

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Microbiologie  
Filière : Sciences biologiques  
Option : Microbiologie Alimentaire Santé



Réf .....

Mémoire de Fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme

## **MASTER**

### *Thème*

**Caractérisation de souches locales de bactéries  
lactiques isolées à partir de quelques produits  
laitiers artisanaux et mise au point d'un produit  
type "Raib"**

Présenté par :

**ALLOUACHE Karima & SMAOUN Ouissam**

Soutenu le : 18 juin 2017

Devant le jury composé de :

M<sup>me</sup> KERAMANE B.

M<sup>me</sup> TETILI F.

M<sup>me</sup> IDRES N.

MAA

MAA

MAA

Présidente

Promotrice

Examinatrice

**Année universitaire: 2016/2017**

## *Remerciements*

*Avant tout nous remercions "Allah" tout puissant pour nos avoir donner le souffle, l'énergie et la volanté pour réaliser cette étude.*

*Au terme de ce travail, il est agréable de présenter nos remerciements les plus sincères à Mme Tetili F, pour nous avoir proposé ce sujet si intéressant et nous avoir accepté d'encadrer et d'orienter tout au long de notre travail avec ses judicieux conseils et sa constante disponibilité. C'est grâce à sa compétence et indulgence que ce travail a pu être réalisé.*

*Nous remercions également les membres de jury d'avoir accepté d'évaluer ce travail, à la présidente Mme KIRAMANE B, et l'examinatrice Mme IDRES.*

*Et particulièrement à Mme BENACHOUR K, pour son aide, ses conseils et sa disponibilité. A tous les enseignants qui ont contribué à notre formation durant notre cursus. Aux techniciennes de laboratoire de microbiologie, merci pour votre service.*

*A toutes les personnes qui ont contribué de près et de loin à la réalisation de ce travail.*

*Merci.*





## *Dédicaces*

*Je tiens dédié ce travail à :*

- *La mémoire de ma mère (Rabi yerhamha), que Dieu l'accueille en son vaste paradis, qui m'a laisser un immense vide, que rien ne pourrait le remplacer.*
- *Mon père et ma deuxième mère Zahia qui m'ont toujours soutenu et qui ont fait tout leur possible pour m'aider.*
- *Mon frère Mohamed et ma sœur Lynda sans oublié sa fille Manel, que j'aime beaucoup.*
- *Ma tante Yasmina, à ma demi-sœur mima.*
- *Ma grande famille.*
- *Mes chers amis, et enseignants.*
- *Tout ceux qui ont collaboré de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.*

*Que Dieu leur accorde santé et prospérité.*



*Karima*

## *DEDICACE*

*Spécialement à mon père*

*À qui je dois énormément, qui a cru en moi et qui m'a donné les moyens d'aller aussi loin. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.*

*A ma très chère mère*

*Affable, honorable, aimable : Tu représente pour moi le Symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.*

*A mes très chères sœurs: Naouel, Ouafa, Houssna, et Romaiïssa les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous.*

*A mon très cher frère : Omar, Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.*

*A mes oncles : Hakim, Nacir, et Saad*

*Pour finir j'adresse mes remerciements à mes très chers amis qui sont devenus des frères et sœurs pour moi pour leurs conseils et leurs soutiens sans faille.*



*Ouïssam*

## Liste des abréviations

CO<sub>2</sub> : Dioxyde de carbone

°D : Degré Dornic

FAO : Food and Agriculture Organization

G : Grossissement

G+ : Gram positif

G- : Gram négatif

GC% : Pourcentage en Guanine et Cytosine

h : Heure

k : Kapa

*Lb.* : *Lactobacillus*

*Lc.* : *Lactococcus*

m : Masse

Met : Méthionine

MRS : Man Rogosa et Sharpe

N : Normalité

NaCl : Chloride de Sodium

NaOH : Hydroxyde de sodium

pH : Potentiel d'Hydrogène

Phe : Phényle alanine

RM : Rouge de méthyl

S : Souche

*St.* : *Streptococcus*

Subsp : sous espèce

T : Temoin

UFC : Unité formant colonie

V/V : Volume par volume

VP : Vogues-Proskauer

W/V : Masse/volume

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Test de l'activité protéolytique par la méthode des spots.....	17
<b>Figure 02</b> : Protocole d'étude de la production des composés aromatisants par les souches de bactéries lactiques.....	18
<b>Figure 03</b> : Recherche de la production de diacétyl chez les souches de bactéries lactiques.....	19
<b>Figure 04</b> : Protocole de fabrication du lait fermenté "Raib".....	20
<b>Figure 05</b> : Aspect macroscopique des bactéries lactiques sur Gélose MRS .....	21
<b>Figure 06</b> : Aspect de la culture de bactéries lactiques dans le bouillon MRS.....	21
<b>Figure 07</b> : Aspect microscopique d'une souche de <i>Lactobacillus</i> (A), Coque lactique (B) après une coloration de Gram (Gx100).....	22
<b>Figure 08</b> : Coagulation de lait après incubation à 30°C/24h.....	25
<b>Figure 09</b> : Suivi du pH et de l'acidité Dornic à 1% et à 5% .....	26
<b>Figure 10</b> : Suivi du pH et de l'acidité Dornic de différentes combinaisons (S <sub>6</sub> , S <sub>7</sub> , S <sub>10</sub> ).....	27
<b>Figure 11</b> : Activité protéolytique sur Gélose MRS au lait.....	28
<b>Figure 12</b> : Résultats de l'activité protéolytique des différentes souches étudiées.....	29
<b>Figure 13</b> : Résultats du test VP/RM des souches lactiques .....	30
<b>Figure 14</b> : Aspect de Raib fabriqué.....	32
<b>Figure 15</b> : Suivi de pH et de l'acidité Dornic du Raib fabriqué .....	32

## **Liste des tableaux**

<b>Tableau I :</b> Origine des souches de bactéries lactiques étudiées.....	12
<b>Tableau II :</b> Résultats des différents tests effectués et l'identification des souches.....	23
<b>Tableau III :</b> Résultats de la standardisation dans le lait des bactéries lactiques.....	24

## **Liste des tableaux en Annexe**

### **Annexe I**

**Tableau I :** Caractéristiques des bactéries lactiques.

### **Annexe II**

**Tableau I :** Morphologie des souches lactiques étudiées.

**Tableau II :** Suivi du pH du lait en fonction du temps à 1%.

**Tableau III :** Suivi du pH du lait en fonction du temps à 5%.

**Tableau IV :** Suivi de l'acidité Dornic (°D) du lait en fonction du temps à 1%.

**Tableau V :** Suivi de l'acidité Dornic (°D) en fonction du temps à 5%.

**Tableau VI :** Calcule du  $\Delta$  pH des cultures à 1%.

**Tableau VII :** Calcule de  $\Delta$  pH des cultures à 5%.

**Tableau VIII :** Moyenne des diamètres des zones de protéolyse.

**Tableau IX :** Résultats des tests RM et VP (VPI+VP II) des souches lactiques étudiées.

**Tableau X:** Résultats de test de production de diacétyle chez les souches lactiques.

**Tableau XI :** Suivi du pH de différentes combinaisons

**Tableau XII :** Suivi de l'acidité Dornic (°D) des différentes combinaisons.

**Tableau XIII :** Suivi du pH pendant 24h du Raib fabriqué.

**Tableau XIII :** Suivi de l'acidité Dornic pendant 24h du Raib fabriqué.



**Liste des abréviations**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Sommaire**

<b>Introduction</b> .....	<b>1</b>
<b>Synthèse bibliographique</b>	
I. Présentation des bactéries lactiques.....	3
II. Habitat et origine des bactéries lactiques.....	3
III. Taxonomie des bactéries lactiques.....	3
IV. Ferments utilisées en industrie.....	3
IV.1. Genre <i>Lactobacillus</i> .....	4
IV.2. Genre <i>Lactococcus</i> .....	4
IV.3. Genre <i>Streptococcus</i> .....	4
IV.4. Genre <i>Leuconostoc</i> .....	5
V. Aptitude technologique.....	5
V.1. Aptitude acidifiante.....	5
V.2. Aptitude protéolytique.....	6
V.3. Aptitude lipolytique.....	6
V.4. Aptitude aromatisante.....	7
V.5. Aptitude texturante.....	7
V.6. Aptitude antimicrobienne.....	7
V.7. Aptitude autolytique.....	8
V.8. Aptitude probiotique.....	8
VI. Applications technologique des bactéries lactiques.....	8
VI.1. Processus de fabrication du Raib.....	9
VI.1.1. Processus artisanal.....	9
VI.1.2. Processus industriel.....	9
<b>Matériel et méthodes</b>	
<b>Partie I : Bactéries lactiques</b> .....	<b>12</b>
I. Origine des souches de Bactéries lactiques étudiées.....	12
II. Revivification et la vérification de la pureté des isolats.....	13
III. Caractérisation des bactéries lactiques.....	13

III.1. Examen macroscopique.....	13
III.2. Examen microscopique.....	13
III.3. Tests physiologiques et biochimiques.....	13
III.3.1. Test de la catalase.....	13
III.3.2. Production de CO <sub>2</sub> .....	14
III.3.3. Croissance à différentes températures.....	14
III.3.4. Croissance dans des conditions hostiles.....	14
Culture en présence de NaCl : 4% et 6,5%.....	14
Croissance à pH 9,6.....	15
IV. Étude de quelques aptitudes technologiques des isolats de bactéries lactiques.....	15
IV.1. Standardisation des souches.....	15
IV. 2. Étude de l'Activité acidifiante.....	15
IV. 2.1. Mesure du pH.....	15
VI. 2.2. Détermination de l'acidité Dornic.....	15
IV.2.3. Facteurs influençant l'activité acidifiante.....	16
A. Taux d'inoculation.....	16
B. Type de culture.....	16
IV. 3. Activité protéolytique.....	16
IV.4. Activité aromatisante.....	17
<b>Partie II : Fabrication du Raib au laboratoire.....</b>	<b>19</b>

## Résultats et discussion

<b>Partie I : Bactéries lactiques.....</b>	<b>20</b>
I. Caractérisation des isolats.....	20
I.1. Examen macroscopique.....	20
I.2. Examen microscopique.....	21
II. Tests physiologiques et biochimiques.....	21
III. Étude de quelques aptitudes technologiques des isolats de bactéries lactiques.....	23
III.1. Standardisation des <i>inocula</i> .....	23
III.2. Activité acidifiante.....	23
III.2.1. Etude de l'influence du taux d'inoculation.....	23
III.3. Activité protéolytique.....	27
III.4. Activité aromatisante.....	29
<b>Partie II : Fabrication du Raib au laboratoire.....</b>	<b>30</b>

**Conclusion.....32**

**Références bibliographiques**

**Annexes**

## Introduction

La microflore microbienne du lait cru, composée essentiellement de bactéries lactiques, participe de façon importante à l'élaboration des caractéristiques organoleptiques des produits laitiers fermentés (laits fermentés, fromages). De nombreuses études scientifiques montrent que les produits laitiers préparés traditionnellement à partir de lait cru ont des saveurs typiques et des qualités nutritionnelles de plus en plus recherchées par le consommateur (**Ouadghiri, 2009**).

Les bactéries lactiques sont largement utilisées dans l'industrie alimentaire, en tant que starters dans les procédés de fermentation. Elles contribuent à la texture, à la saveur des aliments et à la production de composés aromatiques (diacétyle, acétaldéhyde et acétate et ce à partir du citrate). La flore lactique fermente les glucides en acide lactique, d'où une diminution du pH favorable à la bioconservation des aliments (**Alaoui et al., 2016**).

Les produits dérivés issu d'une fermentation lactique traditionnelle connaissent depuis quelques années un développement considérable grâce, à l'intérêt que trouvent les consommateurs sur le plan organoleptique, nutritionnel, thérapeutique, voire hygiénique en raison de leur acidité (**Lairini et al., 2014**).

Les laits fermentés sont des produits laitiers obtenus par la fermentation du lait, lesquels peuvent avoir été fabriqués à base de produits obtenus à partir de lait avec ou sans modification de composition, par l'action de micro-organismes appropriés et résultant de la diminution du pH avec ou sans coagulation. Le plus connu des laits fermentés est cependant le yaourt, il est originaire de Turquie, de Mongolie, d'Inde, du Moyen-Orient et de certaines régions d'Asie. Les noms turc « yoghourt » et grec « yaourt » se sont progressivement imposés depuis le XV<sup>ème</sup> siècle (Madzoon en Arménie, Laban en Egypte, Raib en Saoudit) (**Savado et Traore, 2011**).

Ces produits sont basés sur l'activité métabolique des bactéries lactiques qui fermentent les sucres, notamment le glucose et le galactose, pour produire l'acide lactique et des substances aromatiques qui donnent des arômes et goûts typiques pour les produits fermentés (**Guettouache et al., 2015**).

De ce fait, ce travail a pour objectif de caractériser les bactéries lactiques isolées de quelques produits laitiers artisanaux (Lben, Beure) collectés de différentes localités de la région de Bejaia, ainsi que l'étude de quelques aptitudes technologiques afin de sélectionner des souches pouvant servir comme ferment pour la mise au point d'un produit laitier fermenté de type "Raib".

# Introduction

---

Pour cela, ce document présente une première partie dite synthèse bibliographique qui consiste à rappeler les caractéristiques des bactéries lactiques ainsi que les différents groupes, leurs applications en tant que ferments lactiques dans l'industrie alimentaire. Une partie pratique où nous exposons la méthodologie du travail ainsi que les résultats obtenus.

## I. Présentation des bactéries lactiques

Décrites pour la première fois par Orla-Jensen (1919), les bactéries lactiques constituent un groupe hétérogène. Elles rassemblent en effet un certain nombre de genres qui se caractérisent par la production de quantités importantes d'acide lactique à partir des sucres liée à un métabolisme exclusivement fermentaire. La fermentation est dite : homolactique si l'acide lactique est pratiquement le seul produit formé et hétérolactique si d'autres composés sont aussi présents (acide acétique, éthanol, CO<sub>2</sub>, ...) (**Pilet et al., 2005**).

Elles sont à Gram positif, généralement immobiles, asporulées, catalase négative, oxydase négative généralement nitrate réductase négative, ce sont des bactéries anaérobies facultatives. Elles ont des exigences nutritionnelles complexes pour les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels, les acides gras et les glucides fermentescibles (**Novel, 1993**).

## II. Habitat et origine des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont très fréquentes dans la nature. Elles se trouvent généralement associées à des aliments riches en sucres simples. Elles peuvent être isolées du lait, du fromage, de la viande, ou des végétaux. Elles se développent avec la levure dans le vin, la bière et le pain. Quelques espèces colonisent le tube digestif de l'homme et des animaux (**Novel, 1993; Pilet et al., 2005**).

## III. Taxonomie des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques appartiennent au phylum des firmicutes, à la classe des Bacilli et à l'ordre des Lactobacillales (**De Vos et al., 2009**). Cet ordre comporte 33 genres repartis entre six familles qui sont: *Lactobacillaceae*, *Aerococcaceae*, *Carnobacteriaceae*, *Enterococcaceae*, *Leuconostocaceae* et *Streptococcaceae* classées en se basant sur les analyses phylogénétiques des séquences de l'ARNr16s (**Ludwig et al., 2009**).

## IV. Ferments utilisées en industrie

Les bactéries lactiques furent et sont encore utilisées sous la forme de ferments artisanaux, mais le développement de l'industrie de transformation, en particulier de l'industrie laitière, conduit à la production de ferments industriels capables d'assurer à la fois la qualité et la constance du produit (**Pfeiler et Klaenhammer, 2007**). Ces ferments sont typiquement composés de bactéries lactiques acidifiantes auxquelles peuvent être associées des souches présentant des caractéristiques aromatiques (**Gagnon, 2006**).

## Synthèse bibliographique

---

Les bactéries lactiques produites comme ferments commerciaux sont des cultures pures ou un mélange appartenant principalement aux genres : *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* (Novel, 1993).

### IV.1. Genre *Lactobacillus*

Les lactobacilles thermophiles appartiennent au groupe I sont utilisés pour leur activité acidifiante : *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lb. delbrueckii* subsp. *lactis* et *Lb. helveticus*. Généralement, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* acidifie plus rapidement que les autres lactobacilles, mais il est incapable d'utiliser le galactose et produit du D-lactate. Il se développe entre 30 et 40°C, mais résiste assez mal à des températures supérieures à 50°C. *Lb. helveticus* pousse lentement à 42 et 45°C mais il acidifie fortement le milieu, dont il peut abaisser le pH vers 3,5. Il produit les deux isomères de l'acide lactique. *Lb. delbrueckii* subsp. *lactis* acidifie plus rapidement que *Lb. helveticus* avec des valeurs entre 42 et 45°C, il est également fortement acidifiant et produits exclusivement du D-lactate. *Lb. helveticus* et *Lb. delbrueckii* subsp. *lactis* sont principalement utilisées pour la fabrication des fromages à pâte pressée cuite, alors que *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* peut être employé dans plusieurs autres types de fromages (François, 2008).

### IV.2. Genre *Lactococcus*

*Lactococcus lactis* est la seule espèce de lactocoques utilisée à l'échelle industrielle (Holler et Steele, 1995). C'est une bactérie lactique mésophile dont la température optimale de croissance est comprise entre 30 et 35°C, mais elle est capable de se développer assez bien entre 20 et 30°C, voire en dessous. *Lc. lactis* n'acidifie pas très rapidement mais peut abaisser le pH du lait jusqu'à 4,2 (Cogan, 1980).

### IV.3. Genre *Streptococcus*

*Streptococcus thermophilus* est le seul streptocoque utilisé comme ferment. Il acidifie rapidement le lait, mais n'abaisse pas le pH au-dessous de 4,8 (Acolas et al., 1980; Pernoud et al., 2004). Cette espèce est incapable d'utiliser le galactose, et elle produit uniquement du L-lactate. Bien que thermophile, sa température optimale de croissance étant comprise entre 40 et 44°C. Elle est capable de se développer entre 20 et 30°C mais beaucoup plus lentement, et elle résiste à des températures comprises entre 50 et 55°C (Tsakalidou et al., 1998).

## IV.4. Genre *Leuconostoc*

La production de diacétyl et d'acétoïne est sans doute le caractère le plus utilisé des *Leuconostocs*. Les cultures pures de *Leuconostocs* et de *St. lactis* subsp. *diacetylactis* se comportent d'une façon entièrement différente à l'égard de la production de diacétyl et d'acétoïne (**Cogan, 1975**). Dans du lait ou dans du bouillon contenant du citrate, *St. lactis* subsp. *diacetylactis* produit du diacétyl, de l'acétoïne et consomme le citrate dès que la croissance commence. Les cultures pures de *Leuconostocs* utilisent le citrate très rapidement, par contre elles ne produisent du diacétyl et de l'acétoïne que tardivement, lorsque le milieu est devenu suffisamment acide (**Devoyog et al., 1988**).

## V. Aptitudes technologiques

### V.1. Aptitude acidifiante

La fonction acidifiante constitue la propriété métabolique la plus recherchée des bactéries lactiques utilisées dans les industries alimentaires. Elle se manifeste par la production de l'acide lactique à partir de la fermentation des hydrates de carbone au cours de la croissance bactérienne (**Monnet et al., 2008**).

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

- Accumulation d'acide lactique participant à la saveur des aliments fermentés.
- Abaissement progressif du pH des milieux de culture et des matrices alimentaires.
- Limitation des risques de développement : de caséines, coagulation des laits et participation à la synérèse.

Certains microorganismes, grâce à la B-galactosidase, hydrolysent le lactose du lait pour produire deux nouveaux sucres : le glucose et le galactose. Les bactéries lactiques font partie de ce groupe. Généralement, le glucose provenant de cette hydrolyse sera fermenté pour produire des composés acides, du CO<sub>2</sub> dans certains cas ou de l'alcool. Cette production de composés acides va amener un abaissement du pH du produit se caractérisant par des odeurs et goûts surs, pouvant aller jusqu'à la coagulation si on atteint le point isoélectrique de 4,6 (**Lamontagne et al., 2002**).



### V.2. Aptitude protéolytique

La protéolyse est considérée comme étant l'événement biochimique le plus important durant la maturation fromagère. Les enzymes impliquées dans la dégradation des caséines du lait durant la maturation incluent la présure, les protéases indigènes du lait (la plasmines) et les enzymes du ferment et de la flore secondaire (**Lane et Fox, 1997**).

L'incapacité des bactéries lactiques à synthétiser les acides aminés nécessaires à la synthèse protéique nécessite un fonctionnement actif de leur système protéolytique dans les environnements où les protéines constituent la principale source d'azote (**Law et Haandrikman, 1997**).

Le système protéolytique des bactéries lactiques est composé de protéases associées à la paroi cellulaire, qui catalysent l'hydrolyse de protéines en peptides contenant de 7 à 16 résidus aminés (**Kamaly et Marth, 1989**). Ces peptides sont ensuite dégradés par des endopeptidases ou exopeptidases en unités transportables d'acides aminés et de petits peptides (**Lane et Fox, 1996; Lynch et al., 1997**).

Au cours de leurs activités métaboliques, certains micro-organismes, grâce à l'action de leurs protéases, utilisent les protéines du lait. Ce phénomène produit la libération de sous-produits très variés, dont des peptides à longue chaîne ou courte chaîne, des acides aminés et des dérivés d'acides aminés. Lors de l'affinage des fromages, la protéolyse joue un rôle primordial dans l'obtention d'une texture caractéristique et de saveurs désirées pour les divers types de fromage (**Mahaut et al., 2002**).

### V.3. Aptitude lipolytique

Les propriétés lipolytiques sont généralement faibles chez les bactéries lactiques. Les lactocoques sont considérés comme plus lipolytiques que *St. thermophilus* et les lactobacilles thermophiles. Les bactéries lactiques peuvent cependant présenter un intérêt pour certaines applications fromagères (**Béal et al., 2008**).

Certains micro-organismes, grâce à leurs lipases, peuvent décomposer les matières grasses et les acides gras libres du lait, entraînant l'apparition d'odeurs rances dans le produit laitiers. Les produits laitiers à haute teneur en matières grasses sont plus sensibles à la dégradation par les micro-organismes lipolytiques (**Lamontagne et al., 2002**).

### V.4. Aptitude aromatisante

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

### V.5. Aptitude texturante

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

### V.6. Activité antimicrobienne

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

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

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

## Synthèse bibliographique

---

(Ogunbanwo et al., 2003; Dortu et Thonart, 2009). La plupart des bactériocines produites par les bactéries lactiques partagent le même mode d'action, basé sur la formation de pores dans la membrane de la bactérie cible (De Vuyst et Leroy, 2007; Kumari et al., 2009).

### V.7. Aptitude autolytique

Le phénomène d'autolyse a été observé chez beaucoup de bactéries Gram négatives et positives (Shockman et Hôltje, 1994).

Il arrive généralement dans des conditions qui aboutissent à la cessation de la synthèse de peptidoglycane, par exemples la famine de nourriture. L'autolyse bactérienne spontanée ou induite, résulte de la dégradation enzymatique du constituant majeur de la paroi cellulaire, le peptidoglycane par des peptidoglycanes hydrolases endogènes nommées « autolysines ». Les autolysines sont définies comme des enzymes bactériennes endogènes capables d'hydrolyser le peptidoglycane. Dans le cas des bactéries lactiques utilisées dans la fabrication des produits laitiers fermentés, l'autolyse des cellules, en permettant de libérer leur contenu enzymatique intracytoplasmique, apparaît comme un moyen d'obtenir un développement plus rapide des qualités organoleptiques, une intensification de certains arômes (Chapot-chartier, 1996).

### V.8. Aptitude probiotique

Certaines bactéries lactiques spécifiques sont utilisées comme probiotique c'est-à-dire des microorganismes vivants dont l'application à l'homme ou à l'animal, exercent un effet bénéfique sur ce dernier par amélioration des propriétés de la flore intestinale. Les espèces couramment utilisées sont *Lb. acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. johnsonii*, *Lb. reuteri*, *Lb. delbruecki ssp. bulgaricus* (Salminen et al., 2004).

## VI. Applications technologiques des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques contribuent par leur métabolisme et leurs activités enzymatiques variées, à la production de composés volatils qui participent au développement de l'arôme, de la saveur et de la texture des produits fermentés (Cherl-Ho, 1997 ; Oyewole, 1997). Il existe plusieurs types de produits laitiers fermentés, les plus populaires en Afrique du Nord sont Jben, Lben, Klila et Raib (Mechai et Kiran, 2008).

## **VI.1. Processus de fabrication du Raib**

### **VI.1.1. Processus artisanal**

Le caillé est un produit traditionnel destiné à valoriser les surplus de lait des petits troupeaux. C'est surtout le lait de vache qui est utilisé, parfois mélangé à du lait de brebis ou de chèvre, rarement au lait de chamelle. Le produit est obtenu par l'acidification spontanée du lait cru ou, plus rarement, bouilli. Le coagulum est blanc, de gout acide. La consistance est demi-fluide à épaisse. Le lait frais est versé dans un récipient couvert. On n'ajoute pas de ferments. Après quelques jours l'acidification se développe. La coagulation est plus ou moins rapide selon la température (**Cristian, 1999**).

### **VI.1.2. Processus industriel**

#### **A. Préparation du lait**

Le lait subi des correctifs avant de le mettre en fabrication. La préparation du lait à plusieurs opérations :

- Nettoyage : par filtration statique ou centrifuge, il permet de retenir les impuretés du lait (**FAO, 1995**).
- Standardisation : c'est une opération qui permet d'obtenir un lait de matière grasse constante avec une régularité dans la composition du produit fini (**FAO, 1995**).

L'ajustement de la teneur en matière grasse se fait soit par apport de lait écrémé dans du lait entier, soit par apport de crème dans du lait entier (**FAO, 1995**).

La standardisation en matières protéiques se fait par ajout au lait de poudre de lait, de caséines ou de caséinates.

- Thermisation du lait : après standardisation, le lait doit être thermisé c'est-à-dire qu'il doit être porté à une température minimum de 63°C pendant 30 minutes (**FAO, 1995**).

#### **B. Développement de la fermentation**

Immédiatement après le traitement thermique, le lait est refroidi à la température d'ensemencement des levains lactiques mésophiles entre 20 et 26°C (**Wouters et al., 2002**).

### C. Ensemencement

On procède à l'ensemencement direct du lait de fabrication dans le tank en utilisant une biomasse très concentrée de ferments mésophiles congelés ou lyophilisés (**Ramet et al., 1997**) une bonne homogénéisation est nécessaire pour rendre parfaitement homogène le lait et les ferments, pour permettre une acidification correcte (**Luquet et al., 1994**).

### D. Emprésurage

L'emprésurage est obtenu à partir d'une dilution d'un extrait de présure d'origine bovine (la chymosine active) 2 à 10 fois dans un volume d'eau, qui est incorporé dans le tank et ensuite homogénéisé (**Pointurier et al., 1985**).

### E. Maturation et coagulation

La maturation correspond à l'acidification du lait et la formation du gel. Elle est sous la dépendance de deux facteurs :

- La température (entre 20-26°C) proche de l'optimum de développement des ferments lactiques mésophiles.
- Le temps nécessaire (16 à 18h) à l'obtention de l'acidité voulue « 70-75°D » (**Luquet et al., 1994**).

La coagulation du lait par voie acide ou par voie enzymatique est étroitement liée à l'organisation structurale de la micelle de caséines (**Daniel et al., 2002**).

- La coagulation acide

Elle consiste à précipiter les caséines à leur point isoélectrique (pHi=4,6), par acidification biologique à l'aide de ferments lactiques, qui transforment le lactose en acide lactique.

L'acidification entraîne une diminution des charges négatives des micelles et donc de la couche d'hydratation, et des répulsions électrostatiques ainsi qu'une solubilisation du calcium du phosphore minérale, entraînant une destruction des micelles de caséines avec réorganisation protéique, pour former un réseau puis un gel qui présente une perméabilité satisfaisante, mais une friabilité élevée avec une élasticité et plasticité pratiquement nulles dues au manque de structuration du réseau. Les liaisons sont de faibles énergie de type hydrophobe et résiste peu aux traitements mécaniques (**Mahaut et al., 2000**).

## Synthèse bibliographique

---

- La coagulation enzymatique

L'addition de la présure au lait provoque sa coagulation par hydrolyse de la k-caséine située en périphérie de la micelle. Cette hydrolyse scinde le lien 105-106 (lien Phe-Met) et libère le glycomacropéptide qui est la partie hydrophile de la k-caséine chargée négativement et responsable des répulsions électrostatiques; la partie restante de la micelle se nomme alors paracaséine. Les paracaséines sont plus hydrophobes et se lient entre elles par des liaisons hydrophobes, ce qui crée une coagulation (**Amiot et al., 2002**).

### **F. Arrêt de la fermentation**

Lorsque l'acidité atteint un certain seuil 70-80°D, il est nécessaire de bloquer l'acidification en inhibant le développement des bactéries lactiques par le passage dans des tunnels de refroidissement avant d'être stockés en chambre froide de 2 à 4°C (**Luquet, 1985**).

## Partie I : Bactéries lactiques

Cette étude a été effectuée au niveau du Laboratoire de Microbiologie 1 (Bloc 9) de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université Abderrahmane Mira Bejaia. Elle s'est déroulée en 03 mois (du mois de Mars au mois de Mai 2017).

Cette étude consiste en premier lieu à caractériser quelques souches de bactéries lactiques isolées à partir de quelques produits laitiers artisanaux et l'étude de certaines aptitudes technologiques afin de sélectionner des souches pouvant servir comme ferment pour la mise au point d'un produit type "Raib" en deuxième lieu.

### I. Origine des souches de bactéries lactiques étudiées

Cette étude a porté sur des souches précédemment isolées et conservées dans le bouillon MRS et lait écrémé additionnés de glycérol. Toutes les souches sont isolées à partir de produits dérivés du lait en utilisant des méthodes classiques. Le tableau suivant indique les différentes origines des souches étudiées.

**Tableau I : Origine des souches de bactéries lactiques étudiées**

Code de la souche	Produits d'isolement	Région	Milieu d'isolement	Année d'isolement
S6	Lben	Tizi (Bejaia)	M17	2015
S7	Beure	Tizi (Bejaia)	M17	2015
S10	Lben	Iheddaden (Bejaia)	MRS	2015
S16	Lben	Iheddaden (Bejaia)	M17	2016
S17	Lben	Iheddaden (Bejaia)	M17	2016
S31	Lben	Iheddaden (Bejaia)	M17	2016

### II. Revivification et vérification de la pureté des isolats

Les six souches lactiques (S6, S7, S10, S16, S17, et S31) sont repiquées dans le bouillon MRS (BIOKAR, France) et incubées à 30°C pendant 24h. La revivification est suivie par une vérification de la pureté des souches. Cette pureté est confirmée par des repiquages successifs sur gélose et bouillon MRS, avec incubation à 30°C pendant 24h à 48h, jusqu'à l'obtention d'un aspect macroscopique pure. La coloration de Gram et le test de la catalase sont réalisés pour compléter cette vérification de la pureté.

Les souches Gram positives, catalase négatives sont présumées comme des bactéries lactiques, ces dernières ont servi pour la suite de travail.

### III. Caractérisation des bactéries lactiques

L'identification des souches est réalisées en se basant sur les critères morphologiques et divers critères biochimiques et physiologiques (test de catalase, production de gaz carbonique, croissance à différentes températures (10°C, 15°C, 30°C, et 45°C), croissances dans des conditions hostiles (NaCl : 4%, 6,5% ; pH: 9,6).

#### III.1.Examen macroscopique

L'examen macroscopique permet d'observer visuellement des isolats sur gélose MRS (Liofilchem, Italie), pour caractériser la forme, la taille, l'aspect ainsi que la couleur des colonies et l'odeur caractéristique des bactéries lactiques.

#### III.2. Examen microscopique

Ce test est effectué sur des frottis auparavant colorés par une coloration différentielle (coloration de Gram), qui permet de diviser les bactéries en deux groupes : Gram+ et Gram-, et d'apprécier la forme et le mode de regroupement des cellules. La coloration est faite selon la méthode classique (Annexe I) (**Guiraud et Galzy, 1980**). L'observation des cellules bactériennes est réalisée au microscope optique (G x100) (ZEISS, West Germany).

#### III.3. Tests physiologiques et biochimiques

##### III.3.1.Test de catalase

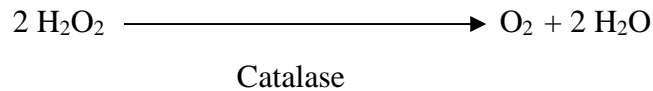
L'enzyme catalase permet la dégradation de l'eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) qui résulte de l'oxydation. Elle est mise en évidence par contact de la culture bactérienne avec une solution fraîche de l'eau oxygénée à 10 volumes. Une goutte de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (THERALAB, Algérie) est



## Matériel et méthodes

---

déposée sur une lame puis une colonie est prélevée à partir d'un milieu solide y est répartie. Un dégagement gazeux abondant sous forme de mousse ou de bulles traduit la décomposition de l'eau oxygénée selon la réaction suivante (**Guiraud, 2003**):



### III.3.2. Production de CO<sub>2</sub>

Ce test permet de différencier les bactéries lactiques homofermentaires de celles hétérofermentaires. Il s'effectue dans un milieu dépourvu de citrate pour éviter la formation de CO<sub>2</sub> lié à ce métabolisme particulier. Un tube de bouillon MRS (sans citrate) contenant une cloche de Durham est ensemencé abondamment avec une culture fraîche. L'incubation est faite à 30°C pendant 24h à 48h. Le CO<sub>2</sub> dégagé par les bactéries hétérofermentaires s'accumule dans la cloche (plus de 1/10 de la cloche) (**Guiraud, 2003**). Ce test est réalisé en deux répétitions.

### III.3.3. Croissance à différentes températures

C'est un test à grand intérêt en taxonomie. La définition de la température optimale et les températures limites du développement des souches, consiste à inoculer le bouillon MRS par des souches de bactéries lactiques, puis les incuber à différentes températures.

- À 10 et 15°C pendant 7 jours.
- À 30 et 45°C pendant 48h.

La croissance se traduit par l'apparition d'un trouble dans le milieu (**Guiraud et Galzy, 1980**).

### III.3.4. Croissance dans des conditions hostiles

#### ➤ Culture en présence de 4% et de 6,5% de NaCl

Ce test consiste à ensemencer les isolats dans des tubes contenant le bouillon MRS à 4% et 6,5% de NaCl (BIOCHEM, Canada) et les incuber à 30°C pendant 2 à 3 jours. La croissance de ces bactéries se manifeste par un trouble du milieu en comparaison avec un tube témoin non ensemencé (**Guiraud et Galzy, 1980**).

### ➤ Croissance à pH 9,6

Ce test est réalisé en bouillon MRS dont le pH est ajusté à 9,6. La croissance est appréciée par un trouble du milieu après 24 heures à 72 heures en comparaison avec un tube témoin non ensemencé (Guiraud, 2003).

## IV. Étude de quelques aptitudes technologiques des isolats

### IV.1. Standardisation des souches

Afin d'étudier quelques activités technologiques des souches lactiques, ces dernières sont standardisées comme suit :

A partir d'une culture fraîche, 4 colonies identiques et bien isolées sont repiquées dans 10 ml de lait écrémé stérile, puis incubées à 30°C pendant 18h. A la fin de l'incubation, une série de dilutions décimales est réalisée dans l'eau physiologique stérile allant de ( $10^{-1}$  à  $10^{-8}$ ) ; 1ml de chaque dilution ( $10^{-7}$  et  $10^{-8}$ ) sont ensemencés en masse dans la gélose MRS. Le dénombrement est réalisé après incubation à 30°C pendant 48h et le nombre de cellules est exprimé en UFC/ml.

### IV.2 Etude de l'activité acidifiante

La mesure de l'activité acidifiante consiste à suivre d'une part l'évolution du pH des différentes cultures en fonction du temps et d'autre part à déterminer simultanément l'acidité titrable par la soude. Ce test est réalisé sur 10 ml de lait préalablement ensemencé par une des souches de bactéries lactiques étudiées.

#### IV.2.1. Mesure du pH

Le pH du lait est déterminé à l'aide d'un pH-mètre (BANTE instruments, CHINA), par immersion du bout de l'électrode dans un bécher contenant 10 ml de lait ensemencé par les souches lactiques jusqu'à stabilisation de sa valeur qui s'affiche sur l'écran.

#### IV.2.2. Détermination de l'acidité Dornic

L'acidité peut être titrée de façon précise à l'aide de soude Dornic (N/9). Un volume de 10 ml de la culture bactérienne du lait écrémé est placé dans un bécher de 100 ml en présence de 0,1 ml de phénolphtaléine (PROLABO, France) à 1% de l'alcool (BIOCHEM chemopharma, Canada) à 95%. La soude (PROLABO, France) est ajoutée à la burette

## Matériel et méthodes

---

jusqu'au virage au rose du lait : la coloration rose doit persister au moins 10 Secondes (Guiraud, 2003). L'acidité est déterminée par la formule suivante :

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

Où :

$V_{\text{NaOH}}$  : Volume de NaOH utilisé pour titrer l'acide lactique contenu dans 10 ml de lait.

Sachant que  $1^{\circ}\text{D} = 0,1\text{g/l}$  d'acide lactique.

### IV.2.3. Facteurs influençant l'activité acidifiante

#### A. Taux d'inoculation

Ce test est réalisé dans du lait écrémé stérile. À partir des cultures fraîches de 18h, un volume de lait est inoculé à raison de 1% (v/v) et 5% (v/v), puis incubé à 30°C. Le suivi du pH et de l'activité acidifiante est réalisé après 0h, 6h, 18h, et 24h d'incubation (Lacrampe et al., 1973).

#### A. Type de culture

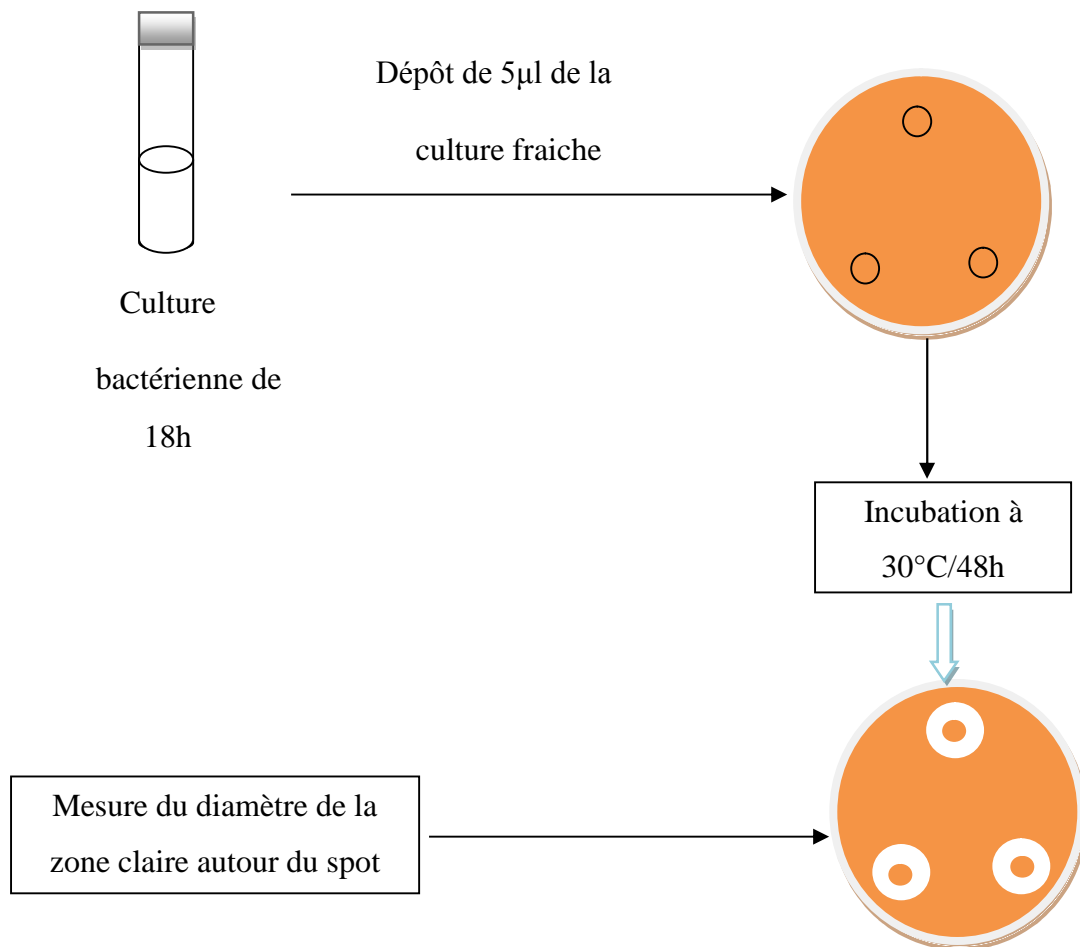
- ✓ **Culture pure** : L'inoculation des souches pures de bactéries lactiques se fait à raison de 5% dans le lait et l'incubation à 30°C (Lairini et al., 2014).
- ✓ **Culture mixte** : Dans le but de déterminer la combinaison de souche adéquate pour la production du lait fermenté, nous avons étudié la cinétique d'acidification de différents mélanges des souches (S<sub>6</sub>, S<sub>7</sub>, S<sub>10</sub>). Les différentes combinaisons réalisées sont les suivantes : (S<sub>6</sub> S<sub>7</sub>), (S<sub>6</sub> S<sub>10</sub>), (S<sub>7</sub> S<sub>10</sub>), et (S<sub>6</sub> S<sub>7</sub> S<sub>10</sub>). Les cultures mixtes des souches sont préparés à partir des pré-cultures de chaque souche et sont inoculés dans le lait écrémé stérile à la concentration de 5%, suivie d'une incubation à 30°C pendant 6h, 18h, et 24h (Lairini et al., 2014).

### IV.3. Activité protéolytique

L'activité protéolytique est une autre propriété technologiquement importante des bactéries lactiques (Cogan et al., 1997). L'activité protéolytique des bactéries lactiques est mise en évidence sur milieu MRS additionné de lait écrémé à raison de 10% (m/v) en utilisant la méthode des spots. Un volume de 5µl d'une culture fraîche dans du bouillon MRS de chaque souche est déposé en spot puis les boîtes sont incubées à 30°C pendant 24h à 48h

## Matériel et méthodes

(figure 01). La protéolyse se manifeste par une zone claire autour des spots. Le diamètre est mesuré en millimètre (Franciosi *et al.*, 2009). Ce test est réalisé en trois répétitions.

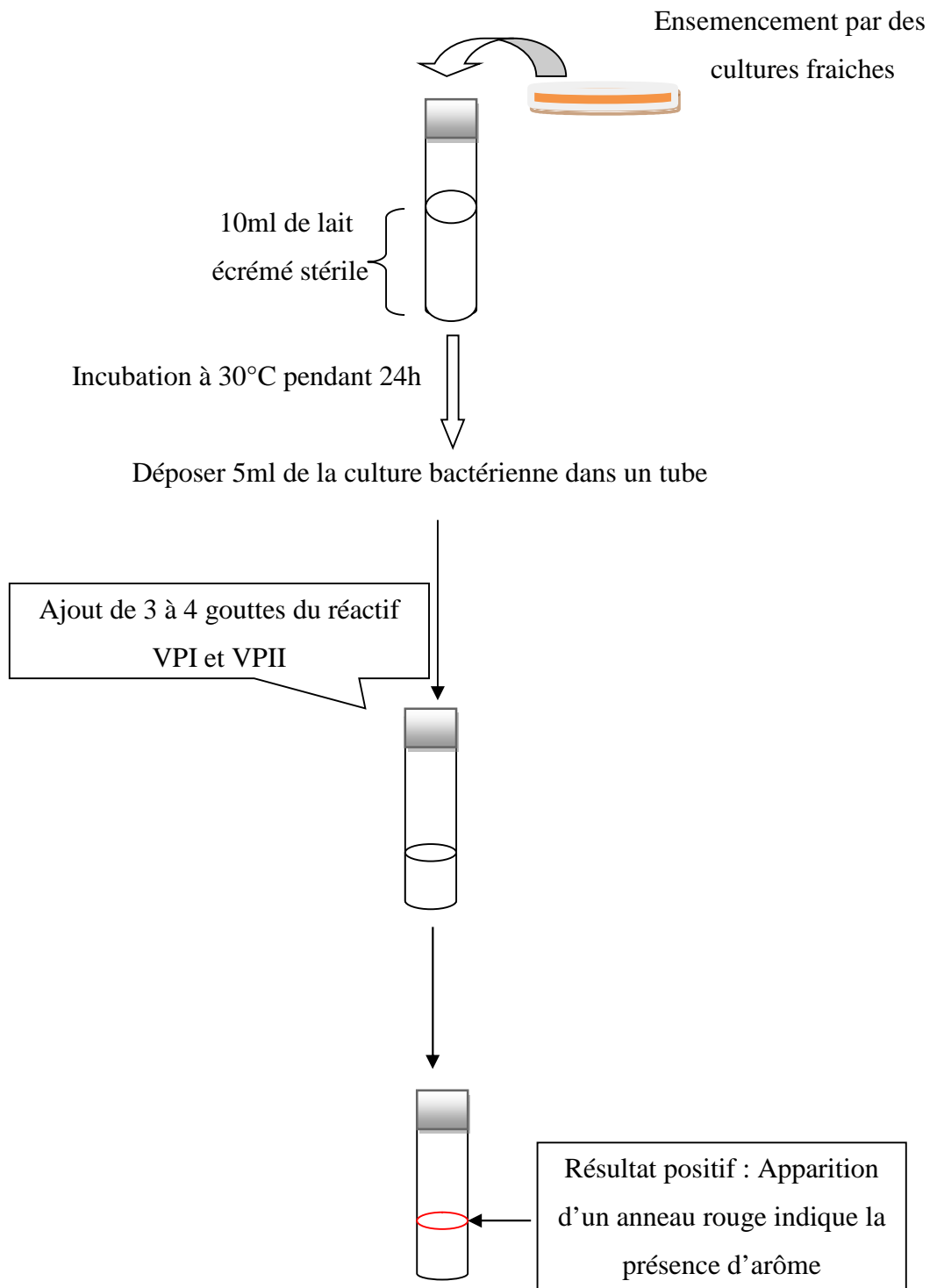


**Figure 01 : Test de l'activité protéolytique par la méthode des spots.**

### IV.4. Activité aromatisante

La capacité des souches lactiques à produire des composés aromatisants (acétoïne) au cours de processus de fermentation est mise en évidence dans lait écrémé. Des cultures fraîches de bactéries lactiques sont ensemencées dans chaque tube contenant 10 ml du lait écrémé stérile. Après incubation à 30°C pendant 24h, les réactifs de Vogues-Proskauer (VPI, VP II) sont ajoutés (Figure 02). La présence d'arôme est révélée par l'apparition d'un anneau rouge (Hadeif, 2012). Ce test est réalisé en deux répétitions.

## Matériel et méthodes

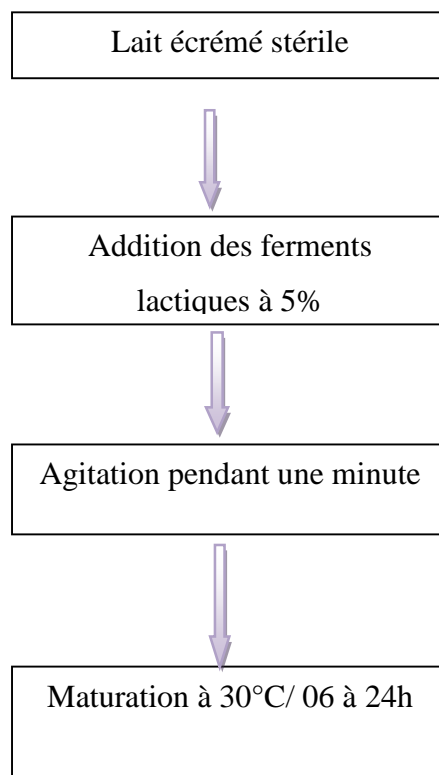


**Figure 02 : Protocole d'étude de la production des composés aromatisants par les souches de bactéries lactiques.**

### Partie II : Fabrication du Raib au laboratoire

Une fois les propriétés technologiques des souches étudiées déterminées, un choix de la bonne combinaison a été réalisé pour la mise au point d'un lait fermenté type " Raib".

La fabrication du Raib comprend quatre étapes successives. Un volume de 190 ml du lait écrémé stérile est placé dans un récipient propre et stérile, puis inoculé par un préferment de 10 ml de la combinaison S<sub>6</sub>S<sub>10</sub> à raison de 5% et laisser à une température 30°C. Le suivi de l'activité acidifiante est réalisé après 06h, 18h, et 24h d'incubation. La figure 04 montre les étapes de fabrication du lait fermenté. Ce test est réalisé en trois répétitions.



**Figure 04 : Protocole de fabrication du lait fermenté "Raib".**

# Résultats et discussion

## Partie I : Bactéries lactiques

Lors de cette étude, nous avons identifié les souches isolées à partir de deux biotopes : Lben et beurre. Seules les bactéries Gram+ et catalase- ont été retenues. Après avoir confirmé leur pureté nous avons procédé aux différents tests d'identification biochimiques et physiologiques, ainsi que l'étude de quelques aptitudes technologiques.

### I. Caractérisation des isolats

#### I.1. Examen macroscopique

Un total de six souches a été purifié sur milieu MRS. Sur gélose MRS, les colonies sont apparues de taille variable, de forme circulaire, bombées, avec une couleur blanchâtre ou laiteuse. Sur bouillon, les souches présentent un trouble surmonté d'une zone claire qui caractérise le groupe des bactéries lactiques (Figures 05 et 06).



Figure 05 : Aspect macroscopique d'une bactérie lactique sur gélose MRS.

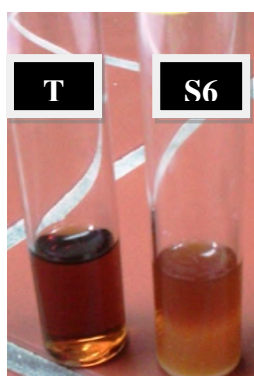
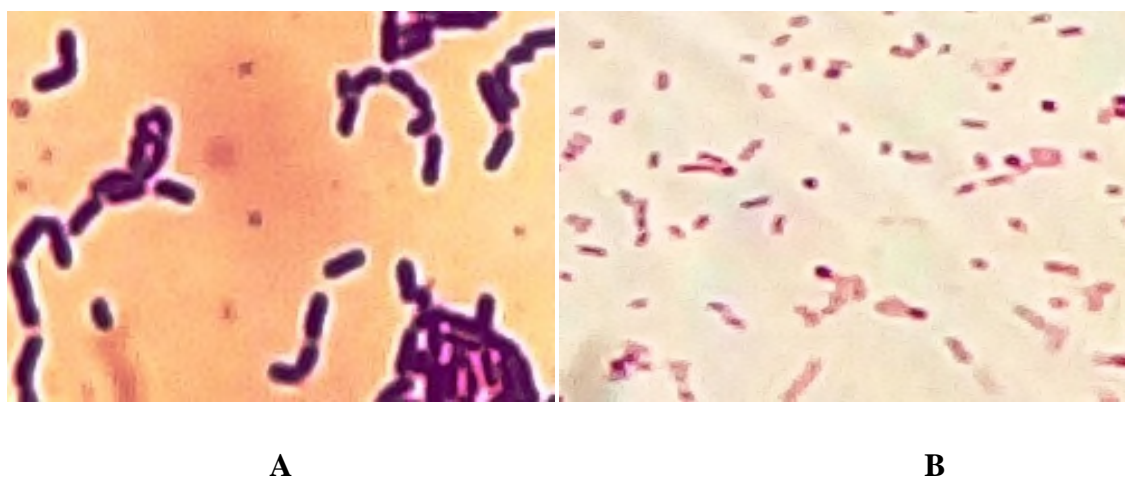


Figure 06: Aspect de la culture de bactéries lactiques dans le bouillon MRS.

### I.2. Examen microscopique

L'observation microscopique après une coloration de Gram a révélé deux formes de cellules : coque et batonnets. Les coques sont disposés en diplocoques, petites chainettes, en amas, parfois isolées, tandis que les bacilles présentent des cellules individuelles, groupés en chainettes ou en amas (Figure 07) (Tableau I, Annexe II).



**Figure 07 : Aspect microscopique d'une souche de *Lactobacillus* (A), coque lactique (B) après une coloration de Gram (Gx100).**

### II. Tests physiologiques et biochimiques

Les caractéristiques physiologiques et biochimiques des isolats sont présentées dans le tableau II. La comparaison des résultats est faite suivant les tables indiquées par Axelsson (2004) (Tableau I, Annexe I).



## Résultats et discussion

**Tableau II : Résultats des différents tests effectués et l'identification des souches.**

Souches	Test		Croissance à différentes températures				Croissance à différentes concentrations de NaCl		Croissance à pH 9,6	Production de CO <sub>2</sub>	Espèce pr
	Gram	Catalase	10°C	15°C	30°C	45°C	4%	6,5%			
6	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	<i>Lactobac</i>
7	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	
10	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	
17	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	
31	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	
16	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	<i>Streptoco</i>

(+) : Résultats positif, (-) : Résultats négatif

## Résultats et discussion

L'analyse de ces résultats a montrée une présence majoritaire de bacille avec un nombre de 05 souches par rapport aux coques qui présente uniquement une seule souche. Ces résultats sont comparables aux travaux de **Bouzaid et al., (2016)** sur une étude de l'activité antimicrobienne des souches de bactéries lactiques isolées de viande hachée de dromadaire et de lait cru de vache ont trouvé que les bâtonnets constituent 94,74% de l'effectif total et sont représentés par le genre *Lactobacillus* et des coques sont représentées par le genre *Streptococcus* avec 5,26%.

Par contre les résultats de **Belarbi (2011)** lors d'une étude menée sur l'isolement et la sélection de bactérie lactiques productrices des métabolites antibactériennes à partir du lait de vache a trouvé que les bactéries lactiques sous forme de cocci représente un pourcentage élevé: *Enterococcus* (62,06%), *Leuconostoc* (20,68%), *Lactococcus* (13,79%) par rapport aux batonnets qui ont été retrouvées à des faibles pourcentages : *Lactobacillus* (3,44%) .

### III. Etude de quelques aptitudes technologiques des isolats de bactéries lactiques

#### III.1. Standardisation des inocula

Le dénombrement est effectué pour les souches S7 et S10, le résultat de la standardisation est indiqué dans le tableau III.

**Tableau III : Résultats de la standardisation dans le lait des bactéries lactiques**

Souche	Nombre de colonies	Nombre (UFC/ml)
S7	4	$1,6.10^8$
S10	4	$4,2.10^9$

#### III.2. Activité acidifiante

##### III.2.1. Etude de l'influence du taux d'inoculation

###### ✓ Culture pure

Au cours de cette étude, l'activité acidifiante est suivie par la mesure de l'acidité Dornic et du pH. Le suivi de l'acidification a montré une diminution progressive du pH et

## Résultats et discussion

---

lanon coagulation du lait écrémé stérile inoculés à 1% au bout de 24 h. Les tubes contenant du lait écrémé stérile inoculés à 5% présentent une diminution rapide du pH avec une forte coagulation au bout de 24 h comme c'est montré sur la figureci-dessous.



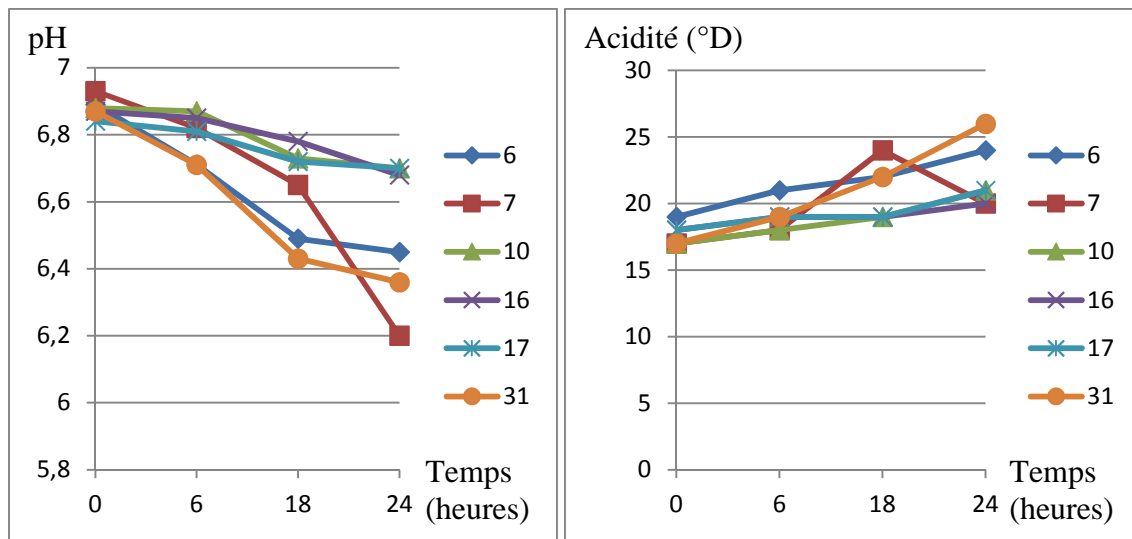
**Figure 08 : Coagulation de lait après incubation à 30°C/24h.**

Le suivi du pH et d'acidité Dornic pendant 24heures du laitensemencé à 1%, et 5% (v/v) par les isolats de bactéries lactiques est représenté sur la figure 09 (A, B, C, et D). Les valeurs obtenues sont représentés dans les tableaux II, III, IV, et V (Annexe II).

D'après ces résultats, nous remarquons que toutesles souches testées présentent en générale une diminution progressive du pH et ce en fonction du temps, accompagnée d'une augmentation de l'acidité Dornic. Cette activité acidifiante est variable d'une souche à l'autre (Figure 09).

## Résultats et discussion

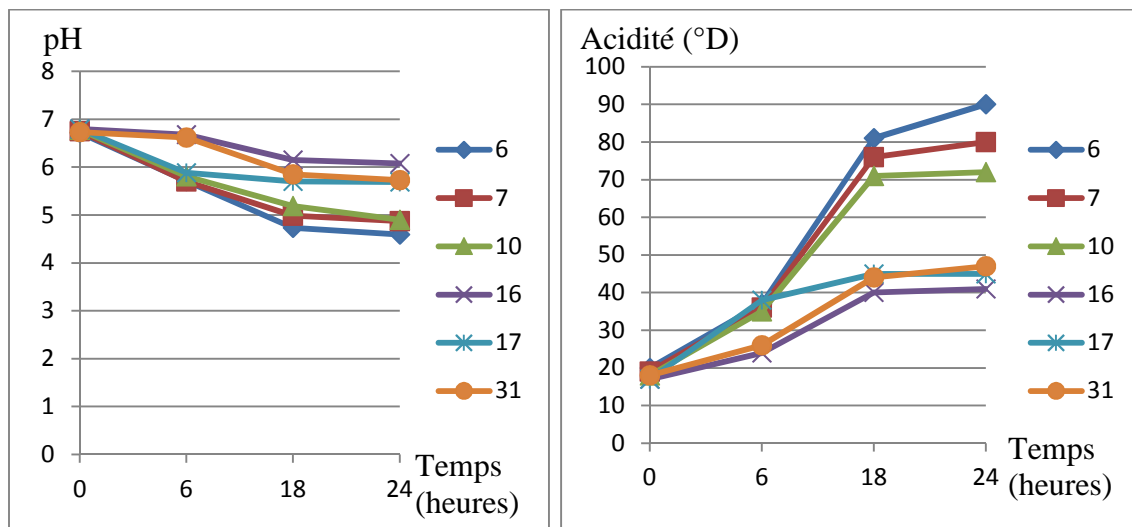
### A 1%



(A)

(B)

### A 5%



(C)

(D)

Figure 09 : Suivi du pH et de l'acidité Dornic à 1% et à 5%.

La diminution du pH du lait est due à la production d'acide lactique résultant de la fermentation du lactose (Thomson *et al.*, 1994).

La détermination de la variation de pH ( $\Delta \text{pH} = \text{pH lait } t=0 - \text{pH lait } t \neq 0$ ), permet de classer les bactéries lactiques acidifiantes en fonction de leur vitesse d'acidification pendant les 6 premières heures d'incubation (Lairini *et al.*, 2014), ainsi les souches sont qualifiées de :

## Résultats et discussion

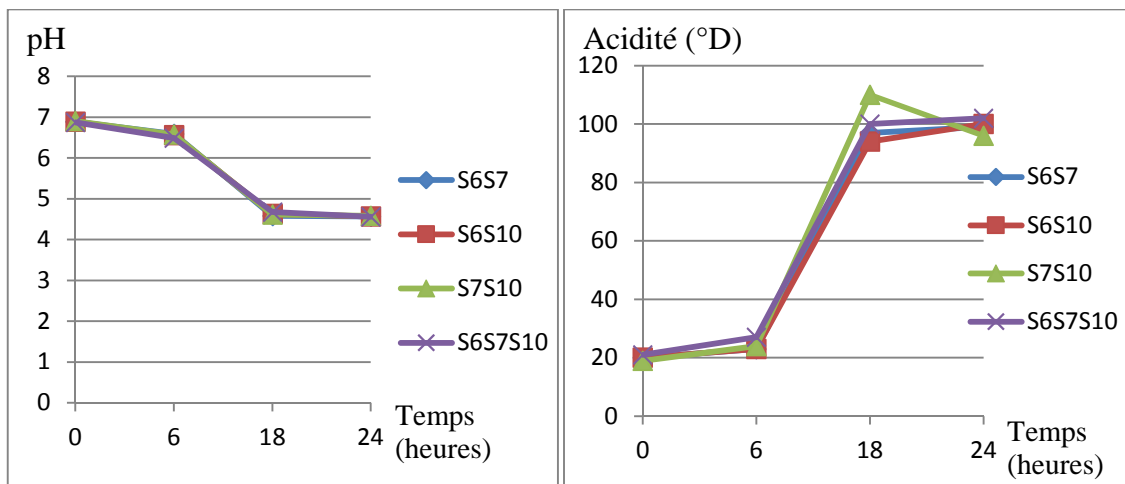
- Souches à grande vitesse d'acidification si la variation de pH atteint une valeur de 0,4 unité pH en moins de 3 heures.
- Souches à vitesse d'acidification moyenne si cette valeur est atteinte entre 3 et 5 heures.
- Souches à faible vitesse d'acidification si la valeur de 0,4 est atteinte après 5 heures d'incubation.

Après avoir calculé  $\Delta$  pH (Tableau VI, Annexe II), toutes les souches étudiées présentent une faible vitesse d'acidification car la valeur 0,4 atteinte après 18h d'incubation.

Selon **Cogan et al., (1997)** une culture qui a un bon rendement est celle qui réduit le pH du lait de sa valeur normale d'environ 6,6 à 5,3 pendant une durée de 6h à 30°C pour les mésophiles et à 42°C pour les thermophiles. Sur cette base, nos résultats diffèrent de ceux cités précédemment et l'ensemble des souches étudiées peut être considérées comme faiblement acidifiantes. Tandis qu'à 5% d'inoculation et après 6hd'incubation, le pH varie de 6,68 (S16) à 5,70 (S7).

### ✓ Culture mixte

Les résultats de l'acidité Dornic et de pH obtenus par les cultures mixtes sont données dans les tableaux VIII et IX (Annexe II), ainsi que les courbes qui en résultent (Figure 10).



**Figure 10 : Suivi du pH et de l'acidité Dornic de différentes combinaisons issues de (S6, S7, S10).**

Ces résultats montrent que toutes les combinaisons de souches produisent des quantités d'acide lactique très rapprochées les unes des autres, et supérieur à celles produites en culture pure.

## Résultats et discussion

Les profils d'acidification du lait diffèrent selon les combinaisons utilisées et presque le même avec une acidification faible au bout de 6h d'incubation (pH= 6,58 à 6,48). Après 18h d'incubation, on remarque une forte acidification pour toutes les combinaisons avec une diminution du pH du lait d'une valeur qui varie entre 4,63 à 4,57(S<sub>6</sub>S<sub>10</sub>; S<sub>6</sub>S<sub>7</sub>S<sub>10</sub>) et 4,58 à 4,56 (S<sub>7</sub>S<sub>10</sub>;S<sub>6</sub>S<sub>7</sub>S<sub>10</sub>) au bout de 24h. La comparaison de l'acidification des différentes combinaisons nous a permis de dégager une relation de coopération entre les souches. D'après les résultats de la culture pure et mixte, la combinaison (S<sub>6</sub>S<sub>10</sub>) a été retenue comme la meilleur et qui à servi à la mise au point du produit "Raib".

### III.3. Activité protéolytique

L'activité protéolytique des bactéries lactiques est essentielle pour la croissance bactérienne dans le développement des propriétés organoleptique des différents produits laitiers fermentés (Axelsson, 1998; Christensen *et al.*, 1999). Les protéinases hydrolysent la protéine, en fournissant les acides aminés essentiels pour la croissance de bactéries. Le système protéolytique des bactéries d'acide lactique décompose des protéines et change donc la texture, le goût et l'arome des produits fermentés (El-Ghaish *et al.*, 2011).

L'activité protéolytique se manifeste par l'apparition de zone claire de protéolyse autour des spots (figure 11). Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau X (Annexe II). Il en ressort du tableau que toutes les souches étudiées présentent une croissance avec une activité protéolytique se situant entre 12 et 34mm de diamètre. Les résultats sont présentés sous forme d'un histogramme (figure 12).

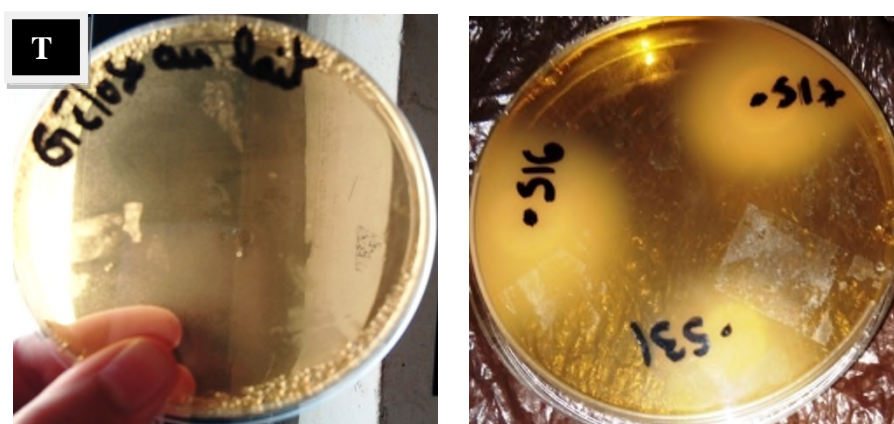
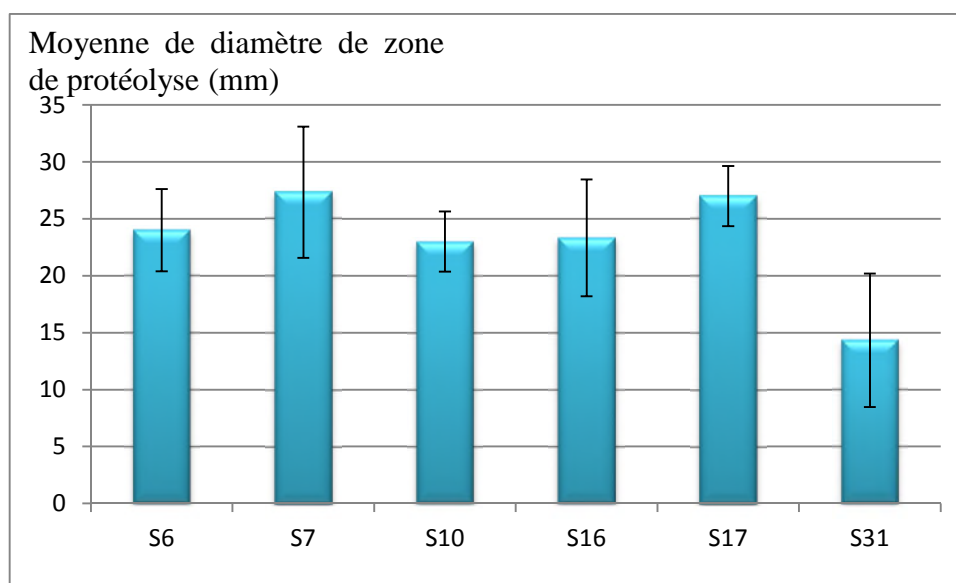


Figure 11 : Activité protéolytique sur Gélose MRS au lait.

## Résultats et discussion



**Figure 12 : Résultats de l'activité protéolytique des différentes souches étudiées.**

D'après les résultats obtenus, il apparaît que toutes les souches sont douées d'une activité protéolytique sur milieu MRS additionné de 10% de lait écrémé. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par **Idoui et Karam (2008)**, qui ont trouvé que les bactéries lactiques, isolées à partir du beurre traditionnel de vache de la région de Jijel, présente un caractère protéolytique.

Selon **Yelnetty et al.,(2014)**, les bactéries à pouvoir protéolytique sont réparties en trois groupes :

- Les souches dont le diamètre est supérieur à 20mm sont qualifiées comme souches fortement protéolytiques.
- Les souches avec un diamètre qui varie entre 10 à 15mm sont moyennement protéolytiques.
- Le groupe des souches faiblement protéolytique leurs diamètre inférieur à 10mm.

Selon cette classification, les souches étudiées sont qualifiées de :

- Souches fortement protéolytiques (S6, S7, S10, S16, et S17) avec un diamètre supérieur à 20 mm.
- Souches moyennement protéolytiques (S31) avec un diamètre de 14,33mm.

### III.4. Activité aromatisante

Les bactéries lactiques sont capables de produire de nombreux composés aromatiques, principalement à partir du lactose, du citrate, des acides aminés et des matières grasses. Cette production est fortement influencée par les conditions de fabrication des fromages et des laits fermentés (Ott *et al.*, 1997). L'acétoïne est l'un des molécules aromatiques du catabolisme des acides aminés (acide aspartique), comme il peut avoir comme origine la dégradation totale ou partielle de l'acide citrique pendant la fermentation lactique (Hafef, 2012).

Un test de VP a été effectué sur l'ensemble des souches lactiques étudiées. Les résultats obtenus lors de cette étude sont représentés dans le tableau XI (Annexe II).

D'après les résultats obtenus lors de ce test, il apparaît que toutes les souches lactiques n'arrivent pas à produire des arômes (acétoïne) (Figure 13), donc ces souches n'ont pas un pouvoir aromatisant qui va contribuer aux caractéristiques organoleptiques des produits fermentés.



**Figure 13: Résultats du test VP des souches lactiques.**

Les bactéries lactiques qui métabolisent le citrate jouent un rôle important dans de nombreux procédés laitiers car chez ces bactéries le métabolisme du citrate et du lactose entraîne la production de diacétyle, d'acétoïne et de CO<sub>2</sub>, participant aux qualités aromatiques et texturales des produits (Raynaud *et al.*, 2003).



### Partie II : Fabrication du Raib au laboratoire

Le Raib est un lait de vache, chèvre, chameau, ou de brebis à fermentation spontanée principalement acidifié et assaisonné par des souches de lactocoques et de *Leuconostocs* (Bendimerad et al., 2012). Le but de cette partie est de sélectionner des souches lactiques qui pourraient être employées pour fabriquer un lait fermenté de type "Raib" de bonnes caractéristiques organoleptiques et nutritionnelles. Pour cela, la combinaison des souches (S<sub>6</sub>S<sub>10</sub>) à 5% d'inoculation a été retenue. Le produit issu de cette combinaison est présenté par la figure 14.



Figure 14 : Aspect de "Raib" fabriqué.

L'évolution du pH et de l'acidité Dornic de "Raib" fabriqué à partir du préferment (S<sub>6</sub>S<sub>10</sub>) est représentée dans la figure 15. Les valeurs obtenues sont représentées dans les tableaux XII et XIII (Annexe II). Les valeurs représentées sur la figure sont la moyenne de trois répétitions.

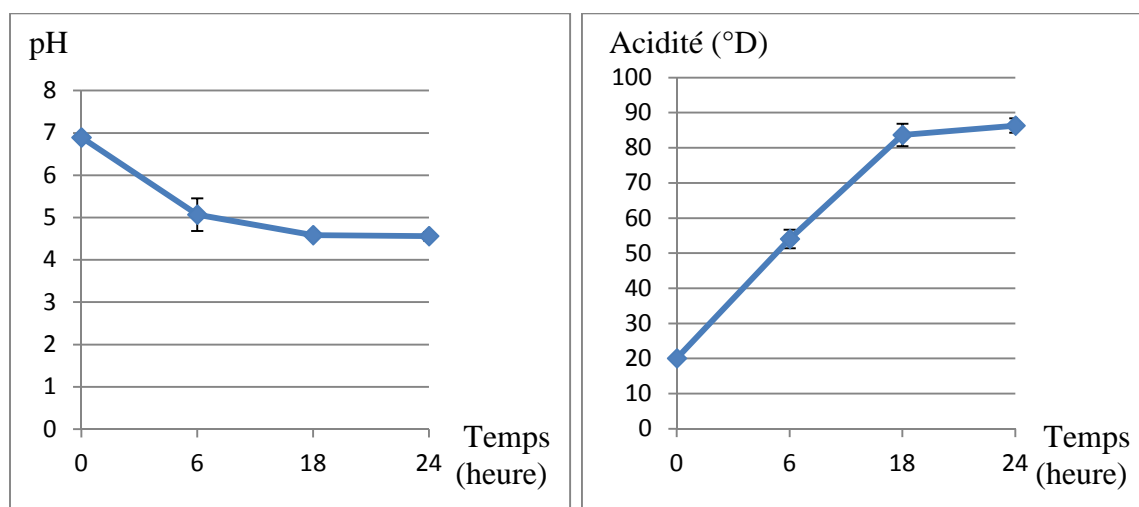


Figure 15 : Suivi du pH et de l'acidité Dornic du "Raib" fabriqué.

## Résultats et discussion

---

D'après les résultats de la figure 15, on remarque une diminution très rapide du pH lors des six premières heures de fermentation lactique (5,46 à 5,09). Au bout de 18 heures d'incubation, le pH atteint 4,65 et 4,46 et (4,67 à 4,47) après 24h d'incubation.

L'acidité Dornic du "Raib" varie en fonction de temps (6h, 18h, et 24h), d'où une moyenne de 54°D, 83°D, et 86°D respectivement.

Comparativement aux laits caillés industriels, l'acidité Dornic est également variable allant de 70°D à 120,5°D, avec une moyenne de 89,4°D (**Ghozlan, 2012**).

D'après ces résultats, nous pouvons dire que la combinaison sélectionnée présente des bonnes aptitudes technologiques essentiellement acidifiante similaire à celles des ferments industriels. De ce fait, les deux souches S6 et S10 peuvent servir comme un ferment local pour la production des laits fermentés acidifiés de type "Raib".

# Conclusion

---

## Conclusion

L'objectif de la présente étude est la sélection des souches de bactéries lactiques issues de produits laitiers artisanaux de la région de Bejaia, douées de bonnes activités technologiques afin de mettre en évidence la production du lait fermenté type "Raib".

Au cours de ce travail nous avons pu tester six souches de bactéries lactiques, en examinant certaines caractéristiques d'intérêt technologique afin d'évaluer leurs potentiels pour un éventuel usage industriel. Dans cette partie, nous sommes intéressés spécialement à leur activité acidifiante, protéolytique et aromatique.

Les souches étudiées ont montré une très faible activité acidifiante à 1% d'inoculation. Par contre cette activité a augmenté en utilisant des cultures de 5% d'inoculation, et les souches (S6, S10) s'avèrent les plus intéressantes.

Au vu des résultats obtenus, ces souches de bactéries lactiques sont dotées de bonnes propriétés acidifiantes notamment les deux souches (S6 et S10) qui font une bonne combinaison pour la culture mixte. L'activité protéolytique est généralement présente chez toutes les souches étudiées avec un diamètre moyen allant de 14,33mm à 27,33mm, alors que l'activité aromatisante est absente chez toutes les souches.

D'après la mise au point du "Raib", les résultats obtenus indiquent que ce dernier présente une structure normale sans séparation de lactosérum et ayant un pH de 4,56 et une acidité moyenne de 83°D (en 18h).

Enfin, au vu de ces résultats générés lors de ce travail, nous pouvons rappeler que ces souches bactérienne isolées de beurre et de lben ont révélé des caractéristiques technologiques intéressantes faisant d'elles de très bonnes candidates pour d'éventuelles applications technologiques, et pourraient devenir des ferments locaux pour obtenir différentes sortes de lait fermentés.

Les résultats de notre recherche permettent d'ouvrir les perspectives suivantes :

- Il serait intéressant d'étudier plus de propriétés technologiques telle que l'activité autolytique, le pouvoir texturant et probiotique.
- Valorisation des ferments lactiques étudiés à l'échelle industrielle.

## Référence bibliographique

### A

**Acolas JP, Hemme D, Desmazeaud M, Vassal L, Bouillanne C, Veaux M. (1980).** Les levains lactiques thermophiles : propriétés et comportement en technologie laitière. *Lait*. 60, 487-524.

**Alakomi H.L, Skytta E, Saarela M, Mattila-Sandholm T, Latva-Kala K, et Helander I.M. (2000).** Lactic acid permeabilizes Gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane. *Application Environment Microbiol.* 66 (5) : 2001-2005.

**Alaoui Ismaili M, Guilal J, Hamama A, Saidi B, Zahar M. (2016).** Identification de bactéries lactiques du lait cru de chamelle du sud du Maroc. *The international Journal of multi-disciplinary sciences*. 1 : 81-92.

**Amiot J, Fournier S, Lebeuf Y, Paquin P, Simpson R, Collaboratrice : Turgeon H. (2002).** Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait. In Vignola C L. Science et technologie du lait. Tec & Doc, Lavoisier ; Montréal, pp. 1-69.

**Ammor S, Tauveron G, Dufor E, et Chevalier I. (2006).** Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility 1- Screening and characterization of antibacterial compound. *Food Control*. 17 : 454-461.

**Axelsson L. (1998).** Lactic acid bacteria: Classification and physiology. In Salminen S and A. Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects, Von Wright (Eds). 3e Ed: New York, Marcel Dekker, pp. 1-72.

**Axelsson L. (2004).** Lactic acid bacteria: Classification and physiology. In Salminen S and A. Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects, Von Wright (Eds). 3e Ed: New York, Marcel Dekker, pp. 1-72.

### B

**Béal C, Marin M, Fontaine E, Fonseca F, et Obert J.P. (2008).** Production et conservation des ferments lactiques et probiotiques. In Corrieu G. et Luquet F.M. Bactéries lactiques, de la génétique aux ferments. Tec & Doc, Lavoisier. Paris, pp. 661-765.

**Bendimerad N, Khihal M, Berthier F. (2012).** Isolation, identification, and characterization of wild *Leuconostocs* and *Lactococci* for traditional Raib type milk fermentation. *Dairy Science Technology*. 92, 249-264.

**Belarbi F. (2011).** Isolement et sélection des souches de bactéries lactiques productrices des métabolites antibactériennes. Mémoire de Magister, Université d'Oran, Faculté des Sciences Es Senia. 143p.

**Bourgeois C.M, et Larpent J.P. (1996).** Microbiologie alimentaire : Aliments fermentés et fermentations alimentaires. Tec & Doc, Lavoisier. 2<sup>ème</sup> édition. Paris : 523p.

**Bouzaid M, Chatoui R, Latrache H, Hassib H. (2016).** Activité antimicrobienne des souches de bactéries lactiques isolées de viande hachée de dromadaire et de lait cru de vache (Maroc). *Review Microbiology Industrial. Santé et Environnement*. 10 (1) : 1-12.

## C

**Chapot-Chartier MP. (1996).** Les autolysines des bactéries lactiques. *Lait*. 76, 91-109.

**Cherl-Ho L. (1997).** Lactic acid fermented foods and their benefits in Asia. *Food Control*. 8, 259-269.

**Cholet O. (2006).** Etude de l'écosystème fromager par une approche biochimique et moléculaire. Institut National Agronomique Paris-Grignon. Ecole Doctorale ABIES. UMR de Génie et Microbiologie des Procédés Alimentaires INRA, INA.16.

**Christensen JE, Dudley EG, Pederson JA, Steelz LJ (1999).** Peptidases and amino acid catabolism in lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*. 76, 217-246.

**Christian Meyer, Jean-Pierre Denis. (1999).** Elevage de la vache laitière en zone tropicale. Tec & Doc, Lavoisier. France : 278p.

**Cogan T M (1980).** Les levains lactiques mésophiles. *Lait*. 60, 397-425.

**Cogan T.M, Barbosa M, Beuvier E, Bianchi-Salvadori B, Cocconcelli P.S, Fernandes I, Gomez J, Gomez R, Kalantzopoulos G, Ledda A, Medina M, Rea M.C and Rodriguez E. (1997).** Characterization of the lactic acid bacteria in artisanal dairy products. *Journal of Dairy Research*. 64, 409-421.

## D

**Daniel St-Gelais et Patrick Tirard-Collet Collaborateurs : Gaétan Bélanger, Roger Couture et Roger Drapeau. (2002).** Fromage. In Vignola Carole L. Science et technologie de lait. Tec & Doc, Lavoisier ; Montréal, pp. 349-412.

**De Vos P, Garrity G M, Jones D, Krieg N R, Ludwig F A, Schleifer K-H et Whitman W B. (2009).** Bergey's manual De Vos P, Garrity G M, Jones D, Krieg N R, Ludwig F.

**Devoyod J.J. et Poullain F. (1988).** Les *Leuconostocs* propriétés : leur rôle en technologie laitière. *Lait*. **68** : 249-280.

**Dortu C, et Thonart P. (2009).** Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. *Biotechnology Agronomy Society Environment*. **13** (1): 143-154.

### **E**

**El-Ghaish S, Ahmadova A, Hadji-Sfaxi I, E Mecherfi KE, Bazukyane I. (2011).** Potential use of lactic acid bacteria for reduction of allergenicity and for longer conservation of fermented foods. *Tre Food Science Technology*. 1-8.

### **F**

**FAO. (1995).** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO: Alimentation et nutrition. Rome. N°28 ISBN 92-5-203534-6.

**Franciosi, E, Settanni, L, Cavazza, A, and Poznanski, E. (2009).** Biodiversity and technological potential of wild lactic acid bacteria from raw cows' milk. *International Dairy Journal*. **19** (1): 3–11.

**François Chamba-Jean. (2008).** Applications fromagères. In Georges Corrieu. Luquet F-M. Bactéries lactiques de la génétique aux ferments. Edition Tec & Doc, Lavoisier. Paris, pp. 788-815.

### **G**

**Gagnon D. (2006).** Formulation et propagation de ferments lactiques mésophiles à haut caractère aromatique. Thèse de maîtrise. Université Laval, Québec: 163p.

**Gerrit S, Bart A.S. et Wim J.M.E. (2005).** Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. *FEMS Microbiology*. **29**, 591-610.

**Ghozlane D. (2012).** Isolement et caractérisation des bactéries lactiques productrices d'arôme (diacétyle). Mémoire de Magister. Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie El-Harache, Science Alimentaire. 111p.

**Guettouache M, Guessas B. (2015).** Characterization and identification of lactic acid bacteria isolated from traditional cheese (Klila) prepared from cow's milk. *African Journal of Microbiology Research.* **9** (2): 71-77.

**Guiraud J.P. (2003).** Microbiologie alimentaire. Edition: Dunod. Paris : 615p.

**Guiraud G et Galzy P. (1980).** L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Edition: l'Usine nouvelle. Paris: 240p.

### *H*

**Hadef S. (2012).** Évaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales. Mémoire de Magister de microbiologie appliquée. Université Kasdi Merbah-Ouargla, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers. 135p.

**Ho T.N.T, N. Tuan N, Deschamps A, et Caubet R. (2007).** Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) of the Nem Chua fermented meat product of Vietnam. *Int Workshop on Food Safety and Processing Technology.* 134-142.

**Holler B J, Steele JL. (1995).** Caractérisation of lactococci other than *Lactococcus lactis* for possible use as starter cultures. *International Dairy Journal.* (5): 275-289.

### *I*

**Idoui T et Karam N.E., 2008.** Lactic acid bacteria from Jijel's butter: isolation, identification and major technological traits. *Grasas. Y. Aceites.* **59** (4) : 361-367.

### *K*

**Kamaly K et Marth M.E.H. (1989).** Enzyme Activities of lactic Streptococci and Their Rôle in Maturation of Cheese: A review. *Journal of Dairy Science.* **72** : 1945-1966.

**King, N. (1948).** Modifications of the Voges–Proskauer test for rapid colorimetric determination of acetylmethylcarbinol plus diacetyl in butter cultures. *Dairy Industry.*

13-800. Cité par **Dal Bello B, Cocolin L, Giuseppe Z, Field D, Cotter PD, Hill C. (2012).** Technological characterization of bacteriocin producing *Lactococcus lactis* strains employed to control *Listeria monocytogenes* in cottage cheese. *International Journal of Food Microbiology*. 153, 58-68.

**Kumari A, Makeen K, Garg A.P, Marotta F, Gupta C, et Divya. (2009).** Effet of the bacteriocin produced by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* CCSUB202, on mode of action of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* MTCC3038. *International Journal Probiotic Prebiotic*. 4 (3): 1-6.

### *ℒ*

**Labioui H, Elmoualdi L, El Yachioui M, et Ouhssine M. (2005).** Sélection de souches de bactéries lactiques antibactériennes. *Bulletin Society Pharmaceutica Bordeaux*. 144: 237-250.

**Lacrampe J.L et Weber F. (1973).** Teneur en diacétyle de levains et caillés maigres fabriqués à partir de bactéries lactiques concentrées, congelées, conservées sous azote liquide. *Lait*. 528. 491-518.

**Lairini S, Beqqali N, Bouslamti R, Belkhou R, et Zerrouq F. (2014).** Isolement des bactéries lactiques à partir des produits laitiers traditionnels Marocains et formulation d'un lait fermenté proche du Kéfir. *Afrique Science*. 10 (4) : 267-277.

**Lamontagne M, Claude P. C, Joëlle R-A, Sylvain M, Nancy G, Maryse L, Julie J, et Ismaïl F. (2002).** Microbiologie de lait. In Vignola CL. Science et technologie du lait. Tec & Doc. Lavoisier; Montréal, pp. 75-146.

**Lane C.N et Fox P.F. (1996).** Contribution of starter and Adjunct Lactobacilli to proteolysis in cheddar cheese during ripening. *International Dairy Journal*. 6: 715-728.

**Lane C.V et Fox P.F. (1997).** Role of Strater enzymes during Ripening of cheddar cheese Made From Pasteurized Milk under controlled Microbiological conditions. *International Dairy journal*. 7: 55-63.

**Law J et Haandrikman A. (1997).** Review Article: Proteolytic enzymes of lactic Acid Bacteria. *International Dairy journal*. 7: 1-11.



**Leroy F, et De Vuyst L. (2007).** Bacteriocins from lactic acid bacteria: production, purification, and food applications. *Molecular Microbiology Biotechnologica*. **13** : 194-199.

**Leroy F, et De Vuyst L. (2004).** Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Tre Food Science Technology* **15**: 67-78.

**Luquet F.M. (1985).** Lait et produits laitiers: Vache, brebis, chèvre. Ed. Tec et Doc. Lavoisier. Paris: 630p.

**LudwingW, Schleifer K-H et Whitman X B. (2009). Order: Lactobacillales. InDe Vos P, Garrity G M, Jones D, Krieg N R, Ludwig W,Rainey F A , Schleifer K-H ET WitmanW B. (2009).** Bergey's manual of systematic bacteriology, Second Edition Volume three : the Firmicutes. Springer Dordrecht Heidelberg London New York :464p.

**Lynch C.M , Mc Sweeney P.L.H, Cogan T.M et Drinan F.D. (1997).** Contribution of starter lactococci and non-starter lactobacilli to proteolysis in cheddar cheese with a controlled microflora. *Lait*. **77**: 441-459.

## *M*

**Marroki A, Bousmaha-Marroki L. (2014).** Lactobacilli isolated from Algerian Goat's milk as adjunct culture in dairy product. *Brazilia Archiv Biologica Technology*. **57** (3). 410-420.

**Mechai A, Kirane D. (2008).** L'activité antimicrobienne de bactéries d'acide lactique autochtone bactérie isolée à partir de lait fermenté traditionnel Algérien (Raib). *African Journal Biotechnology*. **16**: 2908-2914.

**Mahaut M, Jeantet R, Brulé G. (2000).** Initiation à la technologie fromagère. Tec & Doc, Lavoisier. Paris : 194p.

**Monnet V, Latrille E, Béal C, et Corrieu G. (2008).** Croissance et propriétés fonctionnelles des bactéries lactiques. In Corrieu G et Luquet F.M. Bactéries lactiques de la génétique aux ferments. Tec & Doc, Lavoisier. Paris, pp. 512-592.

## *N*

**Novel G. (1993).** Les bactéries lactiques. In Leveau J-Y et Bouix M. Microbiologie industrielle : les microorganismes d'intérêt industriel. Edition : Tec & Doc, Lavoisier. Paris, pp.170-330.

## *O*

**Ogunbanwo S.T, Sanni A.I, et Onilude A.A. (2003).** Characterization of bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* F1 and *Lactobacillus brevis* OG1. *African Journal Biotechnology*. **2** (8) : 219-227.

**Ouadghiri M. (2009).** Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés « Lben » et « Jben » d'origine marocaine. Thèse de doctorat de Microbiologie et Biologie Moléculaire. Université Mohammed V. Rabat, faculté des sciences. 132p.

**Ott A, Fay LB, Chaintreau A. (1997).** Determination and origin of the aroma impact compounds of yogurt flavor. *Journal Agriculture Food Chemical*. **45** : 850-858.

**Oyewole OB. (1997).** Lactic fermented food in Africa and their benefits. *Food Control*. **8**: 289 297.

### **P**

**Pernoud S, Fremaux C, Sepulcre A, Corrieu G, Monnet C. (2004).** Effect of the metabolism of urea on the acidifying activity of *Streptococcus thermophilus*. *Journal Dairy Denomination Commun International*. **87**: 550-555.

**Pfeiler E.A, et Klaenmmer T.R. (2007).** The genomics of lactic acid bacteria. *Trends Microbiology*. **12**: 546-553.

**Pilet M.F, Magras C, Federighi M. (2005).** Bactéries lactiques. In Federighi M. Bactériologie alimentaire : compendium d'hygiène des aliments. 2<sup>e</sup> Edition : Economica, pp. 219-239.

**Pointurier H. (1985).** Les fromages. In laits et produits laitiers. Ed. Tec et Doc. Lavoisier. Paris. 630p.

### **R**

**Ramet J.P. (1997).** Technologie comparer des different types de caillé. In le Fromage. ED. Tec et Dec. Lavoisier. Paris, pp. 334-365.

**Raynaud S, Perrin R, Coccagn-Bousquet M, et Loubière P. (2003).** Metabolic and transcriptomic adaptation of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* in response to autoacidification and temperature downshift in skim milk. *Application Environment Microbiology*. **71** (12) : 8016-8023.

### **S**

**Salminen S, Gorbach S, Yuan-Kun L et Benno Y. (2004).** Human Studies on probiotics: What is scientifically proven today? In lactic Acid bacteria: Microbiological and functional Aspects. Eds salimen, S., von Wright, A. and Ouwerhand A., New york Dekker M, pp. 515-530.

**Savadogo A, et Alfred ST. (2011).** La flore microbienne et les propriétés fonctionnelles des yaourts et laits fermentés. *International Journal Biologyca Chemical Science*. **5** (5): 2057-2075.

**Shockman GD, Hältje JV. (1994).** Microbial peptidoglycan (murein) hydrolases. *In: New Comprehensive Biochemistry*. **27**. Bacteria/ Cell Wall (JM Ghuysen and R Hakenbeck Eds) Elsevier, Amsterdam. 131-166

### *T*

**Thomson J, Gentry, Weeks CH. (1994).** Métabolisme des Bactéries lactiques. Sucres nominale In De Roissart. H et Luquet. FM. Éd. L'aspect de bactéries Fondamentaux et technologique. Volume 1. Lorica : uriage, pp.239-290.

**Tsakalidou E, Zoidou E, Kalantzopoulos G. (1992).** Esterase activities of cell-free extracts from strains of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* from traditional Greek cheese. *Journal Dairy Research*, **59** : 111-113.

### *W*

**Wouters J.T.M. Ayad E. H. E, Hugenhaltz J, et Smit G. (2002).** Microbes from raw milk for Fermented dairy products. *International Dairy Journal*. **12** : 91-109.

### *y*

**Yelnetty A, Purnomo H, Purwadi, Mirah A. (2014).** Biochemical characteristics of lactic acid bacteria with proteolytic activity and capability as starter culture isolated from spontaneous fermented local goat milk. *Journal of natural sciences*. **4** (10). 137-147

## Annexe I

**Tableau I : Caractéristiques des bactéries lactiques (Axelsson, 2004)**

caractéristiques	Bacilles				Coques							
	<i>Carnobacterium</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Aerococcus</i>	<i>Enterococcus</i>	<i>Lactococcus</i>	<i>Vagococcus</i>	<i>Leuconostoc</i>	<i>Oenococcus</i>	<i>Pediococcus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Tetragenococcus</i>	<i>Weissella</i>
Formation des tétrades	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Production de gaz	-	±	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+
Croissance à 10°C	+	±	+	+	+	+	+	±	-	+	+	+
Croissance à 45°C	-	±	-	+	-	-	-	±	±	-	-	-
Croissance à 6.5% NaCl	ND	±	+	+	-	-	±	±	-	+	+	±
Croissance à 18% NaCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Croissance à pH 4,4	ND	±	-	+	±	±	±	+	-	-	-	±
Croissance à pH 9,6	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-
Acide lactique	L	D,L,DL	L	L	L	D	L,DL	L	L	L	L	D,DL

**Tableau 05 : Les différentes caractéristiques de bactéries lactiques (Axelsson, 2004)**

# Annexe I

---

## La coloration de Gram

### Réalisation de frottis

- déposer sur une lame une goutte d'eau.
- Prélèvement d'une colonie pure de la culture bactérienne et la déposer sur la goutte d'eau.
- Faire un étalement de colonies avec l'anse de platine de façon à obtenir un étalement de 1 à 2cm.
- Séchage et une fixation en portant la lame au dessus de la flamme du bec bunsen.

### Coloration de gram

- Déposer quelques gouttes de violet de gentiane sur le frottis préparé, laisser agir 30s à 1min.
- Appliquer le lugol qui est un fixateur, laisser agir 20s.
- Décolorer rapidement en versant l'alcool sur la lame.
- Rincer avec l'eau distillée.
- Recolorer en appliquant la fuschine, laissé agir 30s à 1min.
- Rincer et sécher en utilisant le papier absorbant.
- Déposer une goutte d'huile à immersion sur le frottis coloré.
- Observation sous microscope optique à l'objectif (Gx100).

(Guiraud, 2003).

## Annexe II

---

**Tableau I : Morphologie des souches lactiques étudiées**

Morphologie	Souche	Mode de regroupement
Bacille	6	Cocobacille en chainettes
	7	Bacilles, isolées, en chainettes
	10	Bacilles, individuels, en chainettes
	17	Bacilles isolées, en chainettes, en amas
	31	Bacilles, individuels, en chainettes
Cocci	16	Cocci isolées, en diplocoques, en chainettes

## Annexe II

**Tableau II : Suivi du pH en fonction du temps à 1%**

Temps Souches	0h	6h	18h	24h
6	6,89	6,71	6,49	6,45
7	6,93	6,82	6,65	6,20
10	6,88	6,87	6,73	6,7
16	6,87	6,85	6,78	6,68
17	6,84	6,81	6,72	6,70
31	6,87	6,71	6,43	6,36

**Tableau III : Suivi du pH du lait en fonction du temps à 5%**

Temps Souches	0h	6h	18h	24h
6	6,72	5,71	4,73	4,59
7	6,75	5,70	4,99	4,87
10	6,78	5,81	5,19	4,90
16	6,80	6,68	6,15	6,08
17	6,80	5,88	5,70	5,69
31	6,73	6,62	5,85	5,73

## Annexe II

**Tableau IV : Suivi de l'acidité Dornic (°D) du lait en fonction du temps à 1%**

Temps Souches	0h	6h	18h	24h
6	19	21	22	24
7	17	18	24	20
10	17	18	19	21
16	18	19	19	20
17	18	19	19	21
31	17	19	22	26

**Tableau V: Suivi de l'acidité Dornic (°D) du lait en fonction du temps à 5%**

Temps Souches	0h	6h	18h	24h
6	20	37	81	90
7	19	36	76	80
10	18	35	71	72
16	17	24	40	41
17	17	38	45	45
31	18	26	44	47



## Annexe II

**Tableau VI: Calcule du  $\Delta$  pH des cultures à 1%**

$\Delta$ pH Souche	6h	18h	24h
6	0,18	0,4	0,44
7	0,11	0,28	0,73
10	0,01	0,15	0,18
16	0,02	0,09	0,19
17	0,03	0,12	0,14
31	0,16	0,44	0,51

**Tableau VII: Calcule du  $\Delta$  pH des cultures à 5%**

$\Delta$ pH Souche	6h	18h	24h
6	1,01	1,99	2,13
7	1,05	1,76	1,88
10	0,97	1,59	1,88
16	0,12	0,65	0,72
17	0,92	1,1	1,11
31	0,11	0,88	1

## Annexe II

**Tableau VIII : Suivi du pH de différentes combinaisons**

Temps Combinaison	0h	6h	18h	24h
S <sub>6</sub> S <sub>7</sub>	6,890	6,589	4,584	4,564
S <sub>6</sub> S <sub>10</sub>	6,890	6,561	4,630	4,568
S <sub>7</sub> S <sub>10</sub>	6,90	6,577	4,613	4,581
S <sub>6</sub> S <sub>7</sub> S <sub>10</sub>	6,87	6,484	4,578	4,562

**Tableau IX : Suivi de l'acidité Dornic (°D) des différentes combinaisons**

Temps Combinaisons	0h	6h	18h	24h
S <sub>6</sub> S <sub>7</sub>	20	23	97	99
S <sub>6</sub> S <sub>10</sub>	20	23	94	100
S <sub>7</sub> S <sub>10</sub>	19	24	110	96
S <sub>6</sub> S <sub>7</sub> S <sub>10</sub>	21	27	100	102

## Annexe II

**Tableau X : Moyenne des diamètres des zones de protéolyse**

Souche	Observation	Diamètre de zone de protéolyse (mm)			Moyenne de diamètre de zone de protéolyse
		Essai 1	Essai 2	Essai 3	
6	Croissance avec protéolyse	21	28	23	24
7	Croissance avec protéolyse	34	24	24	27,33
10	Croissance avec protéolyse	25	20	24	23
16	Croissance avec protéolyse	19	29	22	23,33
17	Croissance avec protéolyse	24	28	29	27
31	Croissance avec protéolyse	12	21	10	14,33

## Annexe II

---

**Tableau XI : Résultats du test VP (VPI+VPII) des souches lactiques étudiées**

Test Souche	VPI+VPII
6	-
7	-
10	-
16	-
17	-
31	-

## Annexe II

**Tableau XII : Suivi du pH pendant 24h du Raib fabriqué**

Temps Produits	0h	6h	18h	24h
Essai 1	6,89	5,099	4,653	4,672
Essai 2	6,89	5,44	4,57	4,53
Essai 3	6,89	5,46	4,468	4,474

**Tableau XIII : Suivi de l'acidité Dornic pendant 24h du Raib fabriqué**

Temps Produits	0h	6h	18h	24h
Essai 1	20	57	80	84
Essai 2	20	53	85	87
Essai 3	20	52	86	88
Moyenne	20	54	83	86

## Annexe III

### Compositions des milieux de cultures utilisés

#### Gélose MRS (Liofilchem, Italie)

Composition	Quantité g/l
Peptone de viande	10
Extrait de viande	10
Extrait de levure	5
Glucose	20
Triammonium Citrate	2
Acétate de sodium	5
Sulfate de magnésium	0,2
Sulfate de manganèse	0,05
Phosphate dipotassique	2
Agar	13

pH=6,2+/-0,2

Autoclave à 121°C/15min

#### Bouillon MRS (BIOKAR, France)

Composition	Quantité g /l
Polypeptone	10
Extrait de viande	10
Extrait autolytique de levure	5
Glucose	20
Tween 80	1,08
Phosphate dipotassique	2
Acétate de sodium	5
Citrate d'ammonium	2
Sulfate de magnésium	0,2
Sulfate de manganèse	0,05

pH=6,4+/- 0,2

Autoclave à 121°C/15min

## **Résumé**

Nous avons sélectionnés six souches de bactéries lactiques issues de deux produits laitiers artisanaux (le beurre et lben) de la région de Bejaia.

Nous avons par la suite examiné chez ces souches certains caractéristiques d'intérêt technologiques afin d'évaluer leur potentiel pour un éventuel usage industriel. Nous nous sommes intéressés à l'évaluation des activités technologiques (acidifiante, protéolytique, et aromatisante). Les résultats enregistrées ont montrées que ces souches sont douées d'un pouvoir acidifiants, protéolytiques, considérables d'où l'utilisées en fabrication de lait fermenté type Raib.

**Mots clés :** Bactéries lactiques, produits laitiers artisanaux, activités technologiques, Raib

## **Abstract**

We selected six strains of lactic acid bacteria from two artisanal dairy products (butter and lben) in the Bejaia region.

We have subsequently examined some of the technological characteristics of these strains in order to assess their potential for industrial use. We were interested in the evaluation of the technological activities (acidifying, proteolytic, and flavoring). The result recorded showed that these strains are endowed with an acidifying, proteolytic and considerable, when they are used in the manufacture of fermented milk type Raib.

**Keywords :** Lactic acid bacteria, artisanal dairy products, activities technological, Raib