

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaïa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département Microbiologie
Spécialité : Microbiologie Appliquée



Réf :.....

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

MASTER

Thème

***Mise au point d'un produit fermenté Probiotique de type
L'ben enrichien figues sèches***

Présenté par :

M^{elle} SEMSAR Saloua & M^{elle} SELLAM Melissa

Soutenu le : 13 Septembre 2022

Devant le jury composé de :

Mme FARADJI Samia
Mme BENDALI Farida
Mme TETILI Fatiha

MCA présidente
Professeur Encadreur
MCB Examinatrice

Année universitaire : 2021 / 2022

Remerciements

Tout d'abord, nous exprimons nos remerciements au bon Dieu de nous avoir donné le courage et la force pour terminer notre travail et pour sa bienveillance.

Nous tenons également à exprimer nos vifs remerciements et notre sincère gratitude à notre promotrice Pr. BENDALI Farida pour la qualité de son encadrement, sa constante disponibilité, son sérieux, ses encouragements et ses conseils très précieux. Nous sommes très reconnaissantes de la confiance qu'elle nous accordé.

Nous tenons, d'autre part, à remercier Mme FARADJI Samia et Mme TETILI Fatiha Pour bien vouloir nous accorder de leur temps précieux, pour commenter, discuter et examiner notre travail.

Notre vive gratitude s'adresse à tous ceux qui ont participé de loin ou de près, à la réalisation de notre mémoire de fin de cycle.

Dédicace

J'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail :

*A ma très chère mère, qui me donne toujours l'espoir de vivre et qui n'a jamais cessé de prier
pour moi.*

*A mon très cher père, pour ses encouragements, son soutien, surtout pour son amour et son
sacrifice afin que rien n'entrave le déroulement de mes études.*

*A mes chers frères **Lounes** et **Billal***

*Toute la famille **SEMSAR** grands et petits
A mon fiancé **Kousaila** et ma chère copine **Mahdia***

*A tous mes amis qui m'ont toujours aidé, et à qui je souhaite plus de succès
Sans oublier ma binôme **Melissa** et sa famille et tous les étudiants de la promotion
Microbiologie Appliquée
2021 / 2022.*

Saloua

Dédicace

*Je dédie ce travail qui est le fruit des années d'études qui sont pleines de réussite, d'amour,
de joie et de bonheur,*

A toute ma famille et à tous ceux que j'aime.

Spécialement à ceux qui m'ont aidé dans toutes les phases de ma vie.

*Ma chère mère qui s'est sacrifiée pour mon éducation et pour mon bien être, et mon cher père
pour son soutien tout au long de mon parcours et son encouragement ; toutes les lettres ne
seraient trouver les mots qu'il faut, et tous les mots ne seraient exprimer ma gratitude.*

*A ma sœur et mes chers frères « **Amel, Fouad, Wail ,Halim** ».*

*A Mon mari « **Omar** ».*

*A ma chère copine « **Rosa** » « **Roumaissa** »*

*A Ma binôme « **Saloua** » et toute sa famille.*

A tous mes amis proches et la promotion de Microbiologie Appliquée 2021-2022.

A tous ceux qui m'aiment. A tous ceux que j'aime.

Que Dieu les garde tous et les protège.

Melissa

Liste des abréviations

BCPL: BromoCresol Pourpre Lactose

FAO/WHO: Food and Agriculture Organization

FTAM : Flore Totale Aérobie Mésophile

FTAM : Flore totale aérobie mésophile

JORA : Journal Officiel de la République Algérienne

Lb : *Lactobacillus*

Lc : *Lactococcus*

Ln : *Leuconostoc*

m : masse

MRS : de Man Rogosa et Sharpe

N : Normalité

PCA: Plate Count Agar

S : *Staphylococcus*

Ssp : subspecies

UFC : Unité Formant Colonie

V : Volume

VF : Viande Foie

VRBL : Violet cristal Rouge neutre Bile Lactose

WHO: World Health Organization

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Quelques laits fermentés autour du monde.	03
02	Caractéristiques des souches probiotiques.	06
03	Structure d'une figue fraîche	11
04	Protocole de détermination de l'acidité Dornic du lait.	15
05	Protocole des dilutions décimales.	16
06	Carte géographique illustrant le lieu approximatif d'approvisionnement en figues sèches.	20
07	Schéma des différentes étapes de préparation des précultures de la souche de <i>Lactobacillus paracasei</i> .	22
08	Schéma des différentes étapes de formulation du lait fermenté.	23
09	Teneur en levures et moisissures des figues sèches.	28
10	Résultats de suivi du pH durant la fermentation du lait	29
11	Résultats de suivi de l'acidité Dornic durant la fermentation du lait	30
12	Résultats du dénombrement de la FTAM, des levures et moisissures dans le lait fermenté.	31
13	Résultats du dénombrement de la flore lactique dans le lait fermenté.	32
14	Résultats du dénombrement de la flore lactique dans le lait pasteurisé.	33

Liste des Tableaux

N°	Titre	Page
I	Composition de la figue sèche en éléments nutritionnels (Composition moyenne pour 100 g net).	12
II	Résultats des analyses microbiologiques .	25
III	Principales caractéristiques physico-chimiques du lait cru.	24
IV	Résultats des analyses microbiologiques du lait cru .	25
V	Résultats des analyses microbiologiques des figues sèches.	27

Sommaire

Introduction	1
---------------------------	----------

Partie bibliographique

I. Lait fermenté	2
I.1. Définition	2
I. 2. Types de lait fermenté	2
II. Lait fermenté synbiotique.....	3
II.1. Définition.....	3
II.2. Probiotique.....	4
II.2.1. Définition.....	5
II.2.2. Critères de choix d'un probiotique.	5
II.2.3. Mécanisme d'action des probiotiques... ..	5
II.2.3. Rôles des probiotiques... ..	5
II.2.4. Réglementation concernant l'utilisation des probiotiques.....	5
II.2.5. <i>Lactobacillus paracasei</i> en tant que probiotique	5
II.3. Prébiotique.....	6
II.3.1. Définition et applications.....	6
II.3.2. Nature et origine	6
II.3.3. Figue sèche en tant que prébiotique.....	6
III. Historique et développement du concept synbiotique.....	7

Partie pratique

Matériel et méthodes

I. Collecte du lait cru	10
II. Analyse du lait cru	11
II.1. Analyses physico-chimiques	11
II.2. Analyses microbiologiques.....	11
III. Préparation du lait cru.....	12
III.3. Traitement thermique du lait cru	13
III.4. Vérification l'efficacité du traitement thermique	13
IV. Préparation des figes sèches.....	14
IV.1. Approvisionnement en figes sèches	14
IV.2. Stérilisation des figes sèches.....	15
IV.2.1. Nettoyage	15
IV.2.2. Découpage.....	15
IV.2.3. Stérilisation	15

V. Préparation de la culture probiotique	17
VI. Formulation du lait fermenté synbiotique	18
VI.1. Mélange des ingrédients.....	18
VI.2. Analyse physico-chimique du lait fermenté.....	18
VI.3. Analyse microbiologiques du lait fermenté	18
VI.4. Analyse physico-chimiques du lait fermenté durant la conservation.....	18
VI.5. Analyse microbiologiques du lait fermenté durant la conservation.....	18

Résultats et discussion

I. Résultats des analyses du lait cru	19
I.1. Résultats des analyses du physico-chimiques du lait cru.....	.19
I.1.1. Mesure du pH et détermination de l'acidité Dornic.....	19
I.2. Vérification de la qualité microbiologique du lait	19
I.2.1. Résultats du dénombrement/recherche des différentes flores.....	.19
II. Estimation de la charge microbienne des figes sèches	20
III. Mise au point d'un lait fermenté enrichi en figes sèches à base de lait cru	21
IV. Résultats des analyses microbiologiques du lait fermenté à base de lait cru.....	22
V. Mise au point d'un lait fermenté enrichi en figes sèches à base d'un lait frais pasteurisé.....	23

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Partie bibliographique

Introduction

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

Les lactobacilles sont des bactéries Gram-positives, micro-aérophiles se trouvant couramment dans une grande diversité environnementale, y compris les environnements laitiers riches en éléments nutritifs, les muqueuses humaines, ainsi que les niches écologiques naturelles telles que les plantes et le sol. Le genre *Lactobacillus* appartient au phylum des Firmicutes, la classe des *Bacilles*, et l'ordre des *Lactobacilles* (**Barrangou et al., 2012**).

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

De plus, l'utilisation des prébiotiques, telles que les fibres alimentaires, pour améliorer la survie et la colonisation des bactéries probiotiques et assurer le maintien et l'équilibre de la microflore intestinale reçoit un intérêt considérable (**Ziemer et Gibson, 1998**).

Cette étude a comme objectifs :

- Etablir un diagramme qui décrit les étapes de fabrication du produit fini « lait fermenté synbiotique a base de deux principaux ingrédients, *Lb paracasei* comme probiotique et les figes sèches comme source de prébiotiques » ainsi les caractérisations microbiologiques, physico-chimiques de notre échantillon.
- Déterminer le protocole adéquat pour la mise au point du produit (rapide, simple, efficace).

I. Lait fermenté

I.1 Définition

Le terme lait fermenté rassemble les différents laits ou produits laitiers à base de lait écrémé ou non écrémé. Les laits fermentés sont préparés à partir de lait cru de différentes espèces animales, qui ont subi un traitement thermique au moins équivalent à celui de la pasteurisation, fermenté par l'action de micro-organismes appropriés et inoffensifs lesquels doivent être viables, actifs et abondants dans le produit jusqu'à la date limite de sa consommation (**décret n°88-1203,1988**).

Historiquement, les laits fermentés ont été produits pour prolonger la durée de conservation du lait. Ces aliments ont persisté au cours des siècles et ils ont souvent évolué d'un niveau artisanal à la fabrication à grand échelle avec l'utilisation des « *Starter* » (cultures spécifiques) (**Cogan *et al.*, 1997; Oberman et Libudzisz, 1997**).

La fabrication des laits fermentés suit le même processus. Seuls les ferments et les paramètres de fermentation (température, durée, taux d'ensemencement) varient, le lait fermenté peut être conservé au réfrigérateur à une température de 4 °C à 6°C, comme tous les produits laitiers frais. Une fois entamé, le lait fermenté doit être consommé très rapidement, sous trois à quatre jours (**Dyssli,1989**).

Divers types de laits fermentés existent à travers le monde : yaourt, l'ben, rayeb, kéfir, <koumis, ...etc. Leur nature dépend du type du lait utilisé, le prétraitement, les conditions ultérieures (**Tamime et Marschall, 1997 ; Stanely, 1998**).

La répartition de quelques laits fermentés est illustrée sur la figure 1.



Figure 01 : Quelques laits fermentés autour du monde

(<https://www.Kphilus.com/origine/lait.fermenté-probiotiques-et-microbiotes>)

I.2. L’ben

Le l’ben est un lait fermenté, résultant du développement d’une flore lactique qui dégrade le lactose en acide lactique ce qui fait de lui un lait acidifié (Veisseryre, 1979). Sa préparation artisanale est simple, le lait est abandonné à lui-même jusqu’à sa coagulation, celle-ci se fait à température ambiante et dure 24 à 48 h selon la saison, le barattage qui lui succède dure 30 à 40 minutes, à la fin du barattage, on ajoute généralement un certain volume d'eau (environ 10% du volume du lait), chaude ou froide selon la saison (Ouadghiri, 2009).

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

II. Lait fermenté synbiotique

Le lait et les produits laitiers ont également servi de vecteurs d’ingrédients alimentaires fonctionnels qui trouvent leur voie sur le marché, et de source riche pour le développement d’un nombre important de variétés d’ingrédients novateurs qui sont connus pour leur effet bénéfique sur la santé (Schaafsma et Stejins, 2000).

II.1. Définition

Le lait fermenté synbiotique est tout lait fermenté qui renferme à la fois des probiotiques et des prébiotiques (Schrezenmeir et Verse, 2001). Les synbiotiques sont essentiellement une combinaison synergique de deux approches « probiotiques » et « prébiotiques » (Chibbar et al., 2017). Un probiotique peut être associé à un substrat, qui lui est spécifique, appartenant à la classe des prébiotiques, et produit un effet bénéfique sur la santé de l'hôte. Un fructo-oligosaccharide (FOS) peut être associé spécifiquement à une bifidobactérie ou bien du lactitol à un lactobacille (Gibson, 1995). Cette combinaison devrait permettre une survie plus longue des bactéries dans l'aliment, avec en conséquence une date limite de consommation plus tardive, une stimulation de la croissance et l'implantation des bactéries exogènes et une activation de leur métabolisme dans le colon (Bergmark, 1998).

Les aliments fonctionnels qui contiennent à la fois des prébiotiques et des probiotiques ont suscité l'intérêt de l'industrie laitière en raison de preuves scientifiques liées à leurs bienfaits sur la santé (Roberfroid, 2000 ; Gibson et al., 2004 ; Bourrie et al., 2016 ; Chen et al., 2019).

II.2. Probiotiques

II.2.1. Définition

Selon le comité mixte de la FAO/WHO (2001), les probiotiques sont des microorganismes vivants qui lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, confèrent un avantage pour la santé de l'hôte. Des études sur les aliments et boissons probiotiques sont largement rapportées dans la littérature (Kandylis et al., 2016).

Les probiotiques sont des microorganismes vivants qui peuvent être intégrés dans différents types de produits, y compris les médicaments et les compléments alimentaires. Les espèces de *Lactobacillus* et de *Bifidobacterium* sont les plus utilisées comme probiotiques.

II.2.2 Critères de choix des probiotiques

Il est fondamental que les probiotiques soient capables de résister aux conditions gastro-intestinales sévères, où elles sont soumises à des amylases dans la cavité buccale, à l'acidité dans l'estomac, aux sels biliaires et au suc pancréatique dans le duodénum (Hernandez et al., 2012). En effet, la limitation majeure des probiotiques réside dans le fait qu'ils doivent avoir une viabilité élevée dans le produit, rester vivants dans l'intestin et exercer leurs effets bénéfiques (Chen et al., 2005).

Partie bibliographique

Les probiotiques présentent des propriétés qui sont variables selon l'espèce ou la souche microbienne. Le choix des probiotiques dépend de ces propriétés et du type d'utilisation. Selon le rapport de la **FAO/OMS (2002)**, pour qu'une souche soit reconnue comme étant « probiotique », une évaluation du produit basée sur plusieurs critères doit être effectuée suivant les recommandations suivantes :

En plus de l'innocuité et des propriétés fonctionnelles (survie, adhésion, colonisation, production de composés antimicrobiens, immuno-stimulation...), des critères technologiques sont également pris en considération dans la sélection des souches probiotiques. Selon **Saarela et al. (2000)**, ces critères sont de bonnes propriétés sensorielles, une résistance aux phages, une viabilité durant le traitement technologique et une stabilité dans le produit et durant le stockage. Cependant, l'aptitude de ces souches à être industrialisées n'est souvent vérifiée qu'après leur sélection sur les critères de fonctionnalité ; mais les souches les plus fonctionnelles ne sont pas forcément des souches industrialisables.

Toutefois, le critère de viabilité ou de survie demeure essentiel dans la sélection des probiotiques. Ainsi, la capacité de survie des probiotiques chez l'hôte après leur ingestion, dépend de leur résistance intrinsèque, des facteurs de l'hôte et du véhicule par lequel ils ont été ingérés (**Marteau et Shanahan, 2003**). Parmi les facteurs de l'hôte qui réduisent la survie des probiotiques, on cite principalement l'acide gastrique, l'oxygène, le potentiel redox, les sels biliaires, les autres sécrétions digestives (mucus, défensines) et l'interaction avec la flore endogène (**Godward et al., 2000 ; Marteau et Shanahan, 2003**). Compte tenu de tous ces facteurs, il est donc recommandé de consommer les probiotiques à des doses appropriées pour obtenir les effets bénéfiques escomptés (1×10^9 UFC/jour). Contrairement à *Lactobacillus acidophilus*, les souches de *Bifidobacterium*, à l'exception de quelques souches comme *Bifidobacterium lactis* BB12, survivent difficilement au pH gastrique et à l'acidité de l'aliment durant le stockage (**Trindade et Grosso, 2000**). C'est une des raisons de leur faible industrialisation, bien que présentant un fort potentiel probiotique. Pour augmenter leur taux de survie, les probiotiques doivent être ingérés pendant le repas, ou bien protégés dans des gélules ou par micro-encapsulation (**Kailasapathy, 2002**). Le choix des vecteurs dans lesquels ou par lesquels sont ingérés les probiotiques est aussi important (tablettes, capsules de gélatine, laits fermentés). La figure 02 illustre les principales caractéristiques des souches probiotiques.

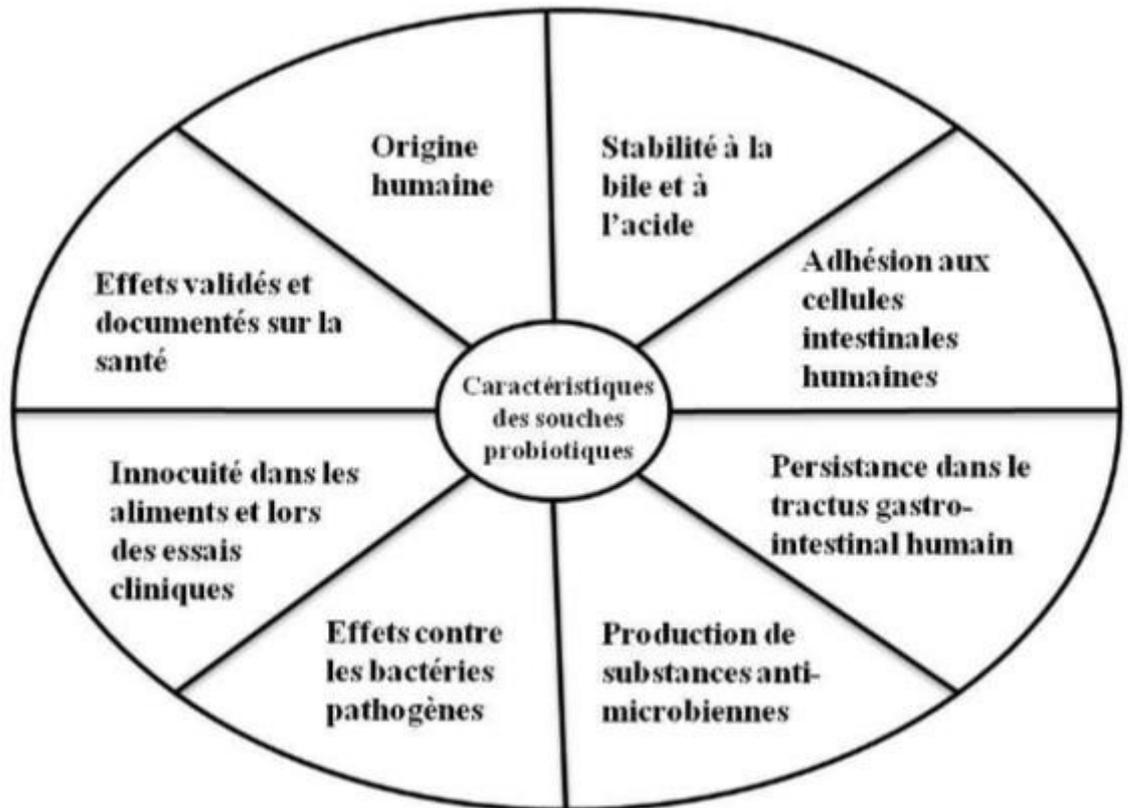


Figure 02 : Caractéristiques des souches probiotiques (Saarela et al., 2000).

II.2.3. Intérêt des probiotiques

Les probiotiques affectent l'écosystème intestinal en stimulant les mécanismes immunitaires muqueux et les mécanismes non immunitaires par antagonisme et par compétition avec les agents pathogènes potentiels. On pense que ces phénomènes induisent la plupart des effets positifs, y compris la réduction de l'incidence et de la sévérité des diarrhées, pathologie la plus universellement reconnue pour bénéficier de l'usage des probiotiques. Les probiotiques réduisent le risque de cancer du côlon dans des modèles animaux, probablement en supprimant l'activité de certaines enzymes bactériennes qui pourraient augmenter le niveau des procarcinogènes, mais ceci n'a pas été démontré chez l'humain (**World Gastroenterology Organisation, 2011**).

❖ Effets immunologiques positifs

- Activation des macrophages locaux pour augmenter la présentation des antigènes aux cellules B et augmenter la production d'immunoglobulines sécrétoires A (IgA) à la fois sur un plan local et systémique.
- Modulation du profil des cytokines.

- Induction d'une hypo- réponse aux antigènes alimentaires.
- ❖ **Effets non immunologiques**
 - Digestion des aliments et compétition avec les agents pathogènes pour les nutriments.
 - Modification du pH local de manière à créer un environnement défavorable aux agents pathogènes.
 - Production de bactériocines pour inhiber les agents pathogènes.
 - Élimination des radicaux superoxydes.
 - Stimulation de la production de mucus par l'épithélium.
 - Amélioration de la fonction de barrière intestinale.
 - Compétition pour l'adhésion avec les agents pathogènes.

II.2.4. Réglementation concernant l'utilisation des probiotiques

En fonction de l'application des probiotiques (médicamenteuse ou alimentaire), les conditions de mise sur le marché sont définies. Les probiotiques sont utilisés dans la production des aliments fonctionnels ou utilisés sous forme de compléments alimentaires, ces « Aliments santé », se situant à la frontière entre le médicament et l'aliment traditionnel, sont considérés comme des denrées alimentaires et sont régis par la législation (**FAO/WHO, 2001 ; Boudouhi et al., 2005 ; Ninane et al., 2009**).

Depuis le début des années 2000, le marché mondial des aliments probiotiques a connu un fort développement et une croissance en continu particulièrement en Europe. Cette dynamique est notamment soutenue par le lien existant entre alimentation et les bénéfices santé (**FAO/WHO, 2001 ; Ninane et al., 2009**).

Les aliments fonctionnels sont destinés à être consommés dans le cadre d'une alimentation équilibrée et variée. Le fait qu'ils contiennent des composés biologiquement actifs qui exercent un effet bénéfique sur une ou plusieurs fonctions cibles de l'organisme, en plus des effets nutritionnels de base, de manière à améliorer la santé et le bien-être et/ou à réduire le risque de maladie, les rendent particuliers (**Boudouhi et al., 2005**).

L'Agence Canadienne d'Inspection des Aliments (ACIA), a énoncé dans le guide d'étiquetage et de publicité sur les aliments, les lignes directrices spécifiques en matière d'étiquetage s'appliquant à tous les produits renfermant des microorganismes probiotiques. La description appropriée d'un produit probiotique doit inclure les points suivants (**ACIA, 2009 ; Bouchefra, 2012**) :

- **Identification de la souche** : toute allégation relative à un probiotique doit être accompagnée du genre, l'espèce et la souche du microorganisme. Par souci d'uniformité, il est recommandé que la souche soit identifiée au moyen du numéro attribué par une banque de culture reconnue internationalement par exemple l'« American Type Culture Collection » (ATCC).
- **Déclaration de la quantité** : Le nombre de ou des microorganismes probiotiques présents dans le produit doit être indiqué et exprimé en unités formant colonies (UFC) dans une quantité déterminée de l'aliment. Cette déclaration doit figurer à côté du tableau de la valeur nutritive ou de la liste des ingrédients.
- **Liste des ingrédients** : Tout aliment contenant un ou plusieurs microorganismes probiotiques doit contenir une liste des ingrédients. La figure 2 illustre l'évaluation des probiotiques à usage alimentaire telle qu'écrite dans le rapport du comité mixte d'experts de la FAO/OMS.

II.2.5 *Lacticaseibacillus paracasei* en tant que probiotique

Lacticaseibacillus paracasei est une espèce homofermentaire facultatif et un habitant commun du tractus intestinal humain. Les souches de *Lb. paracasei* se trouvent aussi naturellement dans les légumes fermentés, le lait et la viande. Les souches de cette espèce sont utilisées dans de nombreux produits alimentaires, tels que les laits fermentés traditionnels et le fromage. Certaines souches de cette espèce sont également utilisées dans les aliments probiotiques et les compléments alimentaires (**Kandler et Weiss, 1986 ; Mitsuoka, 1996**). **Bendali et al. (2011a ; 2014)** ont montré l'effet anti-invasion d'une souche de *Lacticaseibacillus paracasei* ssp. *paracasei* à l'égard de *Listaria monocytogenes*, *E. coli* et *Salmonella enterica* Typhimurium. De même, **Bendali et al. (2011b)** ont démontré que la même souche *Lb. paracasei* ssp. *Paracasei* était capable de restaurer les muqueuses intestinale et colique suite à des lésions causées par une infection à *Staphylococcus aureus* faisant suite à une antibiothérapie. Des résultats similaires ont été obtenus avec d'autres souches de *Lactobacillus* qui adhèrent sur différentes lignées cellulaires (Hep-2 et Caco) (**Servin, 2004**).

II.3. Prébiotique

II.3.1. Définition des prébiotiques

Le concept « prébiotique » a été développé pour la première fois en 1995 par Gibson et Roberfroid (**Coussement, 1996 ; Gibson et al., 2000**). Selon la FAO et l’OMS, les prébiotiques sont définis comme des « ingrédients alimentaires non digestibles qui affectent de manière bénéfique l’hôte en stimulant sélectivement la croissance et l’activité d’un nombre restreint de bactéries dans le côlon » (**Roberfroid, 2000 ; Gibson et al., 2004**).

II.3.2. Caractéristiques d’un prébiotique

Pour classer un ingrédient alimentaire comme prébiotique, il doit (**Gibson et al., 2017**) :

- Pas être hydrolysé, ni absorbé dans la partie haute du tube digestif,
- Etre un substrat sélectif d’une ou plusieurs bactéries bénéfiques, commensales du côlon, dont la croissance est alors stimulée et/ou le métabolisme activé.
- En conséquence, induire une composition plus saine de la flore intestinale.

II.3.3. Nature et origine des prébiotiques

En fonction de leur nature chimique, les prébiotiques sont répartis en trois catégories : des dérivés saccharidiques (disaccharides, oligosaccharides et polysaccharides), des protéines ou des peptides et des lipides (**Fric, 2007**).

La plupart des prébiotiques sont des glucides non digestibles tels que les fibres et les oligosaccharides, les fructanes et les galactanes (**Hill et al., 2014 ; Gibson et al., 2017**).

Les plus utilisés sont les oligosaccharides (**Delzenne, 2003**). Ces derniers sont des oligomères d’hexoses. Ce sont des nutriments aux propriétés nutritionnelles intéressantes. Ils peuvent être trouvés naturellement dans les aliments, notamment dans les fruits, les légumes ou les céréales, ou produits par biosynthèse à partir de sucres ou de polysaccharides, et ajoutés aux aliments en raison de leurs propriétés sensorielles ou nutritionnelles (**Gibson, 2004**).

II.3.4. Rôle et application des prébiotiques

Contrairement aux probiotiques, le concept de prébiotique est assez récent. Il a été développé suite aux travaux de **Gibson et Roberfroid (1995)** qui ont mis en évidence une stimulation sélective de la croissance de certaines bactéries (Lactobacilles) dans le côlon de sujets ayant ingéré des oligofructoses et de l’inuline (**Gibson et al., 1995**). Ainsi, les prébiotiques ont été définis comme étant des ingrédients alimentaires non digestibles par l’hôte, mais, qui stimulent sélectivement la croissance et/ou l’activité de certaines bactéries du côlon capables d’améliorer la santé de l’hôte.

D'une part, cette définition souligne l'importance de la relation intrinsèque entre les effets bénéfiques des prébiotiques et leurs effets sur les bactéries au niveau du colon. Les prébiotiques agissent donc par différents mécanismes, le dénominateur commun étant l'effet sur le microbiote intestinal endogène (**M. Rasdhari et al., 2008 ; L Makras et al., 2006 ; F et al Atassi et al., 2010**). D'autre part, elle résume les critères sur lesquels s'appuyer pour identifier les ingrédients alimentaires comme prébiotiques. Pour être considéré comme un prébiotique, un ingrédient alimentaire ne doit pas être ni hydrolysé ni absorbé dans tractus gastro-intestinal supérieur, qui peut servir de substrat pour les bactéries (**j. Lupein- Meilleur, 2012**). Il doit alors être sélectif pour un nombre limité de bactéries endogènes, altérant ainsi le microbiote intestinal en améliorant sa composition. En fin de compte, il doit avoir des effets intestinaux ou systématiques bénéfiques sur la santé de l'hôte (**M. Roberfroid et al., 2010 ; G Kelly, 2008 ; G Kelly., 2009**).

La combinaison de prébiotiques et de probiotiques permet d'obtenir des aliments synbiotiques (**Markowiak et al., 2017**). Consommer des aliments synbiotiques s'est avéré plus efficace pour la santé humaine (**McFarland et Goh.,2018**). Cette combinaison est importante pour assurer un bon développement de la saveur et texture des produits laitiers fermentés fonctionnels. Il s'agit de leur capacité de produire des quantités variables d'acides organiques, de composés volatils et d'exo-polysaccharides dans le processus de fabrication (**Radha et al., 2016**) l'utilisation de ce concept est basé sur des observations montrant une survie accrue des micro-organismes probiotiques lors du passage dans le tractus gastro-intestinal supérieur en présence de prébiotiques (**Chibbar et al.,2017 ;McFarland et Goh,2018**), ce qui autorise l'installation efficaces des probiotique dans le colon (**Sanchez et al. 2017**). Certain des prébiotiques ont la capacité de modifier les caractéristiques métaboliques des probiotiques grâce aux composés sélectifs qui produisent (**Sanchez et al., 2017**).

II.4. Figue sèche en tant que source de prébiotiques

II.4.1. Description de la figue

À partir des fruits secs mûrs de *Ficus carica*, de la famille des *Moraceae* et grâce à un procédé de séchage, la figue sèche peut être obtenue, cette dernière confère pour l'Homme des nutriments importants (**FAO, 2010**). Le séchage a pour objectif de réduire fortement les divers processus participant à la dégradation et à la décomposition de ce fruit, afin de le stabiliser par inhibition des réactions chimiques indésirables (**Okos et al., 1992**). Elle peut être séchée soit par méthode traditionnelle (séchage solaire) ou dans des séchoirs (**Karathaanos et al., 1997**).

La figue est un fruit dont le poids est entre 30 à 65 g. Elle est composée d'une peau colorée et une partie interne (figure 3).

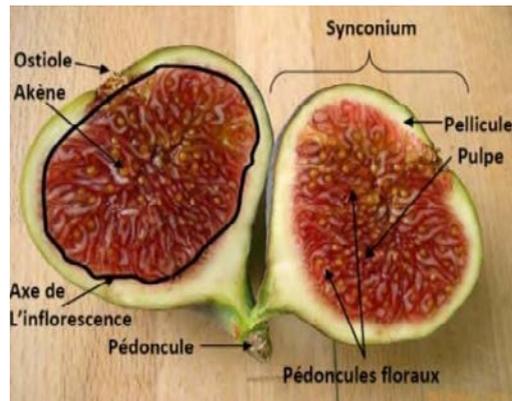


Figure 03 : Structure d'une figue fraîche (Haesslein et oreillen, 2008).

II.4.2. Composition chimique de la figue sèche

La figue sèche est très importante en termes de nutrition (tableau I) en raison de sa teneur élevée en glucides, fibres alimentaires, acides aminés essentiels, composés phénoliques, minéraux et vitamines A, B1, B2 et C. A l'état frais, les figues contiennent en moyenne 80 % d'eau et 13 % de sucre. Après séchage, la teneur en sucre dépasse 55 %, donc elle devient très énergétique (El Khaloui, 2010).

La composition nutritionnelle de la figue sèche la rend particulière, du fait de sa haute teneur en fibres à des effets laxatifs, la figue est conseillée dans le cas des maladies du tube digestif puisqu'elle favorise et facilite le transit intestinal (El Khaloui, 2010).

La figue sèche peut être considérée comme prébiotique si l'absorption de ses composants n'a pas lieu dans la partie supérieure du système digestif, elle agit comme substrat pour la croissance et/ou la stimulation des bactéries bénéfiques du côlon ; elle améliore la composition de la microflore intestinale et elle induit des effets bénéfiques pour la santé de l'hôte (Miyazatz et al., 2010).

II.4.3. Composition microbienne de la figue

Une charge microbienne élevée des figues sèches reflète des conditions d'hygiène non conformes qui peuvent être dues à : la méthode de préparation traditionnelle, les conditions de transport, le stockage dans des lieux à forte humidité et la contamination par les mains des vendeurs ou des acheteurs au cours de l'exposition du produit, la contamination peut atteindre environ 10^7 – 10^8 UFC/g (Akbas, 2008) où on trouve *E. coli* (Al Askari et al., 2012) et surtout les spores de *Bacillus cereus* comme des contaminants majeurs de ce fruit (Frazier et Westhoff, 1988). Les levures et les moisissures sont d'autres microorganismes qui se trouvent

sur la figue sèche en grand nombre, en raison de leur capacité à utiliser une grande variété de substrats et leur tolérance relative aux basses températures, faibles pH et activité d'eau (Al Askari et al., 2012).

Tableau I : Composition de la figue sèche en éléments nutritionnels (Composition moyenne pour 100 g net) (Favier et al., 1993).

Constituant	Teneur
Energies (Kcal)	224
Eau (g)	25
Glucides (g)	53
Protéines (g)	3,2
Lipides (g)	1,2
Fibre (g)	8
Vitamines C (mg)	1
Vitamines A (mg)	0,046
Vitamines B1 (mg)	0,08
Vitamines B2 (mg)	0,09
Vitamines B3 (mg)	0,80
Vitamines B5 (mg)	0,44
Vitamines B6 (mg)	0,22
Calcium (mg)	160
Potassium (mg)	770
Sodium (mg)	14
Phosphore (mg)	71
Magnésium (mg)	62
Fer (mg)	2,5

II.5. Synbiotiques

L'association de prébiotiques et de probiotiques permet d'obtenir un aliment synbiotique (Markowiak et al., 2017). La consommation d'aliments synbiotiques s'est avérée plus efficace pour la santé humaine que la consommation de probiotiques ou de prébiotiques uniquement (McFarland et Goh, 2018). Certains prébiotiques ont la capacité de modifier le profil métabolique des probiotiques, grâce aux composés sélectifs qu'ils produisent (Sánchez et al., 2017 ; Fernando et al., 2018). Ce qui permet une implantation efficace des probiotiques dans le côlon (Sánchez et al., 2017).

III. Historique et développement du concept synbiotique

Le terme « synbiotique » est apparu en 1995, sous l'impulsion de Gibson et Roberfroid. Il désigne la combinaison d'un probiotique et d'un prébiotique.

Partie bibliographique

En 2019, un groupe de scientifiques placé sous les auspices de l'association scientifique internationale pour les probiotiques et les prébiotiques (ISAPP) a actualisé la définition et les applications des synbiotiques. Elle survient après la révision successive de la définition des termes probiotiques (2014) et prébiotiques (2017). Ainsi la nouvelle définition décrit les synbiotiques comme « un mélange composé de micro- organismes vivants et de substances alimentaires utilisées de manière sélective par les micro- organismes hôte avec un effet bénéfique pour la santé de l'hôte ».

Considérant qu'un synbiotique n'est pas qu'une simple combinaison d'un probiotique et d'un prébiotique, les chercheurs distinguent désormais deux types de synbiotiques (**Swanson KS et al 2020**). :

- Les synbiotiques complémentaires : les composants des probiotiques interviennent indépendamment et sont source de bienfaits pour la santé.
- Les synbiotiques a effet synergique : les probiotiques et les prébiotiques agissent ensemble pour procurer des atouts santé. On obtiendrait par exemple un synbiotique a effet synergique en combinant des bactéries bénéfiques comme les Lactobacilles, leur aliment préféré, qui favorise leur croissance de manière sélective plutôt que de profiter à tous les membres bénéfiques dû microbiote intestinal. Ainsi, les bactéries probiotiques et les prébiotiques travaillent conjointement (et non indépendamment) pour améliorer notre santé.

Partie pratique

I. Collecte du lait cru

Dans le but de mettre au point le lait fermenté synbiotique à base de lait cru, le choix de ce lait est primordial pour garantir ses qualités nutritionnelle et hygiénique.

Pour lancer une production de lait fermenté synbiotique à base de *Lactocaseibacillus paracasei* et enrichi en figues sèches, une collecte de lait cru a été réalisée au niveau du village Tizi-lkhmiss (wilaya de Bejaia). Cette collecte avait pour objectif la sélection d'un lait de bonne qualité microbiologique qui permettra d'avoir une bonne production de lait fermenté.

Une traite manuelle a été réalisée à 6 h du matin dans des conditions propres. La mamelle a été nettoyée à l'eau savonneuse, rincée plusieurs fois à l'eau propre puis essuyée à l'aide d'une serviette propre. La première dizaine de jets de lait a été éliminée pour éviter les contaminations provenant du trayon, les autres sont recueillies dans des flacons stériles et transportés vers le laboratoire pour analyses. A partir de deux vaches différentes, deux échantillons ont été prélevés pour analyse, afin de sélectionner l'échantillon de lait à retenir pour la fabrication du lait fermenté.

L'analyse du lait cru a été effectuée le même jour de la traite, dans un délai ne dépassant pas 6 h de conservation à froid (**Guiraud, 2003**).

II. Analyse du lait cru

Une fois arrivé au laboratoire, une série de tests permettant d'estimer la qualité hygiénique du lait et la capacité de sa transformation en lait fermenté a été effectuée.

II.1. Analyses physico-chimiques

II.1.1. Mesure du pH

Le pH est mesuré à l'aide d'un pH mètre (BANTE, Chine) en plongeant l'électrode de ce dernier dans un bécher contenant 10 mL du lait à analyser.

II.1.2. Détermination de l'acidité Dornic (°D)

La détermination de l'acidité titrable consiste à la quantification de l'acide lactique contenu dans un produit. Elle est déterminée à partir d'un titrage acido-basique en utilisant

une solution basique (solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) à N/9) (NF V 04-385, 1971). Avec une pipette, 10 mL de lait ont été introduits dans un bécher, 2 à 3 gouttes d'une solution de phénolphtaléine ont été ajoutées. Par la suite, un titrage avec une solution d'hydroxyde de sodium N/9 a été effectué jusqu'à l'apparition d'une légère couleur rose stable (Figure 04) (Guiraud, 1998).

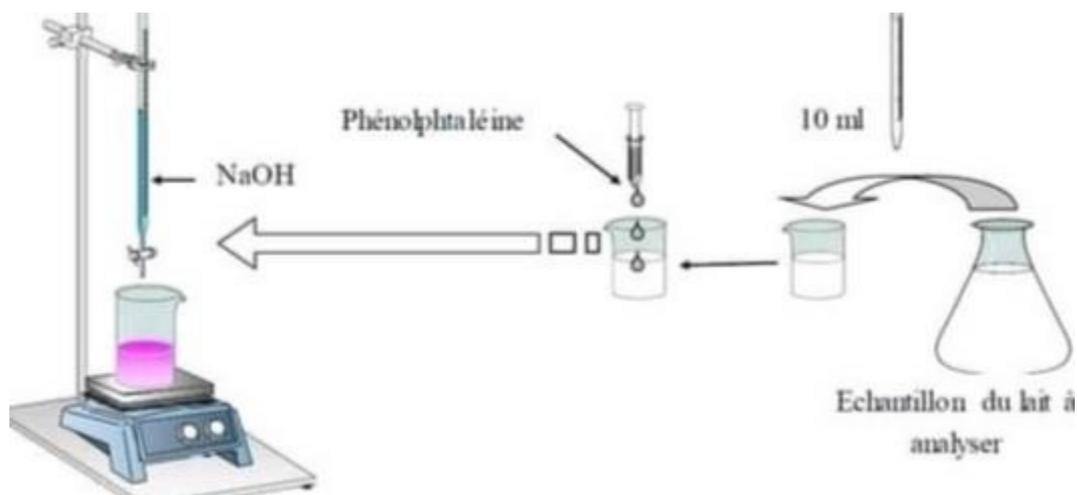


Figure 04 : Protocole de détermination de l'acidité Dornic du lait (Guiraud, 1998).

Le degré Dornic ($^{\circ}\text{D}$) correspond au nombre de 1/10^e de millilitres de soude N/9 pour assurer le virage de la phénolphthaléine, elle est exprimée comme suit (Guiraud, 1998) :

$$A (^{\circ}\text{D}) = V \times 10$$

Acidité ($^{\circ}\text{D}$) : Quantité d'acide lactique (1 $^{\circ}\text{D}$ = 0,1 g d'acide lactique). V - NaOH : Volume de la solution de NaOH N/9 utilisé.

10 : Volume de lait titré (mL).

II.2. Tests rapides

II.2.1. Test de lactofermentation

Ce test est réalisé en incubant 10 mL de lait cru à 37° pendant 24 h. La lecture consiste en l'observation de la coagulation du lait et l'aspect du caillé (Guiraud et Galzy, 1980).

II.2.2. Test de réductase

Des échantillons de 10 mL de lait cru sont recueillis dans des tubes à essais stériles auxquels 1 mL d'une solution de bleu de méthylène à 5 % (m/v) (BIOCHEM, Canada) est introduit. Les tubes sont agités manuellement puis placés dans un Bain Marie (GEL, Allemagne) à 37°C. L'observation de la décoloration du lait est effectuée au bout de 30 min, 1 h 30 min et de 3h (Guiraud et Galzy, 1980).

II.3. Analyses microbiologiques

Les analyses microbiologiques consistent en une recherche des salmonelles et des entérocoques ainsi qu'un dénombrement des flores suivantes :

- Flore totale aérobie mésophile (FTAM)
- Flore lactique
- Coliformes totaux et fécaux
- *Staphylococcus aureus*

II.3.1. Préparation des dilutions décimales

La préparation des dilutions pour les analyses microbiologiques se fait par la mise en évolution de 1 mL de la solution mère (lait) dans 9 mL d'eau physiologique, ce qui donne la dilution 10^{-1} puis une série de dilutions décimales successives est réalisée en prélevant 1 mL de la dilution 10^{-1} dans 9 mL d'eau physiologique et ainsi de suite jusqu'à la dilution 10^{-8} . La figure 5 illustre le mode de préparation des dilutions décimales (J.O.R.A, 2004).

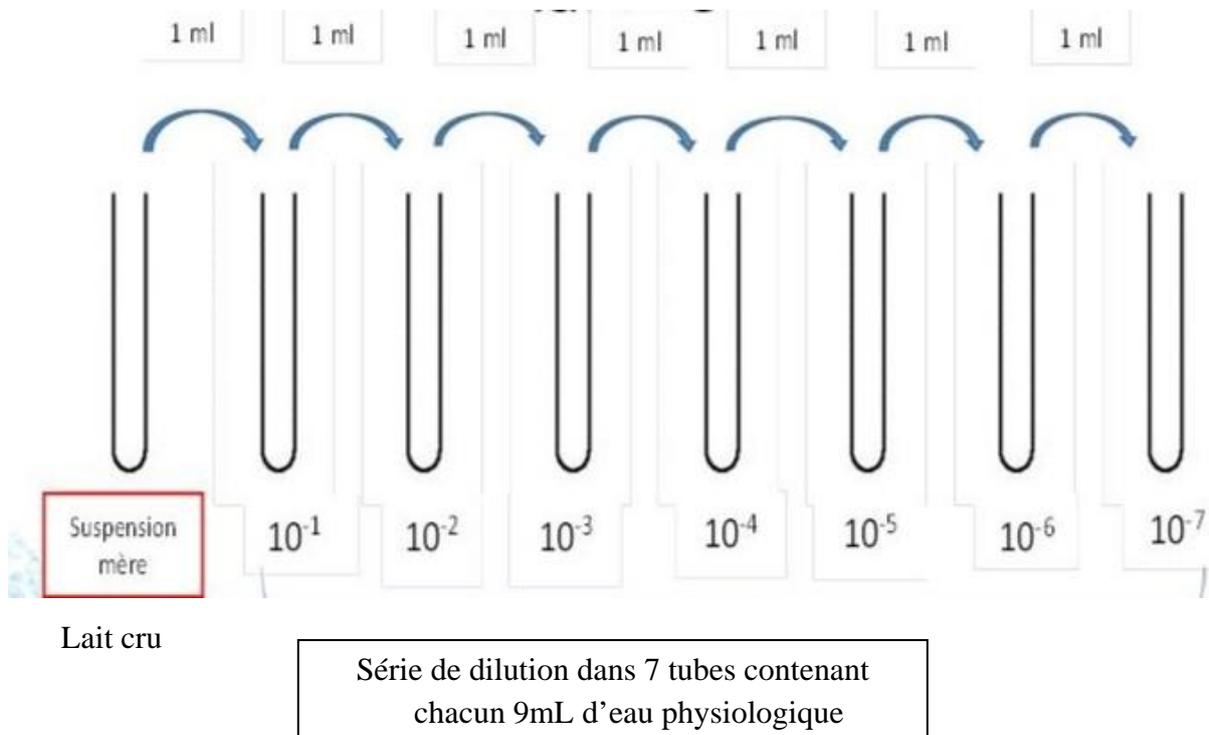


Figure 05 : Protocole de préparation des dilutions décimales (J.O.R.A, 2004).

II.3.2. Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM) à 30°C

Le dénombrement de la FTAM est effectué par un ensemencement en masse d'un volume de 1mL des dilutions 10^{-5} et 10^{-6} dans la gélose PCA (Plate Count Agar), suivi d'une incubation à 30°C pendant 72°C (**Guiraud, 2003**).

Cette méthode est la plus courante et la plus pratique pour établir le niveau de contamination globale du lait (**FAO, 1995**). Ces bactéries se traduisent par l'apparition de colonies blanchâtres en masse et à la surface de la gélose PCA (**Ghazi et Niar, 2011**).

II.3.3. Dénombrement de la flore lactique

Le dénombrement de la flore lactique est effectué par ensemencement en masse d'un volume de 1 mL des dilutions 10^{-3} et 10^{-4} dans de la gélose MRS (de Man Rogosa et Sharpe) à pH= 6,5 suivi d'une incubation à 30°C/48 – 72 h (**J.O.R.A., 2004**).

II.3.4. Dénombrement des coliformes

II.3.4.1. Coliformes totaux

Le dénombrement s'effectue par un ensemencement en masse d'un volume de 1 mL des dilutions 10^{-4} et 10^{-5} dans la gélose VRBL (gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre) suivi d'une incubation à 37°C/24-48h (**Guiraud et Rosec, 2004**).

II.3.4.2. Coliformes fécaux

Par contre, le dénombrement des coliformes fécaux s'effectue par un ensemencement en masse d'un volume de 1 mL des dilutions 10^{-4} et 10^{-5} dans la même gélose (VRBL) suivi d'une incubation à 44°C/24-48h (**J.O.R.A., 2004**).

II.3.5. Dénombrement de *Staphylococcus aureus*

Le dénombrement de *Staphylococcus aureus* est effectué par un ensemencement en masse d'un volume de 1 mL des dilutions 10^{-1} et 10^{-2} dans la gélose Chapman suivi d'une incubation à 37°C/24 h (**Guiraud et Galzy, 1980**).

II.3.6. Recherche des entérocoques

Partie pratique

Un volume de 100 µL de lait cru est ensemencé dans un tube contenant 5 mL de bouillon de Roth (HIMEDIA, Inde) puis incubé à 37°C/24 h. A partir d'un tube de Roth positif (trouble), 500 µL sont repiqués dans un tube contenant 5 mL de milieu EVA-Litsky (Liofilchem, Italie) puis incubés à 37°C/24 h. Le test de confirmation est effectué par un isolement en stries à la surface de la gélose Bile Esculine Agar (BEA, TMMEDIA, Inde) et les boîtes sont incubées à 37°C/24 h (Guiraud et Galzy, 1980).

Tableau II. Flores dénombrées, milieu, dilution et technique utilisés lors de l'analyse microbiologique du lait cru (J.O.R.A., 2004).

Flore	Milieu	Dilution	Technique d'ensemencement	Conditions d'incubation
Flore Totale Aérobie Mésophile (FTAM)	PCA	10 ⁻⁵ - 10 ⁻⁶	1 mL de la dilution en masse	30°C/72 h
Flore lactique (<i>Lactobacillus</i>)	MRS pH= 5,4	10 ⁻³ - 10 ⁻⁴		30°C/48-72 h
Coliformes totaux	VRBL	10 ⁻⁴ - 10 ⁻⁵		37°C/48-72 h
Coliformes fécaux	VRBL	10 ⁻⁴ - 10 ⁻⁵	1 mL de la dilution en masse	44°C/48-72 h
Entérocoques	Roth, Litsky puis BEA	10 ⁻³ - 10 ⁻⁴	Inoculation puis isolement en stries à la surface du BEA	37°C/48-72 h
Staphylococcus Aureus	Baird - Parker +additif	10 ⁻¹ - 10 ⁻²	1 mL de dilution en masse	37°C/48-72 h

II.3.7. Recherche des Salmonelles

La méthode utilisée pour la recherche des Salmonelles est décrite dans l'Arrêté du 23 janvier 2005 publié dans le J.O.R.A. n° 42 du 15 juin 2005.

a- Pré-enrichissement

Un volume de 25 mL de lait à analyser est introduit dans un flacon contenant 225 mL de bouillon nutritif préalablement stérilisé. La préparation est homogénéisée au vortex et incubée à 37°C pendant 16 à 20 heures.

b- Enrichissement

L'enrichissement proprement dit, se fait à partir du milieu de pré-enrichissement en introduisant 10 mL en double dans des flacons de 90 mL de bouillon au sélénite sodium (0,1%) puis le flacon est incubé à 37°C /24h.

c- Isolement

Il se fait par ensemencement en stries sur le milieu gélosé Hektoen, les boîtes sont incubées à 37°C / 24 h.

Remarque :

Le comptage des colonies (dénombrement), de toutes les flores, est effectué sur les boîtes qui ont un nombre compris entre 10 et 300 colonies et le nombre de micro-organismes par mL est calculé à l'aide de la formule suivante (**J.O.R.A. n° 43, 2004**) :

$$N = \sum C / V (n1 + 0,1 n2)$$

$\sum c$: somme totale des colonies comptées.

n1 : nombre de boîtes comptées dans la première dilution.

n2: nombre de boîtes comptées dans la seconde dilution.

V : volume de solution déposée (1 mL).

d : facteur de dilution à partir duquel les premiers comptages ont été obtenus.

III. Préparation du lait cru

III.1. Traitement thermique du lait cru

Le lait cru, destiné à la fabrication du L'ben, est réparti stérilement dans des flacons de 250 mL stériles à raison de 45 mL/flacon. Le lait est traité thermiquement à 80°C/20 min au Bain Marie (GEL, Allemagne) puis incubé à l'étuve à 30°C/2 h. Cette opération (traitement thermique-incubation) est répétée 2 fois. Une fois le traitement thermique est terminé, le lait est conservé au réfrigérateur.

III.2. Vérification de l'efficacité du traitement thermique

Elle se base sur le dénombrement de la FTAM suivant la méthode décrite plus haut.

IV. Préparations des figes sèches

IV.1. Approvisionnement en figes sèches

Notre étude comprend la zone montagneuse située à une altitude de 900m (**Bounaïme, Béni Djellil**), à 35 km au Sud-Ouest de la Wilaya de Bejaïa, elle représente l'une des grandes zones où la production de la fige est importante et performante au séchage.



Figure 06 : Carte d'Algérie illustrant le lieu approximatif d'approvisionnement en figes (Porte de Bejaia), Info pratique sur WWW.porte Bejaia .dz (Consulté le 13 Aout 2022).

IV.2. Estimation de la charge microbienne des figes avant stérilisation

IV.2.1. Découpage des figes

Il est important de couper les fruits en morceaux en utilisant des instruments stériles pour empêcher les micro-organismes d'entrer en contact avec le fruit (**James et Kuipers, 2003**).

IV.2.2. Préparation des dilutions décimale

La préparation des dilutions pour les analyses microbiologiques se fait par la mise en évolution de 1mL de la solution mère (9 mL d'eau physiologiques + 1 g de figes), ce qui donne la dilution 10⁻¹, puis réalisation de la deuxième dilution et ainsi de suite.

IV.2.3. Dénombrement de la FTAM, coliformes et *Staphylococcus aureus*

Le dénombrement de ces flores est effectué de la même manière que celle décrite pour le lait.

IV.3. Estimation de la charge microbienne les figes sèches après stérilisation.

IV.3.1. Nettoyage des figes

Les figes sèches sont soigneusement nettoyées pour éliminer les salissures résiduelles ou pesticides. Ce nettoyage consiste à les laver dans un seau d'eau.

IV.3.2. Découpage des figes

Les figes sont coupées en petits cubes, tranchés finement. Les instruments utilisés sont stériles pour empêcher les micro-organismes d'entrer en contact avec les fruits.

IV.3.3 Stérilisation des figes

La stérilisation consiste en un blanchiment sous la vapeur. C'est une opération assez simple, il suffit d'un filtre et couvercle métalliques ou au moins résistants à la chaleur. Nous devons faire bouillir une petite quantité d'eau dans une casserole et mettre les petits morceaux de figes dans la passoire il doit arriver au-dessus de la casserole. Laisser reposer le filtre quelques minutes. Ensuite, tourner de temps en temps le fruit afin qu'il soit uniformément exposé à la chaleur (**James et Kuipers, 2003**).

Après avoir exposé les figes sèches à la vapeur pendant 10 minutes, elles sont conditionnées dans deux flacons stériles, l'un sera utilisé pour l'opération suivante, et le deuxième en revanche, sera utilisé comme témoin de la stérilité du fruit. Après remplissage, les flacons sont rincés à l'eau du robinet pour les refroidir (**James et Kuipers, 2003**).

V. Préparation de la préculture

Pour préparer la préculture, des colonies fraîches de la souche lactique utilisée sont repiquées dans 10 mL de bouillon MRS (pH=6,5) puis incubées à 30°C/ 24 h. Après croissance, un dénombrement de la souche lactique est effectué puis, une centrifugation est

Partie pratique

réalisée à 8000g/ 20 min et le culot est re-suspendu après lavage, avec de l'eau physiologique dans 10 mL de lait pasteurisé. Une fois le lait est inoculé et avant son incubation, le pH est mesuré et l'acidité Dornic est déterminée (Hidja et Lahbib, 2018).

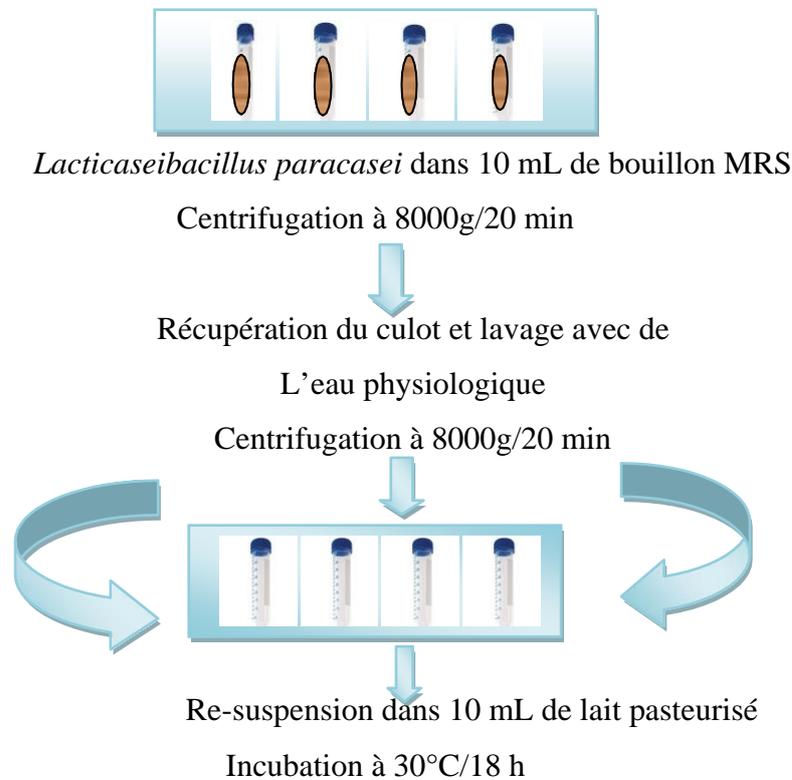


Figure 07 : Schéma des différentes étapes de préparation des pré-cultures de *Lacticaseibacillus paracasei*.

VI. Formulation du lait fermenté

Du lait fermenté à base de lait cru a été formulé en utilisant 5 mL de la préculture de *Lacticaseibacillus paracasei* préparée dans 45 mL de lait pasteurisé et 4 % (m/m) de figues sèches stériles (figure 8).

En parallèle et afin de suivre la croissance de la souche probiotique dans le lait fermenté, du lait frais pasteurisé est utilisé (figure 8). Dans les deux types de lait fermenté formulé, un dénombrement de la flore lactique est effectué par ensemencement en masse d'un volume de 1 mL des dilutions 10^{-7} et 10^{-8} dans de la gélose MRS, suivi d'une incubation à 30°C/72 h. Tout au long de la période d'incubation, des analyses physicochimiques (pH et acidité Dornic) et microbiologiques sont effectuées à intervalles réguliers.

2 g de figes sèches ajouté stérilement



45 mL de lait cru/pasteurisé

+ 5 mL de la préculture (avec figes sèches)



45 mL de lait cru/pasteurisé

+ 5 mL de la préculture (sans figes sèches)

Figure 08 : Schéma des différentes étapes de la formulation du lait fermenté.

Résultats et discussion

I. Résultats des analyses physico-chimiques et microbiologiques du lait cru

Les résultats des analyses physicochimiques et microbiologiques du lait cru sont consignés dans les tableaux suivants.

I.1. Mesure du pH et détermination de l'acidité Dornic

Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau III.

Tableau III : Valeurs du pH et de l'acidité Dornic obtenues pour le lait cru

pH	Acidité Dornic (°D)
6,5-6,6	19

Les valeurs du pH varient entre 6,5 et 6,6, qui sont conformes au pH d'un lait de vache normal qui ne doit pas être inférieur à 6,5 ou supérieur à 6,8 (tableau IV).

La valeur normale de l'acidité Dornic d'un lait cru frais se situe dans un intervalle allant de 16 à 18°D. La valeur enregistrée avec nos échantillons est égale à 19°D, légèrement élevée mais restant tolérable.

Tableau IV : Principales caractéristiques physico-chimiques du lait cru (**Bourgeois et al., 1990**).

Paramètre	Valeur
pH à (20°C)	6,6-6,8
Acidité Dornic (°D)	16-18

I.2. Vérification de la qualité microbiologique du lait

I.2.1. Test de lactofermentation

Le caillé formé après 24h d'incubation à 30°C était homogène, blanc et avait une odeur agréable. Un pH de 4,50 a été enregistré. Ces résultats nous indiquent une bonne qualité technologique, le lait analysé est prêt à être transformé.

En effet, le test de lactofermentation permet de déterminer le temps nécessaire au caillage du lait et l'examen des caractéristiques du caillé formé : cet examen peut fournir des

informations importantes sur la flore du lait pour guider son avenir utilisation (**Guiraud et Galzy, 1980**).

I.2.2. Test de réductase

Le lait analysé n'a changé de couleur qu'après 18h d'incubation. Par conséquent, le lait analysé a une bonne qualité microbiologique. En effet, les microorganismes qui se développent dans le lait ont la capacité de réduire le potentiel d'oxydoréduction, grâce à l'action de leurs réductases. La rapidité de la décoloration du Bleu de méthylène lié au métabolisme microbien est proportionnelle au nombre de microorganismes présents : plus l'activité microbienne est forte, plus le temps de blanchiment est court (**Guiraud, 2003**).

I.2.3. Résultats du dénombrement/recherche des différentes flores

Les analyses microbiologiques réalisées consistaient en un dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM), flore lactique, coliformes totaux et fécaux, levures et moisissures et *S. aureus* et une recherche des entérocoques et des salmonelles. Les résultats des analyses microbiologiques sont exprimés en UFC/mL et représentés dans le tableau V. Selon le **JORA (2017)**, les résultats sont considérés comme satisfaisants par rapport aux normes Algériennes.

Tableau V : Résultats du dénombrement/recherche des différentes flores dans le lait

Flore	Dilution	T°C / Durée d'incubation	Milieu	Méthodes d'ensemencement	Résultats (UFC/mL)
FTAM	10 ⁻⁴ /10 ⁻⁵ /10 ⁻⁶	30°C /72h	PCA	Ensemencement en masse (1mL)	4,5.10 ⁵
Flore lactique	10 ⁻⁴ /10 ⁻⁵	30°C/72h	MRS	Ensemencement en masse (1mL)	10 ⁵
Coliformes totaux	10 ⁻⁴ /10 ⁻⁵	37°C/48h	VRBL	Ensemencement en masse (1mL)	10 ⁴
Coliformes fécaux	10 ⁻³ /10 ⁻⁴ /10 ⁻⁵	44°C/48h	VRBL	Ensemencement en masse (1 mL)	10 ³
Entérocoques	Solution mère	37°C/72 h	BEA	Ensemencement en masse (0,1 mL)	Présence
<i>S.aureus</i>	10 ⁻¹ /10 ⁻²	37°C/24 h	Chapman	Ensemencement en masse (1mL)	10 ²
Salmonelles	Solution mère	37°C /24 h	EPT Bouillon	Inoculation	Absence

➤ **Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM)**

La valeur obtenue ($4,5 \cdot 10^5$ UFC/mL) est considérée comme satisfaisante puisqu'elle ne dépasse pas la norme (10^6 UFC/mL) fixée par la réglementation Algérienne (**J.O.R.A., 2017**). Ceci démontre que la vache est saine et les conditions d'hygiène lors de la traite, de la collecte, ont été respectées.

➤ **Dénombrement des coliformes**

Une charge de 10^4 UFC/mL en coliformes totaux a été observée dans le lait analysé, une valeur un peu supérieure à celle recommandée (10^3 UFC/mL) édictée par **Guiraud (1998)**. Une charge de 10^3 UFC/mL a été retrouvée en coliformes fécaux qui est une valeur égale à la norme (10^3 UFC/mL) fixée par la réglementation Algérienne (**J.O.R.A., 2017**).

Selon **Larpent (1990)**, la présence des coliformes signe une mauvaise hygiène au cours de la traite, ainsi qu'une mauvaise qualité microbiologique de l'eau utilisée pour le nettoyage de la mamelle et des ustensiles ou de la machine à traire. Dans notre cas, la traite est manuelle, de ce fait la contamination ne peut provenir que de la mamelle.

➤ **Dénombrement de *Staphylococcus aureus***

La norme Algérienne (**J.O.R.A., 2017**) tolère la présence de *S. aureus* dans le lait avec un taux de 10^3 UFC/mL, le résultat obtenu est conforme à la norme et montre la bonne qualité du lait.

➤ **Dénombrement de la flore lactique**

Selon **Basic et al. (1968)**, le lait cru est caractérisé par une riche biodiversité en bactéries lactiques avec une charge moyenne de $1,7 \cdot 10^5$ UFC/mL. La flore lactique du lait analysé présente une charge de 10^5 UFC/mL qui est une valeur normale, car ces bactéries se retrouvent naturellement dans le lait et peuvent se multiplier lorsque la température est favorable (**Tir Elhadj, 2015**). La richesse d'un lait cru en flore lactique permet son excellente transformation par fermentation.

➤ **Recherche des entérocoques**

La norme Algérienne (**J.O.R.A., 2017**), exige l'absence des entérocoques dans 0,1 mL de lait cru. Nos résultats présentent une non-conformité à la norme avec présence

d'entérocoques. Ces derniers sont des marqueurs d'une ancienne contamination fécale et des indicateurs de manipulations non hygiéniques.

II. Estimation de la charge microbienne des figes sèches

Dans cette étude, des figes sèches, ont été découpées en petits morceaux puis une analyse microbiologique a été réalisée en ajoutant 1 g dans 9 mL d'eau physiologique. Un apport élevé en flore totale ($2,4 \cdot 10^3$ UFC/g) a été enregistré, un taux de $2 \cdot 10^2$ UFC/g en coliformes totaux, et une absence de coliformes fécaux ont été notés. *S. aureus* a été dénombrée à un taux de $6 \cdot 10^2$ UFC/g. Pour les levures et moisissures, une valeur 10^3 ont été obtenues (**tableau VI**).

Tableau VI : Résultats des analyses microbiologiques des figes sèches.

Flore	Milieu	T°C	Nombre (UFC/g)
FTAM	PCA	30	$2,4 \cdot 10^3$
Coliformes totaux	BCPL	37	$2 \cdot 10^2$
Coliformes fécaux	VRBL	44	0
<i>S. aureus</i>	Chapman	37	$6 \cdot 10^2$
Levures et moisissures	Sabouraud	28	10^3

Les résultats présentés dans le **tableau VI**, montrent un apport élevé en flore totale et levures et moisissures ($2,4 \cdot 10^3$ UFC/g et 10^3 UFC/g respectivement). Les résultats ont révélé aussi une absence en coliformes fécaux qui confirment bien l'absence de contamination fécale qui peut avoir lieu lors des différentes manipulations de la fige.

Une étude réalisée par **Al Askari et al. (2012)** où un dénombrement direct pour la flore de la fige sèche a été réalisé a montré des taux en levures de $3,6 \cdot 10^7$ UFC/g et $3,4 \cdot 10^6$ UFC/g en moisissures.

Cette charge importante en levures et moisissures reflète les mauvaises conditions d'hygiène des figes sèches qui peuvent être liées à plusieurs facteurs tels que le stockage dans les lieux à forte humidité, la méthode de préparation traditionnelle, les conditions de transports non conformes et la contamination par les mains des vendeurs ou des acheteurs au cours de l'exposition du produit (**Al Askari et al., 2012**).

III. Mise au point d'un lait fermenté enrichi en figes sèches à base de lait cru

Pour la mise au point du lait fermenté au lait cru, enrichi en figes sèches, ces dernières ont été d'abord traitées thermiquement par blanchiment à la vapeur pour les stériliser. Les résultats du traitement thermique a montré son efficacité. En effet, une absence de toute flore microbienne a été constatée.

III.1. Résultats des analyses physico-chimiques du lait fermenté

Les résultats montrent que le pH (figure 10) du lait fermenté en présence des figes sèches a été de 5,8 tandis que la valeur de l'acidité titrable a été de 70 °D (figure 11). Cette acidité serait le résultat de l'activité métabolique de la souche utilisée et de la flore autochtone du lait cru.

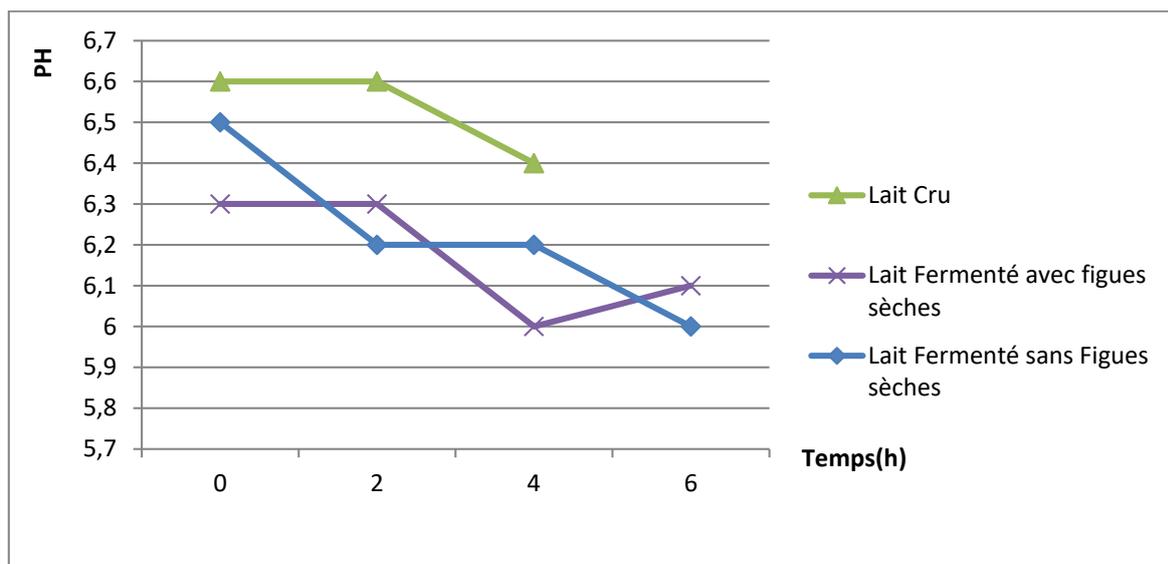


Figure 10 : Résultats du suivi du pH durant la fermentation du lait cru en présence et en absence des figes sèches.

D'après la **figure 10**, on remarque une diminution progressive des valeurs de pH durant les six heures de fermentation pour les deux types de laits fermentés, pour atteindre des valeurs finales allant de 6 à 6,1 respectivement après 6 h.

En comparant les valeurs de pH à 2 h (6,3 et 6,5 respectivement) et 6 h de fermentation (6 et 6,3 respectivement), on remarque que le pH a baissé plus considérablement en présence des figes sèches. Cette observation pourrait être en faveur d'un effet stimulateur

des figues sèches sur l'activité métabolique de la souche bactérienne utilisées, par apport éventuel de fibres jouant le rôle de prébiotiques.

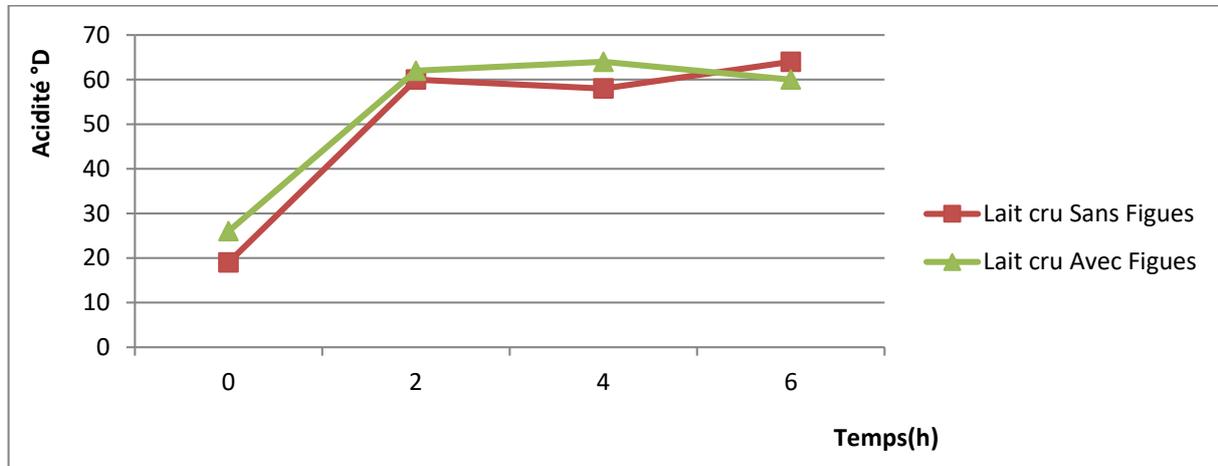


Figure 11 : Résultats de suivi de l'acidité Dornic durant la fermentation du lait

Les valeurs de l'acidité titrable montrent que la baisse du pH des laits fermentés pendant les sixes heures **figure 10** s'accompagne également d'une augmentation de l'acidité titrable (64°D). Après 24 h, l'acidité a atteint une valeur assez remarquable de 70 °D dans le lait fermenté avec figues sèches.

A l'instar de l'abaissement du pH, l'augmentation de l'acidité est également plus importante dans le lait fermenté contenant les figues sèches (*Lb. paracasei*+ figues sèches;) avec des valeurs de 62 °D et 64°D respectivement après 4 h de fermentation.

Selon **Mathieu (1998)**, cette acidité serait due à l'apparition de divers acides organiques, lors de la fermentation du lait, dont le plus abondant est l'acide lactique qui provient de la dégradation du lactose par la flore lactique.

IV. Résultats des analyses microbiologiques du lait fermenté à base de lait cru

Des analyses microbiologiques ont été effectuées au bout de 6 h de fermentation à 30°C. Une légère baisse du taux de la FTAM de $2,5 \cdot 10^{10}$ UFC/mL à 10^{10} UFC/mL (après 6h) a été constatée (figure 12).

Pour les levures et moisissures, des valeurs élevées sont à signaler. Des valeurs de $3 \cdot 10^{10}$ UFC/mL en présence des figues et de 10^{10} UFC/mL en leur absence ont été observées. Ces dernières ont un

pH optimal de croissance compris entre 6,1 et 6,0 et n'étant pas gênées par l'acidité et disposant de saccharose et de lactose résiduels comme source abondante d'énergie, elles peuvent parfaitement se développer dans le lait fermenté et y provoquer des altérations.

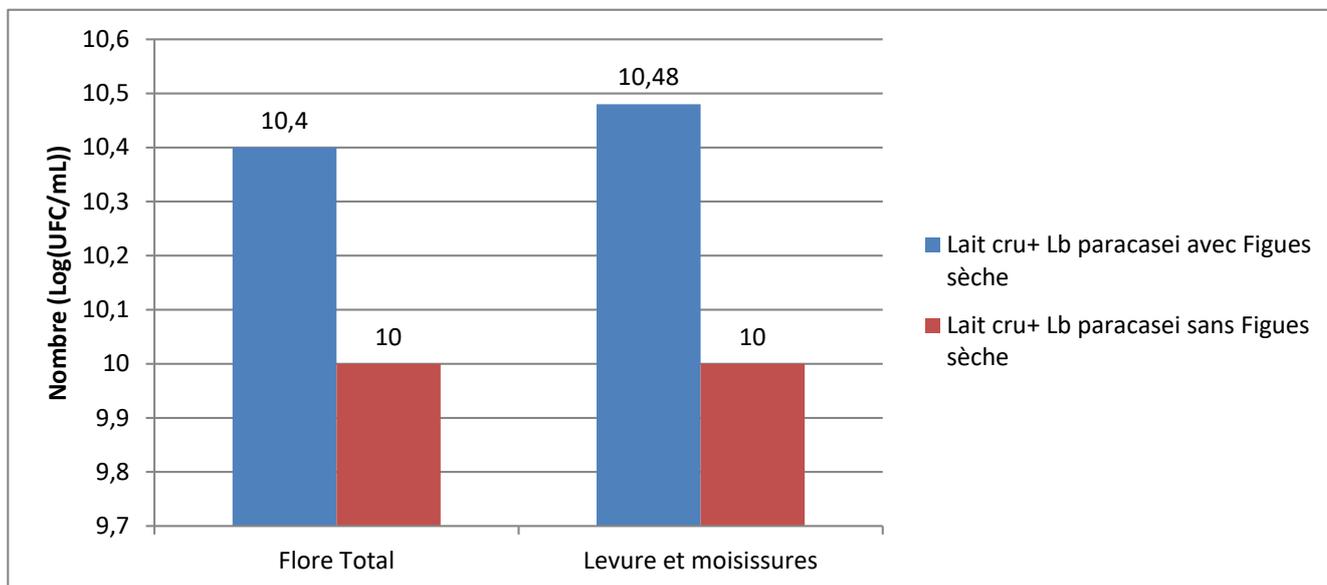


Figure 12 : Résultats du dénombrement de la FTAM, des levures et moisissures dans le lait fermenté.

Les résultats obtenus ont montré une charge importante de l'ordre de $2,5 \cdot 10^{10}$ UFC/mL pour le lait fermenté avec *Lb. paracasei*+figues sèches et une diminution de cette flore dans le lait fermenté sans figues sèches.

Le dénombrement de la FTAM est un bon indicateur permettant de garantir la sécurité sanitaire des produits alimentaires. Un produit alimentaire avec une flore totale trop élevée est considéré comme impropre à la consommation même en absence d'une flore pathogène (Verne-Bourdais et al., 2002).

Les résultats du dénombrement de la flore lactique obtenus au bout de 2 h, 4 h et 6 h de fermentation à 30°C sont présentés sur la figure 13.

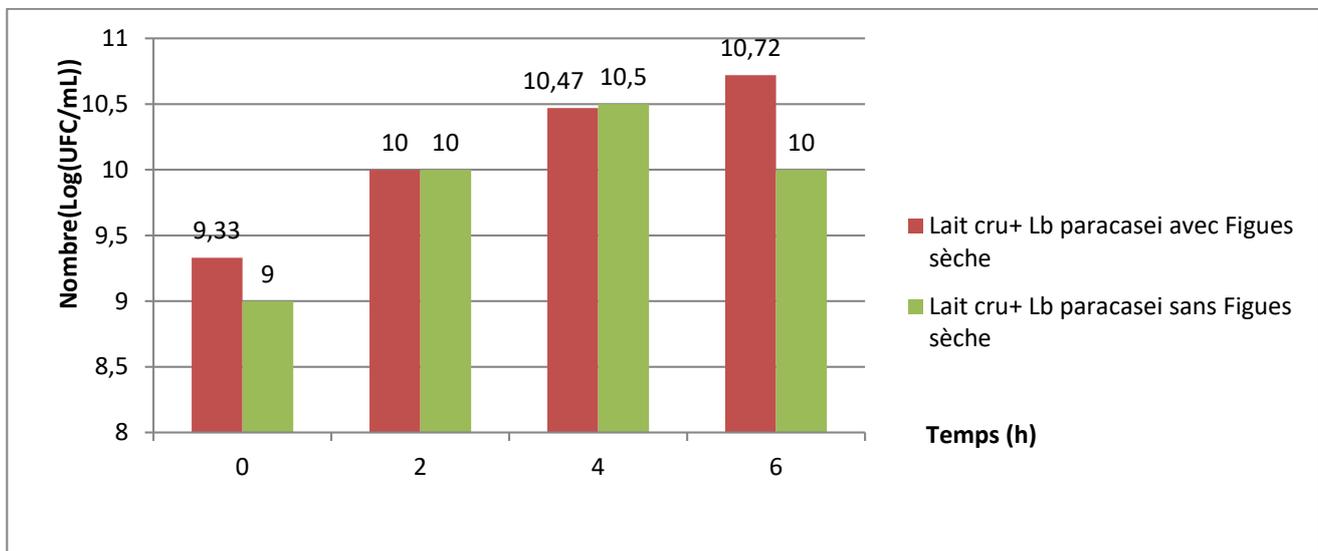


Figure 13 : Résultats du dénombrement de la flore lactique dans le lait fermenté

Les résultats obtenus montrent des valeurs importantes en bactéries lactiques dans deux types de laits fermentés, avec des taux égaux ou supérieurs à 10^9 UFC/ml. Les bactéries lactiques sont principalement utilisées en tant que starter dans les produits alimentaires fermentés où leur présence en charges importantes permet de développer certaines caractéristiques organoleptiques et d'augmenter la durée de conservation (**Dortu et Thonart, 2009**).

La comparaison entre les résultats présentés dans la **figure 13** montre que la charge de la flore lactique est importante dans le lait fermenté contenant les figues sèches+ *Lb. paracasei* avec un taux maximal de $5,2 \cdot 10^{10}$ UFC/mL, alors qu'en absence des figues sèches, le taux maximal obtenu est de $3,1 \cdot 10^{10}$ UFC/ mL.

D'après les résultats, on conclut que les figues sèches avec leur effet prébiotique stimulent la croissance de *Lb. paracasei* grâce à leur richesse en sucres réducteurs et en fibres. De ce fait l'ajout des figues permet à la fois d'avoir une bonne fermentation et d'augmenter le taux de la souche probiotique de *Lb. paracasei*.

En parallèle, une absence de *S. aureus* après 6h de fermentation a été constatée, ce qui pourrait être dû à son inhibition par la souche probiotique.

IV. Mise au point d'un lait fermenté enrichi en figes sèches à base d'un lait frais pasteurisé

En vue d'un suivi de la souche probiotique sans le lait, un traitement thermique a été appliqué pour le stériliser. Une pasteurisation a été choisie afin de stériliser le lait à une température de 80°C/20 minutes pour éviter toute dénaturation des composants nutritionnels du lait.

IV.1. Vérification de la stérilité du lait traité par pasteurisation

La réalisation d'une pasteurisation (2 fois) pour le lait cru a permis de le stériliser par élimination des microorganismes existants ainsi que les formes de résistance (spores de *Bacillus* par exemple). Le résultat du dénombrement de la flore totale dans le lait traité montre une absence de cette dernière, cela témoigne que le traitement du lait cru par pasteurisation a été bien réalisé. Ces résultats ont été obtenus même après 24 h d'étuvage (30°C) du lait traité et activation des spores.

IV. 2. Résultats des analyses microbiologiques du lait fermenté synbiotique à base de lait pasteurisé

Des analyses microbiologiques sont effectuées au bout de 6 h de fermentation à 30°C. Au début de la fermentation du lait pasteurisé enrichi en figes sèches, la flore lactique présente une charge plus élevée de $2,1 \cdot 10^9$ UFC/mL par rapport au lait pasteurisé sans figes sèches qui est de 10^9 UFC/mL (figure 14). Le nombre a augmenté graduellement en passant de 10^{10} UFC/mL (2 h) à $5,2 \cdot 10^{10}$ UFC/mL après 6 h de fermentation.

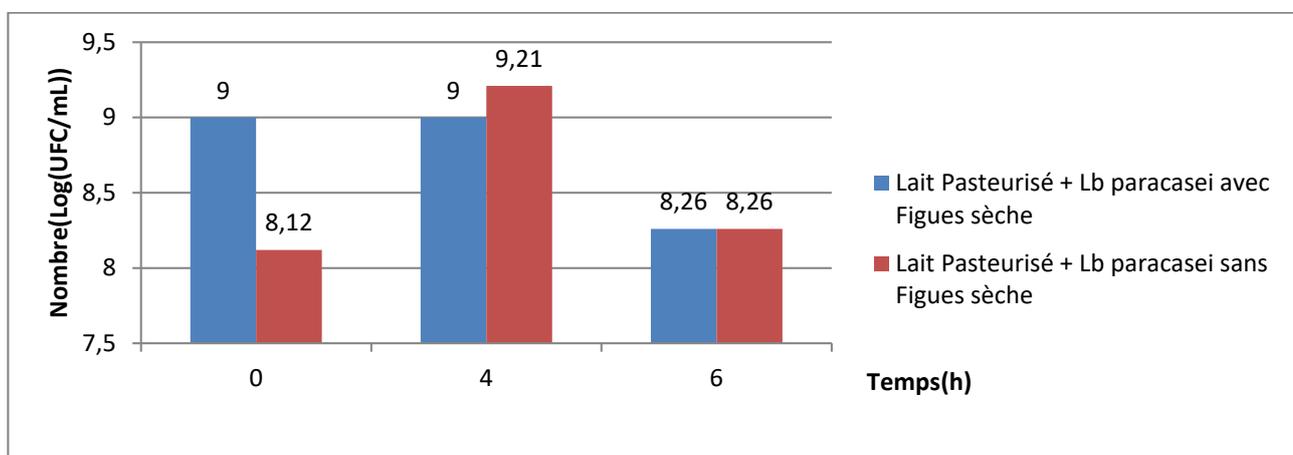


Figure 14 : Résultats du dénombrement de la flore lactique dans le lait fermenté à base de lait cru pasteurisé.

Vu le manque de temps, les analyses physicochimiques et l'analyse microbiologique globale du lait fermenté n'ont pas pu être réalisées.

Conclusion

Notre travail a été réalisé dans l'optique de mettre en évidence les éléments nécessaires et les plus pertinents liés à la réalisation d'un nouveau produit : « lait fermenté synbiotique » plus précisément un L'ben enrichi en *Lactobacillus paracasei* (probiotique) et en figues sèches (prébiotiques).

D'après nos résultats, le pH diminue proportionnellement, l'acidité évolue progressivement et inversement avec le PH. Ils montrent aussi qu'il y a une variation des paramètres physicochimiques au cours du processus de fabrication. Les analyses microbiologiques qu'on a effectuées ont montré l'absence de germe indice de contamination fécale tels que coliformes fécaux et totaux et des germes pathogènes comme le *Staphylococcus aureus*.

Lors du dénombrement des bactéries lactiques ont révélé que la flore lactique est présente en teneurs élevées et variables. On suggère l'absence totale des germes pathogènes ainsi que des germes de contamination ce pourrait être expliqué par l'efficacité du traitement thermique utilisé.

Par conséquent Les résultats physicochimiques et microbiologiques obtenus pour les matières premières révèlent une conformité aux normes.

Il est nécessaire d'adopter un processus de fabrication adéquat vigilant et simple pour la préparation du lait fermenté (L'ben), qui permettent d'assurer une qualité hygiénique, nutritionnelle et organoleptique répondant aux normes, d'éviter les accidents de fabrication et de garantir une meilleure stabilité au produit fini qui répond aux exigences des consommateurs.

Etant donné que c'est le dernière travail réalisé sur ce thème et quoique les résultats obtenus soient intéressants, cette étude reste préliminaire et mérite d'être reconduite pour mieux cerner tout les paramètres liés à la fermentation en présence des figues sèches.

Comme perspectives nous suggérons:

Tester des figues stériles et pour cela il faudra chercher la meilleure méthode de stérilisation préservant la qualité nutritionnelle de la figue sèches.

- Une optimisation des paramètres de fermentation semble obligatoire pour la maîtrise de la mise au point du produit.
- Déterminer la composition finale du lait fermenté.
- Réaliser une analyse statistique pour pouvoir comparer les résultats.

Listes des références

Listes des références

A

ACIA., (2009). Agence canadienne d'inspection des aliments. Chapitre 8, Allégations santé Sections 8.7 - 8.16. www.inspection.gc.ca

Akbas, M.Y., et Ozdemir, M., (2008). Application de l'ozone gazeux pour lutter contre les populations de spores d'*Escherichia coli*, de *Bacillus cereus* et de *Bacillus cereus* dans les figues séchées. *Microbiologie alimentaire* 25(2), p 386-391.

Al Askari, G., Kahouadji, A., Khedid, K., Charof, K., et Mennane, Z., (2012). Characterizations Physicochemical and microbiological of dried figs collected from the markets of Rabat-Sale, Temara and Casablanca. vol.7, n°26, p.12-19.

B

Barrangou M (2012). Effet of fermented milk combining *Lactobacillus* C11285 and *Lactobacillus*

Bendali, F., Durand, A., Hébraud, M., Sadoun, D., (2011). *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* un isolat algérien à activité antibactérienne contre les pathogènes entériques et aptitude probiotique. *Journal de recherche sur l'alimentation et la nutrition*. Vol. 50, 2011, n ° 3, p 139-149

Boudouhi, R., Ferreira, C., Morel, E., Szymanski, A., et Tizaoui, S., (2005). Aliments fonctionnels : « réalité et/ou allégation ». Lille. Université Lille 1 Sciences et Technologies, p202.

C

Chibbar, R., Alahmadi, A., Dielema, L.A., (2017). Implications for human health, Prebiotics, probiotics, and dysbiosis treatment of inflammatory bowel disease in ulcerative Colitis. *The microbiota in gastrointestinal pathophysiology*, p 343–354.

Claps et Morone (2011). Survival of lactic acid bacteria in the human stomach and adhesion

Cogan, T. M., Barbosa, M., Beuvier, E., Bianchi-Salvadori B., Cocconcelli, P. S., Fernandes, L., Rodriguez, E., (1997). Characterization of the lactic acid bacteria in artisanal dairy products. *Journal of Dairy Research*, 64 (3), p 409-421.

D

Décret n° 88-1203 (1988), 30 décembre 1988. *Journal Officiel* 31 décembre 1988.

Delzenne, N.M., (2003). Oligosaccharides: state of the art. *Proceedings of Nutrition Society*, 62, 177-82.

DORTU C. et THONART P. Les bactériocines des bactéries lactiques: caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires/Bacteriocins from lactic acid bacteria: interest for food products biopreservation. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, (2009), vol. 13, n° 1, p. 143.

Dubois, G., Smorgieziec, Z., (1982). Inhibition de quelques bactéries pathogènes et potentiellement pathogènes par *Streptococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*.

Listes des références

E

El Khaloui, M., (2010). Valorisation de la figue au Maroc. Bulletin mensuel d'information et de liaison du programme National de Transfert de Technologie en Agriculture. N °186, p 2-4.

F

F. Atassi and A. L. Servin., (2010). “Individual and co-operative roles of lactic acid and hydrogen peroxide in the killing activity of enteric strain *Lactobacillus johnsonii* NCC933 and vaginal strain *Lactobacillus gasseri* KS120.1 against enteric, uropathogenic and vaginosis-associated pathog.” *FEMS Microbiology Letters*, vol. 304, no. 1, pp. 29–38.

F.A.O./W.H.O., (2001). Report of a joint FAO/WHO expert consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Cordoba (Argentina): FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization).

FAO., (2010). Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine- Laites de consommation <http://www.horizon.documentation.ird.fr> .

FAO/ WAO (2002). Guidelines for the evaluation of probiotics in food in Report of a joint FAO/ WAO. C. Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of probiotics in Food and Agriculture Organization of the United Nation and World Health Organization. Ontario.

Favier, J.C., Ireland, R. J., Laussecq, C., et Feimberg, M., (1993). Répertoire général des aliments. Table de composition des fruits exotiques, fruits de cueillette d'Afrique. Tome III. Ed : OROSTOM. Lavoisier. Ed : INRA, p 27-28.

Frazier, W.C., et Westhoff, D.C., (1988). *Food Microbiology*. 4th Edn, McGraw Hill Book Co., New York, p 401-439t

Fric, P., (2007). Probiotics and prebiotics renaissance of a therapeutic principle. *Open Medicine*, vol. 2, n° 3, p. 237-270.

G

G. R. Gibson and M. B. Roberfroid, “Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics.” *The J*

Gibson GR, Roberfroid MB., (1995). (Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr.*; 125(6):1401-12. doi: 10.1093/jn/125.6.1401.

Gibson, G. R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S.

Gibson, G.R., et Roberfroid, M.B., (1995). Modulation alimentaire du microbiote colique humain : introduction du concept de prébiotique. *The Journal of Nutrition.*, 125, p 1401-1412.

Gibson, G.R., Rastall, A., (2004). When we eat, which bacteria should we be feeding. *ASM News*, 70, 224-31.

Godzard, G K. Sultana Kailasapathy, P. Peiris, R Arumugaswamy and N.Rynold (2000)., K ‘ The importance of stain selection on the viability and survival of probiotic bacteria in dairy foods *Milchwissechaft* 55 (8), p 441 -445.

Listes des références

Guidelines (2008). Recommandation Pratique : probiotiques et prébiotiques.
Organisation

Guiraud G.J., Galzy P. (1980). L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires.
Ed : L'USINE. Paris, 237p.

Guiraud G.J., Galzy P. (1980). L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Ed :
L'USINE. Paris, 237p. APr., (2017). obiotics, gut microbiota, and their influence on host health
and disease. Molecular Nutrition et Food Research, 61(1), 1600240.

Guiraud G.J., Galzy P. (1980). L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Ed :
L'USINE. Paris, 237p.

Guiraud, J.P., (2003). Microbiologie alimentaire. Paris. Dunod, p 651.

Guiraud, J.P., et Galzy, P., (1998). L'analyse microbiologique dans les industries
Alimentaires. Edition : De l'Usine Nouvelle. Paris, p 237.

H

Haesslein D., Oreiller S., (2008). Fraiche ou séchée, la figue est dévoilée Filière Nutrition et
diététique, Haute école de santé, Genève, 1-4.

J

J. Lupien-Meilleur., (1995). Détermination des conditions de viabilité et de fonctionnalité
de probiotiques ajoutés à une boisson santé à base de sève d'érable," p. 188.

J.O.R.A (Journal Officiel de la République Algérienne N 39). (2017).

J.O.R.A. n° 32 du 23 mai (2004). Arrêté du 27 mars 2004 rendant obligatoire une méthode
de dénombrement des organismes microbiens pour le lait fermenté.

J.O.R.A. n° 42 du 15 juin (2005). Arrêté du 13 Dhou El Hidja 1425. 23 janvier 2005
rendant obligatoire une méthode de recherche des salmonella dans le lait et les produits
laitiers.

K

Kailasapathy, k. (2000). ' Microencapsulation of probiotic bacteria : technology and
potential application.' Current Issues in Intestinal Microbiology 3 (2) : 39-48.

Kandler, O., et Weiss, N., (1986). Genus Lactobacillus, p 1209-1234. In P.H.A. Sneath,
Karathanos, V.T., Belessiotis, V.G., (1997). Sun and artificial air drying kinetics of some
agricultural.

Kelly., (2008). "Inulin-type prebiotics: A review (part 1)," Alternative medicine review : a
journal of clinical therapeutic, vol. 13, pp. 315–329, 2008.

Kelly., (2009). "Inulin-type prebiotics: A review (Part 2)," Alternative medicine review : a
journal of clinical, 55-112. I. therapeutic, vol. 14, pp. 36–55, 2009

L

L. Makras and L. (2006). De Vuyst, "The in vitro inhibition of Gram-negative pathogenic

Listes des références

bacteria by bifidobacteria is caused by the production of organic acids,” *International Dairy Journal*, vol. 16, no. 9, pp. 1049–1057, Sep.

Lactobacillus acidophilus et *Lactobacillus helveticus*. *Le lait.*, 62, p 681-687.

Larpent G.P. (1990). Lait et produits laitiers non fermentés. In *Microbiologie alimentaire*. Tome 1 : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaire. Ed : Tec et Doc. Lavoisier. Paris, 215p

M

M. Rasdhari, T. Parekh, N. (2008). Dave, V. Patel, and R. Subhash, “Evaluation of various physicochemical properties of Hibiscus sabdariffa and L. casei incorporated Biological Sciences, vol. 11, no. 17, pp. 2101–2108, 2008.

M. Roberfroid, G. R. Gibson, L. Hoyles, A. L. McCartney, R. Rastall, I. Rowland, D. Wolvers, B. Watzl, H. Szajewska, B. Stahl, F. Guarner, F. Respondek, K. Whelan, V. Coxam, M.-J. Davicco, L. Léotoing, Y. Wittrant, N. M. Delzenne, P. D. Cani, A. M. Neyrinck, and A. Meheust., (2010). “Prebiotic effects : metabolic probiotic yoghurt,” *Pakistan Journal of health benefits.*” *The British journal of nutrition*, vol. 104 Suppl, no. November, pp. S1–S63.

Mansour, L.M., (2015). Etude de l’influence des pratiques d’élevage sur la qualité du lait : effet de l’alimentation. Thèse doctorat en Sciences, Université Ferhat Abbas Sétif 1.

Markowiak, P., Śliżewska, K., Markowiak, P., et Śliżewska, K., (2017). Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. *Nutrients*, 9 (9), 1021.

Markowiak, P., Śliżewska, K., Markowiak, P., et Śliżewska, K., (2017). Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. *Nutrients*, 9 (9), 1021.

Markowiak, P., Śliżewska, K., Markowiak, P., et Śliżewska, K., (2017). Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. *Nutrients*, 9 (9), 1021.

Marteau, P. and. Shznahan (2003). ‘ Basic aspects and pharmacology of probiotics : mechanisms of action and side – effects. ‘Best practice and Research Clinical Gastroenterology **17** (5) : 725 – 740.

Miyazato, S., Nakagawa, C., Kishimoto, Y., et al., (2010). Promotive effects of resistant maltodextrin on apparent absorption of calcium, magnesium, iron and zinc in rats. *European journal of nutrition*, vol. 49, n° 3, p 165-171.
mondiale et gastroentérologie.

N

N.S. Mair, M.E. Sharpe et Holt, J.G. (ed.). *Bergey’s manual of systematic bacteriology*, vol.

NF V 04-385, (1971). Mesure de l’acidité titrable.
<https://www.boutique.afnor.org/norme/nfv04-206/lait-determination-de-l-acidite-titrable/article/669728/fa008998>.

O

Okos, M.R., Narasimhan, R.K., Singh et Witnauer, A.C., (1992). Food dehydration. In «

Listes des références

Handbook of Food Engineering » Hedman D.R. et Lund D.B- New York : Marcel Dekker.

Journal of nutrition, vol. 125, no. 6, pp. 1401– 1412, **Ghazi, K., et Niar, A. (2011)**. Qualité hygiénique du lait cru de vache dans les différents Élevages de la wilaya de Tiaret (Algérie). *Tropicultura.*, 29(4), p 193-196

Paris, 402p.

R

Radha, B., Esfandiar, A., Wang, F.C., et al., (2016). Molecular transport through capillaries made with atomic-scale precision. *Nature*, vol. 538, p 222.

Rivera-Espiniza Y., et Gallardo-Navarro Y., (2010). Non dairy probiotic products. *Food Microbiology*, 27 : 1-11. **Rivera-Espinoza Y., et Gallardo-Navarro Y., (2010)**. Non-dairyprobiotic products. *Food Microbiology*, 27 : 1-11. Paris, 402p.

Roberfroid, M.B., (2000). Les prébiotiques et les probiotiques : sont-ils des aliments Fonctionnels ? *Le journal américain de nutrition clinique*, vol. 71, n° 6, p 1682S1687S.

Reid, G., (2017). Expert consensus document : The international scientific association for probiotics and prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of Prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology et Hepatology*, 14(8),p 491.

S

Saarela. M., G Mogensen, R. Fonden, j. Matto and T. Mattila. Sandholm (2000). ‘ Probiotic bacteria : Safety, functionl and technological properties. *Journal of Biotechnology* 84 (3) :197-225.

Sánchez, B., Delgado, S., Blanco-Míguez, A., Lourenço, A., Gueimonde, M., et Margolles, **Schaafsma, G., et Steijns, J. M., (2000)**. Dairy ingredients source of functional foods. In Schmittle, M.K. and Labuza, T.P. (Eds.), *Essentials of functional foods*. Gaithersburg, MD, USA : Aspen Publishers Inc, pp 181–204.

Schrezenmeir, J., et DE VRESE, M., (2001). Probiotics, prebiotics, and synbiotics approaching a definition–. *The American journal of clinical nutrition*, vol. 73, no 2, p 361s364s. **S., Fernandes, I., Rodriguez, E. (1997)**. Characterization of the lactic acid bacteria in artisanal dairy products. *Journal of Dairy Research*, 64 (3), 409-421

Swanson KS, Gibson GR, Hutkins R., (2020). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. Doi : 10.1038/s41575-020-0344-2.

T

Tabasco R., Fernandez de Palencia P., Fontecha J., Pelaez C., et Reuena T., (2014). Composition mechanisms of lactic acid bacteria and bifidobacteria : Fermentative metabolism and colonization. *LWT-FoodScience and TTechnology*, 55 :680-684.

Temmerman R., Pot B., Huys G., et Swings J., (2002). Identification antibiotic susceptibility of bacterial isolates from probiotic products. *International journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62 :1548-1551.

Listes des références

ti intestinal cells. J Dairy Sci 70 :1-12.

Tir Elhadj., Bounoua S., Heddar M., Bouklila N. Etude de la qualité physicochimique et microbiologique de laits crus de vache dans deux fermes de la wilaya de Tissemsilt (Algérie). Ed El Wahat pour les Recherches et les Etudes. (2015) ; V 8 N°2. Algérie, p 26-33.

Trindade, C. and C. Grosso (2000). The effect of the immobilisation of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* in alginate on their tolerance to gastrointestinal secretions. Milchwissenschaft **55** (9) : 496 – 499.

V

Verne-bourdais E., Bonnef C., ET al ., (2002). Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaire.

Y

Yateem A., Balba M.T., Al surrayai T., Al- Mutairi B., et Al-Daher R., (2008). Isolation of lactic acid bacteria with probiotic potential from camel milk. International Journal of dairy science, 3(4) :194-199.

Z

Ziemer, C.J., Gibson, G.R., (1998). An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept: perspectives and future strategies. International Dairy Journal, 8, 473–479.

Annexe 01 : Principales caractéristiques physico-chimiques du lait cru (Bourgeois et al.,1990).

Paramètres	Valeurs
PH à (20°C)	6,6-6,8
Acidité Dornic (D)	16-18

Annexe 02 : Valeurs de pH et Acidité obtenus pour le lait cru

Ph /Acidité		
Echantillon	PH	Acidité
Echantillon	6,6	19

Annexe 03 : Spécifications microbiologiques du lait (UfC/ml) (arrêté interministériel,1998).

Lait cru	Flore totale	Streptocoques fécaux	Coliformes Fécaux	Clostridium Sulfito-reducteurs	Staph aureus	Antibiotiques
Les normes	10 ⁵	Absence /0,1 ml	10 ³	50	Absence	Absence

Annexe 04 : Valeurs obtenus pour le lait

Flore Recherchée	Dilution	T°C / Durée d'incubation	Milieu	Méthodes d'ensemencement	Résultats
FTAM	10 ⁻⁵ / 10 ⁻⁶	30°C /72h	PCA	Ensemencement en masse (1ml)	
Flore lactique	10 ⁻³ / 10 ⁻⁴	30°C/72h	MRS	Ensemencement en masse (1ml)	6 colonies
Coliformes totaux	10 ⁻⁴ / 10 ⁻⁵	37°C/24-48h	VRBL	Ensemencement en masse (1ml)	Absence
Coliformes Fécaux	10 ⁻⁴ / 10 ⁻⁵	44°C/24-48h	VRBL	Ensemencement en masse (1ml)	Absence
Entérocoques	10 ⁻³ / 10 ⁻⁴	37°C/72	BEA	Ensemencement en masse (1ml)	Des colonies noires
S.aureus	10 ⁻¹ / 10 ⁻³	37°C/72	Chapman	Ensemencement en masse (1ml)	10-1 : Indénombrable 10-2 : Une colonie
Salmonelles	EPT Héктоen	37°C /24	EPT Héктоen	Ensemencement en stries	Absence

Annexe 05 : La vérification de la stérilité du lait traité par pasteurisation

	Dilution	Résultats
Lait pasteurisée	10 ⁻¹	13
	10 ⁻²	3
	10 ⁻³	1

Annexe 06 : Représente les valeurs des levures et moisissures des figues sèches.

Levures et moisissures	Dénombrement
Solution mère	10 ³
Dilution 10-1	10 ²

Annexe 08 : Gélose MRS (CONDA, Espagne)

Compositions	Quantité en g/l
Dextrose	20
Peptone	10
Extrait de viande	08
Extrait de levure	04
Acétate de sodium	05
Phosphate di potassique	02
Citrate d'ammonium	02
Sulfate de magnésium	0.2
Sulfate de manganèse	0.05
Agar	10

PH final .6.2+/-0.2 à120 °C

Annexe 09: Gélose PCA (LIOFILCHEM, Italie)

Compositions	Quantité en g/l
Tryptone	05
Glucose	01
Extrais de la levure	2.5
Agar	15

PH final. 7.0+/-0.2 à120 °C

Annexe 10: Gélose VRBL (BIOKAR, Inde)

Compositions	Quantité en g/l
Peptique digestif de viande	07
Extrait de levure	03
Lactose	10
Sel billiaire	1.5
Chlorur de sodium	05
Rouge neuter	0.03
Cristal violet	0.002
Agar	12

PH final .7,4+/-0. 2 à 120 °C

Annexe 11 : Gélose de Sabouraud (BIOKAR, France)

Compositions	Quantité en g/l
Peptide digest de viande	05
Peptide digeste de caseine	05
Glucose anhydrous	36.4
Agar	15

PH final : 5.6+/-0.2 à 120 °C

Annexe 12 : Gélose Baird Parker (CONDA, Espagne)

Composition	Quantité en g/l
Glycine	12.0
Digest pancréatique of caséine	10.0
Pyruvate de sodium	10.0
Extrait de viande	05.0
Chloride de lithium	05.0
Extrait de levure	01.0

Agar	20.0
------	------

PH final : 6.8+/- à 120 °C

Annexe 13 : Bouillon Geiolliti Cantoni (TMMEDIA, Inde)

Compositions	Quantité en g/l
Enzyme de caséine	10
Extrait de viande	05
Extrait de levure	05
Mannitol	20
Chlorure de sodium	05
Chlorure de lithium	05
Pyruvate de sodium	03
Glycine	1.2

PH final : 6.9+/-0.2 à 120 °C

Annexe 14: Bouillon Roth (HiMedia, Inde)

Compositions	Quantité en g/l
Peptique digestif de tissu animal	20
Dextrose	05
Chloride de sodium	05
Phosphate hydrogéné dipotassique	02.7
Potassium dihydrogen phosphate	02.7
Azide de sodium	0.2

PH final: 6.8+/-0.2 à 120°C

Résumé

La présente étude avait pour objectif la mise au point d'un lait fermenté synbiotique par ajout d'une souche probiotique (*Lactobacillus paracasei*) et des figes sèches comme source de prébiotiques. Le lait fermenté qu'on a préparé dans le but d'évaluer l'influence des figes sèches sur *Lb. paracasei* et pour avoir une bonne fermentation. Les résultats physicochimiques des différents laits fermentés ont montré que l'acidité du lait en présence des figes sèches a été plus importante dans l'échantillon *Lb. Paracasei* + Lait pasteurisée avec un couple pH-acidité de 5,8 et 70°D respectivement. Ces résultats nous permettent de dire que les figes sèches influencent significativement sur l'activité des bactéries. Les résultats des analyses microbiologiques ont montré des charges très élevées en flore lactique avec des taux supérieurs à 10^9 UFC/ml en présence des figes sèches. Par ailleurs, d'après les résultats obtenus, les caractéristiques physicochimiques et microbiologiques de laits préparés sont différentes. Cette différence serait due d'à la présence des figes sèches et leur effet sur la bactérie.

Mots clés : Lait fermenté synbiotique, probiotique, prébiotique, *Lb. Paracasei*, figes sèches.

Abstract

The objective of the present study was to develop a synbiotic fermented milk by adding a Probiotic strain (*Lactobacillus paracasei*) and dried figs as a source of prebiotics. The Fermented milk that was prepared in order to evaluate the influence of dry figs on *Lb. Paracasei* and to have a good fermentation. The physicochemical results of the different Fermented milks showed that the acidity of the milk in the presence of dry figs was greater in The sample *Lb. Paracasei* + Pasteurized milk with a pH-acidity couple of 5.8 and 70°D Respectively. These results allow us to say that the dry figs significantly influence the activity Of bacteria. The results of microbiological analysis showed very high loads of lactic flora With rates higher than 10^9 UFC/ ml in the presence of dry figs. Moreover, according to the results obtained, the physicochemical and microbiological characteristics of the prepared milk are different. This difference would be due to the presence of dry figs and their effect on the bacteria.

Key words : Synbiotic fermented milk, probiotic, prebiotic, *Lb. Paracasei*, dried figs