Ce dernier dégrade le glycérol en formant des quantités égales de triméthylène glycol et d'acide b-hydroxypropionique. Ce schéma métabolique, en présence d'une forte concentration de glycérol, peut conduire à la production d'une substance antimicrobienne, la reuterine, actuellement commercialisée pour lutter contre les bactéries pathogènes dans certains produits alimentaires (DESMAZEAUD, 1996).

IV.2. Utilisation des acides aminés :

Les bactéries lactiques exigent la fourniture exogène d'acides aminés pour leur croissance, car elles sont, en générale, incapables d'en effectuer la synthèse à partir d'une source azotée minérale simple. Ainsi, selon les matières premières

considérés, les bactéries lactiques ne satisferont qu'une partie de leur besoins par les acides animés libres (DESMAZEAUD,1996), les différent besoins sont représentés dans le Tableau suivant :

Tableau(5) :Exigences en acides animés des bacteries lactiques.
(HAMAMES,1996).

| | Acides Animés Exigés |
|---|---|
| Streptocoque du groupe N | Ils ont besoins au moins de Leu, Ile, Val, Met, Arg, His, Glu et pour certaines souches de Phe, Pro et Cys. |
| <u>St.thermophilus</u> | Les exigences portent essentiellement sur Glu, His, Cys, Met, Val, Leu et Tyr, les besoins en Glu et His sont les plus importants |
| <u>Lb.helveticus</u> et <u>Lb.salivarius</u> | Glu,Ala et Pro |
| <u>Lb.lactis</u> et <u>Lb.casei</u> | Ser,Thr |
| <u>Leuconostoc</u> | Il sont stimulés par Glu , Met ainsi que d'autre Acides Aminés variables selon l'espèce considérée |

IV.3. Utilisation des peptides :

L'utilisation des peptides libres du lait par les cellules des bactéries lactiques est une nécessité, puisque la concentration du lait en acide aminés libres ne peut assurer la croissance de ces bactéries. En marquant la fraction azotée non protéique du lait, MILLS et TOMAS (1981) ont montré que seuls les peptides de PM<1500 pouvaient servir de source d'acide amines chez Lactobacillus lactis subsp.Lactis :Ces Peptides sont en particulier une source de methionine. Des résultats analogues ont été obtenues chez Streptococcus thermophilus : les Peptides utilisés ont un PM de 1000 à 2500 (LEVEAU et BOUIX, 1993).

LAW en 1977 a montré que les streptocoques du groupe N sont capables d'utiliser des peptides pour leur croissance, mais cette capacité varie très largement d'une souche à une autre, en particulier chez *Streptococcus.Cremoris*, *Streptococcus.Lactis* utilise aussi les dipeptides, mais aucune inhibition compétitive entre eux n'est observée, ce qui souligne que chaque dipeptide est transporté par un « Porteur » spécifique ou hydrolysé au paravant. Nombreux sont les peptides qui stimulent la croissance et la production d'acide lactique par *Streptococcus thermophilus* cultivé dans du lait (HEMME et al.,1981 cité par HAMAMES, 1996).

IV.4. Exigences vitaminiques :

Les streptocoques thermophiles ont une exigence absolue en acide pantothénique et en riboflavine et a un moindre degré en thiamine, nicotinamide ou acide nicotinique et en biotine. La pyridoxine ou ses dérivés stimulent fortement leur croissance. les besoins vitaminiques des lactobacilles sont les suivants: toutes les espèces ont un besoin absolue en acide panthoténique et en niacine. La thiamine est toujours nécessaire pour la croissance des lactobacilles homofermentaires.

Certaines souches ont besoin de l'acide folique, riboflavine, pyridoxal phosphate, biotine et vitamine B12.

Les streptocoques du groupe N exigent un certaines nombre de vitamines en particulier, la niacine et l'acide pantothénique. La vitamine B6 est stimulante.

l'acide aminé L-alanine peut remplacer cette dernière chez certaines souches.

l'acide folique ou folinique, la thiamine et la vitamine B12 ne sont pas exigés.

En conclusion, le lait contient toutes les vitamines exigées par les bactéries lactiques, en général en concentration suffisante. Mais, des diminutions peuvent se produire selon la saison et le stade de la lactation, ce qui peut diminuer la vitesse

de croissance de levains (PETTER et MOLLER-MADSEN, 1963 cité par HAMAMES, 1996).

IV.5. Influence des minéraux sur le métabolisme :

Une revue récente fait le point sur l'importance des minéraux métalliques dans le métabolisme des bactéries lactiques.

Les exigences nutritionnelles de ces bactéries en minéraux sont mal connues soulignent la nécessité du Mn^{+2} et /ou du Fe^{+2} pour un bon milieu de croissance. La nécessité des ions dans le métabolisme s'explique d'abord par leur fonction de co-facteur pour de nombreuses enzymes. (LEVEAU et BOUIX, 1993).

V. Intérêt des bactéries lactiques en industries alimentaires :

La plupart des aliments fermentés font intervenir des bactéries lactiques soit en tant qu'agent principal de la fermentation, soit en tant qu'agent secondaire.

V.1. Produits laitiers :

Il s'agit du domaine d'application le plus courant des fermentations lactiques, du fait de la contamination fréquente des bactéries lactiques dans le lait et de leur capacité à utiliser le lactose. Les ferments lactiques naturels ou commerciaux interviennent dans l'élaboration de tous les produits laitiers fermentés (Tableau 6). (SUTRA *et al.*, 1998).

V.1.1. Lait fermenté :

Le lait cru laissé à la température ambiante coagule spontanément sous l'influence de la fermentation lactique; ce procédé ancestral de conservation du lait est utilisé actuellement pour obtenir toute une gamme de préparations, très répandues et appréciées pour leurs qualités organoleptiques. (LECLERC *et al.*, 1977).

A. Le Yoghourt ou Yaourt :

Le Yaourt est obtenu par fermentation du lait réalisé par deux espèces de bactéries lactiques : *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* et *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* (SUTRA et al., 1998).

TABLEAU (6) :Emploi des levains lactiques en industrie laitiere.

(HEMME et *al.*,1986).

| | | |
|-----|---|--|
| (1) | <p><u><i>Streptococcus. lactis</i></u> <u><i>Streptococcus.diacetylactis</i></u> <u><i>Streptococcus. cremoris</i></u> <u><i>Leuconostoc</i></u></p> | <p>fromage à patte pressé fromage à patte molle fromage à patte Persillé Feta,etc</p> |
| | <p><u><i>Streptococcus. cremoris</i></u> <u><i>Streptococcus.diacetylactis</i></u> <u><i>Leuconostoc.cremoris</i></u></p> | <p>Beurre Babeurre fermenté</p> |
| | <p><u><i>Streptococcus lactis</i></u> <u><i>Lactobacillus brevis</i></u> <u><i>Leuconostoc</i></u></p> | <p>Kéfir</p> |
| | <p><u><i>Streptococcus lactis</i></u> <u><i>Lactobacillus casei</i></u> <u><i>Stretobacillus cremonris</i></u></p> | <p>Lait Fermenté epaisi (Taetti) Lait Fermenté epaisi (yakult) Caseine acide.</p> |
| (2) | <p><u><i>Streptococcus thermophilus</i></u> <u><i>Lactobacillus bulgaricus</i></u></p> | <p>yaourt</p> |
| | <p><u><i>Streptococcus thermophilus, Lactobacillus helveticus</i></u> <u><i>Lactobacillus lactis,Lactobacillus bulgaricus</i></u></p> | <p>Fromage à patte cuite pressé, Grana</p> |
| (3) | <p><u><i>Lactobacillus acidophilus</i></u></p> | <p>Lait acidifié, Kéfir</p> |
| | <p><u><i>Brevibactérium linens</i></u></p> | <p>Fromage à patte molle, « morge »descontés et Gruyères</p> |
| | <p><u><i>Propionibactérium</i></u></p> | <p>Fromage à patte cuite presse (ouverture)</p> |

(1)Emploi des levains lactiques mésophiles en industrie laitière.

(2)Emploi des levains lactiques thermophiles en industrie laitière

(3)Emploi des levains d'affinage.

Les bases scientifiques et technologiques de la fabrication du yaourt ont fait l'objet d'un ouvrage exhaustif. Le yaourt est à la fois le lait fermenté le plus consommé et le mieux connu, ce qui légitime qu'il soit traité à part (TAMIME et ROBINSON,1985 Cité Par BOURGEOIS et LARPENT,1988).

B. Le Kéfir et Koumiss :

Le Kéfir et le koumiss sont des laits fermentés, mousseux et alcoolisés, d'origine balkanique (LECLERC et al.,1977). Il sont fabriqués à partir du lait de différentes espèces animales (Vache, Chèvre, Chammelle) fermenté par une flore complexe associant levures et bactéries lactiques telles que *Lactobacillus brevis*, *Lactococcus lactis* et *Leuconostoc* (SUTRA et al.,1998).

V.1.2. Beurre et Crème :

Le goût particulier du beurre ou goût de noisette est dû a la fermentation de la crème. Le ferment du beurre est composé de souches acidifiantes et aromatisantes. Dans une première étape ,le phénomène dominant est la production d'acide lactique par *Streptococcus lactis* et *Streptococcus cremoris* ; L'acidification provoque le surissement de la crème nécessaire à la bonne séparation de la matière grasse et du petit lait. Ensuite les composants aromatiques sont formés par *Streptococcus diacetylactis* et *Leuconostoc citrovorum* ; ils sont essentiellement composés de diacétyle provenant de l'oxydation de l'acétoïne produite par les micro-organismes.(LECLERC et al.,1977).

V.1.3. Fromage :

Les levains mésophiles constitués de *Lactococcus* et *Leuconostoc* participent à la fabrication des fromages frais, fromage à pâte molle, persillée ou pressée. Les sous-espèces *lactis* et *cremoris* de *Lactococcus lactis* sont utilisées pour leurs propriétés acidifiantes. Les sous espèces *lactis biovar diacetylactis* et plusieurs espèces de *leuconostoc* sont des souches aromatisantes que l'on retrouve dans tous les types de fromage.

Les Levains thermophiles associant. *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus helveticus* et *Lactobacillus delbrueckii* appartiennent à la flore des fromages à patte cuite (emmental, gruyère). TABLEAU (7). (SUTRA et al,1998).

TABLEAU(7) :Principales bactéries lactiques associées aux produits laitiers fermentés et leurs rôles (SUTRA et al.,1998)

| | | |
|---|--|--|
| Laits fermentés | Yaourt | <u><i>Lb.debrueckii Subsp.bulgaricus</i></u> , <u><i>St thermophilus</i></u> ⁽¹⁾ |
| | | Acidification/texture/arôme (acetaldehyde) |
| | Enrichis en bactéries | Idem yaourt+ <u><i>Lb.acidophilus</i></u> , <u><i>bifédobactérium</i></u> ou <u><i>Lb.casei</i></u> ⁽¹⁾ |
| | | Rôle nutritionnel |
| Kéfir, Koumiss | <u><i>Lb.brevis</i></u> , <u><i>Leuconostoc</i></u> , <u><i>Lc lactis</i></u> ⁽²⁾ | |
| | Acidification /texture/Arômes | |
| Lait ribot butter milk | <u><i>Lactococcus</i></u> , <u><i>Leuconostoc</i></u> ⁽¹⁾ | |
| | Texture/ Arômes | |
| Beurre et crème | <u><i>Lc.lactis biovar.diacetylactis</i></u> ⁽¹⁾ | |
| | Arômes (diacetylé) | |
| Fromage (5) | Frois ou à patte molle | <u><i>Lc.lactis subsp.cremoris</i></u> , <u><i>lactis</i></u> , <u><i>diacetylactis</i></u> ⁽¹⁾ |
| | | Acidification : formation du caillé. |
| | A patte Persillé | <u><i>Leuconostoc</i></u> ⁽²⁾ |
| | | Formation d'ouverture facilitant la croissance de <u><i>penicilium</i></u> |
| A patte Pressé | <u><i>Lactobacillus</i></u> , <u><i>Lactococcus</i></u> ⁽²⁾ | |
| | Arôme au cours de la maturation | |
| A patte pressé cuite (gruyère,emmental) | <u><i>St.thermophilus</i></u> , <u><i>Lb.helveticus</i></u> , <u><i>Lb delbrueckii subsp.lactis</i></u> ⁽¹⁾ | |
| | Acidification : production d'acide lactique utilisé par les bactéries propionique /proteolyse | |

(1) :Ferments ajoutés - (2) Flore naturelle

V.2. Panification :

Les levains de Panification sont Constituées d'une flore sauvage issue de la farine. Elle comprend des levures qui assurent la fermentation mais également une flore bactérienne variée au sein de la quelle les bactéries lactiques sont largement représentées les Lactobacillus sont majoritaires, avec les espèces Plantarum brevis, casei ou sanfrancisco.(SUTRA et al.,1998).

V.3. Produits carnés :

Les bactéries lactiques ajoutées sont des Lactobacillus, avec trois espèces principales :Lactobacillus sake, Lactobacillus curvatus et Lactobacillus plantarum. des Pediococcus.damnokus, Pentosaceus et acidilactici interviennent également.

Ces bactéries interviennent comme agents de fermentation dans les préparations des viandes salées, épicées et ne subissant aucun traitement thermique, d'assainissement comme les saucissons. (SUTRA et al .,1998)

V.4. Produits végétaux :

La fermentation lactique des végétaux (choux, manioc, concombres, olives, Betteraves rouges, Carottes, Navets, Haricots verts, Céleris, Tomates vertes), est une technique largement utilisée dans les pays ne bénéficiant pas d'une structure industrielles (DESMAZEAUD,1996). Les bactéries lactiques interviennent dans la préparation des produits végétaux fermentés sont: Leuconostoc mesenteroides Lactobacillus plantarum et Lactobacillus brevis.

Ces bactéries se trouve naturellement présentes à la surface des feuilles de chou. D'autre préparation a base de fruits ou légume salés (Olives, Concombres) font intervenir une fermentation lactique spontanée réalisé par la flore naturelle, ou l'on retrouve d'autre espèces ainsi que des Pédiococcus (SUTRA et al.,1998).

Le cas de yogourt ou Yaourt :

Le Yogourt ou yaourt d'origine bulgare (LECLERC et al.,1977). Constitue un bon exemple de produit de grand consommation qui a connu un ésort industriel sans précédent au cours des trois derniers décennies, dans tout les pays du monde.

Cette fermentation lactiques est due essentiellement à la culture associée de deux espèces *Streptococcus salivarius subsp.thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* (DESMAZEAUD,1996). Dont la quantité respective doit atteindre 10⁷ cellules par gramme de produit en fin de fabrication.

Les levains sont en général constitués de plusieurs souches de ces deux espèces, sélectionnées pour leur propriétés technologiques. (SUTRA et al.,1998).

La maîtrise de la croissance et des métabolismes de cette culture mixte que constitue le Yaourt n'est pas sans poser différents problèmes de régularités des qualités finales des produits, car des interactions (stimulation ou inhibition) entre les deux espèces perturbent la stabilité des équilibres bactériens (DESMAZEAUD,1996). A ces ferments du yaourt sont parfois ajoutées d'autres bactéries lactiques d'origine intestinale comme les *Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus* ou *Lactobacillus casei* qui ne participent pas à la fermentation (SUTRA et al.,1998). Le Yaourt peut être fabriqué à des températures comprises entre 30 et 45C°, avec des taux d'inoculation compris entre 0,5 et 5%. Dans la pratique actuelle, en France et nombreux autres pays, La température d'incubation est entre 42 et 45C° et le taux d'ensemencement de 2%, ce qui conduit à une durée de fermentation de 2 h 30 à 3h.. Il est a noter que la température optimale de croissance est voisine de 40C° pour le streptocoque et de 45C° pour le lactobacille (RADKE et al., 1986 cité par BOURGEOÏS et LARPENT,1988).

1. Acidification :

Le rôle primaire fondamentale des bactéries lactiques et d'acidifier plus ou moins le lait selon le produit recherché. (MARTINET et MARIEHOUEBINE, 1993).

La dégradation du lactose, sucre de lait, est le fait marquant de la transformation du lait en yaourt. *Streptococcus salivarius subsp.thermophilus* conduit à l'acide lactique de forme L(+) tandis que *Lactobacillus bulgaricus* conduit à l'acide lactique D(-). Comme ces bactéries métabolisent plutôt la moitié

glucose du lactose que le galactose, ce dernier est rejeté hors de la cellule et s'accumule dans le yaourt. Le PH atteint variant entre 4,35 et 4,50 , le complexe calcium-caséines- phosphate est déstabiliser, car les caséines sont proches de leur points iso-électrique (PH :4,6), ce qui entraîne la prise en masse du produit et la formation d'un coagulum assez fragile. (DESMAZEAUD, 1996)

Le PH acide évite de plus le développement de microorganisme de contamination ou entraîne une réduction de leur nombre. (MARTINET et MARIEHOUEBINE, 1993).

2. Production d'arôme :

En plus de l'acide lactique et de l'acide formique il y a production d'acide acétique, d'alcool éthylique de diacétyle et d'acétaldéhyde qui sont responsables de l'arôme Caractéristique du yoghourt (KONDRATENKO et GUIOCHEVA, 1978 cité par HAMAMES, 1996). On attribue classiquement un rôle de premier plan à l'acétaldéhyde dans la perception de l'arôme du yaourt, encore qu'un certains nombre d'autres produits aromatiques figurent parmi les nombreux composés volatils que révèlent les techniques d'analyse fine. Un rapport acétaldéhyde/acétone voisine de 2,8 est par exemple, considéré comme optimum.

La voie importante de production d'acétaldéhyde par les bactéries thermophiles du yaourt ne provient pas du métabolisme du lactose, mais passer par la dégradation de la thréonine par une thréonine-aldolase, les Produits de la réaction étant l'acétaldéhyde et la glycine.

Selon les conditions de culture, on attribue une activité thréonine-aldolase plus importante aux lactobacilles qu'aux streptocoques. (DESMAZEAUD, 1996).

Une culture mixte des deux espèces produit plus d'acétylaldehyde qu'une culture pure. Cela est conforme aux résultats de KHANNA et SINGH en (1979) qui ont montré que la quantité de l'acétaldéhyde atteint 25,50 PPM après 10 heures d'incubation sur lait par une culture mixte de *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*, Par contre, celle ci est respectivement de l'ordre de 6,50 et 15,5 ppm pour les cultures pures. (HAMAMES, 1996)

3. La Texture :

L'étape fermentaire a lieu soit dans le récipient destinée à la commercialisation (Yaourt ferme), Soit dans un tank (yaourt brassé) (BOURGEOÏS et LARPENT, 1988), Pour la fabrication des Yaourts brassés, on constate que l'onctuosité du produit pourrait être améliorée en utilisant des souches particulières, produisant un épaissement du lait supérieur à celui obtenu par la simple prise en gel du lait sous l'effet de l'acidification .

Ces souches épaississantes sont intéressantes car elle augmentent la viscosité du l'onctuosité du produit. En améliorant sa texture, elles évitent ainsi ,Au cours des différentes étapes de fabrication du Yaourt brassé et de son stockage, qu'une séparation du sérum et des caséines coagulées ne se produise.

Comme elles augmentent l'onctuosité du produit, elles diminuent les quantités de groupes de lait additionné, ce qui permet de réaliser des économies appréciables au niveau industriel et de structurer les produits par une méthode naturelle car, dans la plupart des pays, l'utilisation d'agents texturants exogènes est interdite dans les yaourts actuellement, il est démontré que des polysaccharides interviennent dans la création de la viscosité chez Lactobacillus, les filaments de polysaccharides lient les cellules les unes aux autres, structurant la micro-colonie .

Il connectent aussi les cellules bactériennes qui les produisent à la matrice du yaourt constitué des caséines précipitées par l'acidification (DESMAZEAUD,1996).

VI. Les rôles bénéfiques des bactérie lactiques sur la santé humaine :

C'est vraisemblablement ELI METCHNIKOFF qui est le premier vers 1908, a suggéré d'utiliser les laits fermentés contenant une souche de Lactobacilles, capables de vivre dans le tractus intestinal, comme composants d'une alimentation utile à la santé humaine, pour que les bactéries lactiques puissent avoir un rôle bénéfique sur la santé humaine, il faut qu'elles gardent une certaine activité, voire une viabilité lors du transit intestinal. Ainsi, les bactéries elles même ou les enzymes doivent pouvoir passer sans dommage irréversible la barrière acide de l'estomac , puis l'effet inhibiteur éventuel des sels biliaires. Aussi , de nombreux

auteurs se sont intéressés, d'une part, à l'influence d'une alimentation à base de produits riches en cultures de micro-organismes sur l'écologie de tube digestif et, d'autre part, à l'influence sur la santé d'une alimentation avec des produits laitiers contenant des cultures de micro-organismes. Actuellement, ce sont les Yaourts et ses ferments vivants (*Streptococcus salivarius subsp.thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii subsp.bulgaricus*) et les laits fermentés contenant des bifidobactéries et *Lactobacillus acidophilus* ou *Lactobacillus casei* qui ont fait l'objet des recherches les plus approfondies. Les rôles bénéfiques des bactéries lactiques sur la santé humaine sont les suivants:

- **Effet sur le transit et sur la flore intestinale :**

Souvent, les laits acidifiés ou le yaourt sont utilisés pour lutter contre les diarrhées, notamment chez les jeunes enfants, en particulier ceux qui seraient, de plus, mal nourris. L'ingestion de ferments lactiques peut contrer les effets d'une prolifération de certaines souches pathogènes d'*Escherichia coli* par divers mécanismes : - production de substances (H_2O_2 , acide lactique et acétique) directement inhibitrices de *Escherichia coli* ; - abaissement du PH par les acides produits ; -détoxication par dégradation des entérotoxines ;

- prévention de la synthèse d'amines toxiques ;
- fixation sur le tube digestif empêchant la colonisation de pathogènes, on effect barrière par compétition métabolique s'il n'y a pas d'attachement.

Lactobacillus bulgaricus ne s'implante pas dans le tube digestif et y survit difficilement à cause de sa faible tolérance aux sels biliaires. En revanche, *Streptococcus salivarius subsp.thermophilus*, et surtout *Lactobacillus acidophilus*, survient beaucoup mieux dans l'intestin. (DESMAZEAUD, 1996).

Certaines souches de lactobacilles produisent des substances polypeptidiques toxiques pour d'autres espèces bactériennes. On en connaît déjà une assez longue série: lactacine F(*Lactobacillus acidophilus*), helveticine(*Lactobacillus helveticus*), lactocine S(*Lactobacillus sake*), chez les lactocoques, c'est la nisine (produite par certaines souches de *Lactococcus lactis subsp.lactis*) qui est la bactériocine la

mieux décrite. Elle présente la caractéristique d'inhiber, en plus des bactéries lactiques, différentes bactéries à Gram positif, notamment des *Clostridium*, et des *Bacillus*. Un renouveau d'intérêt pour cette bactériocine est apparu ces dernières années car il a été démontré qu'elle pouvait également inhiber différentes souches de *Listeria monocytogenes*. Un autre aspect intéressant est l'effet des bactéries lactiques sur le métabolisme de la flore intestinale normale. Elles peuvent abaisser les quantités de certaines enzymes (β -glucuronidase, azoréductase ou nitroréductase) formées par cette flore. La réduction des activités de ces trois enzymes de la flore intestinale est intéressante, car elles sont associées à la formation de carcinogènes. Des souches *Bifidobacterium bifidum* possèdent aussi des capacités d'inhibition de la flore pathogène comme *Clostridium difficile*. (DESMAZEAUD, 1996).

Amélioration de l'intolérance au lactose :

L'apparition de symptômes digestifs après ingestion de lait peut être liée au lactose, notamment par l'incapacité de digérer par manque de lactase de la perte muqueuse intestinale.

Chez les adultes, les symptômes digestifs d'intolérance au lactose sont principalement des douleurs abdominales, crampes, flatulences (émission de gaz par l'anus), chez le jeune enfant, l'importance clinique de l'intolérance au lactose est plus grande, avec diarrhées acides et selles contenant des sucres réducteurs. Il a été clairement démontré que le yaourt permet l'absorption du lactose chez les sujets déficients en lactase et qu'il améliore les symptômes digestifs d'intolérance au lactose. Il faut noter que ce effets bénéfiques disparaissent lorsque le yaourt à subi un traitement thermique. Ceci signifie que l'action favorable n'existe que si les bactéries sont vivantes et leurs lactase (β -galactosidase) active. (DES MAZEAUD, 1996).

Effet sur la réponse immunitaire :

Différents travaux suggèrent que l'administration de la flore lactique vivante est susceptible de modifier la réponse immunitaire chez les animaux

conventionnelles et chez l'homme .cette action interviendrait en stimulant, a plusieurs niveaux, la défense antibactérienne de l'organisme, il été remarque que la consommation de yaourt stimule la capacité des lymphocytes circulants de sécréter de l'interféron G.

L'ingestion de *Lactobacillus casei* GG diminue la durée des diarrhées aiguës à rotavirus chez les nourrissons. la réponse immunitaire non spécifique (cellules monocytaires) est augmentée et plus d'enfants développent une réponse anticorps active contre le rotavirus. Par ailleurs la consommation de lait acidifié par *Lactobacillus acidophilus* stimule la capacité phagocytaire des leucocytes circulants (anti-*Escherichia coli*). Il a aussi été constaté que *Lactobacillus acidophilus* associé à des bifidobacteries entraine une augmentation de la réponse anticorps vis-à-vis du vaccin oral atténué contre *Salmonella typhityphi 21 a* de plus l'absorption des bactéries lactiques pourrait aussi stimuler les défenses situées au niveau du tube digestif (système lymphoïde du tractus digestif) (DESMAZEAUD, 1996).

Rôle anti-tumeurs :

Différents travaux attestent maintenant des propriétés anti- tumeurs spécifiques des lactobacilles ou des aliments fermentés par ceux-ci, et des relations existent entre les problèmes de nutrition et les cancers. Plusieurs facteurs ont été suggérés qui peuvent contribuer à expliquer les propriétés antitumeurs des produits fermentés :

- Inactivation ou inhibition de la formation des composés carcinogènes dans le tractus gastro intestinal ; - suppression de l'apparition de cancer grâce à la stimulation ou à l'augmentation de la réponse immunitaire de l'hôte ; diminution de l'activité des enzymes des bactéries fécales (β -glucoronidase, azoréductase, nitroréductose) qui peuvent activer les composés carcinogènes en convertissant les procarcinogènes en carcinogènes. (DESMAZEAUD, 1996).

Influence sur l'absorption du calcium des minéraux :

Le lait fermenté par les levains du yaourt, est une excellente alternative du lait chez les individus présentant une intolérance au lactose. En effet, la réduction de la teneur en lactose, qui fait suite à la fermentation lactique, ne provoque pas de réduction de l'absorption des minéraux. ces derniers contenus dans un lait fermenté par les bactéries lactiques sont pratiquement aussi disponibles que ceux contenus dans le lait. Les effets étudiés chez l'homme sont beaucoup plus contradictoires: on peut noter une amélioration de l'absorption des minéraux lors d'un régime complété par le yaourt ou, au contraire, aucune variation d'absorption de calcium. Les problèmes d'interprétation chez l'homme viennent du fait que l'alimentation couvre, en générale, tous les besoins calciques et qu'il devient alors difficile d'évaluer l'absorption d'un calcium excédentaire (DESMAZEAUD, 1996).

2ème Partie

Matériel & Méthodes

I. Matériels :

Notre travail à été réalisé au niveau de laboratoire de microbiologie du centre universitaire de JIJEL :

Les Appareilles utilisées tout le long de notre travail sont :

- Agitateur magnétique (HEIDOLPHMR.3001)
- Autoclave (Pbi international-Sérial N°=23543 Mod B2).
- Bain marie (GERHAROT)
- Balance analytique (KERN)
- Etuve (MEMMERT).
- Etuve pour Stérilisation de vérierie (controls)
- Microscope optique : (model CHK2-FGS olympus optical Co., LTD)
- PH mètre (Bioblock Scientific.93517)
- Réfrigérateur (ENIEM) pour la conservation.

II. Méthodes :

II.1. Technique d'isolement et de mesure du pouvoir acidifiant :

II.1.1 :Echantillonnage et technique de prélèvement

Nos essais ont porté sur 3 échantillons de yaourt :

* Une boîte de yaourt Djurdjura acheté du marché Le: 2 Mai 2001. Avec les caractéristiques suivantes :

- Arôme :Banane
- Composition: lait entier, Sucre ,ferments lactiques.
- Le poids :125g
- Date de péremption: le 12 Mai.
- SARL Laiterie Djurdjura. Z.I.TAHARACHT-06200 AKBOU.

* Une boîte de yaourt préparé (Le 22 Mai 2001), dans notre laboratoire par le levain lyophilisé suivant :

yc-X₁₁

yo- Flex

Freeze-dried lactic culture for direct vat set (DVS).

Thermophilic lactic culture type yaourt. Package Size:504. Lot n°:216 2803

Stockage:-18C° CHRHANSEN

* Une boîte de yaourt Blida acheté du marché le (26 Mai,2001)avec les caractéristiques suivantes :

- Arôme: Fraise
- Composition :lait reconstitué partiellement écrémé, sucre, arôme et ferments lactiques
- Date de péremption (2 juin.2001)
- Zone industrielle Blida.

II.1.2. Méthodologie d'isolement

Une fois au laboratoire, l'échantillon du yaourt est mis au réfrigérateur avant de subir les différents étapes de l'analyse.

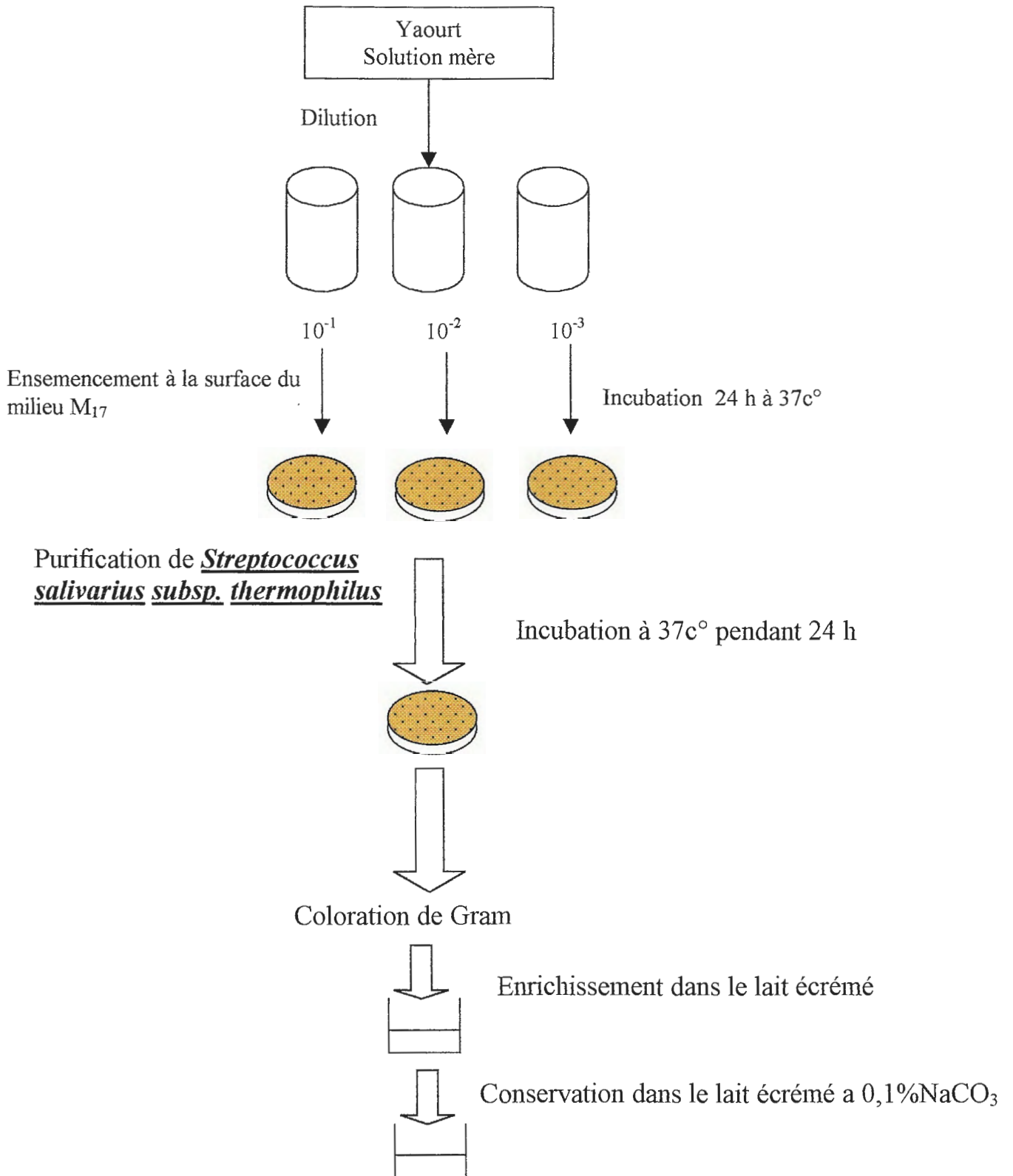


Fig 3 :Méthode d'isolement et de purification de *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*

a) Milieux de cultures :

Le milieu de culture utilisé au cours de l'isolement et la purification des souches, dont la composition se trouve en annexe, sont :

- Milieu M₁₇(TERZAGHI et SANDINE, 1975): Milieu d'isolement des streptocoques lactiques.
- Lait écrémé: milieu pour enrichissement, constitué à 10% (P/V) par un lait écrémé (lait écrémé en poudre Spray).

b) Technique d'isolement, d'enrichissement, de purification et de conservation :

Les boîtes de Pétri, contenant le milieu de culture M₁₇ préalablement coulées et séchées, sont ensemencées à partir des dilutions préparées et placées à l'étuve à 37C°. Ces boîtes sont lues après 24h d'incubation. Pour chaque échantillon de lait, l'observation des colonies est réalisé simultanément pour tous les dilutions. Les colonies présentant la morphologie et la pigmentation, proche de celle de *Streptococcus salivarius subsp.thermophilus* sont prélevés et repiquées une fois puis enrichies dans le lait écrémé . Le milieu d'enrichissement est examiner après 24h a 48h d'incubation par une coloration de Gram.Les souches pures Gram (+) sont conservées par la méthode de LATE et MUMDT en 1986 par réfrigération dans le lait écrémé contient 0,1→0,5% de NaCO₃.

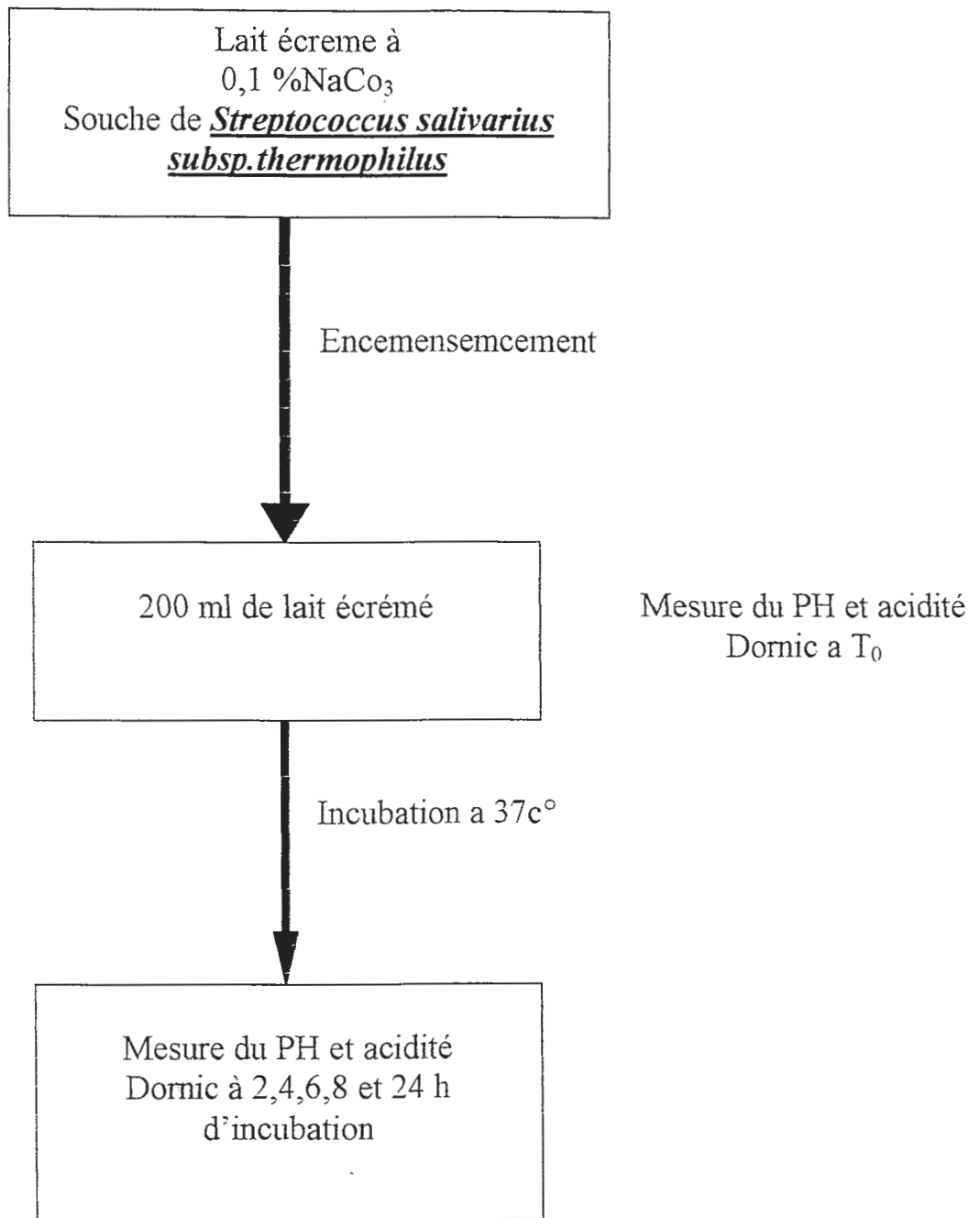
II.1.3_Méthodes de mesure des pouvoir acidifiant :

Trois lots de 200 ml de lait de référence reconstituée (lait écrémé en poudre Spray) à 10% (P/V) dans de l'eau et stérilisé à 120 C° pendant 10 minutes. Ils sont tous inoculés à 1% (V/V) à partir de la souche pure dans le lait écrémé, l'incubation s'effectue à la température constante de 37C° dans l'étuve.

L'activité acidifiante est évaluée en mesurant le PH du milieu ensemencé sur des aliquots de 10 ml prélevés stérilement à 2 h, 4h, 6h, 8h et 24h d'incubation à l'aide d'un pH mètre (Bioblock Scientific.935 17).

L'évaluation de l'acidification est également suivie par mesure de l'acidité Dornic (1 degré Dornic est équivalent à 0,1 d'acide lactique par Kg de produit

fermenté). Cette mesure est effectuée selon la méthode décrite par ACCOLAS et al.,1977. L'échantillon prélevé précédemment est placé dans un becher de 100 ml en présence de 0,1 ml de phénolphthaléine à 1% dans l'alcool à 90°, la soude N/9 préparé par la méthode décrite en (annexe) est ajouté à l'aide d'une burette jusqu'au virage au rose de l'échantillon. Pour obtenir l'acidité réellement produite (acidité acquise), l'acidité titrable à T_0 (juste avant incubation) et soustraite aux valeurs de l'acidité, mesurées au cours de la croissance.(Fig .4)



Fig(4) :Méthode de mesure de pouvoir acidifiant

3ème Partie

Résultat & Discussion

I. Résultats :

I.1. Résultat d'isolement :

Au cours d'isolement 3 souches de *Streptococcus salivarius subsp thermophilus* ont été isolées.

I.1.1. Aspect des colonies isolées :

Les colonies isolées sur milieu M17 sont rondes lenticulaires, à contours réguliers, laiteuses, de coloration blanche crème et de petite taille.

I.1.2. Résultats de l'examen microscopique :

Une observation au microscope optique après coloration de Gram montre que les 3 souches sont présentées en cocci isolés, en diplocoques et en chaînettes plus ou moins longues, en forment des amas de cellules en paires ou en chaînettes.

I.2. Résultat de mesure de pouvoir acidifiant :

Les résultats de mesure du PH et de l'acidité Dornic effectués pour les 3 souches de *Streptococcus salivarius subsp thermophilus* sont données dans le tableau (8).

Tableau 8 : Résultats de mesure du PH et de l'acidité Dornic des cultures des souches de *streptococcus salivarius subsp.thermophilus* isolées des trois échantillons de yaourts.

| Temps (h) | 0 | | 2 | | 4 | | 6 | | 8 | | 24 | |
|---|------|----|------|----|------|----|------|----|------|----|------|----|
| | PH | D° | PH | D° | PH | D° | PH | D° | PH | D° | PH | D° |
| Streptococcus salivarius subsp thermophilus (yaourt BEJAIA ST1) | 6,96 | 28 | 5,57 | 31 | 5,32 | 33 | 5,23 | 47 | 4,24 | 57 | 4,20 | 86 |
| Streptococcus salivarius subsp thermophilus (yaourt BLIDA ST2) | 6,62 | 25 | 6,44 | 27 | 6,35 | 29 | 6,05 | 37 | 5,27 | 50 | 4,19 | 67 |
| Streptococcus salivarius subsp thermophilus (yaourt préparé dans notre laboratoire ST3) | 6,64 | 26 | 6,44 | 30 | 6,21 | 31 | 5,33 | 48 | 4,73 | 65 | 3,73 | 92 |

Pour mieux présenter nos résultats on à juger utile de calculer la variation du PH entre (0 et 2 h), (2h et 4h) , (6h , 8h) et (8h, 24h) d'incubation et la quantité d'acide lactique en pourcentage aux même périodes. Ces résultats sont présentées dans le tableau (9). Ces derniers ont servi à établir des courbes de l'évaluation de l'acidité et la variation du PH.

Tableau 9 : variation du PH des cultures des souches de *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* cultivées sur lait.

| | Δ PH (0-2) | Δ PH (2-4) | Δ PH (4-6) | Δ PH (6-8) | Δ PH (8-24) |
|-----|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|
| St1 | 1,39 | 1,64 | 1,73 | 2,72 | 2,76 |
| St2 | 0,18 | 0,27 | 0,57 | 1,35 | 2,43 |
| St3 | 0,2 | 0,43 | 1,31 | 1,91 | 2,92 |

Tableau 10: quantités d'acides lactique produites par les cultures des souches de *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* cultivées sur lait

| Acidité (%d'acide lactique) Souches | AC (0-2) | AC (2-4) | AC (4-6) | AC (6-8) | AC (8-24) |
|--|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| | St1 | 0,3 | 0,5 | 1,9 | 2,9 |
| St2 | 0,2 | 0,4 | 1,2 | 2,5 | 4,2 |
| St3 | 0,4 | 0,5 | 2,2 | 3,9 | 6,6 |

D'après les tableaux 8,9,10 et les figures 5 et 6 ont remarque que :

- Pendant l'intervalle (0-2h) la St1 présente un Δ PH égale à 1,39. Par contre St2 et St3 montre des Δ PH égale 0,18 et 0,2 respectivement. Les quantités d'acide produites par St1, St2 et St3 sont de l'ordre de 0,3% , 0,2% et 0,4% d'acide lactique respectivement. On remarque aussi que St1, malgré qu'elle

présente le ΔPH le plus élevé elle ne produit que 0,3% d'acide lactique contrairement à St3 qui ne montre qu'un ΔPH de 0,2 mais une acidité plus élevée de l'ordre de 0,4% d'acide lactique.

- Pendant l'intervalle (2h-4h) les trois souches St1, St2 et St3 montrent des variations du ΔPH de 0,5 ; 0,4 et 0,5 respectivement. La remarque qu'on peut tirer est la même que la précédente. En effet St1 et St2 produisent des quantités identiques d'acide lactique mais des variations de PH différentes 1,64 et 0,27 respectivement.
- Pendant l'intervalle (4h-6h) ; la St2 est toujours la moins acidifiante par 1,2% d'acide lactique et une variation du PH de 0,57. Par contre, St1 et St3 montrent des ΔPH de l'ordre 1,73 et 1,31 respectivement et des quantités d'acide lactique de 1,9 et 2,2 %.
- Pendant l'intervalle (6h-8h) on remarque que St2 est la moins acidifiante par un ΔPH égale 1,37 et une acidité de 2,5. la souche la plus acidifiante est remarquablement St3 avec un ΔPH de 1,91 et une acidité de 3,9%.
- Pendant l'intervalle (8h-24h). La St3 est toujours la plus acidifiante par un ΔPH de 2,92 et une acidité de 6,6% d'acide lactique. La St1 et St2 ne présente que des ΔPH de l'ordre de 2,76 et 2,43 et des acidités qui atteignent 5,8 % et 4,2 % d'acide lactique respectivement.

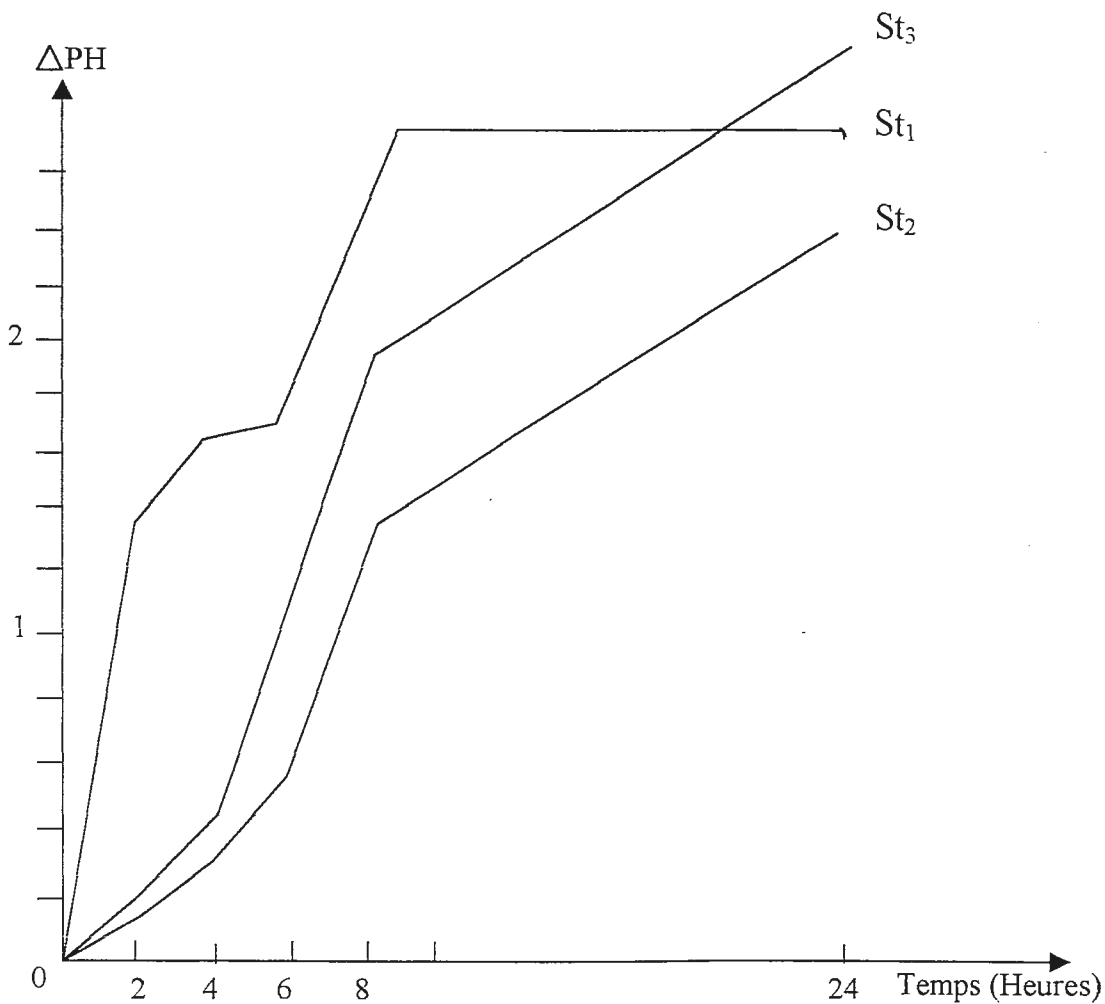
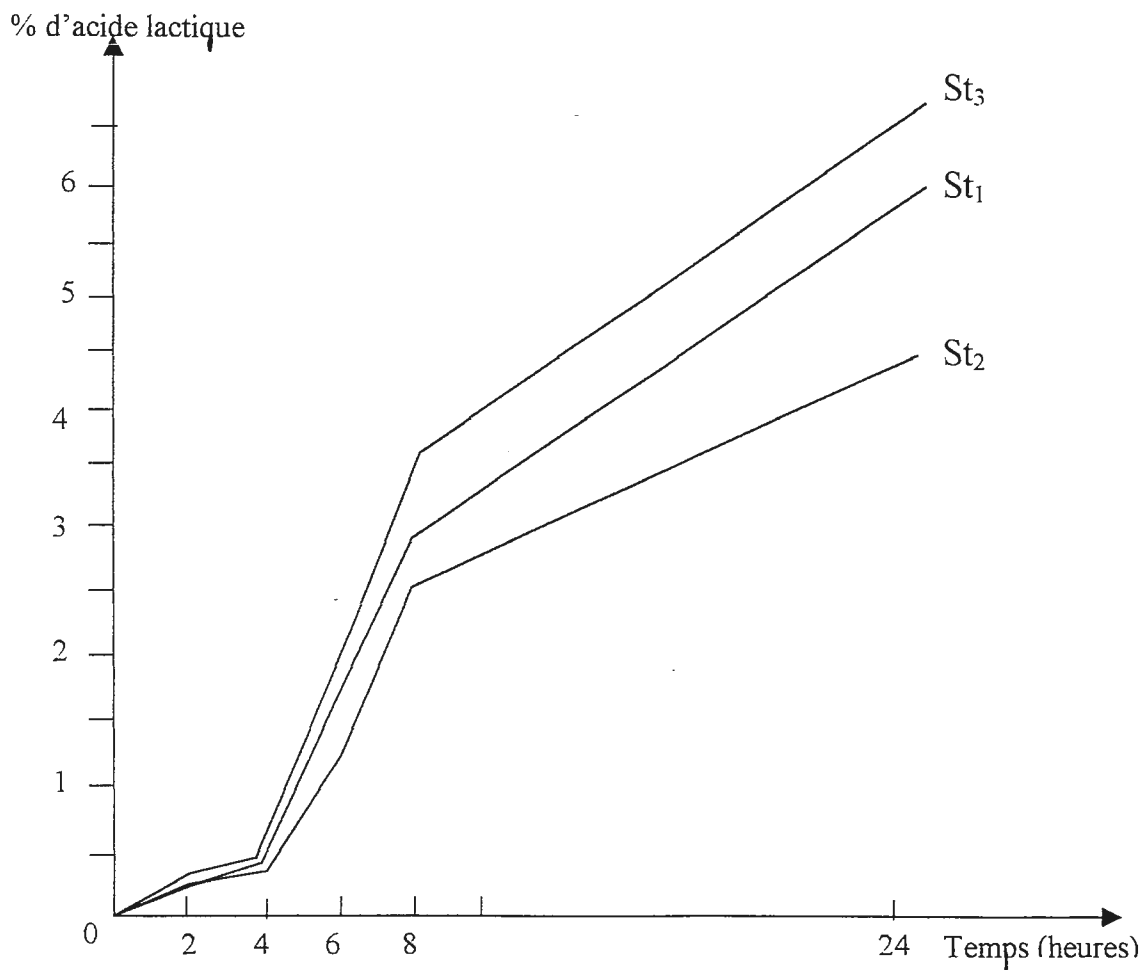


Fig (5) : Acidification produite par les souches de *Streptococcus salivarius subsp.thermophilus* incubés dans le lait écrémé à 37°C.

St₁ : Souches de *Streptococcus salivarius subsp.thermophilus* isolées du yaourt de BEDJAIA.

St₂ : Souches de *Streptococcus salivarius subsp.thermophilus* isolées du yaourt de BLIDA.

St₃ : Souches de *Streptococcus salivarius subsp.thermophilus* isolées du yaourt préparé dans notre laboratoire.



Fig(6) : Production d'acide lactique par les souches de *Streptococcus salivarius subsp.thermophilus* incubés dans le lait écrémé à 37°C.

St₁ : Souches de *Streptococcus salivarius subsp.thermophilus* isolées du yaourt de BEDJAIA.

St₂ : Souches de *Streptococcus salivarius subsp.thermophilus* isolées du yaourt de BLIDA.

St₃ : Souches de *Streptococcus salivarius subsp.thermophilus* isolées du yaourt préparé dans notre laboratoire.

II – Discussion :

L'activité acidifiante est un important critère de sélection des bactéries lactiques (ACCOLAS et al., 1980, CHAMBA et PROST, 1989). Ce critère peut être influencé par plusieurs facteurs. D'après ZOURARI et al., (1991), les valeurs de l'activité titrable acquises sont utilisées le plus souvent à l'évaluation des propriétés d'acidification des bactéries lactiques. Certains paramètres sont proposés pour atteindre une acidité titrable de 40 à 50 °D (BOUILLANNE et DESMAZEAUD, 1980) ou un PH de 5,5 (BERGER, 1968). D'autres paramètres interviennent dans l'estimation des propriétés acidifiantes, par exemple: la température d'incubation (ACCOLAS et al., 1977 ; MARTEY, 1983 ; CHAMBA et PROST, 1989), le lait utilisé et surtout son traitement thermique (ACCOLAS et AUCLAIR, 1970 ; CHAMBA et PROST, 1989).

L'état physiologique des cellules de l'inoculum et leur concentration (CHAMBA et PROST, 1989).

Dans notre cas nous avons suivi l'évolution de l'acidité et les variations du PH au cours de la croissance dans le lait écrémé stérile.

Les mesures effectués sur les 3 souches de *Streptococcus salivarius subsp.thermophilus* montrent une grande diversité de l'activité acidifiante pendant les périodes de croissance.

Entre 0 et 2 heures d'incubation on remarque que la St1 malgré qu'elle présente le Δ PH le plus élevé (1,39) elle ne produit que 0,3% d'acide lactique, contrairement à St3 qui ne montre qu'un Δ PH de 0,2, mais une acidité plus élevée de l'ordre de 0,4% d'acide lactique.

Entre 2 h et 8 h d'incubation, la St1 présente toujours, le Δ PH le plus élevé (2,72) comparé à celles montrés par St2 et St3 (1,35 et 1,91 respectivement).

Ce résultat peut être expliqué par le fait que l'évolution du PH au cours de la croissance de *Streptococcus salivarius subsp.thermophilus* dans le lait traduit l'effet global de deux activités opposées : celle de la production d'acide qui tend à abaisser le PH et celle de l'activité uréasique qui tend à augmenter

En effet la St3 est probablement la plus productrice d'ammoniaque. D'après les résultats de mesure de quantité d'acide lactique. On constate, que la souche St3 est la plus acidifiante par rapport aux St1 et St2, cela est dû probablement à l'inoculum fraîche préparé dans notre laboratoire.

Conclusion

Conclusion :

L'objectif de ce travail est de comparer le pouvoir acidifiant de quelques souches de *Streptococcus salivarius subsp.thermophilus* utilisées dans la production du yaourt.

L'objectif assigné a été atteint par l'isolement de 3 souches. Parmi ces dernières, le St1 présente le Δ PH le plus élevé à 2h, 4h, 6h et 8h d'incubation. La St3 est la plus productrice d'amoniaque.

L'étude des souches de *Streptococcus salivarius subsp.thermophilus* utilisées dans la fabrication de yaourt ne se limite probablement pas à l'étude du pouvoir acidifiant, mais à d'autres études plus approfondies des propriétés technologiques. Pour cela, les perspectives que nous proposons sont :

- Tester leur résistance aux inhibiteurs tel que : les antibiotiques, les agglutinines, les bactériophages..etc.
- Etude de leur pouvoir arômatissant et protéolytique.

Résumé :

3 souches de *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* ont été isolées de 3 échantillons de yaourt commercial. Elles ont été comparées sur la base des caractères suivants :

variation du PH et acidité titrable, les cinétiques d'acidification ont montré que la St1 présente les Δ PH les plus élevés comparés à St2 et St3. La St3 présente des Δ PH faibles, mais des quantités d'acide lactique importantes, cela est dû probablement à l'activité uréasique.

Summary:

3 stumps of *Streptococcus salivarius subsp. thermophiluses* have been isolated of 3 samples of commercial yogurt. They have been compared on the following character basis:

variation of the PH and acidity titrable, the kinetic of acidification showed that the St1 present the most elevated Δ PH compared to St2 and St3. The St3 present of the weak Δ PH, but of quantities important of lactic acid, it is probably owed to activity uréasique.

ملخص :

عزلت ثلاث سلالات من *Streotococcus salivarius subsp. thermophilus*

انطلاقا من 3 عينات من الياغورت التجاري.

وقد قورنت على أساس المواصفات التالية: تغيرات الـPH والحموضة، هذه التطورات تبين أن

ST₁ تمثل قيم Δ PH الأكثر ارتفاعا مقارنة مع ST₂ و ST₃ هذه الأخيرة تمثل قيم Δ PH المنخفضة. لكن

كميات معتبرة من حمض اللاكتيك و هذا راجع إلى إنتاج اليوريا.

Références Bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

- 1- ACCOLAS J.P., AUCLAIR J., 1970 : détermination de l'activité acidifiante des suspensions concentrées congelées de bactéries lactiques. Lait, 50, p : 609 – 626.
- 2- ACCOLAS J.P., BLOQUEL R., DIDIENNE R., REGNIER J., 1977 : propriétés acidifiantes des bactéries lactiques thermophilus en relation avec la fabrication du yoghourt. Lait, 67, p : 1 – 23.
- 3- ACCOLAS J.P., HEMME D., DESMAZEAUD M.J., VASSAL C., BOUILLANNE C., VEAUX M., 1980 : Les levains lactiques thermophilus : propriétés et comportement en technologie laitière. Lait, 60, p : 487 – 524.
- 4- BERGER J.L., 1968 : production massive de cellules de streptocoques lactiques. I . méthodes générales d'étude et facteurs de croissance de streptococcus lactis souche C 10. Lait, 48, p : 1 – 11.
- 5- BOUILLANNE C., DESMAZEAUD M.J., 1980 : Etude de quelques caractères de souches de streptococcus thermophilus utilisées en fabrication de yoghourt et proposition d'une méthode de classement. Lait, 60, p : 458 – 473.
- 6- BOURGEOIS C.M., LARPENT J.P., 1988 : microbiologie alimentaire., p : 302, 305.
- 7- CHAMBA J.F., PROST F., 1989: mesure de l'activité acidifiante des bactéries lactiques thermophiles utilisés pour la fabrication des fromages à pâte cuite. Lait, 69, p : 417 – 431.
- 8- COUTURE B., 1990 : bactériologie médicale. Ed VIGOT, Paris, 35 p.
- 9- DEROISSART H.B., 1986 : Les bactéries lactiques. In-lait et produits laitiers par LUQUET F.M. Ed. technique et documentation lavoisier, Paris, T3, 343 – 407.
- 10- DESMAZEAUD M., 1996 : cahier agriculture . adresse : [http://www.aup et f-uref. Org/revues/agri/5.96/ dos 3. htm](http://www.aup-et-f-uref.Org/revues/agri/5.96/ dos 3. htm).

- 11- GUIRAUD j., GALZY P., 1980: L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires .Ed. de l'usine nouvelle, Paris, 119 p.
- 12- HEMME D.,FERCHICHI M.,DESMAZEAUD M.J.,1986:l'avenir des levains lactiques et des levains non lactiques.Ind. Agr.sci.,322p.
- 13- HAMAMES N.,1996 :isolement,identification et caractérisation des bactéries lactiques de lait de vache local. Thèse de majister institut des sciences de la nature université de Constantine. 110 p .
- 14-LEBRES., 2000 : cours national d'hygiène et de microbiologie des aliments. Hygiène, microbiologie et technologie du lait, institut Pasteur d'Algérie,10 p.
- 15- LECLERC H.,BUTTIAUX R., GUILAUME J.,WATTRE P.,1977 : microbiologie appliquée. Ed.Doin, institut Pasteur de Lille,180 p.
- 16- LEVEAU j .v.,BOUIX M.,Microbiologie industrielle.Ed.technique et documentation. Lavoisier, p :170 – 173, 181, 182, 195 – 197 , 212, 240.
- 17- MARTEY F.G., 1983:Temperature sensitivities of thermophilic starter strains. NZ.J. Dairy sci.Technol., 18, p : 191 – 196.
- 18- MARTINET J., MARIECHOUDEBINE L.,1993 : biologie de lactation.Ed. ENSERM/INRA, Paris, 536 p.
- 19- MEDJOU DJ H, 1993: Identification des bactéries lactiques, essai de détermination du pouvoir acidifiant de quelques souches. Thèse d'ingenieur, institut INATAA université de Constantine, 113 p.
- 20- PELMONT J.,1995: bactérie et environnement. Presses universitaires de Grenoble,Paris,301 p.
- 21- PICQUE D.,PERRET B.,LATRILLE E.,CORRIEU G.,1992: caractérisation et classification de bactéries lactiques à partir de la mesure de leur cinétique d'acidification.Lebensm-Wiss.U. technol., p : 25, 181, 186.
- 22- SUTRA L.,FEDERIGHI M.,JOUVE J.L.,1998:manuel de bactériologie alimentaire., p : 235, 236, 237,240, 241, 242, 243.
- 23- SPINLER H.E.,CORRIEU G.,1989: automatic méthode to quantity starter activity based on PH measurment. J.Dairy Res., 56, p : 755 – 764.

24- ZOURARI A., DESMAZEAUD M.J., 1991 : caractérisation des bactéries lactiques thermophiles isolées de yaourts artisanaux grecs. II .Souches de lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus et culture mixte avec Streptococcus salivarius subsp. Thermophilus. Lait, 71, p : 463, 482.

25- ZOURARI A., ROGER S., CHABANET C., DESMAZEAUD M.J., 1991 : caractérisation de bactéries lactiques thermophiles isolées de yaourts artisanaux grecs. I. souches de streptococcus salivarins sub sp. Thermophilus. Lait, 71, p : 445, 461.

Annexes

1 : Milieu de TEZZAGHI et SANDINE (M17 –agar,MERCK) Composition en g/l

- Peptone tryptique de caseine 2,5
- Peptone pepsique de viande 2,5
- Peptone papainique de soja 5,0
- Extrait de levure 2,5
- Extrait de viande 2,5
- D (+) lactose 5,0
- Acide ascorbique 0,5
- B- glycerophosphate de sodium 19,0
- Sulfate de magnésium 0,25
- Agar 15,0
- Dissoudre 42,5 g. de milieu dans l'eau à ébullition
- Ajuster le PH à $7,2 \pm 0,1$
- Stériliser à 121°C pendant 15 minutes

2 : Méthode de préparation de NaOH (N/9) :

$$\begin{array}{l} 40 \text{ g NaOH dans } 1\text{L} \longrightarrow 1\text{N} \\ \frac{40 \text{ g}}{9} = 4,5\text{g NaOH} \longrightarrow 1 \text{ L} \longrightarrow \text{N/9} \\ \text{X} \longrightarrow 200 \text{ ml(d'eau distillé)} \end{array}$$

-On trouve la valeur de x comme suit :

$$X = \frac{200.4,5}{1000} = 0,9\text{g}$$

Alors le poids nécessaire pour préparer NaOH (N/9) c'est : 0,9 g.

3 : préparation de lait écrémé à 10% :

100 ml de l'eau distillé est ajouté à 10g du lait écrémé en poudre spray.

- agiter bien à l'aide d'un agitateur magnétique (HEIDOLPHMR. 3001) pour l'homogénéisation .

-Stérilisation à 120°C pendant 10 minutes dans une autoclave (pbi international – sèrial n° 235 43 mod B2).

-Conservation au réfrigérateur (ENIEM).

4 : Coloration de Gram.

La coloration de Gram permet de distinguer deux principaux groupes de bactéries : Gram positif et Gram négatif.

Technique de coloration :

- Placer la lame horizontalement sur une porte lame après fixation du frottis par la chaleur.
- ajouter le violet de gentiane pendant une minute, rincer par l'eau.
- Ajouter du Lugol pendant une minute, rincer par l'eau.
- Ajouter de l'Alcool pendant 30 secondes, rincer par l'eau.
- Ajouter la Fuchine pendant une minute, rincer par l'eau.
- Sécher la lame et observer au microscope (objectif x 100) avec l'huile de cèdre.

Date de soutenance Le 07 octobre 2001

Titre

Contribution a l'étude du pouvoir acidifiant de quelques souches de Streptococcus salivarius subsp.thermophilus isolées des yaourts commerciaux

Résumé :

3 souches de Streptococcus salivarius subsp.thermophilus ont été isolées de 3 échantillons de yaourt commercial. Elles ont été comparés sur la base des caractères suivants :

variation du PH et acidité titrable, les cinétiques d'acidification ont montré que la St1 présente les Δ PH les plus élevés comparés à St2 et St3, la St3 présente des Δ PH faibles, mais des quantités d'acide lactique importantes. cela est dû probablement à l'activité uréasique.

Summary :

3 stumps of Streptococcus salivarius subsp.thermophiluses have been isolated of 3 samples of commercial yogurt. They have been compared on the following character basis:

variation of the PH and acidity titrable, the kinetic of acidification showed that the St1 present the most elevated Δ PH compared to St2 and St3, the St3 present of the weak Δ PH, but quantities important of lactic acid, it is probably owed to activity uréasique.

ملخص :

عزلت ثلاث سلالات من Streotococcus salivarius subsp.thermophilus

انطلاقا من 3 عينات من الياغورت التجاري.

وقد قورنت على أساس المواصفات التالية: تغيرات الـ PH والحموضة، هذه التطورات تبين أن ST₁ تمثل قيم

Δ PH الأكثر ارتفاعا مقارنة مع ST₂ و ST₃ هذه الأخيرة تمثل قيم Δ PH المنخفضة. لكن كميات معتبرة من حمض اللاكتيك و هذا راجع إلى إنتاج اليوريا.

Mots clés :

-Pouvoir acidifiant - Streotococcus salivarius subsp.thermophilus - Yaourt - Bactéries lactiques