

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLAB - BLIDA
FACULTE DES SCIENCES AGRO-VETERINAIRES ET BIOLOGIQUES
DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE
MASTER ACADEMIQUE EN SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Filière : Sciences Alimentaires

Spécialité : Nutrition et Contrôle des Aliments

Thème :

**Etude de la croissance de *Bifidobacterium longum* cultivée sur jus de rebut
de latte**

Présenté par :

Lebni Djamila

Devant le jury composé de :

M ^{me} KOUIDRI A.	MAA	USDB	Présidente
M ^{me} DEFFAIRI D.	MAA	USDB	Promotrice
M ^{elle} MERIBAI A.	MAB	USDB	Examinatrice
M ^{me} SAADI L.	MCB	USDB	Examinatrice

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2011-2012

Remerciements

Je remercie le bon DIEU tout puissant de m'avoir accordé volonté et patience dans l'accomplissement de ce travail.

J'adresse mes reconnaissances et mes plus sincères remerciements à ma promotrice, M^{me} DEFFAIRI D., maître assistante A, à l'université Saad Dahlab de Blida, pour avoir acceptée de m'encadrer et de me diriger, Qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.

Mes plus sincères remerciements vont également à M^{me} KOUIDRI, maître assistante A, à l'université Saad Dahlab de Blida, pour nous avoir fait l'honneur de présider notre jury et pour avoir bien voulu lire ce mémoire et faire part de ces remarques.

Mes plus sincères remerciements vont également à M^{me} SAADI, maître de conférence B à l'université Saad Dahlab de Blida et M^{elle} MERIBAI A., maître assistante B à l'université Saad Dahlab de Blida pour avoir accepté d'examiner ce travail.

J'adresse mes respects et mes vifs remerciements à toutes les personnes ayant apporté leur contribution, de près ou de loin à notre travail de recherche.

Je remercie tous les responsables de l'Institut National spécialisé de formation professionnelle en industrie agro-alimentaire « Aboubaker ben kaid » de Blida.

Mes chaleureux remerciements à tous mes professeurs qui ont contribué à ma formation.

Sans oublier de remercier tous les étudiants de notre promotion pour leur soutien moral.

Dédicaces

Je dédie ce travail à:

Ma mère et mon père pour leur soutien,

Leur aide, leur patience et leur amour.

Mes frères

Mes sœurs

Toute ma famille

Tous mes amis (es)

PDF Creator! 4 Trial
www.nuance.com

RESUME

L'industrie agro-alimentaire génère d'importantes quantités de déchets le plus souvent non valorisés. Le secteur phoenicicole algérien fournit à chaque campagne près de 60 000 tonnes de déchets de dattes. Les dattes, de part leur grande richesse en sucre et leur conservation relativement longue, offrent de nombreuses possibilités technologiques tel que: les farines de dattes, le sirop de dattes et le jus de dattes...

Toutes les analyses ont été effectuées au niveau de l'institut national spécialisé de formation professionnelle en industrie agro-alimentaire de Blida. Seul le dosage des protéines est effectué au niveau de laboratoire de zootechnique de l'université Saad Dahlab de Blida.

L'objectif de ce travail montre la possibilité de valorisation des dattes sèches Mech-Degla et l'utilisation du jus de dattes de faible qualité marchande (Mech-Degla) comme substrat pour la croissance de la bactérie lactique *Bifidobacterium Longum*.

Pour valoriser la variété de datte commune Mech-Degla par la production des bactéries lactiques ont été utilisées le jus de de Mech-Degla

Le jus de datte obtenu présente les caractéristiques physico-chimiques suivantes : une faible valeur en eau 13.5%, pH tend vers l'acidité, l'acidité était d'une valeur très élevé 2.5g/kg, les cendres 1.6% ont montré une richesse en éléments minéraux

Les résultats des analyses de sucres totaux 61.92%, sucres réducteurs 20.59% et saccharose 37.19 % ont montré que le jus de datte a un pouvoir énergétique élevé.

Les résultats microbiologiques sont conformes aux normes.

Les résultats obtenus à partir des essais de fermentation montrent que la culture de la flore lactique est très satisfaisante dans le milieu à base de jus de dattes à raison de $7,3 \times 10^8$ UFC pour *Bifidobacterium Longum*.

Le jus issu de rebut de dattes, de par sa richesse en sucres simples constitue un milieu favorable pour le développement de *Bifidobacterium Longum*.

Mots clés: Dattes, Valorisation, *Bifidobacterium Longum*, Jus de dattes, Fermentation.

ABSTRACT

The food industry generates large quantities of waste most often not valued. The Algerian date sector provides each campaign nearly 60 000 tonnes of waste dates. Dates, due to their high sugar content and relatively long shelf offer many technological possibilities such as: the flours dates, date syrup and date juice.

All analyzes were performed at the National Institute specialized training in Blida food industry. Only the protein assay is performed at laboratory zootechnical University Saad Dahlab Blida.

The objective of this work shows the possibility of recovery of dried dates Mech-Degla and use of date juice low merchantability (Mech-Degla) as a substrate for the growth of lactic acid bacteria *Bifidobacterium longum*.

To enhance the variety of date Mech-Degla joint production by lactic acid bacteria have been used juice of Mech-Degla

The date juice obtained has the following physicochemical characteristics: a low 13.5% in water, pH tends towards acidity, acidity was a very high value 2.5g/kg, ash 1.6% showed rich in minerals

The results of analyzes of total sugars 61.92%, 20.59% reducing sugars and sucrose 37.19% showed that the date juice has a high energy content.

Microbiological results are consistent with the standards.

The results from the tests show that culture fermentation of the lactic flora is very satisfactory in the medium based on date juice at a rate of 7.3×10^8 CFU for *Bifidobacterium longum*.

The juice from discarded dates, its richness in simple sugars is a favorable environment for the development of *Bifidobacterium longum*.

Key words: Dates, Valuation, *Bifidobacterium longum*, Juice dates, Fermentation.

ملخص

الصناعة الغذائية تنتج كميات معتبرة من المخلفات الغير مستعملة. قطاع الفلاحة الجزائري يسوق أكثر من 60000 ألف طن من مخلفات التمر. التمور غناها بالسكر و حفظها لمدة طويلة تسمح بإعادة تصنيعها عن طريق معالجتها بمختلف الطرق مثل: مسحوق التمر، عصير التمر

أجريت جميع التحاليل في المعهد الوطني للتدريب المتخصصة في صناعة الأغذية البلدية. فقط فحص البروتين تم تنفيذه في جامعة مختبر تربية الحيوانات جامعة سعد دحلب البلدية.

الهدف من هذا العمل هو إمكانية تثمين التمور الجافة ماش دقلة واستعمال عصير التمور ذات الجودة الضعيفة

ماش دقلة مثل مادة من أجل نمو البكتيريا اللبنية *Bifidobacterium Longum*

من أجل تطوير صنف التمور الجافة ماش دقلة باستعمال البكتيرية اللبنية نستعمل عصير التمر ماش دقلة.

عصير التمر المتحصل عليه لديه الخصوصيات الفيزيوكيميائية التالية: نسبة الماء ضعيفة 13.5%، pH يميل إلى الحموضة، نسبة الحموضة جد عالية 2.5g/kg، نسبة الرماد 1.6% تبين غناه بالعناصر المعدنية.

نتائج تحليل السكريات الكلية 61.92%، السكريات المرجعة 20.59% و السكروز 37.19% تبين أن عصير

التمر ذو قدرة طاغوية مرتفعة

النتائج الميكروبيولوجية مطابقة للمعايير.

النتائج المتحصل عليها انطلاقاً من تجارب التخمر تبين أن نمو البكتيريا اللبنية جد مرضية في عصير التمور

بمعدل قدره 7.3×10^8 UFC *Bifidobacterium Longum*

عصير مخلفات التمور بفضل غناه بالسكريات البسيطة يعتبر وسط ملائم من أجل تطور البكتيرية

Bifidobacterium Longum.

الكلمات الدالة: تمور، تثمين، *Bifidobacterium Longum*، بكتيريا لبنية، عصير التمور، تخمر.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Cultivars dominants dans les principaux pays producteurs de dattes de l'ancien monde.	8
Tableau II : Nombre des palmiers dattiers enAlgérie.....	10
Tableau III: Compositions moyennes pour 100 g net de dattes communes.....	11
Tableau IV: Composition biochimique de noyau de dattes.....	12
Tableau V : Genres et le Type de fermentation des bactéries lactiques.....	18
Tableau VI : Caractéristiques morphologiques de la datte étudiée (Mech-Degla).....	41
Tableau VII : Composition biochimique de la datte variété sèche.....	42
Tableau VIII : Résultats des analyses microbiologiques.....	46
Tableau IX: Rapport de toutes les observations macroscopiques et microscopiques de la souche <i>Bifidobacterium Longum</i>	47
Tableau X : Dénombrement de bactérie lactique <i>B L</i>	48

LISTE DES FIGURES

Figure 01: Phoenix Dactylifera.....	3
Figure 02: Datte et noyau du palmier dattier.....	4
Figure 03: Datte Mach Dagla.....	5
Figure 04: Formation et maturation des dattes.....	6
Figure 05: Répartition de la production de dattes dans la wilaya d'Adrar	9
Figure 06: Composition biochimique globale de la datte.....	11
Figure 07: Technologie de datte.	16
Figure 08: Fermentation lactique chez les Bifidobactéries.....	21
Figure 09: <i>Bifidobacterium longum</i>	22
Figure 10: <i>Bifidobacterium longum</i> à l'état lyophilisé.....	23
Figure 11: Datte Mech-Degla.	24
Figure 12: Extrait de datte variété sèche « Mech-Degla ».....	25
Figure 13: Isolement et purification de <i>Bifidobacterium Longum</i>	38
Figure 14: Dénombrement des bactéries lactiques <i>Bifidobacterium Longum</i>	40
Figure 15: <i>Bifidobacterium Longum</i>	48
Figure 16: Variation du pH du milieu au cours de la fermentation par <i>Bifidobacterium Longum</i>	49
Figure 17 : Evolution de l'acidité titrable du milieu au cours de la fermentation par <i>Bifidobacterium Longum</i>	50
Figure 18: Evaluation de la croissance bactérienne par spectrophotométrie au cours de la fermentation par <i>Bifidobacterium Longum</i>	51
Figure 19 : Jus de datte avant et après la fermentation.....	51

Liste des abréviations

S.C.P: Signale celle protéine

FAO: Food and Agriculture Organization

ATP: Adenosine triphosphate

Mi: Masse initiale

Mf: Matière finale

MO: Matière Organique

DM: Dilution mere

MRS: Gelose de Man,Rogosa,Sharpe

PCA: Plate Count Agar

OGA: Oxytétracycline glucosé agar

VF: Viande-Foie

VRBL: La gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre

GC: Giolitti Cantoni

MS: Matière sèche

MG: Matière grasse

TSE: tryptone-sel-eau

SFB: Bouillon au Sélénite de Sodium

UFC: Unité Formant Colonie

BL: *Bifidobacterium longum*

f6ppk: fructose -6 phosphate phosphokétolase

TPY: Tryptone Phytone Yeast extract

N: la normalité

GAMT: germes aérobies mésophiles totaux

NPP : la technique du nombre le plus probable

SOMMAIRE

Introduction.....	1
-------------------	---

CHAPITRE I : LA DATTE

I. Palmiers dattiers et les dattes.....	3
I.1. Généralités sur le palmier dattiers.....	3
I.1.1. Systématique du Phénix dactylifera.....	3
I.1.2. Définition de la datte.....	4
I.1.3. Définition de rebut de datte.....	4
I.1.4. Description du cultivar Mech-Degla.....	5
I.1.5. Classification des dattes.....	5
I.1.6. Formation et maturation des dattes.....	6
I.1.7. Variétés des dattes.....	7
I.1.8. Production des dattes.....	8
I.2. Composition biochimique de la datte.....	10
I.3. Composition biochimique de noyau.....	12
I.4. Intérêt nutritionnel de la datte.....	12
I.5. Intérêt médicinale de la datte.....	12
II. Technologie de la datte.....	13
II.1. Valorisation des déchets de la datte.....	13
II.1.1. Produits non fermentés.....	13
II.1.2. Produits obtenus après fermentation.....	14
II.1.3. Biomasse.....	15
II.2. Importance économique de la transformation des dattes.....	16
III. Bactéries lactiques et bifidobactéries.....	17
III.1. Généralité sur les bactéries lactiques.....	17
III.2. Bifidobactéries.....	18
III.2.1. Historique.....	18
III.2.2. Systématique.....	18
III.2.3. Morphologie et les caractéristiques.....	19
III.2.4. Besoins nutritionnels.....	19
III.2.5. Métabolisme.....	20

III.2.6. Culture.....	21
III.2.7. Bénéfices nutritionnels.....	21
III.2.8. Rôle thérapeutique des probiotiques.....	22
III.3. Généralité sur <i>Bifidobacterium longum</i>	22

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

I. Matériel végétal.....	23
II. Matériel biologique.....	23
II.2. Choix de la variété (Mèche- Degla)	24
II.3. Prélèvement de l'échantillon.....	24
II.4. Préparation de l'extrait de datte.....	24
III. Analyses morphologique de la datte.....	25
VI. Analyses physico-chimiques	25
V. Analyses microbiologiques.....	30
IV. Isolement des bactéries lactiques du ferment lyophilisé.....	37
IIIV. Dénombrement des bactéries lactiques <i>Bifidobacterium Longum</i>	39
IIIIV. Suivi du pouvoir acidifiant des bactéries lactique et la cinétique de croissance bactérienne.....	41

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

I. Caractéristiques morphologique de la datte.....	42
II. Compositions physicochimiques et biochimiques de jus de datte (Mech-Degla).....	43
III. Résultat des analyses microbiologiques.....	46
VI. Isolement et purification de la souche <i>Bifidobacterium Longum</i>	46
V. Dénombrement de la bactérie lactique <i>Bifidobacterium Longum</i>	48
IV. Résultats de l'acidifiant et la cinétique de croissance de la <i>Bifidobacterium Longum</i>	49
VIII. Jus de datte avant et après la fermentation.....	51
Conclusion.....	52

Références bibliographiques

Annexes

INTRODUCTION

Le palmier dattier est un arbre rustique s'adaptant aux régions les plus arides du monde. Il constitue la principale source de vie de la population saharienne (Chehna *et al.*, 2001).

L'Algérie, 5^{ème} producteur mondiale de dattes (Djidel, 2007 ; Matallah, 2004). Le potentiel phoenicicole algérien enregistre un accroissement important avec un effectif qui avoisine 15 millions de palmiers dattiers pour une superficie de plus de 350.000 har ; dont 11 millions productifs. Pour une campagne déterminée, la production nationale peut atteindre 500.000 tonnes, dont 240.000 tonnes représentant environ 47% de Deglet Nour, considérée comme étant la meilleure variété de dattes commerciales, permettent à l'Algérie de se hisser au premier rang mondial du point de vue qualitatif, alors que près de 2.600.000 tonnes soit 53%, sont de variétés dites communes. Parmi ces dernières, 120.000 tonnes seulement sont commercialisables et plus de 14.000 tonnes sont de très faibles valeurs marchandes (Ould El Hadj *et al.*, 2006). Les dattes communes sont généralement destinées à l'alimentation animale.

La transformation des dattes de faible valeur marchande permet l'élaboration de différents produits alimentaires tel que: les farines de dattes, le sirop de dattes et le jus de dattes (Touzi, 2005). Ce jus est extrait après trempage dans de l'eau chaude (80c°) pendant 1 heure au moins, il peut être fabriqué avec n'importe quelle datte de qualité secondaire, c'est un produit stable d'une couleur plus ou moins brune (Djidel, 2007).

Les dattes de part leur grande richesse en sucres et leur conservation relativement longue (Boulal *et al.*, 2010), offrent de nombreuses possibilités technologiques suivant le traitement auquel elles sont soumises. En effet, elles peuvent servir en tant que matière première en fermentation pour la production de divers métabolites tels que l'acide citrique, l'oxytétracycline, l'alcool, la vitamine B12, les ferments lactiques ainsi que la levure de boulangerie (Boudjelal *et al.*, 2001). Les dattes à faible valeur commerciale peuvent être utilisées comme substrats carbonés par les espèces microbiennes (levures, bactéries,...etc) afin de produire la biomasse.

INTRODUCTION

Les dattes des variétés sèches, sont des dattes de texture farineuse qui durcissent sur l'arbre. C'est le cas des variétés Mech-Degla, matériel végétal de la présente étude. Elle constitue d'une teneur en sucres totaux très importante, allant de 60 à 80 % du poids de la pulpe fraîche (Siboukeur, 1997), et une teneur en eau qui varie entre 15 et 20% selon les variétés (Noui, 2007). La datte pauvre en protéine et en matière grasse (0,43 et 1,9% du poids frais) (Djouab, 2007), et renferme pratiquement la plupart des éléments minéraux, elle est riche en fibres. Ces dernières ont un effet bénéfique sur la santé humaine, l'apport journalier recommandé étant de 0,025- 0,03Kg pour un adulte (Amellal, 2008).

Le présent travail entre dans le cadre de la valorisation des dattes sèches en général et de Mech-Degla en particulier. Ce choix a été orienté par leur faible valeur marchande, leur richesse en sucre et leur disponibilité. L'objectif sera consacré à l'utilisation de jus de datte variété sèche de faible valeur marchandes comme milieu pour le développement et la croissance de bactérie *Bifidobacterium longum*. Ceci dans le but d'améliorer la production de bactérie lactique.

Actuellement, différentes matière première peu couteuses servent de sources de carbones pour la production d'acide lactique : c'est le cas du lactosérum. En effet, le milieu de culture entre pour une part importante dans le cout de production de biomasse, de métabolites et donc d'acide lactique (Djidel, 2007). Il est donc essentiel de trouver un bon équilibre entre les qualités nutritionnelles et technologique de matière première, leur prise et leur disponibilité sur le marché. De ce fait, l'aspect valorisation de sous produits de datte par les bactéries lactiques pour produire cette bactérie.

Notre étude comporte deux étapes principales :

- une caractérisation physico-chimique, biochimique et microbiologique des dattes et de leur jus,
- une étude de l'effet du jus sur la production de bactérie lactique (*BL*).

La connaissance de ces critères est indispensable pour l'évaluation des qualités nutritionnelles, organoleptiques, technologiques et marchande, permettant une meilleure orientation des variétés vers des utilisations adéquates.

CHAPITRE I : LA DATTE

I. palmiers dattiers et les dattesI.1. Généralités sur le palmier dattier

Le palmier dattier a été dénommé *Phoenix dactylifera* L par Linne en 1753, dérive de « *Phoenix* » est le nom donné par les grecs à cet arbre qu'ils considéraient l'arbre des phéniciens, et « *Dactylifera* » dérive du terme grec « *dactulos* » signifiant doigt, allusion fait à la forme du fruit (Amellal, 2008; Matallah, 2004; Munier, 1973; Peyron, 2000).

Le palmier dattier est un arbre probablement originaire du golfe persique, cultivé dans les régions chaudes et humides. C'est une espèce dioïque, monocotylédone arborescente, appartenant à une grande famille d'arbres à palmes et produit des dattes (Gilles, 2000; Djouab, 2007). Figure 01 montre le palmier *Phoenix dactylifera*.



Figure 01 : *Phoenix dactylifera* (Bouklachi et Saib, 2011).

I.1.1. Systématique du *Phoenix dactylifera* L

La place du palmier dattier dans le règne végétal est classée comme suite (Amellal, 2008) :

Groupe : Spadiciflores

Ordre : Palmales

Famille : Palmacées

Sous famille : Coryphoidées

Tribu : Phoenicées

Genre : *Phoenix*

Espèce : *Phoenix dactylifera L*

I.1.2. Datte

La datte est une baie, de forme généralement allongée, oblongue ou ovoïde, mais on rencontre également des dattes sphériques (Peyront, 2000). Elle contenant une seule graine dite noyau. La partie comestible de la datte, dite chair ou pulpe (Espirad, 2002). La figure 02 montre une coupe de la datte et du noyau.

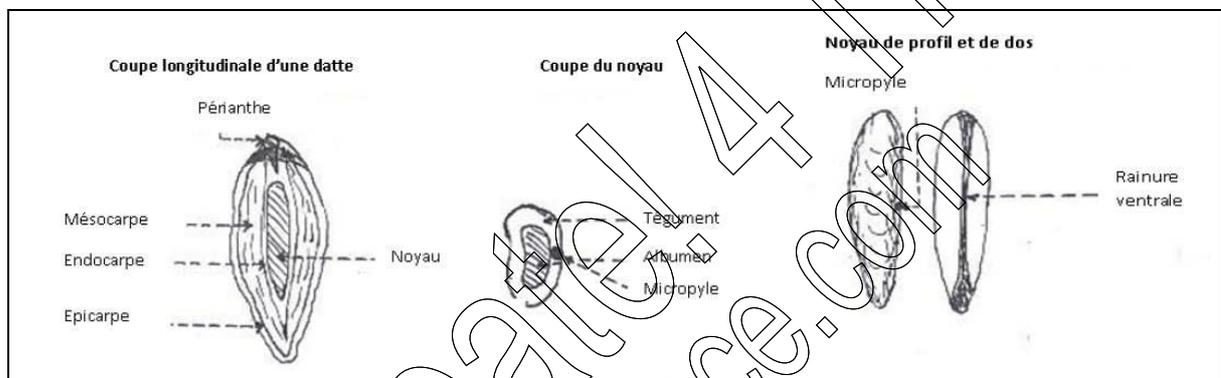


Figure 02. Datte et noyau du palmier dattier (Belguedj, 2001).

I.1.3. rebut de datte

Les rebuts de dattes ou écarts de tri de dattes représentent les fruits du palmier dattier non consommables par l'être humain et qui sont destinés traditionnellement à l'alimentation du bétail. Ils sont composés par :

- H'chef : dattes déshydratées.
- Sich : dattes non fécondées.

La composition chimique des rebuts de dattes qui classent dans le groupe des aliments concentrés énergétique (Chehma et al ., 2001).

I.1.4. Description du cultivar Mech-Degla

Les caractéristiques générales du cultivar Mech-Degla sont:

-Nom vernaculaire : Mech-Degla.

- Sens du nom** : Datte qui n'est pas Deglet-Nour.
- Importance et répartition** : abondant.
- Distribution géographique** : Abondant aux Aurés, au ziban et au Souf.
- Date de maturation**: Octobre.
- Période de récolte** : Octobre-Novembre.
- Utilisation de la datte** : fraîche et conservés.
- Mode de conservation** : en sacs.
- Appréciation** : datte excellente.
- Digestibilité**: datte froide, très digestible.
- Commercialisation** : très faible valeurs marchandes (Belguedj, 2002; Belguedj, 1996; Hannachi et *al.*, 1998) la figure suivante montre datte Mach-Dagla.



Figure 03. Datte Mach-Dagla (Bouklachi et Saib, 2011).

I.1.5. Classification des dattes

D'après Espiard (2002), la consistance de la datte est variable. Selon cette caractéristique, les dattes sont réparties en trois catégories:

- Les dattes sèches** : moins de 20 % d'humidité, riche en saccharose. Degla-Beida tout particulièrement, Mech-degla, Frezza.... sont les plus répandues en Algérie.
- Les dattes demi-moules** : de 20 à 30 % d'humidité, elles occupent une position intermédiaire à l'exception de la Deglet-Nour, datte à base de saccharose par excellence.
- Les dattes molles** : taux d'humidité supérieur ou égal à 30 %, elles sont à base de sucres invertis (Boukhiar, 2007; Chekroune, 2009).

I.1.6. Formation et maturation des dattes

Chaque étape de la maturation de la datte à été identifiée nominalement, ce qui permet de suivre l'évolution du fruit à la cour de son développement.

-Stade Hababouk: stade qui suit la pollinisation.

-Stade Kimri: caractérisé par dattes (augmentation du poids et du volume), un taux d'humidité élevé, une accumulation de sucres réducteurs et une très forte acidité.

-Stade Kalal: caractérisé par dattes fraîches (sucre maximum, légère astringence), dattes juteuses, fibreuses et dures (Estanove, 1990), alors que l'acidité et le taux d'humidité décroissent.

-Stade Rutab: la datte devient molle et le perd son astringence.

-Stade Tamar: correspondant à l'étape finale de la maturation du fruit ; la datte a alors perdu presque toute son peau (Boukhiar, 2007; Djidel, 2007).

La figure 04 résume les différents changements de la datte à la cour de son développement.

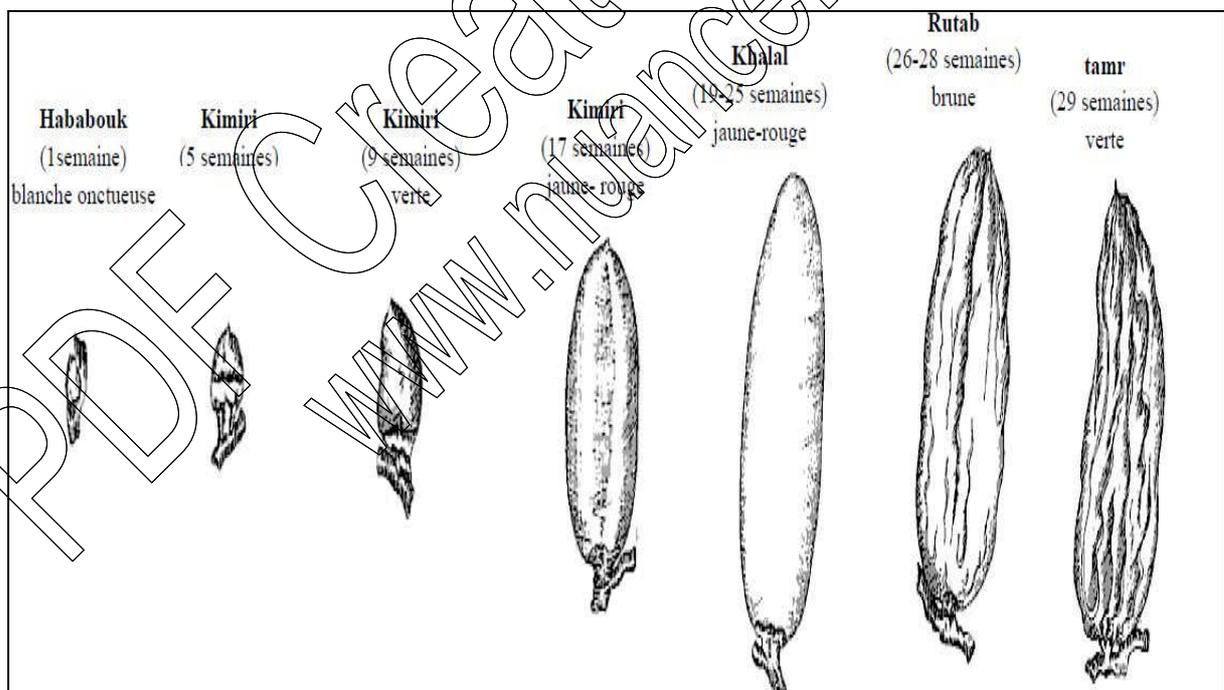


Figure 04: Formation et maturation des dattes (Boukhiar, 2007; Messaid, 2008).

I.1.7. Variétés des dattes

Les variétés de dattes sont très nombreuses, seulement quelques unes ont une importance commerciale. Elles se différencient par la saveur, la consistance, la forme, la couleur, le poids et les dimensions (Buelguedj, 2001).

En Algérie, il existe plus de 940 cultivars de dattes (Hannachi et *al.*, 1998). Les principales variétés cultivées sont :

-Deglet-Nour : Variété commerciale par excellence. C'est une datte demi-molle, considérée comme étant la meilleure variété de datte du fait de son aspect, son onctuosité et sa saveur. A maturité la datte est d'une couleur brune ambrée avec un épicarpe lisse légèrement plissé et brillant, le mésocarpe présente une texture fine légèrement fibreuse (Amellal, 2007 et Bacha, 2008).

-Les variétés communes : Ces variétés sont de moindre importance économique par rapport à Deglet-nour. Les variétés les plus répandues sont : Ghars, Delgla-Beida et Mech-Degla (Bacha, 2008). Selon Buelguedj (2001), une grande proportion des variétés communes est de consistance molle.

Le tableau suivant montre les cultivars dominants dans les principaux pays producteurs de dattes.

Tableau I: Cultivars dominants dans les principaux pays producteurs de dattes de l'ancien monde.

Pays	Cultivars	Pays	Cultivars
Algérie	Degla-Beïda, Mech-Degla, Deglet-Nour.	Libye	Bikraari, Khadraï, Tafert
Arabie Saoudite	Rouzeiz, Koulass, Kounneizi.	Maroc	Jihel, Bou feggous, Mehjoul.
Egypte	Hayani, Saïdi ou Siwi, Samani.	Mauritanie	Ahmar, Tinterguel, Tidiguert, Sekani, Amsersi.
Irak	Zahidi, Sayir, Hallaoui, Deri, Hadraoui, Hestaoui, Tsiptab, Barhi.	Pakistan	Jawan Sor, Berni, Karoch, Siah, Karba, Kalud, Rabai, Dandari, Mazawali, Sabzo, Abdandan, Alini, Muzawijat, Kluskeech, Zard Mekrani, Begum, Jangi, Zardan ou Zard Irani.
Iran	Savir, Mouzâfti, Kabkab, Chahani, Mordasang.	Tchad	Martchiano, Zalao, Mektouli, Koudidou.
Tunisie	Deglet-Nour, Allig ou Fitni.		

(Munier, 1973)

I.1.8. Production de dattes

-Dans le monde

Les principaux pays producteurs de dattes sont : L'Égypte, L'Iran, L'Arabie Saoudite, le Pakistan, L'Algérie et le Soudan, les Emirates Arabes Unis... (Boukhiar, 2007, Djidel, 2007 et Messaid, 2008). La production mondiale de dattes réalisées en 2007 est de 5,09 million de tonnes (FAO, 2007). L'Irak, quant à lui, a atteint une production de 0,91 millions de tonnes (FAO, 2004).

-En Algérie

Le palmier dattier est cultivé au niveau de 17 wilayas seulement, pour une superficie de 120 830 hectares. Biskra 23%, El-Oued 22%, Adrar 21% et Ouargla 15% (Bacha, 2008; Djouab, 2007 ; Messaid, 2008). La figure 05 montre la répartition de la production de dattes dans la wilaya d'Adrar.

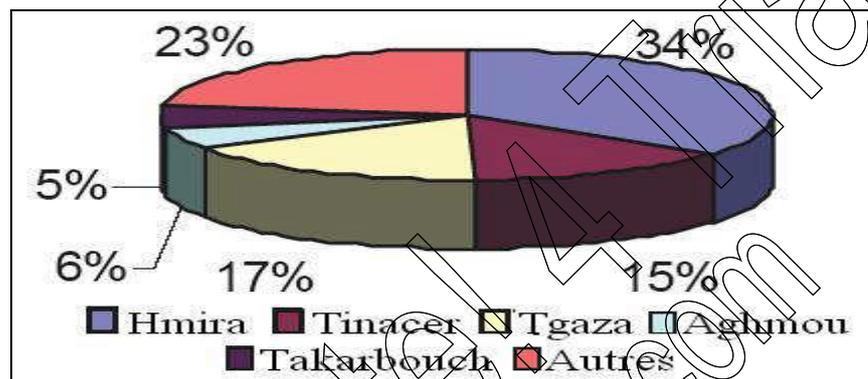


Figure 05 : Répartition de la production de dattes dans la wilaya d'Adrar (Boulal et al ., 2010)

La production réalisée dans la campagne agricole (2000/2001) est de 4.18 millions de quintaux (Amellal, 2008 ; Bouklachi et saïb, 2011). Le tableau II montre le nombre des palmiers dattiers en Algérie.

Tableau II: Production des dattes en Algérie de la campagne agricole (2000/2001), en quintaux.

wilayas	Deglet-Nour (Dattes fines)	Ghares et analogues (Dattes molles)	Degla-Beida et analogues (Dttes Séches)	Total
Adrar	0	0	572 000	572 000
Laghouat	350	1 990	2 070	4410
Batna	210	1 430	4 870	6510
Biskra	769620	134 760	292 280	1 196 660
Bechar	0	0	94 890	94 890
Tamanrasset	0	0	47 930	47 930
Tébessa	4 620	4 000	1 740	10 360
Djelfa	250	100	50	400
M'sila	0	0	2 500	2 500
Ouargla	434 110	207 760	66 740	708 610
El-Bayadh	0	8750	0	8750
Illizi	90	620	8000	8710
Tindouf	0	500	0	500
El-Oued	895 450	234 920	105 820	236 190
Khenchela	1610	4880	1480	7970
Naàma	0	1690	190	1880
Ghardaia	106 000	38 600	131 400	276 000
Total	2 212 310	640 000	1 331 960	4 184 270

(Amellal, 2008; Bouklachi et Saib, 2011)

I.2. les Compositions biochimique de la pulpe

La chair représente 80 à 95 % du poids de la datte fraîche, elle est riche en sucre, ce qui lui donne un très grand pouvoir énergétique (Maatalah, 1970). Elle est également riche en eau,

en éléments minéraux et en substances vitaminiques, par contre sa teneur en matière grasse est faible, en plus de ces composants la datte renferme : fibres, protéines, celluloses, pectines, polyphénols (Boukhiare, 2007; Chekroune 2009).

Les sucres et l'eau sont les constituants les plus importants et ces deux éléments confèrent par leur proportion la consistance de la chair (pulpe) (Munier, 1973). Le tableau suivant résume les compositions moyennes de dattes communes.

Tableau III : Compositions moyennes pour 100 g net de dattes communes

Composants	Quantités (g/100g de dattes communes)
Glucides	69.0
Protides	2.5
Lipides	0.1
Fibres alimentaires	7.1
Les minéraux et oligoéléments	1.5-1.8
Eau	70-80 dans la datte fraîche et 10-40 dans la datte sèche.
Apports énergétiques	287.0 k Calories/1200 k Joules.
Vitamines	Mg
Vitamine C	2
Provitamine A	0.03
B1	0.06
B2	0.10
B3	1.7
B5	0.8
B6	0.15
B9	0.028

(Benahmed, 2007)

La figure 06 montre les compositions biochimiques globales de la datte.

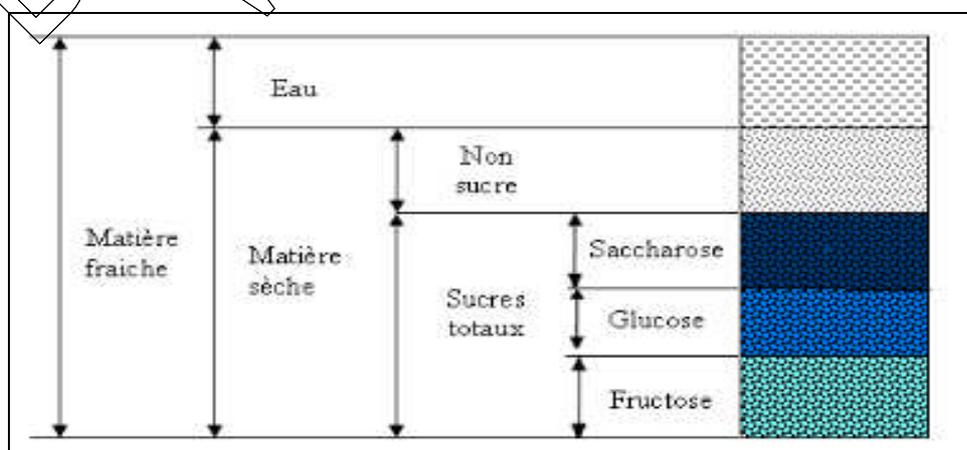


Figure 06: les compositions biochimiques globales de la datte (Estanove, 1990).

I.3. Composition biochimique de noyau

Dans le tableau IV est citée la composition des noyaux de deux dates Mauritanienne et Irakienne.

Tableau IV: Composition biochimique de noyau de dattes.

Constituant	Noyau (Mauritanie) %	Noyau (Irak) %
Eau	7,16	6,46
Cendres	1,22	1,12
Lipides	8,86	8,49
Protides	6,54	5,22
Glucides	58,90	62,51
Cellulose	17,32	16,20

(Meunier, 1973)

I.4. Intérêt nutritionnelle de la datte

Le taux élevé des sucres permet de classer la datte parmi les aliments glucidique ce qui a permis de constituer un aliment de grande valeur nutritive et énergétique (Gilles, 2000 ; Djouab, 2007).

Les dattes constituent un excellent aliment, leur richesse nutritive est renforcée par une certaine quantité de vitamines A, et de vitamine B (Lecoq, 1965).

Ces dernières ont un effet bénéfique sur la santé humaine, l'apport journalier recommandé étant de 0,025- 0,03 Kg pour un adulte (Amellal, 2008).

I.5. Intérêt médicinale de la datte

Du fait de leur pouvoir hydrophile, les fibres facilitent le transit intestinal et exercent un rôle préventif sur les cancers colorectaux, les appendicites, la diverticulose, les varices, les hémorroïdes, les diabètes, l'hypertension et l'hypercholestérolémie (Amellal, 2008).

La datte est également riche en polyphenols, ces derniers jouent un rôle important dans le corps: ils ont des effets anti-inflammatoires, antioxydants, hypotensif ; ils renforcent en outre le système immunitaire (Djouab, 2007).

II. technologie de la datte

II.1. Valorisation des déchets de dattes

Selon Estanove (1990), de nombreux produits sont élaborés à partir de dattes déclassées de faible valeur marchande, ou à base des rebuts de datte, ces produits sont regroupés comme suit :

II.1.1. Produits non fermentés

Farine de dattes

Obtenu par broyage de dattes dénoyautées, dattes sèches du type Degla-Beida ou Mech-Degla, ou susceptible de le devenir après dessiccation. Elle est utilisée en biscuiterie et pâtisserie (Djouab, 2007).

Pâte de dattes

Elle se prépare à partir de pulpe de dattes molles, il suffit d'ajouter de l'eau, et de pétrir la pulpe jusqu'à l'obtention d'une pâte homogène, Les pâtes de dattes sont utilisées en biscuiterie et pâtisserie. Elles peuvent être mélangées avec les arachides, la poudre du lait ou les levures alimentaire (Espiard, 2002).

Miel de dattes

Sa préparation nécessite des variétés de dattes molles. L'extraction se fait par pressages de la pulpe de dattes, et le produit ainsi obtenu présentant l'aspect du miel d'abeilles (Bouklachi et Saib, 2011).

Jus de dattes

Le jus de dattes est connu depuis longtemps dans la plupart des pays producteurs de dattes, ce jus est appelé « Roub » en Algérie. Ce jus est extrait après trempage dans de l'eau chaude (80c°) pendant 1 heure au moins (Djidel, 2007).

Sirop de dattes

Il peut être fabriqué avec n'importe quelle datte de qualité secondaire, c'est un produit stable d'une couleur plus ou moins brune, utilisé en pâtisserie comme édulcorant (Djidel, 2007). Selon Espiard (2002), cette gamme de produit est basée sur l'extraction des sucres par diffusion de ces derniers et des autres composants solubles de la datte. Par mélange et cuisson de pâte ou de morceaux de dattes et de sirop nous pouvons obtenir des crèmes ou des confitures d'excellente qualité.

Sucre de datte

Obtenu par concentration sous vide du sirop de dattes (Bouklachi et Saib, 2011).

II.1.2. Produits obtenu après fermentation

Alcool de dattes

Le moût datte sert de milieu de fermentation pour la production d'alcool éthylique. L'alcool éthylique a été produit au laboratoire avec un rendement de 87% (Messaid, 2008).

Vinaigre

Le vinaigre est une solution aqueuse d'acide acétique, résultant d'une fermentation alcoolique. Les bactéries utilisées sont des bactéries acétiques: Acétobacter (Espirad, 2002).

Acide citrique (C₆H₈O₇)

L'acide citrique est produit par fermentation : *Aspergillus Niger* de sirop de dattes (Boukhiar, 2007).

Vitamine B12

La production de la vitamine B12 est assuré par: *Streptomyces albidoflavus antibioticus*, ou *Streptomyces aureoflacuis*. Les rendements sont similaires à ceux obtenus sur d'autres substrats tels que la mélasse (Djidel, 2007).

II.1.3. Biomasse

Levure boulangère

Jusqu'à présent, la production industrielle de la levure boulangère se fait sur la mélasse, ou sur les produits amylacés (Amidon). Le rendement maximum atteint après 22 heures de culture en aérobiose est de l'ordre de 9 g/l, calculé en poids sec (Bouklachi et Saib, 2011).

Levure alimentaire S.C.P (Signale celle protéine)

Les espèces de levures cultivées sur le jus de dattes dilué (1 à 4%) sont ; *candida utilis* et *torula S.p.* Le rendement maximum est atteint en moins de 24 heures de culture une tonne de dattes pourrait assurer une production de 250kg de S.C.P, dont la teneur en protéine est estimée à 52% (Bouklachi et Saib, 2011).

II.2. Importance économique de la transformation des dattes

La datte est un produit qui présente des avantages comparatifs et pour lequel il n'existe pas de problèmes de concurrence entre les pays développés et les pays sous-développés, comme c'est le cas pour d'autres produits agricoles (tomates, agrumes, olives, etc.) (Boukhiar, 2007).

La datte fait l'objet d'un commerce intérieur et extérieur important, surtout la variété Deglet-Nour les autres variétés, même si elles ne sont pas largement commercialisées sur les marchés, peuvent être transformées en divers produits dont l'impact socio-économique est considérable tant du point de vue de la création d'emplois et de la stabilisation des populations dans les zones à écologie fragile. Ainsi, les produits issus de la transformation de la datte limiteraient, par ailleurs la dépendance économique du pays vis-à-vis de l'étranger et lui permettraient d'économiser des devises susceptibles d'être dégagées pour d'autres secteurs (Boukhiar, 2007 ; Djouab, 2007 ; Messaid, 2008).

La figure 07 montre l'opération de transformation technologique de datte

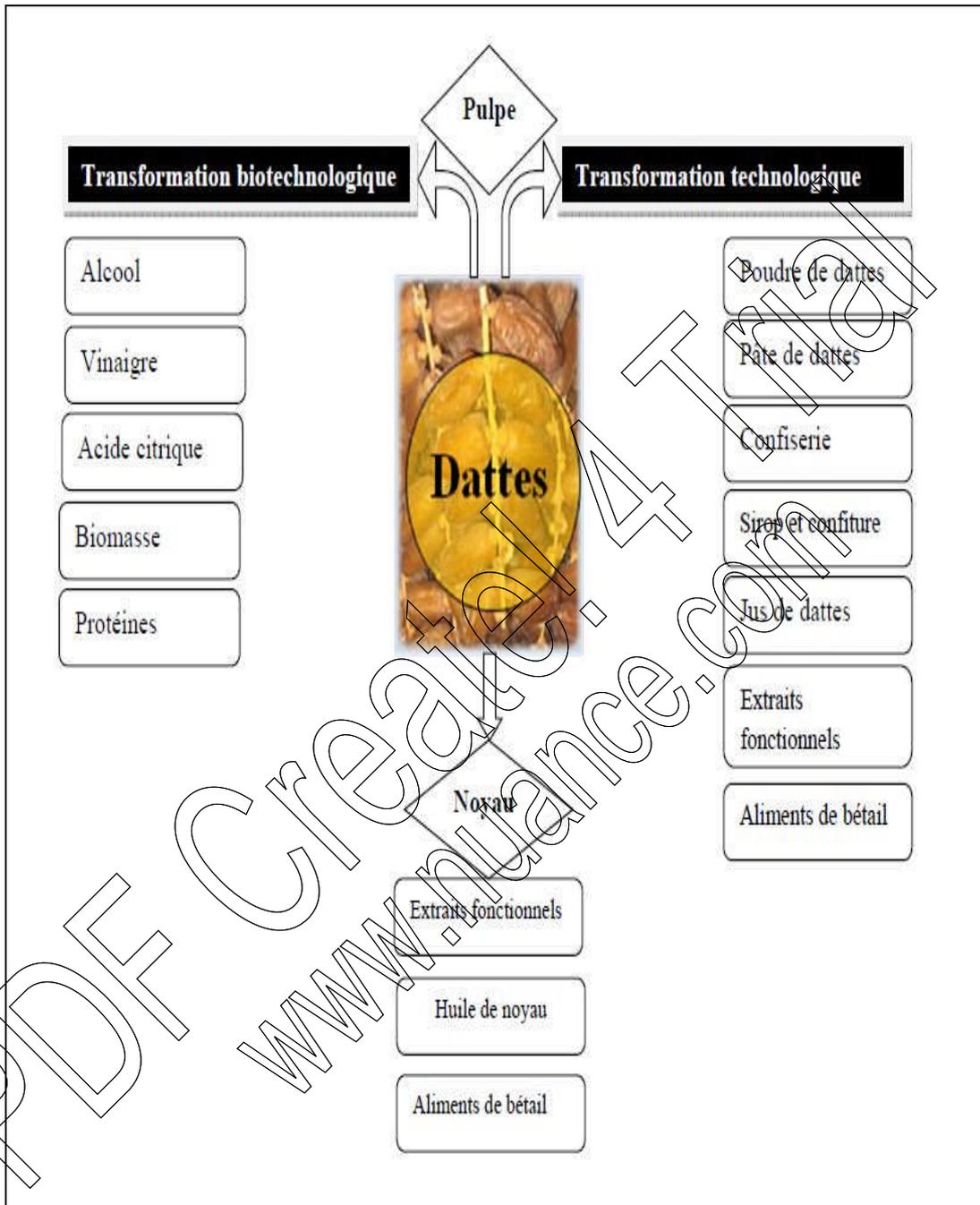


Figure 07: Technologie de datte (Boukhiar, 2007).

III. les bactéries lactiques et bifidobactéries

III.1. Généralité sur les bactéries lactiques

Les bactéries lactiques interviennent dans l'industrie laitière et dans la fermentation de nombreux autres produits alimentaires, en contribuant à la texture, à la saveur des aliments et à la production des composés aromatiques. Ils fermentent les glucides en acide lactique d'où une diminution du pH favorable à la bio conservation des denrées alimentaires (Tabak *et al.*, 2012). 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, CO₂) (Yann, 2003).

Les bactéries lactiques ont été isolées à partir de nombreux milieux naturels végétaux (plantes et fruits), animaux et humains (cavités buccale et vaginale, les fèces, le lait) (Luquet *et al.*, 2008).

Le groupe des bactéries lactiques a été défini par Orla-Jensen (1919). Il réunit plusieurs genres caractérisés par leur capacité à fermenter les glucides en produisant de l'acide lactique (Djidel, 2007).

Le tableau V montre les genres et le Type de fermentation des bactéries lactiques.

Tableau V : Les genres et le type de fermentation des bactéries lactiques.

Genre	Type de fermentation	Principaux produits de dégradation	Isomères de l'acide lactique produit
<i>Streptococcus</i>	Homolactique	Lactate	D
<i>Pediococcus</i>	Homolactique	Lactate	L, DL
<i>Lactobacillus</i>			
-Homofermentaire.	„	„	L, D ou DL
-Hétérofermentaires facultatif.	Homo ou hétéro lactique	Lactate ou lactate et acétate	L, D ou DL
-Hétérofermentaires obligatoire	Hétéro lactique	Lactate, acétate, CO ₂	L, D ou DL
<i>Leuconostoc</i>	Hétéro lactique	Lactate, acétate, CO ₂	D
<i>Bifidobacterium</i>	Hétérolactique	Lactate, acétate	L

(Bouklachi et Saib ,2011).

III.2. Bifidobactéries

III.2.1. Historique

Au cours de ses recherches sur la flore du nourrisson en 1899 et 1900, Tissier découvre des bacilles à Gram positifs incurvés, souvent bifides, qu'il nomme *Bacillus bifidus communis*. De 1900 à 1957, cette espèce est incluse dans la famille des *Lactobacillaceae* sous le nom de *Lactobacillus bifidus*. En 1924, Orla- Jensen reconnaît l'existence du genre *Bifidobacterium* mais étant donné ses similitudes avec le genre *Lactobacillus*, les bifidobactéries resteront assimilées au genre *Lactobacillus* jusqu'en 1957. En 1957,

Dehnart réalise qu'il existe plusieurs biotypes de *Bifidobacterium*. Il faudra attendre 1963 pour que Reuter découvre sept espèces du genre *Bifidobacterium*. C'est dans la 8^{ème} édition du Bergey's Manual of determinative Bacteriology que le genre *Bifidobacterium* est reconnu (Delcenserie et al., 2002). Il est inclus dans la famille *Actinomycetaceae* de l'ordre des Actinomycetales (Château et al., 1994).

III.2.2. Systématique

Règne : Bacteria

Embranchement : Actinobacteria

Classe : Actinobacteria

Sous-classe : Actinobacteridae

Ordre : Bifidobacteriales

Famille : Bifidobacteriaceae

Genre : *Bifidobacterium*

III.2.3. Morphologie et les caractéristiques

Bifidobactérium (anciennement *Lactobacillus bifidus*) est un bacille à gram positif, anaérobies stricts, catalase négatif, immobile, non acido-alcool-résistantes, non sporulés. Ces *bifidobactérium* sont des bâtonnets de morphologie variée avec une paroi cellulaire irrégulière, cellules courtes, coccoidales, cellules ramifiées, bifurquées-spatulées, isolées ou chaînes disposées en V ou en palissable. Le genre est caractérisé par la présence d'une enzyme fructose-6-phosphate phosphokétolase (f6ppk) (Château et al., 1994). Les colonies sont de couleur blanche opaque et de diamètre variable (0.5 à 2 mm) (Iarpent, 1997). La température optimale de la croissance de cette bactérie est entre 37-41°C, et l'optimum de pH étant comprise entre 6.5-7. Aucune croissance n'est observée à des températures inférieures à 25°C et supérieures à 45°C et à des valeurs de pH inférieures à 4.5 ou supérieures à 8.5 (Danilo, 2010; Yann, 2003). Les bifidobactéries ont un pourcentage en base G+C entre 55-67% dans l'ADN (Bourgeois, 1996).

Les espèces du genre *Bifidobacterium* ne possèdent ni endotoxine, ni exotoxine. Ce genre n'est pas considéré comme pathogène (Delcenserie et al., 2002). Parmi les 32 espèces de bifidobactéries répertoriées, 10 sont considérées comme étant d'origine humaine (Yann, 2003).

II.2.4. Besoins nutritionnels

Besoins en composés azotés

Les bifidobactéries sont capables d'utiliser les sels d'ammonium (azote inorganique) comme seule source d'azote. Ces espèces, lorsqu'elles croissent sans source d'azote organique, rejettent des taux considérables d'acides aminés dans le milieu. Par exemple, *B. bifidum* peut produire jusqu'à 150 mg/litre de thréonine. En général, les acides aminés les plus souvent produits sont l'alanine, la valine, l'acide aspartique et la thréonine.

Les bifidobactéries sont généralement incapables de réduire les nitrates en nitrites (Delcenserie et al., 2002).

Besoins en sels minéraux

Les besoins en minéraux ont surtout été étudiés chez *B. bifidum*. Cette espèce a besoin de fer, de magnésium et de manganèse (Leveau et al., 1993).

Besoins en vitamines

On distingue trois groupes sur la base de la production et de la libération de thiamine, acide nicotinique et acide folique. *B. bifidum* et *B. infantis* les accumulent en grande quantité alors que *B. breve* et *B. longum* sont de faibles producteurs. L'espèce *B. adolescentis* ne synthétisant aucune vitamine (Leveau et al., 1993).

Besoins en facteurs de croissance

Plusieurs substances ont un effet «facteur de croissance». Parmi ces facteurs de croissance : le lactulose est très efficace d'une part parce qu'il diminue le pH ambiant et d'autre part parce qu'il permet aux bifidobactéries d'adopter leur forme spécifique en «Y» ou en «V». Les chaînes courtes de fructo-oligosaccharides appelées «néosugars» sont encore plus intéressantes car en plus de favoriser la croissance des bifidobactéries, elles empêchent la croissance de *Clostridium* et d'*E.Coli*. Enfin, d'autres substances comme le lactosucrose, le lactisol et les xylooligosaccharides sont également décrites comme ayant un effet positif sur la croissance des bifidobactéries (Delcenserie et al., 2002).

III.2.5. Métabolisme

Bifidobacterium est anaérobie stricte, nitrate réductase et sa croissance nécessite une assez forte teneur en CO₂. Elle est le siège d'une fermentation hétérolactique. Le fructose

est dégradé par fermentation selon une cascade de réactions aboutissant à la formation d'acétate et de lactate. Normalement 75% d'acétate sont formés pour 50% de lactate. L'enzyme clé de ce mécanisme est la Fructose-6-phosphate phosphokétolase (F6PPK) qui scinde l'hexose-P en érythro-4-P et acétylphosphate.

Cependant, la dégradation du pyruvate en acide formique et acétylphosphate et la réduction de cet acétylphosphate en éthanol peuvent modifier le ratio en faveur d'une production d'acétate, acide formique et éthanol plutôt qu'en faveur d'une production de lactate (Delcenserie et *al.*, 2002)

Les produits de la fermentation des bifidobactéries (acides lactique et acétique) interviennent dans le goût. L'acidité induite par ces acides permet la conservation des aliments en inhibant le développement d'autres bactéries (Danilo, 2010). la figure 08 montre la fermentation lactique chez les Bifidobactéries.

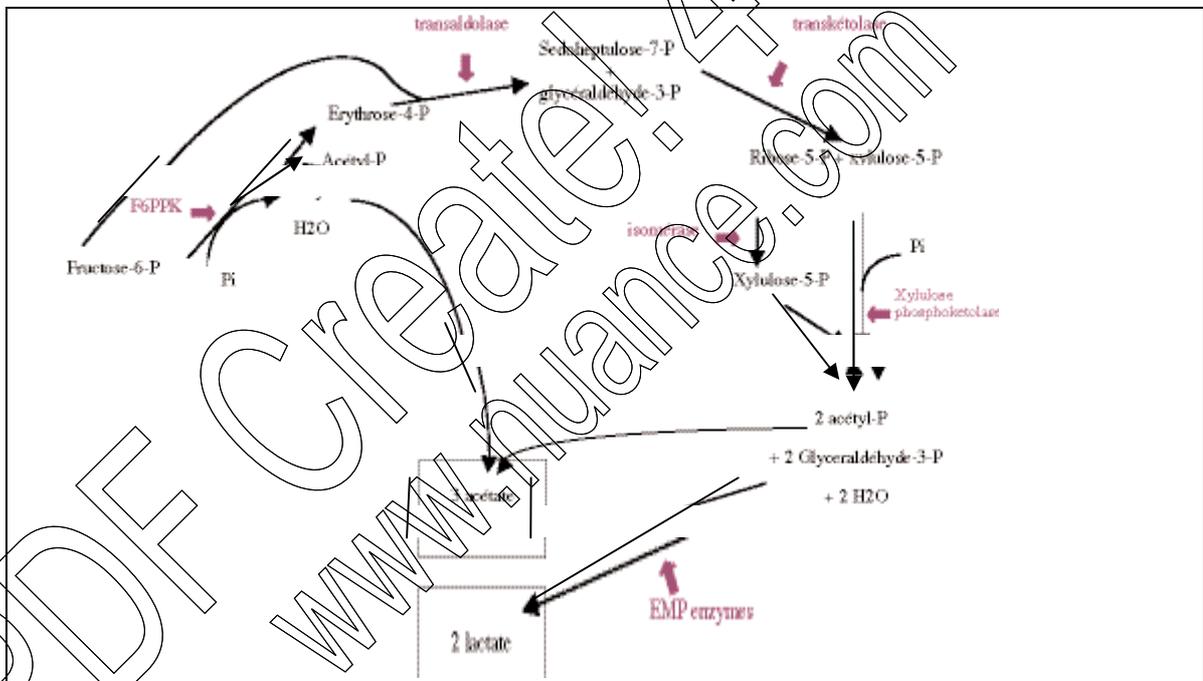


Figure 08: Fermentation lactique chez les Bifidobactéries (Delcenserie et *al.*, 2002).

III.2.6. Culture

On peut isoler les bifidobactéries sur le milieu TPY (*Tryptone Phytone Yeast extract*). Elles se développent dans une atmosphère riche en CO₂ après une incubation à 40°C pendant 72h. Les géloses TGY-dicloxacilline peuvent être utiles pour caractériser une contamination fécale par *Bifidobacterium* (Anonyme, 2011).

III.2.7. Bénéfices nutritionnels

Les *Bifidobactérium* agissent sur la digestion en modifiant la morphologie et la physiologie du tractus gastro-intestinal de l'hôte. Ils influencent la maturation et le renouvellement des entérocyte. Ils sont également impliqués dans la dégradation et la régénération des mucines intestinales. Les différentes propriétés font que l'utilisation des *Bifidobactérium* comme probiotique c'est-à-dire des microorganismes vivants dont l'apport additif alimentaire permet d'améliorer les bénéfices nutritionnels de l'hôte (Château et al., 1994).

III.2.8. Rôle thérapeutique des probiotiques

Les *Bifidobactérium* sembleraient avoir un rôle bénéfique sur la santé de l'homme. Ils seraient efficaces dans les traitements de nombreux désordres digestifs : diarrhées, flatulence, constipation, colites, gastroentérite...mais ils auraient également une action sur d'autres: tumeur, taux de cholestérol élevé... (Château et al., 1994).

III.3. Généralité sur *Bifidobacterium longum*

Le *Bifidobacterium longum* est un probiotique, une bactérie lactique bénéfique, isolé de fèces d'enfants est stimulé par la kappa-caséine digérée par la trypsine. Le *Bifidobacterium longum* a été décrites en 1963 par Reuter, son action sur la santé de l'homme a été le sujet de nombreux travaux scientifiques.

B. longum d'origine humaine dont 70% des souches sont porteuse d'ADN extrachromosomique. *B. longum* possède 13 types de plasmides (Château et al., 1994).

Bifidobacterium longum est divisé en trois sous-espèces : *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* subsp. Nov, *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* comb. Nov, et *Bifidobacterium longum* subsp. *suis* comb. nov (Delcenserie et al., 2002) la figure 09 montre la bactérie *Bifidobacterium longum*.

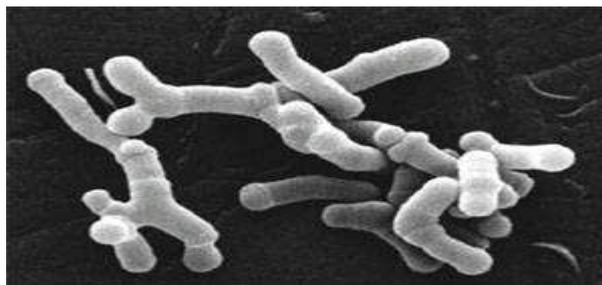


Figure 09: *Bifidobacterium longum* en microscope électronique (Annonyme, 2011).

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

La présente étude évalue quelques critères physico- chimiques, morphologiques, biochimiques et microbiologiques de Mech-Degla.

Toutes les analyses (physico-chimiques et microbiologiques) ont été effectuées au niveau de l'institut national spécialisé de formation professionnelle en industrie agro-alimentaire de Blida. Seule le dosage des protéines est effectué au niveau de laboratoire de zootechnique de l'université Saad Dahlab de Blida durant une période de trois mois du 1^{er} avril jusqu'à 30 juin 2012.

I. Matériel biologique

Les bactéries lactiques utilisées ou les ferments lactiques utilisés sont représentés par *Bifidobacterium longum* à l'état lyophilisé sous forme de comprimée.

La lyophilisation est une opération de déshydratation, généralement sous vide et à basse température, qui consiste à éliminer progressivement l'eau d'un produit congelé principalement par sublimation.

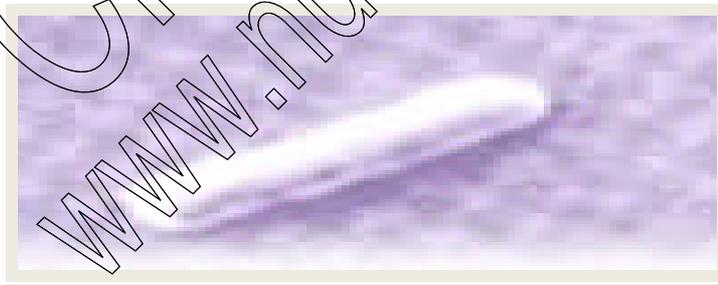


Figure 10: *Bifidobacterium longum* à l'état lyophilisé.

II. Matériel végétal

Nous avons choisi dans notre étude le jus de rebut de datte (Mech-Degla), La Figure suivante montre Datte Mech-Degla.



Figure 11: Datte Mech-Degla

II.2. Choix de la variété (Mèche- Degla)

Le choix de cette variété se justifie par sa qualité gustative, son abondance au niveau national, sa faible valeur marchande, sa facilité de conservation et sa composition : Il s'agit de sa richesse en sucres, un milieu favorable pour la croissance et le développement des bactéries lactiques.

II.3. Prélèvement de l'échantillon

Les dattes analysées (Mèche- Degla) sont achetées le mois de Mars 2012. Elle est originaire de la région Toulga, de la wilaya de Biskra. Ces dattes ont été récoltées au stade de maturité. Les fruits sont prélevés au hasard sur plusieurs régimes à diverses hauteurs et orientations. La datte est conservée à température à 4°C.

II.4. Préparation de l'extrait de datte

Selon Boudjelal et *al.* (2001) ; pour obtenir un extrait de datte (jus) variété sèche : «Mèche- Degla », nous devons passer par les étapes suivantes

- ✓ La pulpe de dattes est soigneusement lavée.
- ✓ Eliminer les loges capillaires et les noyaux des dattes.
- ✓ Couper en petit morceau.
- ✓ L'eau distillée est additionnée à raison de deux litres par kilogramme de pulpes.

- ✓ Le mélange est chauffé à 80 °C pendant 2 h dans un bain-marie avec agitation de temps en temps.
- ✓ Après refroidissement, l'extrait obtenu est centrifugé à 5000 rpm pendant 30 mn afin de séparer les débris cellulosiques.
- ✓ Pasteurisation de l'extrait de datte par l'autoclave à 80°C pendant 10 mn.

La figure suivante montre l'extrait obtenu de datte (jus) variété sèche : «Mèche-Degla ».



Figure 12 : Extrait de datte variété sèche « Mech-Degla »

III. Analyses morphologique de la datte

Les analyses qui suivent ont été réalisées sur 10 dattes (Acouréne et Tama, 2001).

- ✓ La couleur : a été appréciée visuellement.
- ✓ La consistance : au toucher.
- ✓ Le poids : est déterminé à l'aide d'une balance analytique

VI. Analyses physico-chimiques

VI.1. Détermination de la teneur en eau (NF : 707mars 1976)

Principe :

La teneur en eau est déterminée sur une partie aliquote de 5 g d'échantillon étalé dans une capsule en porcelaine puis séché dans une étuve, à la pression atmosphérique, à une température de 103 ± 2 °C.

Mode opératoire :

- Sécher des capsules vides à l'étuve durant 15 mn à 103 ± 2 °C.
- Tarer les capsules après refroidissement dans un dessiccateur.

-Peser dans chaque capsule 5 g d'échantillon à une précision de $\pm 0,001$ g, et les placer dans l'étuve réglée à 103 ± 2 °C.

-Retirer les capsules de l'étuve, les placer dans le dessiccateur, et après refroidissement, les peser. L'opération est répétée jusqu'à l'obtention d'un poids constant (en réduisant la durée de séchage à 30 mn).

La teneur en eau est égale à la perte de masse subie dans les conditions de la mesure.

Expression des résultats :

$$H\% = \frac{M_i - M_f}{P} \times 100$$

Soit :

H% : Teneur en eau ou humidité.

M_i : Masse initiale « avant dessiccation » « Matière fraîche + capsule ».

M_f : Masse finale « après dessiccation » « Matière sèche + capsule ».

P : Masse de la prise d'essai 5 g.

La teneur en matière sèche est calculée selon la relation suivante.

$$\text{Matière sèche}\% = 100\% - \text{Humidité}\%$$

VI.2. Détermination de pH (NF V05-108, juillet 1970)

Principe :

Le pH est mesuré directement à l'aide d'un pH mètre

Mode opératoire :

- Etalonnage de l'appareil.
- Introduire l'électrode dans la solution à contrôler (extrait de datte).
- Laisser la valeur indiquée se stabiliser.
- Faire la lecture du pH directement sur l'écran.
- Rincer l'électrode avec l'eau après chaque utilisation.

Expression des résultats :

Lecture directe de la valeur du pH sur le pH mètre.

VI.3. Détermination de la teneur en cendre

Principe :

Le dosage des cendres est basé sur la destruction de toute matière organique sous l'effet de la température élevée (500°C).

Mode opératoire :

- Peser 1 g de matière sèche dans une capsule préalablement tarée.
- Faire passer la capsule au four à température de 500°C pendant 5 heures.
- Après refroidissement retirer la capsule.

Expression des résultats :

$$MO \% = \frac{M_i - M_f}{P} \times 100$$

Soit :

MO% : Teneur en matière organique.

M_i : Masse initiale « avant incinération » « Matière sèche + capsule ».

M_f : Masse finale « après incinération » « Cendres + capsule ».

P : Masse de prise d'essai 1g.

La teneur en cendre est égale à : **Cendres⁰% = 100 % - MO %.**

VI.4. Détermination de l'acidité titrable totale : NF (V05-101, 1974)**Principe :**

Cette détermination est basée sur un dosage potentiométrique qui consiste à titrer les acides organiques par la soude, après avoir fait évaporer les acides minéraux par ébullition.

Mode opératoire :

- Prélever 25g de datté préalablement homogénéisé et la filtrer à travers un papier filtre.
- Prélever fiole jaugée 250 ml, compléter jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distille, récemment bouillée et refroidie, puis homogénéisé le mélange.
- Prélever 20 ml selon l'acidité présumée et les verser dans un bécher et y ajouter 0.25 à 0.5ml de phénol phtaléine.
- Sous agitation magnétique, verser à l'aide d'une burette la solution NaOH (0.1N) jusqu'à l'obtention d'une couleur rose persistant pendant 35s.
- Noter le volume V₁ de NaOH.
- Effectuer deux déterminations sur même échantillon.

Expression des résultats :

L'acidité titrable est exprimée en milliéquivalent pour 100 ml .Elle est obtenue en tenant compte de la dilution, selon la formule suivante :

$$A \% = 100 \times \frac{V_1}{V_0}$$

V₀ : volume de la prise d'essai en ml

V_1 : volume en ml de la solution de NaOH (0.1N) utilisée.

VI.5. Détermination de la teneur en protéines Méthode de Kjeldhal (NF V03 050,1970)

Principe :

Le principe de la méthode est basé sur la transformation de l'azote organique en sulfate d'ammonium sous l'action de l'acide sulfurique en présence d'un catalyseur et dosé après déplacement en milieu alcalin et distillation sous forme d'ammonium (Lecoq, 1965).

Mode opératoire :

Avant de procéder au dosage de l'azote total l'échantillon doit subir une minéralisation. Pour cela, introduire dans un matras de minéralisation 1 g d'échantillon, ajoutez une pincée des catalyseurs (sulfate de cuivre et sulfate de potassium).

-Ajouter 15 ml d'acide sulfurique pur.

-Nous utilisons un chauffage progressif: d'abord une attaque au froid pendant 15mn jusqu'à l'apparition de vapeur blanche d'anhydride sulfurique, puis le chauffage (420°C) et rendu plus énergique (attaque à chaud) pendant 4 à 5 heures.

-Après décoloration complète, la solution est refroidie et complétée à 100 ml avec de l'eau distillée.

-La distillation se fait dans un distillateur automatique VELP ou l'ajout de 20 ml de soude à 35% dans le matras et 25 ml d'acide borique dans une fiole de 250 ml est réalisé selon un programme établi et mélange bleu de méthylène et rouge méthylène.

Le dégagement d'ammoniac est récupéré dans une solution d'acide borique contenant l'indicateur coloré. L'excès d'ammoniac est alors dosé par l'acide sulfurique 0,05N.

Expression des résultats :

La teneur en azote total est déterminée par la formule suivante :

$$N\% = V / V' \times (N - N') \times 0,05 \times 1,4 / P$$

Soit:

V : solution minéralisée et complétée 100 ml.

V' : volume de la soude ajoutée 20 ml.

N : la quantité d'acide sulfurique lue après titration.

N' : le témoin 0,2.

0.05 : la normalité d'acide sulfurique.

P : poids de la prise d'échantillon 0,2 g.

1.4 : constant.

Les résultats sont donnés sous la forme suivante :

$$\% \text{ PROTEINES} = \% \text{ N} \times 6,25$$

VI.6. Dosage des sucres totaux et sucres réducteurs

Mode opératoire :

Introduire 20 ml de l'échantillon, dans une fiole jaugée de 100 ml, en ajoutant 5ml de solution d'acétate de plomb.

-Ajouter par petite quantités jusqu'au trait de jauge, puis on filtre le mélange (filtrat 1).

VI.6.1. Dosage des sucres réducteurs

Principe :

Cette méthode basée sur la réduction de la liqueur de Fehling par les sucres réducteurs contenus dans l'échantillon. Dans une première étape, étalonner la liqueur de Fehling.

Mode opératoire :

-Prélever dans un bécher 5 ml de solution de Fehling I et 5 ml de solution de Fehling II.

-Ajuster jusqu'à 100 ml avec de l'eau de robinet puis mettre à ébullition.

-Titrer par le filtrat obtenu jusqu'à la disparition de la couleur bleu.

-Ajouter 2 gouttes de bleu de méthylène et continuer la titration jusqu'à l'apparition de la coloration rouge brique, à ce moment la, arrêter le titrage et noter le volume de filtrat dépensé soit V_1 .

VI.6.2. Dosage des sucres totaux (Dubois et al., 1956)

Principe :

Cette méthode permet de doser les oses en utilisant le phénol et l'acide sulfurique concentré. En présence de ces deux réactifs, les sucres donnent une couleur marron cuivrée.

Mode opératoire :

-Prélever 50 ml de filtrat 1 et y ajouter 5 ml d'HCl concentré.

- Porter le mélange au bain marie jusqu'à 70°C pendant 5 minutes.
- Neutralisation avec NaOH (10 N)/en présence de phénol phtaléine à 1%.
- Prélever dans un bécher 5 ml de solution de Fehling I et 5 ml de solution de Fehling II. Ajuster jusqu'à 100 ml avec de l'eau du robinet puis chauffer jusqu'à ébullition.
- Titrer par le filtrat obtenue jusqu'à disparition de la couleur bleu.
- Ajouter 2 gouttes de bleu de méthylène et continuer la titration jusqu'à l'apparition de la coloration marron cuivrée, à ce moment arrêté la titration et noter le volume de filtrat dépensé soit V_2 .

Expression des résultats :

-**Sucres réducteurs** : ($S_r = \text{g/l}$)

$$S_r = [240 / V \times (V_1 - 0.05)] \times 10$$

V : Volume de la prise d'essai

V_1 : Volume du filtrat 1

-**Sucres totaux** : ($S_t = \text{B g/l}$)

$$S_t = [500 / V \times (V_2 - 0.05)] \times 10$$

V : Volume de la prise d'essai

V_2 : Volume de filtrat 2

-**Saccharose** : $S = \text{g/l}$

$$S = \text{Sucres totaux} - \text{sucres réducteurs} \times 0.9$$

V. Analyses microbiologiques

V.1. Préparation de dilution mère et des dilutions décimales (NF : V08-06,1991/ISO 4831).

La technique de la dilution s'effectue aseptiquement, avec un maximum de précision, après homogénéisation convenable du produit à analyser (jus de datte).

- On prélève 1ml de la solution mère et on l'introduit aseptiquement dans un tube stérile contenant 9ml d'eau physiologique stérile, pour obtenir une dilution de 1/10 ou 10^{-1} .
- A partir de la dilution 1/10, on prélève à l'aide d'une pipette stérile 1ml que l'on introduit dans un tube stérile contenant 9ml d'eau physiologique stérile, on homogénéise et on obtient ainsi la dilution 1/100 ou 10^{-2}

-Introduire ensuite aseptiquement à l'aide d'une pipette 1ml de la dilution 10^{-2} dans un tube stérile, contenant au préalable 9ml d'une même dilution, cette dilution est alors au 1/1000 ou 10^{-3} (Beerens et luquet, 1987).

Ces trois dilutions serviront à la recherche des germes suivants :

- ✓ Germes aérobies mésophiles totaux.
- ✓ Coliformes
- ✓ Levures et moisissures.
- ✓ *Staphylococcus aureus*.
- ✓ Salmonelles.
- ✓ *Clostridium sulfito-réducteur*.
- ✓ Streptocoques fécaux.

V.2. Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux (GAMT) à 30°C : Norme AFNOR (NFV 08-051.Fév.1999).

Principe :

Le dénombrement de la flore totale est réalisé sur gélose PCA (Plate Count Agar), par un ensemencement en profondeur et par comptage des colonies lenticulaires obtenues (Joffin et Joffin, 2000).

Mode opératoire :

- ✓ A partir des dilutions décimales allant de 10^{-3} à 10^{-1} , on procède à un ensemencement en profondeur, en ajoutant aseptiquement 1ml des dilutions décimales dans des boîtes des pétri stériles, aux quelles, on additionne environ 20ml de gélose PCA préalablement fondue et ramenée à $45^{\circ}\text{C} \pm 1$. Faire par la suite des mouvements circulaires en formes de « 8 » pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose utilisée.
- ✓ Laissez solidifier sur paillasse, puis rajouter une deuxième couche d'environ 5ml de la même gélose, cette double couche à un rôle protecteur contre les contaminations diverses.
- ✓ L'incubation des boîtes est réalisée à 30°C pendant 72h.

Lecture :

La lecture se fait par le dénombrement des colonies des GAMT qui se présentent sous forme lenticulaires en masse, en prenant compte le nombre des colonies compris entre 15

et 300, on multiplie le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution. (Beerens et luquet, 1987).

V.3. Recherche des Coliformes par comptage des colonies

Principe :

Par cette méthode les coliformes sont des bactéries qui à température spécifiques (30,35 ou 37°C,) forment des colonies caractéristiques dans la gélose lactosée bilisée, au cristal violet et au rouge neutre lorsque l'essai est effectuée selon la méthode spécifiée (Bourgeois et *al.*, 1996).

Mode opératoire :

- ✓ A partir des dilutions retenues, transférer 1ml de la solution mère dans la boîte de pétri numérotée pour cet usage.
- ✓ Dans les même conditions et de la même manière, on transfère à l'aide d'une nouvelle pipette, 1ml de la second dilution décimale dans une boîte à pétri.
- ✓ Dans les même conditions et de la même manière, on transvase 1ml de la troisième dilution décimale dans la boîte à pétri, environ 15ml de gélose VRBL, fondue, refroidie et maintenue à $47 \pm 2^\circ\text{C}$ dans un bain marie.
- ✓ On mélange soigneusement milieu et inoculum et on laisse le mélange se solidifiée sur la paillasse fraîche et horizontale.
- ✓ On retourne les boîtes à pétri ainsi préparée puis on les incube à 37°C pendant 24 heures \pm 2 heures.

Lecture et interprétation :

Après la période d'incubation spécifiée, compter les colonies dans chacune des boites contenant entre 15 et 150 colonies.

V.4. Recherche et dénombrement des levures et moisissures (NF ISO 1954).

Principe :

Les levures et moisissures sont des champignons inférieurs, hétérotrophie, organismes eucaryotes, qui prolifèrent sur les produits acides. Leur dénombrement effectués sur milieu sélectif ; OGA (Oxytétracycline glucosé agar) ou bien sur gélose Sabouraud additionné par le chloramphénicol (Guiraud, 1998).

Mode opératoire :

- ✓ On transvase 1ml de chaque dilution dans des boites stériles, aux quelles, on ajoute de la gélose OGA préalablement fondue et refroidie à 45°C dans un bain marie.
- ✓ On mélange après, par des mouvements circulaires et de va et vient puis, on incube les boites à 22°C pendant 5 jours.
- ✓ On doit surveiller quotidiennement les boites pour éviter l'envahissement du milieu par des moisissures.

Lecture :

Pour le dénombrement des colonies, en faisant la distinction entre les levures et moisissures d'après leur aspect macroscopique, on prend en considération les boites contenant 15 à 150 colonies et on multiplie le nombre trouvé par l'inverse de la dilution.

V.5. Recherche des *Staphylococcus aureus* (NF.V08-057 Nov 1994).**Principe :**

Les staphylocoques à coagulase positive sont des bactéries qui forment des colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques, en aérobie ou qu'en anaérobie

Leur dénombrement est effectué à l'aide d'un milieu sélectif, on distingue des milieux liquides d'enrichissement et des milieux gélosés pour l'isolement. L'enrichissement sur milieu « Giolitti Cantoni » permet une meilleure vérification des souches stressées. L'isolement sur milieu « Chapman », qu'est un milieu hypersalé (7,5% de NaCl) donc inhibiteur, ce qui permet une croissance abondante de *Staphylococcus aureus* (Bougeois et al., 1996).

Mode opératoire :**o Méthode d'enrichissement en milieu Giolitti Cantoni (G C)**

-Préparation du milieu d'enrichissement : Au moment de l'emploi, on ouvre aseptiquement le flacon contenant le milieu GC pour y ajouter 15ml d'une solution de « Tellurite de potassium ». Bien homogénéiser, le milieu est alors prêt à l'emploi.

-1^{ère} étape : Enrichissement : On introduit dans trois tubes à essai stériles 15ml de GC, puis on prend 1ml de chacune des dilutions de 10^{-3} à 10^{-1} et le mettre dans le tube de GC, et bien mélanger. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 h.

Lecture : Seront présumés positifs, les tubes ayant virés au noir.

-2^{ème} étape : Isolement : Pour s'assurer qu'il s'agit bien d'un développement de *Staphylococcus aureus* ; ces tubes feront l'objet d'une confirmation par isolement sur gélose Chapman, préalablement fondue puis coulé en boîtes. Après solidification du milieu l'ensemencement est réalisé par étalement sur surface. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48h (Bougeois et al., 1996).

Lecture :

Seront considérés comme positives, les boîtes contenant des colonies caractéristiques à savoir des colonies lisses, brillantes, pigmentées en jaune et entourées d'une zone de transparence. La coloration jaune due à la fermentation du mannitol et donc acidification du milieu qui vire au jaune.

Expression des résultats :

Si à la dilution 10^{-1} : le tube à noirci au bout de 24 h d'incubation et à l'isolement, il y a des colonies caractéristiques, il faut tenir compte de la dilution car le nombre réel de *Staphylococcus aureus* correspond à l'inverse de la dilution. Dans ce cas ; il y a donc 10 *Staphylococcus aureus* par millilitre de produit à analyser.

V.6. Recherche de Clostridium Sulfito-Réducteurs (NFV08 056Avril.1994).

Principe

Les clostridium sulfito-réducteurs sont des anaérobies strictes, peuvent former des spores, ils ont le pouvoir de réduire les sulfites du milieu en sulfure, cette propriété de sulfito-réduction génère le dégagement d' H_2S , qui réagit avec les sels de fer pour former un précipité de sulfure de fer, noir, insoluble qui se dépose autour des colonies et permet ainsi de caractériser. Le dénombrement des clostridium sulfito-réducteurs a lieu en milieu gélose Viande-Foie « VF », additionné d'alun de fer et sulfite de sodium ensemencé avec des dilutions différentes (Piard et Desmazeaud, 1991).

Mode opératoire :**▪ Préparation du milieu :**

Au moment de l'emploi, faire fondre un flacon de gélose Viande « VF », le refroidir dans un bain d'eau à 45°C, puis ajouter 0.5 ml d'alun de fer et 1 ml sulfite de sodium.

On mélange soigneusement et aseptiquement ; le milieu est ainsi prêt à l'emploi, mais il faut le maintenir dans une étuve à 45°C jusqu'au moment de l'utilisation.

▪ Ensemencement :

Les tubes contenant les dilutions 10^{-3} à 10^{-1} seront soumis d'abord à un chauffage à 80°C pendant 10 minutes. Puis à un refroidissement immédiat sous l'eau de robinet, dans le but d'éliminer les formes végétatives et de garder uniquement les formes sporulées.

À partir de ces dilutions 10^{-3} à 10^{-1} , porter aseptiquement 1 ml de chaque dilution dans de tubes stériles, puis ajouter environ 15 ml de gélose « VF » en surfusion dans chaque tube.

Après solidification du milieu à température ambiante, les tubes sont incubés à 37°C pendant 16 à 24 h ou au plus tard 48 h.

Lecture :

Après incubation, on compte les colonies noires de clostridiens sulfite-réducteurs. Les résultats sont exprimés en nombre de spores par ml.

V.7. Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux**Principe :**

La recherche des streptocoques fécaux se fait en milieu liquide par la technique du nombre le plus probable « NPP ». Cette technique fait appel à deux consécutifs :

▪ test de présomption :

Qui se fait sur milieu de « Rothe S/C », contenant l'azide de sodium comme agent sélectif.

▪ test de confirmation :

Qui se fait sur milieu « Litsky », qui contient l'azide de sodium et l'éthyle violet ; ce qui rend le milieu nettement plus inhibiteur et ne laisse se développer que les streptocoques fécaux (Marchal et *al.*, 1987).

Mode opératoire :**▪ Test de présomption :**

Une série de tubes contenant le milieu de Rothe S/C à raison de trois tubes par dilution.

-À partir des dilutions 10^{-3} à 10^{-1} , on fait ensemencer 1 ml dans chaque des 3 tubes correspondant à une dilution.

-Bien mélanger l'inoculum dans le milieu.

-L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 h.

Lecture :

Les tubes présentant un trouble microbien seront considérés comme positifs.

▪ test de confirmation :

-Chaque tube de Rothe positif, sera repiqué sur le milieu « Eva-litsky ».

-Bien mélanger l'inoculum dans le milieu.

-Incuber à 37°C pendant 24h.

Lecture :

La présence des streptocoques fécaux se traduit par un trouble microbien et une pastille violette au fond du tube.

V.8. Recherche de Salmonelles (NFV 08-052.Mai1997)**Principe :**

La recherche des salmonelles est souvent délicate, car elles sont à faible concentration dans l'échantillon. Pour palier à cet inconvénient, on utilise des milieux d'enrichissement liquide, qui permettent la multiplication des germes avant leur isolement et identification.

La recherche des *salmonella* se fait en quatre étapes successives (Piard et *al.*, 1991).

Mode opératoire :

La recherche de salmonelle nécessite une prise d'essai particulière dans le but d'augmenter la chance de trouver un pathogène.

-1^{er} étape : pré-enrichissement : Destinée à détoxifier les cellules microbiennes. Cette étape consiste à préparer la suspension mère: 25ml jus de datte et 225ml le diluant TSE (tryptone-sel-eau). On mélange bien le flacon et on l'incube à 37°C pendant 18 à 24 h.

-2^{ème} étape : Enrichissement primaire : Consiste à porter 10ml de milieu de pré-enrichissement dans un bouillon SFB (Bouillon au Sélénite de Sodium), réparti à raison de 100ml par flacon qui sera incubé à 37°C pendant 24 h. Le résultat positif, se traduit par un virage de la couleur du milieu du jaune au rouge.

-3^{ème} étape : Enrichissement secondaire et isolement :

Le flacon SFB ensemencé et incubé la veille fera l'objet :

-d'un second enrichissement qui consiste à ensemencer 0.1ml dans 10ml du bouillon « SFB ».

-d'un isolement sur « gélose Hektoen»

-Incubation est réalisée à 37°C pendant 24 h.

-4^{ème} étape: Isolement à partir du milieu d'enrichissement secondaire, un second isolement est réalisé sur « Hektoen» et une lecture de la boîte Hektoen incubée la veille. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 h.

Lecture :

Les colonies de salmonella se présentent sur gélose Hektoen, sous forme de colonie grise bleu ou vert avec un centre noir.

IV. Isolement des bactéries lactiques du ferment lyophilisé

On met 1 g du ferment lyophilisé thermophile dans 9 ml de bouillon nutritive, Puis étuvé pendant 18 h, on réalise des dilutions jusqu'à 10^{-7} , puis on ensemence en profondeur en double couche sur gélose MRS (Gelose de Man, Rogosa, Sharpe) et incubé à 37°C pendant 24 h pour l'isolement des *Bifidobacterium Longum*. Puis on voit en microscope pour déterminée la morphologie de cette bacterie.

La figure 13, montre l'isolement et purification de *Bifidobacterium Longum*.

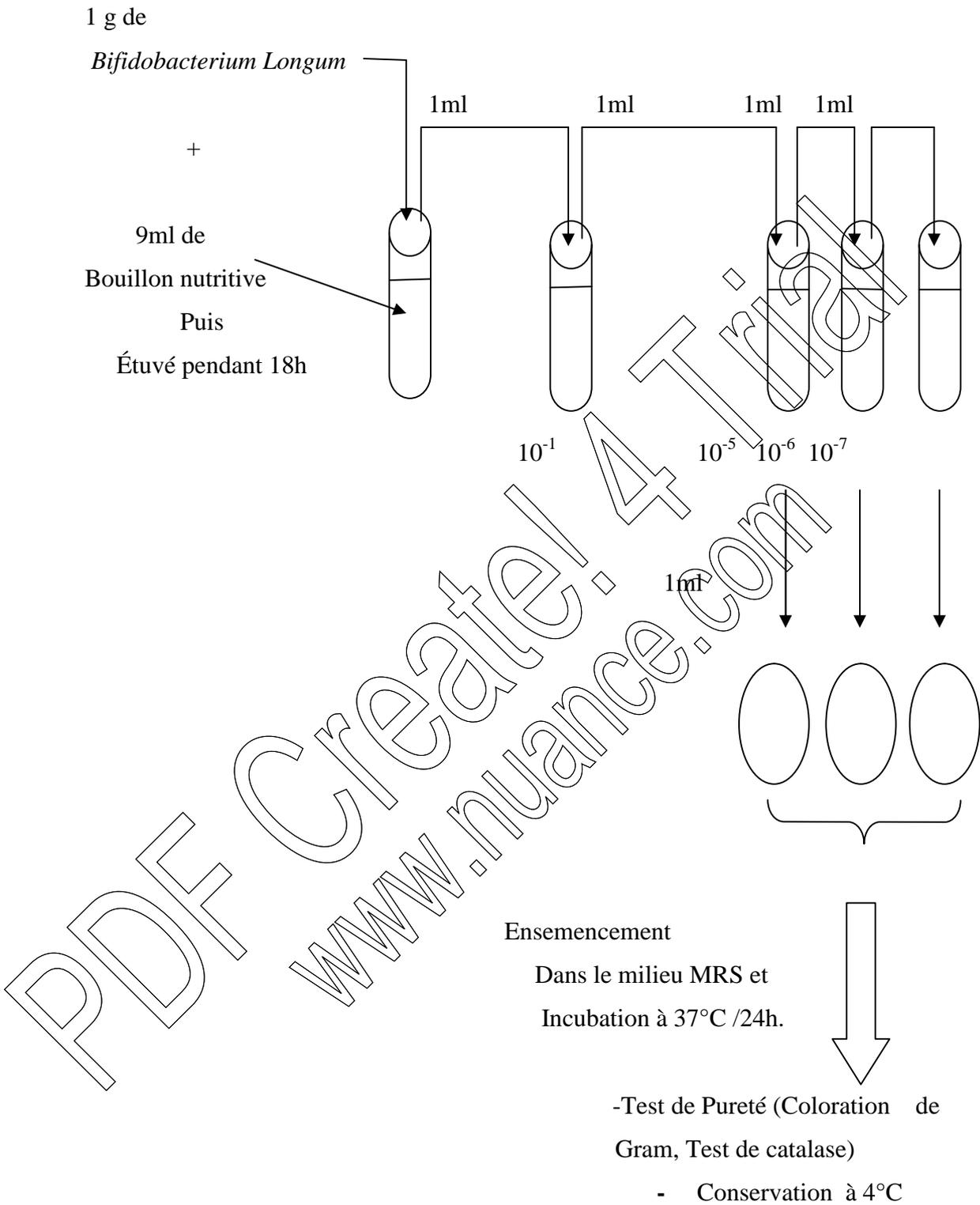


Figure 13 : Isolement et purification de *Bifidobacterium Longum*.

IV. Le dénombrement des bactéries lactiques *Bifidobacterium Longum*

-Introduire aseptiquement à l'aide d'une pipette en verre graduée et stérile 9 ml de jus de datte dans des tubes stériles.

-puis ensemencé à l'aide de deux colonies (grandes et bien distincts) de la souche *Bifidobacterium Longum*, les tubes ensemencés sont incubés à 37°C pendant 18 c'est la preculture (milieu 1).

-Puis on préparé la dilution mère et dilution décimales.

Milieu de culture :

Gélose MRS (Gélose de Man, Rogosa, Sharpe)

Mode opératoire :

- ✓ Prendre sept boites de pétries stériles et poser 20 ml de gélose MRS dans chaque boites (Voir la composition de MRS dans l'annexe II)
- ✓ Laisser refroidir, jusqu'à la solidification de la gélose.
- ✓ A partir des sept dilutions décimales 10^{-2} . 10^{-7} , porter aseptiquement 4 goûtes dans une boite de pétrie préparée à cet usage et numérotée.
- ✓ Puis ajouter une petite quantité de l'huile de paraffine pour chaque boite.

Incubation :

Les boites seront incubées pendant 72 h à une température de 37°C

Dénombrement

Il s'agit de compter toutes les colonies ayant poussées sur les boites en tenant compte les facteurs suivants :

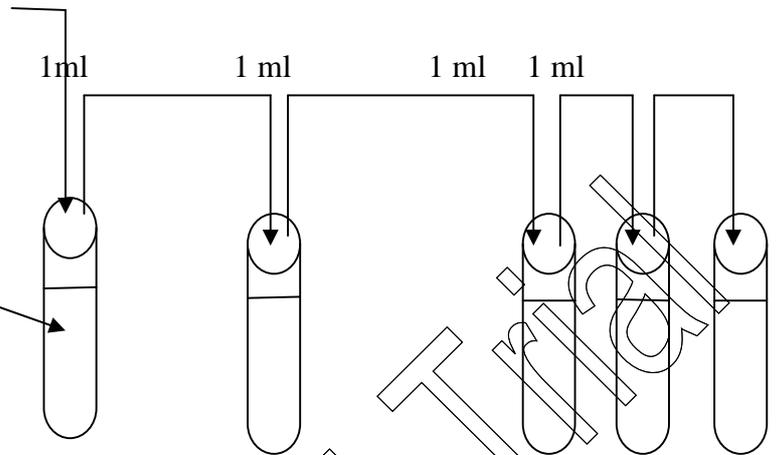
- Ne dénombrer que les boites contenant entre 15 et 300 colonies ;
- Multiplier toujours le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution

La figure suivante montre le dénombrement des bactéries lactiques *Bifidobacterium Longum*.



Jus de datte 9ml

Ensemence
a l'aide de
2 colonies
puis étuvé
pendant
18h



10^{-1}

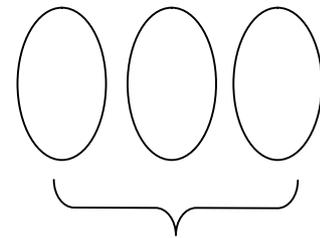
10^{-5}

10^{-6}

10^{-7}

1ml

Ensemencement
Dans le milieu MRS et
Incubation à 37°C /24h.



L'huile de paraffine

Le dénombrement

Figure 14: le dénombrement des bactéries lactiques *Bifidobacterium Longum*

III.V. Suivi du pouvoir acidifiant des bactéries lactique et la cinétique de croissance bactérienne

On prélève 1ml de la preculture (milieu 1) est on le repique dans les tubes stérile contenant le jus de datte en raison de 9 ml préalablement préparer, puis les incube ces tubes a 37°C.

Chaque 2 h on prélève un tube, servir à suivre l'acidification du milieu par la mesure de l'acidité titrable et les variations du pH.

La mesure de la croissance bactérienne par l'estimation de la Densité optique DO a l'aide d'une spectrophotométrie UV de type JENWAY a une longueur d'onde 570 nm.

PDF Create! 4 Trial
www.nuance.com

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

I. Caractéristiques morphologiques de datte entière Mech-Degla

Les caractéristiques morphologiques sont réalisées sur 10 fruits de la datte étudiée sont représentées dans le tableau VI.

Tableau VI : Les caractéristiques morphologiques de la datte étudiée (Mech-Degla)

Forme de fruit	Ovoïde
Couleur de la pulpe épicarpe	marron peu prononcé
Couleur du mésocarpe	blanche
La consistance	Sèche
Texture	Fibreuse farineuse
Couleur du noyau	Marron
Masse totale du fruit (g)	5,5-6,5
Masse de la pulpe (g)	4-5
Masse du noyau (g)	1-2
Longueur (cm)	3-3,5
Largeur (cm)	1,5-2

Le tableau 06 ressort que la forme de Mech-Degla est de forme ovoïde, d'une couleur marron et d'une consistance sèche. La variété Mech-Degla présente une masse en datte et en pulpe varie entre (5,5 - 6,5 g) et (4 - 5g) respectivement. La longueur et la largeur varient entre 3 - 3,5cm et de 1,5 - 2cm respectivement.

Les résultats obtenus pour tous les paramètres sont en accord avec ceux trouvés par Messaid (2008), et inférieurs aux résultats trouvés par Djouab (2007).

Selon Acourène et al (2001), une datte est dite de qualité physique acceptable quand :

- Le poids de la datte entière est supérieur ou égal à 6g.
- Le poids de la datte (pulpe) est supérieur ou égal à 5g.

- La longueur est supérieure ou égal à 3,5 cm.
- Le diamètre est supérieur ou égal à 1,5 cm.

Selon ces critères, la datte Mech-Degla présente une qualité physique acceptable.

II. Compositions biochimiques de la datte variété sèche : « Mech-Degla »

Tous les résultats sont la moyenne de 3 répétitions.

Les résultats relatifs à l'analyse biochimique de la pulpe de datte variété sèche utilisée, « Mech-Degla » dans notre étude sont présentés dans le Tableau VII.

Tableau VII : Composition biochimique de la datte variété sèche (Mech-Degla).

Les composants	La teneur du poids frais
Teneur en eau (%)	13,5
pH	4,8
L'acidité titrable totale (%)	2,5
Sucre totaux (%)	61,92
Sucre réducteurs (%)	20,59
Saccharose (%)	37,19
Protéine (%)	1,5
Cendre (%)	1,6

II.1. La teneur en eau

L'humidité nous permet de déterminer la teneur en matière sèche par rapport au poids totale, et d'exprimer les constituants biochimiques en % de la matière sèche. La teneur en eau de la datte utilisée dans notre expérience est de 13,5 cette valeur est comparable à celle donnée par Boukhair (2009) ; Benflis (2006); Noui (2007) ; Benamara et *al.* (2007), avec des teneurs de 12,5, 13,1, de 14,15% et de 14,71% respectivement. Cette faible teneur en eau permet une bonne conservation du produit pendant une longue durée.

II.2. Le pH

Le pH est un paramètre déterminant l'aptitude à la conservation des aliments. Il constitue l'un des principaux obstacles que la flore microbienne doit franchir pour assurer sa prolifération (Giddey, 1982 ; Gatel, 1982 ; Brissonet et *al*, 1994). Ainsi, un pH de l'ordre de 3 à 6 est très favorable au développement des levures et moisissures.

Le pH de l'extrait de datte est acide, il est de 4,8 ce qui confirme le gout acidulé de cette datte. Cette valeur est légèrement inférieure à celle donnée par : Bouklachi et *al* (2010) Boukhair (2009) et Soltani (2007) et Noui (2007), avec des valeurs de 6,12 et 5,56 et de 6,14 et de 5, 5. Il peut donc favoriser la multiplication des levures et moisissures et parallèlement freine le développement des bactéries à l'exception des acidophiles. Le pH varie selon l'état physiologique du fruit, condition climatique de stockage.

II.3. Teneur en sucres

Les sucres sont les constituants les plus importants dans la datte. Ils sont également responsables de la douceur de l'aliment. Les teneurs en sucres totaux des dattes sont de l'ordre de 60 à 80%.

De nombreux auteurs, dont Munier (1973) ; Nixon et *al* (1978), Sawa et *al* (1983) s'accordent sur le fait que les sucres des dattes varient en fonction de la variété considérée, du climat et du stade de maturation. Les résultats rapportés par différents auteurs dépendent en partie de la méthode utilisée.

II.3.1. Teneur en sucres totaux

L'extrait de datte utilisé dans notre expérience possède une teneur de 61,92 % du poids frais, cette valeur est obtenue par la méthode Dubois.

Cette teneur est conforme aux résultats donnés par: Soltani (2006) et Noui (2007), avec des valeurs de l'ordre de 70,66 %, et sont supérieures à celles données par Benflis (2006), avec une teneur de 52,79 % du poids frais.

Généralement, la valeur trouvée montre la richesse de la datte en sucres totaux, ce qui constitue un substrat favorable à la multiplication des levures.

II.3.2. Teneur en sucres réducteurs

D'après le Tableau 07, la teneur de la datte sèche : «Mech-Degla » en sucres réducteurs (glucose et fructose), déterminés par la méthode de Fehling, est de 20,59 % du poids frais. Cette teneur est conforme aux résultats donnés par plusieurs travaux : Belguedj (2002), Benflis (2006) et Soltani (2007), avec des valeurs de 16,64 % à 20,92%.

II.3.3 Teneur en Saccharose

Les résultats que nous avons obtenus montrent que la datte sèche : « Mech-Degla », est riche en saccharose. En effet, la résultat obtenu par la formule est de 37,19 % du poids frais. Ce taux, est conforme aux résultats donnés par plusieurs travaux donnés par Belguedj (2002), Ersin et *al* (2004) et Soltani (2007), avec des valeurs de 42 % à 54,74 %. Selon Dowson et *al* (1963), les dattes molles sont caractérisées par un taux élevé en sucres réducteurs et les variétés sèches par un taux élevé en saccharose.

II.4. Teneur en protéines totales (azote Kjeldhal)

La teneur en azote total est de l'ordre de 0,2 % du poids frais, pour évalué le taux en protéine, nous avons utilisé le coefficient de conversion 6,25, la teneur en protéines à été estimée à 1,5 g / 100g de matière fraîche. Certains auteurs ont rapporté des teneurs en protéines relativement faibles, en effet, Al-Farsi et *al.*, (2006), ont trouvé des valeurs variant de 0,52 à 1,41 g/100 g du poids sec dans des variétés sèches; alors que Boudraa (2004), donne une valeur de 1,09 g/100g du poids frais.

II.5. Teneur en cendres

Le taux des cendres représente la quantité totale en sels minéraux présents dans l'échantillon. La teneur moyenne trouvée dans notre échantillon est de 1,6% du poids frais, nous pouvons dire que cette dernière est conforme à celle donnée par : Youssif et *al.*, (1982), Belguedj (1996) et Noui (2007), avec des teneurs respectives de 1,92 %, 1,9 % et 2

%. Cette valeur élevée explique la richesse de la variété Mech-Degla en éléments minéraux.

II.6. Teneur en acidité titrable

Une forte acidité est souvent associée à une mauvaise qualité. Comme il a été par Booi et *al* (1992), le taux de l'acidité de la datte est proportionnel à la teneur en eau et donc inversement proportionnel au degré de maturité. L'acidité titrable de la Mech-Degla est de l'ordre de 2.5g/kg en MF. Cette valeur est comparable à celle trouvée par Chibane (2007) donne une valeur de 2,93g/kg. Dans les deux variétés égyptienne Siwi et Amhat, l'acidité titrable est respectivement de 1,8 et 2,2 g/kg (Khalil et *al.*, 2002).

III. Les analyses microbiologiques

Le tableau 08 présente les résultats de toutes les analyses microbiologiques.

Tableau 08 : Résultats des analyses microbiologiques.

Les germes	résultats	Normes
Germes aérobies mésophiles totaux (GAMT)	31.10 ¹	<500 000germes/100 ml
Coliformes totaux	0	<10germes/100ml
Coliformes fécaux	0	<10germes/100ml
Levures et moisissures	0	<100germes/g
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	<100germes/g
Clostridiiums Sulfito-réducteurs	0	<100germes/g
Streptocoques fécaux	0	0/100ml
Salmonelles	0	0/25 g

Les résultats représentent le nombre de colonies présentes dans un millilitre de jus de dattes. Ils sont exprimés en moyenne de trois dilutions.

Les résultats des analyses microbiologiques obtenus, certifient que le jus de datte ainsi utilisée est de très bonne qualité microbiologique, cela serait dû aux bonnes conditions de conservations et ne semblent pas nécessiter un traitement de stockage ou de conditionnement spécifique, en effet ; nous n'avant pas observé la présence d'aucun germe pathogène recherché ,Ainsi que les indices de contamination fécale .Toutefois, la présence de germes totaux a été enregistrée mais en très petits nombres ne dépassent pas les normes.

Les résultats des analyses microbiologiques sont conformes aux normes.

IV. Isolement et purification de la souche *Bifidobacterium Longum*

Les observations sur milieu MRS de la souche isolées du ferment lyophilisé montrent qu'il y'a eu croissance .les colonies isolées de *Bifidobacterium Longum* sont de forme plus allongées parfois rondes de couleur blanchâtre et crémeuse, les cellules observées sous microscope apparaissent des bâtonnets larges et longs, regroupées en filaments assez longs et ondulés et parfois en chaînes. Le tableau IX montre toutes les observations macroscopiques et microscopiques de la souche *Bifidobacterium Longum*.

Tableau IX: rapport de toutes les observations macroscopiques et microscopiques de la souche *Bifidobacterium Longum*.

Souche	Milieu de culture	Aspect des colonies	Aspect de cellule	Mode de regroupements	Coloration de Gram	Test De la catalase
<i>Bifidobacterium Longum</i>	MRS	Plus allongées parfois rondes	Bâtonnet bien long et large	En chaîne	+	-

La figure suivante montre les observations macroscopiques

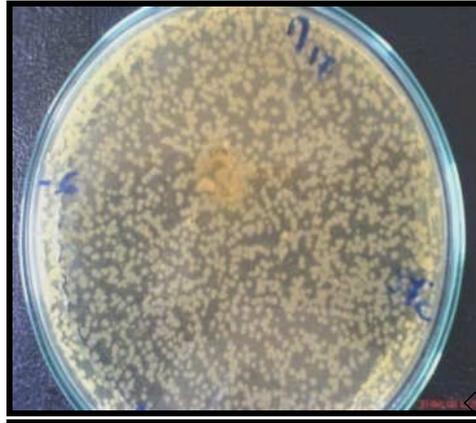


Figure 15: *Bifidobacterium Longum*

V. Dénombrement de la bactérie lactique *Bifidobacterium Longum*

Le tableau X, présente les résultats de dénombrement des bactéries lactiques. Les *inocula* standards de la souche lactique *BL* est de l'ordre de $7,3 \times 10^8$ UFC. Ce taux est recommandé pour la prise d'un complément alimentaire.

Tableau X: Dénombrement de bactérie lactique *BL*.

Germes recherché	La dilution	Nombre de colonies
<i>Bifidobacterium Longum</i>	10^{-4}	Indénombrable
	10^{-3}	Indénombrable
	10^{-2}	Indénombrable
	10^{-1}	8,4 UFC

Les résultats concernant la flore lactique (*Bifidobacterium Longum*) sont conformes aux normes. La culture de cette flore est très satisfaisante dans le jus de datte Mech-Degla. Ceci peut s'expliquer par la composition du milieu (jus de datte Mech-Degla) sa richesse en sucres (source de carbone), cette bactérie utilise le glucose pour produire lactate et acétate.

VI. Résultats de l'acidifiant et la cinétique de croissance de la *Bifidobacterium Longum*

Les cinétiques de croissances, l'évolution du pH et l'acidité titrable ainsi que la production d'acide lactique durant la fermentation sur le jus de datte contenant du sucres (glucose, fructose) tant que sources de carbone.

-La variation du pH au cours de la fermentation est illustrée par la courbe de la figure 16:

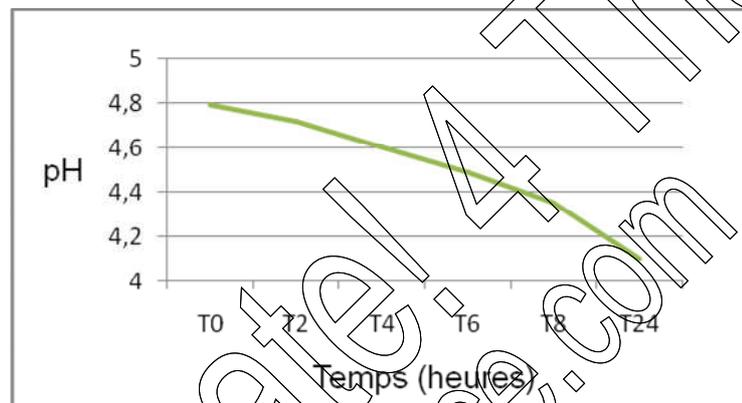


Figure 16: Variation du pH du milieu au cours de la fermentation par *Bifidobacterium Longum*.

Le pH du jus initial qui est de 4,8 valeurs inférieure au pH optimum de la croissance de *Bifidobacterium Longum* (6,5 à 7) selon (Yann ,2003).

Tel qu'illustre sur la courbe ci-dessus le pH du jus diminue au cours de la fermentation après 24 h d'incubation. Cette diminution est due à la production d'acide lactique par la dégradation des glucides du jus de datte.

-La variation de l'acidité titrable au cours de la fermentation est donnée dans la figure 17 :

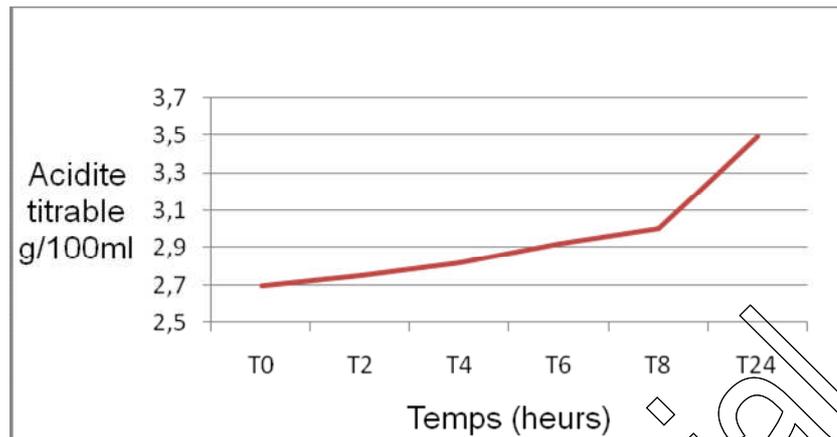


Figure 17 : Evolution de l'acidite titrable du milieu au cours de la fermentation par *Bifidobacterium Longum*.

On remarque une nette concordance entre l'évolution de l'acidite titrable et celle de pH. La comparaison entre les résultats du pH et celui de l'acidité montre que le taux d'acidité augmente avec la diminution du pH.

Le jus issu de Mech-Deglet de par sa richesse en glucides constitue un milieu très favorable pour le développement de *Bifidobacterium Longum*. Cette dernière par forte activité homofermentaire produit l'acide lactique de forme L. La production d'acide lactique à partir des glucides accélère l'acidification du milieu (jus de datte), l'acidite titrable passe de 2,7 à T0 jusqu'à 3,5 à T24 par la diminution du pH du milieu au cours de la fermentaire.

La croissance bactérienne est estimée par la mesure de la densité optique (DO) à une longueur d'onde de 570 nm, qui permet de obtenir la courbe de la figure 18:

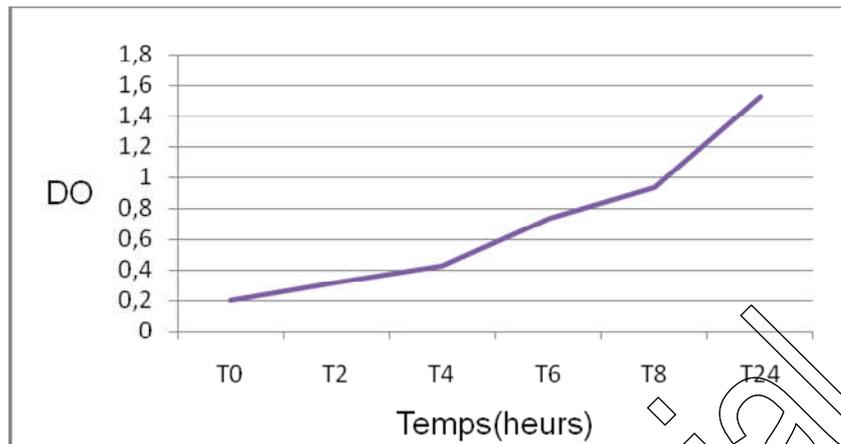
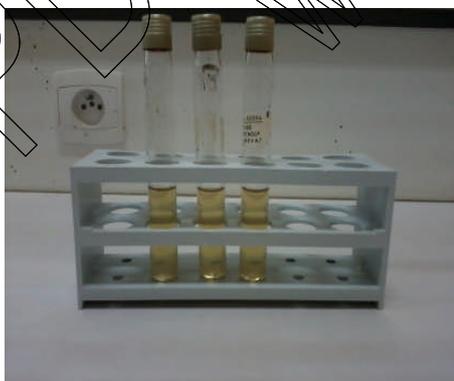


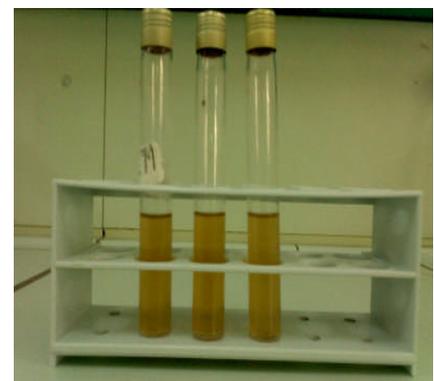
Figure 18: Evaluation de la croissance bactérienne par spectrophotométrie au cours de la fermentation par *Bifidobacterium Longum*.

D'après nos résultats l'évolution de la culture est proportionnelle à la DO. La croissance de la bactérie augmente progressivement avec le temps. Les résultats obtenus montrent que la croissance bactérienne est caractérisée par un accroissement de la masse bactérienne durant la fermentation qui de 0,2 à T0 et à la fin de la fermentation elle arrive jusqu'à 1,5, à ce moment là on remarque une production maximale de cette bactérie, cela est dû à la consommation des sucres contenant dans le milieu (jus de datte) et sont transformée en l'acide lactique. Après 24 h on remarque la diminution de la croissance bactérienne parce que la bactérie elle est dégénérée.

VIII. Jus de datte avant et après la fermentation



Avant la fermentation



Après la fermentation

Figure 19 : Jus de datte avant et après la fermentation

On remarque un virage de couleur jaune au jaune foncé après la fermentation.

CONCLUSION

CONCLUSION

Aujourd'hui une multitude de variétés dattes communes sont utilisés comme aliment de bétail.

Les dattes des variétés sèches, improprement appelées «dattes communes» sont des dattes de texture farineuse qui durcissent sur l'arbre. C'est le cas de variété Mech-Degla, matériel végétal de la présente étude.

L'exploitation des systèmes micro-organismes/substrats intéresse actuellement la recherche, en vue d'obtention d'un produit facilement séparable du milieu. Pour cette raison, nous avons essayé de valoriser les rebuts de dattes en générale et Mech-Degla en particulier (matériel végétal de cette étude) pour la croissance des bactéries lactiques et pour cette raison on a élaboré un jus extrait à partir de dattes Mech-Degla.

Les résultats des propriétés morphologiques (masse volumique, épaisseurs, couleur,...) sont intéressants au terme de ce travail. Le poids moyen de la dattes entière de Mech-Degla varie entre 5.5 et 6.5g, celui de la pulpe est de l'ordre de 4 et 5g.

L'étude biochimique de jus extrait à partir de dattes (Mech-Degla) montre que ce dernier est riche en sucres (61.92 % de sucres totaux, soit 20,59% sucres réducteurs de MF). Par contre elle est pauvre en protéines (soit 1.5%). On note que le jus de Mech-Degla présente un pH de 4,8.

Les bactéries lactiques présentent une bonne croissance dans le jus de dattes à raison de $7,3 \times 10^8$ UFC (Unité Formant Colonie) pour *Bifidobacterium longum*

Selon les résultats le jus élaboré à partir de rebuts de dattes Mech-Degla constitue un milieu très favorable au développement de *Bifidobacterium Longum* grâce à sa richesse aux sucres, il est toujours recherché un temps record de production avec un prix de revient bas. Au vu des rendements encourageants obtenus, les rebuts de dattes peuvent être valorisés par des procédés biotechnologiques au lieu de leur utilisation dans l'alimentation de bétail.

CONCLUSION

En perspectives il serait intéressant d'étudier les points suivants :

- Valorisation d'autres variétés de dattes sèches locales pour une application technologiques.
- Possibilité de combinaison des différentes souches des bactéries lactiques.
- Proposition d'enrichissement de jus de dattes.
- Réalisation d'une étude économique.

PDF Create! 4 Trial
www.nuance.com

Références bibliographiques

-**Acourène S., Tama M, 1997.** Caractéristique physicochimique des principaux cultivars de datte de la région des Zibans, *Recherche Agronomique*, N°1. Ed. INRAA, p : 59-66.

-**Acourène S., Tama M, 2001.** Utilisation des Dattes de Faible Valeur Marchande (Rebuts de Deglet-Nour, Tinissine et Tantboucht) Comme Substrat pour la Fabrication de la Levure Boulangère, *Rev. Energ. Ren. : Production et Valorisation – Biomasse*, Station I.N.R.A.A, Touggourt, P : 1-10

-**Acourène S., Buelguedj M., Tamma M., Taleb B, 2001.** Caractéristique, évaluation de la qualité de la datte et identification des cultivars rares de palmier dattier de la région des Zibans, *Recherche Agronomique*, N°8. Ed. INRAA, 19-39.

- **Al-Farsi M., Moris A., Baron M., 2006.** Functional Properties of dates (*Phoenix dactylifera*). *Acta Horticulturae* 736, P : 479-484.

-**Amellal H, 2008.** Aptitudes technologiques de quelques variétés d'un yaourt naturellement sucré et aromatisé, Thèse de Doctorat, spécialité génie alimentaire, Université M'HAMAD BOUGARA, Boumerdès, p: 131.

-**Bacha A, 2008.** Production et étude de l'activité de l'invertase produite par la levure *saccharomyces cerevisia* sur substrat à base de datte. Thèse Magister, Spécialité: technologie alimentaire, Université EL HADJ LAKHDAR, Batna, p : 75.

-**Beerens H et Luquet F.M, 1987.** Guide pratique d'analyse microbiologiques des laits et produits laitiers, Ed. Lavoisier, Paris, p : 144.

-**Belguedj, M., 2001.** Caractéristique des cultivars de dattes dans les palmeraies du Sud-est Algérien., INRAA El-Harrach N°11, Alger, p : 289.

-**Belguedj M., 2002.** Caractéristiques des cultivars de dattiers dans les palmeraies sud-Est Algériens, revue N°01, Ed. Dossier– Document - Débat, p : 289.

-**Belguedj M, 1996.** Caractéristiques des cultivars de dattiers du Sud-est du Sahara algérien, Vol 1, Conception et réalisation : Filière « Cultures pérennes » de l'ITDAS, INRAA, p : 67.

-**Benamara S., Chibane H., Boukhlifa M., 2004.** Essai de formulation d'un yaourt naturel aux dattes. Industries Alimentaires et Agricoles IAA. Actualités techniques et scientifiques, p : 11-14.

-**Benhmed D .A, 2007.** Etude et optimisation d'un processus de fabrication traditionnelle du vinaigre à partir de deux variétés de dattes communes cultivées dans le sud algérien. Thèse Magister, spécialité génie alimentaire Université M'HAMAD BOUGARA, Boumerdès. P: 75.

-**Benflis S., 2006.** Caractéristiques biochimiques de l'extrait de datte variété sèche "Mech-Degla". Mémoire d'Ingénieur. Institut d'Agronomie. Batna, p: 50 .

-Booij I., Piombo G., Risterucci J.M., Coupe M., Thomas D., Ferry M., 1992. Etude de la composition chimique de dates à différents stades de maturité pour caractérisations variétale de divers cultivars de palmier dattiers (*Phoenix dactylifera*). Journal of fruits, Vol.47, N°6, p : 667-677.

-Boudjelal A., Nancib N., 2001. Production d'acide lactique par *Lactobacillus rhamnosus* sur milieu à base de jus de datte, revue (Rev-Ener-Renv) : production et valorisation ; Biomasse, Département de Biochimie, Université Badji Mokhtar, Annaba, Université Ferhat Abbas, Sétif, p : 41-46.

-Boudraa S., 2004. La production de biomasse *Saccharomyces cerevisiae* sur un milieu à base d'extrait de datte variété sèche : « Mech-Degla ». Mémoire d'Ingénieur, Institut d'Agronomie, Batna, 70 p.

-Boughnou N., 1988. Essai de production du vinaigre à partir des déchets de dattes, Thèse Magistère, INA El-Harrach, p : 82.

-Boukhiar A., 2007. Analyses de processus traditionnel d'obtention de vinaigre de datte tel qu'applique au sud algérien : essais d'optimisation, Thèse Magister, spécialité technologie alimentaire, Université M'hamad Bougara, Boumerdès, P: 102.

-Bouklachi S et SAIB R., 2011. Valorisation de rebut de datte par la production des bactéries lactiques (mech-degla), Thèse Master, Spécialité : Sciences Alimentaires, Université Saad Dahlab, Blida, P: 63.

-Boulal A., Benali B., Moulai M et Touzi A., 2010. Transformation des déchets de dattes de la région d'Adrar en bioéthanol, Revue : Unité de Recherche en Energies Renouvelables en Milieu Saharien (URERMS), Vol. 13, N°3, Adrar, P : 455 – 463.

-Bourgeois C.M et Léveau J. V., 1991. Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires, le contrôle microbiologique, 2^e éd, Tec et Doc, Paris, p : 449.

-Bourgeois C.M., Mescle J.F et Zucca J., 1996. Microbiologie alimentaire : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments, Ed. Tec & Doc, p : 654.

-Bissonnet F., Boui M., Loiseau G., Russel A et Leveau Y., 1994. Le stress bactérien et ses conséquences en génie de l'hygiène, IAA, n°3, p : 106-114.

-Château N.G., Larpent J.P., Castellanos M.I et Larpent J.L., 1994. Les probiotiques en alimentation animale et humaine, Tec & Doc, Paris, p : 192.

-Chehema A et Longo H.F., 2001. Valorisation des Sous-produits du Palmier Dattier en Vue de leur Utilisation en Alimentation du Bétail, Institut d'Agronomie Saharienne, Centre Universitaire d'Ouargla, Laboratoire de Production Animale, Institut National

d'Agronomie, El-Harrach, Rev. Energ. Ren. : Production et Valorisation – Biomasse, p : 59-64.

-Chehma A ., Longo H.F ., Belbey A,2003. Utilisation digestive de régimes a base de rebuts de dattes chez le dromadaire et le mouton, N°03, Université Mohamed Khider, Biskra, p : 17-21.

-Chekroune, M ., 2009. Etude comparative de deux techniques de séchage (convection et micro-onde) par application des plans d'expérience , cas de fruit de datte, Thèse de Magister, spécialité génie alimentaire, Université M'hamad Bougara, Boumerdès, p :65.

-Danilo I.L, 2010. Lyophilisation par moussage du bifidobacterium longum ko 175 : viabilité après déshydratation et stabilité pendant l'entreposage, Mémoire dans le cadre du programme de maîtrise en Science et technologie des aliments pour l'obtention du grade de maître en sciences (M.Sc), Université Laval, QUÉBEC, p : 83

-Dowson W., et Aten A, 1963. Récolte et conditionnement des dattes. Ed. FAO, p : 6-44.

-Delcenserie V., China B., Gavini F., Beerens H., Daube G, 2002. Proposition pour un nouveau standard indicateur de la contamination d'origine fécale dans les aliments : le genre *Bifidobacterium*, Département des denrées alimentaires d'origine animale, Service de Microbiologie, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Liège, *Méd.* 146, p: 279-293

-Djidel A., 2007. Production l'acide lactique par lactobacillus casie subsp, rhamnosus sur jus de datte: cinétique et optimisation en culture discontinues, semi continues et continues, Thèse de Doctoral, spécialité: biotechnologies et industries alimentaires, institut national polytechnique de Lorraine, p : 194.

-Djouab A., 2007. Essai de formulation d'une margarine allégée à base d'un extrait de dattes Mech-Degla, Thèse de Magister, spécialité génie alimentaire, Université M'hamad Bougara, Boumerdès, p : 102.

-Erskin W., Moustafa A.T., Osman A.E., Lashine Z., Nejatian A., Badawi T., Ragy SM, 2004. Date Palm in the GCC countries of the Arabian Peninsula Workshop on Date Palm Development in the Arabian Peninsula, ICARDA-UAEU, P: 29-31.

-Espirad E, 2002. Introduction à la transformation industrielle des fruits, Ed : Tec et doc Lavoisier, Paris, P : 147-155.

-Estanove p, 1990. Note technique : Valorisation de la datte, Ed : CIHEAM-Option méditerranéennes, Série A, N°11, Les synthèses Agricoles oasiens, IFRA-CIRAD, p : 301-318.

-Gatel R, 1982. L'aliment à humidité intermédiaire concept fondamental et fiction scientifique, APRIA, p : 39-50.

- Giddey C, 1982.** Les produits à humidité intermédiaire.cas particulier du problème de la cocervation des produits intermédiaire, APRIA, p : 21-28.
- Gilles P, 2000.** Cultiver le palmier dattier, Ed : CIRAS, Paris, p : 110.
- Guiraud J.P, 1998.** Microbiologie alimentaire, Ed : Dunod, Paris, p : 652.
- Hannachi S., Khitri D., Benkhalifa A., Brac de Perrière R.A, 1998.** Inventaire variétal de la palmeraie algérienne, p : 225.
- Joffin C., Joffin J.N, 2000.** Microbiologie alimentaire, 5^{ème} ed :CRD,Paris, p :212 .
- Khalil K.E., Abd-El Bari M.S, Hafiz N.E., Ahmed E.Y, 2002.** Production, evaluation and utilisation of date concentrate (Dibis), J. food sci 30.2, Egypt p: 199-215.
- Larpent J.P, 2000.** Introduction à la nouvelle classification bactérienne: les principaux groupes bactériens. Ed : Tec et Doc, Paris, p : 182.
- Larpent J.P, 1994.** Les bactéries lactiques et leur action probiotique, Ed : Tec et doc, Lavoisier, Paris, p: 87-97.
- Larpent J.P, 1991.** Les fermentations microbiennes dans les industries agroalimentaires, Ed : CDIUPA, tec et doc, Lavoisier, Paris.p: 46.1-117.
- Larpent J.P, 1989.** Les bactéries lactiques. Microbiologie alimentaire, Ed : CDUIPA, Tec et doc Lavoisier, Paris.p : 2,3-15.
- Larpent J.P., Bourgeois C.M, 1996.** Microbiologie alimentaire, T:II, Aliments fermentés et la fermentation alimentaire, Tec et doc, Lavoisier, Paris, p : 532.
- Larpent J.P., Larpent G.M, 1985.**Elément de microbiologie, Ed : Tec et Doc, Lavoisier, Paris, p: 380-392.
- Laurent L, 1991.** Eléments minéraux, Technique d`analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires, Vol 4, Ed : Lavoisier, Paris, p : 79-79.
- Lecoq R, 1965.** Manuel d`analyses alimentaire et d`expertises usuelles,Tome I, Ed : DOIN, DEREN et CIE, Paris, p : 241-251.
- Leveau J.Y., Bouix M, 1993.** Microbiologie industrielle : Les microorganismes d`intérêt industriel, Ed : Tec & Doc, Lavoisier, Paris, p : 612.

-Luquet F.M., Corrieu G, 2005. Bactéries lactiques et probiotiques, Ed: Lavoisier, Paris, p : 307.

-Luquet F.M., Corrieu G, 2008. Bactéries lactiques de la génétique aux ferments. Ed : Lavoisier, Paris, p : 378.

- Maatalah S., 1970. Contribution a la valorisation de dattes algérienne. Thèse Ing : I.N.A., El-Harrache, p : 103.

-Marchal N., Bourdon J.I et Col R, 1987. Les milieux de culture pour isolement et identification biochimique des bactéries, 3^{ème} éd. Doin, p: 405.

-Matallah M.A.A, 2004. Contribution a de la conservation des dattes variétés Deglet-Nour : Isotherme d'adsorption et de désorption, Mémoire d'Ingénieur, Institut National d'agronomie, El-Harrach, p: 79.

-Messaid H, 2008. Optimisation de processus d'immersion -rehydratation du système dattes sèches- jus d'orange, Thèse de Magister, spécialité génie alimentaire, Université, M'hamad Bougara, Boumerdès, P : 77.

-Munier P, 1973. Le palmier dattier, Ed : MAISONNEVVE, Paris, p : 221.

-Noui, Y., 2007.Caractérisation physico-chimique comparative des deux tissus constitutifs de la pulpe de datte Mech-Degla. Thèse de Magister, Université de boumerdes. p : 62.

-Ould El Hadj M.D., Sebihi A.H., Siboukeur O, 2001. Qualité hygiénique et caractéristique physico-chimique du vinaigre traditionnel de quelque variété de dattes de la cuvette d'Ouargla, Revue : Rev. Ener. Ren, Production et valorisation –biomasse, p : 87-92.

-Ould El Hadj M.D., Siboukeur O., Zargat F, 2001.Contribution à l'étude de la production d'acide citrique par *Aspergillus Niger* cultivée sur moût de dattes de la variété Ghars, Institut d'hydraulique et d'agronomie saharienne, Centre universitaire d'Ouargla, Revue : Rev. Energ. Ren, Production et valorisation – biomasse, P : 93-96

-Ould El Hadj M.D., Sebihi A.H., Siboukeur O, 2006.Etude de la production de levure boulangere (*Saccharomyces Cerevisiae*) cultivée sur mout de rebuts de dattes, Laboratoire protection des écosystèmes en zones arides et semi-arides, Université Kasdi Merbah, Ouargla, N°07, p: 13-18

-Peyront G., 2000.Cultiver le palmier-dattier. Ed : Groupe de recherche et d'information, Paris, p : 19-22.

-Piard D et Desmazeaud, 1991-Les levains lactiques. Propriétés et comportement en technologie laitière. Le lait, p: 487-524.

-Sawaya W.N., Khalil J.K., Safi W.M., Al-Shalat A, 1983. Physical and chemical characterization of three Saii date cultivars at various stages of development, *can.ins.Food sci.technol J.16.2*, p: 87-93.

- Siboukeur, O., 1997. Qualité nutritionnelle, hygiénique et organoleptique du jus de dattes. Thèse Magister, INA. El-Harrach, Alger, 106 p.

-Soltani H., 2007. Etude comparative de la composition biochimique de trois types d'extrait de dattes: Datte molle "Ghars", Demi-molle "Deglet-Nour" et Sèche "MecDegla", Mémoire d'Ingénieur, Département d'Agronomie. Batna, p: 57.

-Tabak S., Bensoltane A, 2012. L'activité antagoniste des bactéries lactiques (*Streptococcus Thermophilus, Bifidobacterium Bifidum et Lactobacillus Bulgaricus*) vis-à-vis de la souche *Helicobacter pylori* responsable des maladies gastroduodénales, Revue « Nature & Technologie », N°06, Université d'Oran, P: 71-79

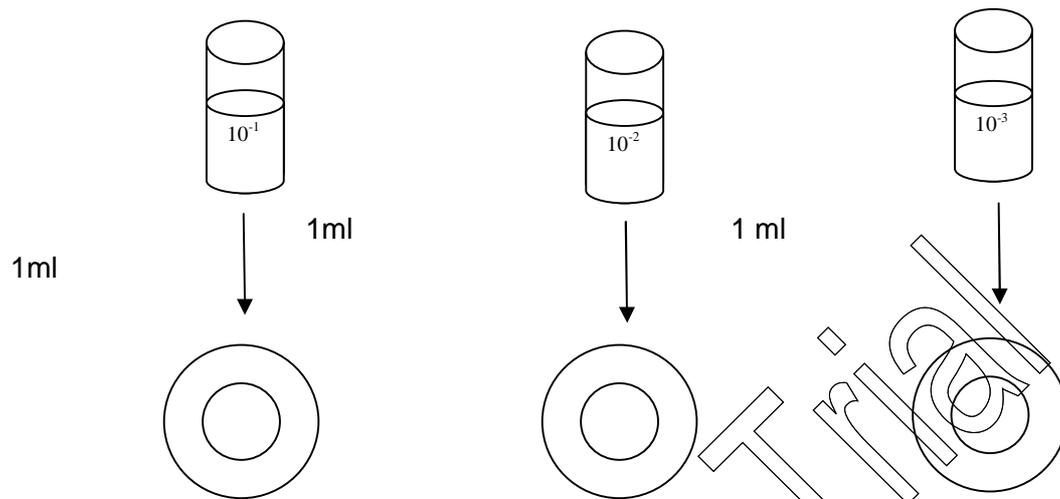
-Yann D, 2003. Production en continu de ferments lactiques probiotiques par la technologie des cellules immobilisées, Thèse de Philosophie Doctor, Université Laval, QUÉBEC, p : 148

-Youssif A-K., Benjamin N-D., Kado A., Alddin S-M., Ali S-M., 1982. Chemical composition of four iraqi date cultivars. *Date palm journal.1.2*, p : 285-294.

PDF

www.nuance.com

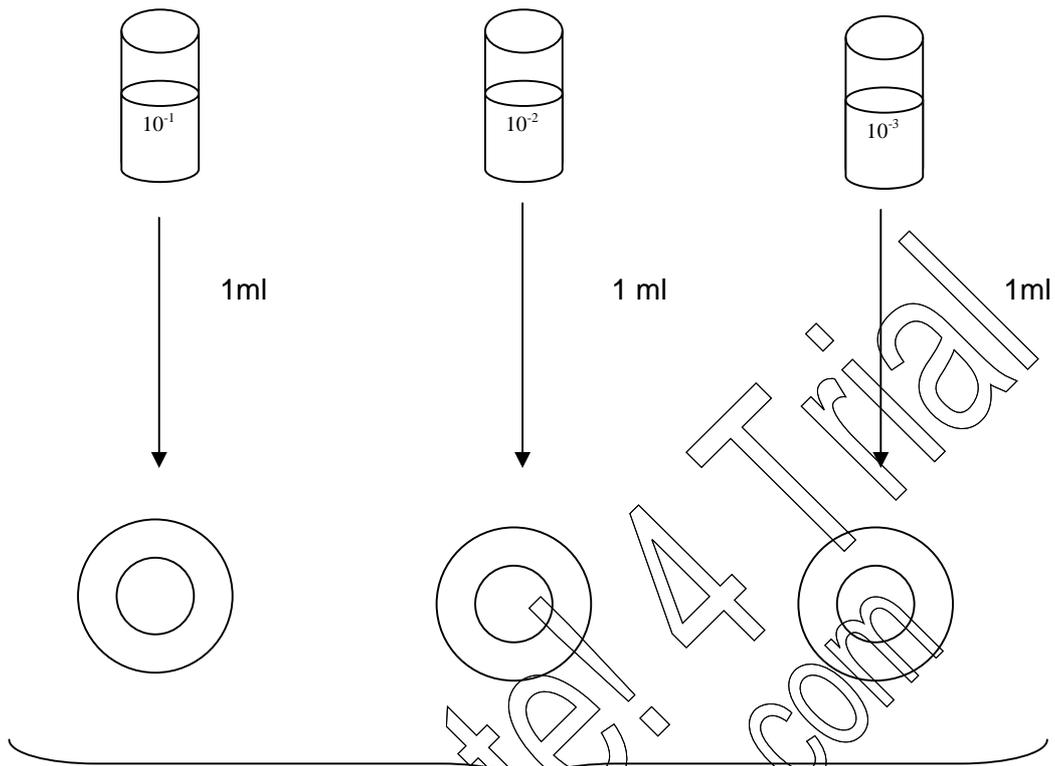
A partir des dilutions décimales



- Ajouter environ 20 ml de gélose PCA préalablement fondue et ramenée à $45^{\circ}\text{C} \pm 1$.
- Faire par la suite des mouvements circulaires en formes de « 8 » pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose utilisée.
- Laisser solidifier sur pailleasse
- Ajouter une double couche (5 ml)
- Incuber à 30°C / 24 – 48 et 72 h
- Dénombrer les colonies lenticulaires en masse.

Figure 2 : Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux (GAMT) à 30°C

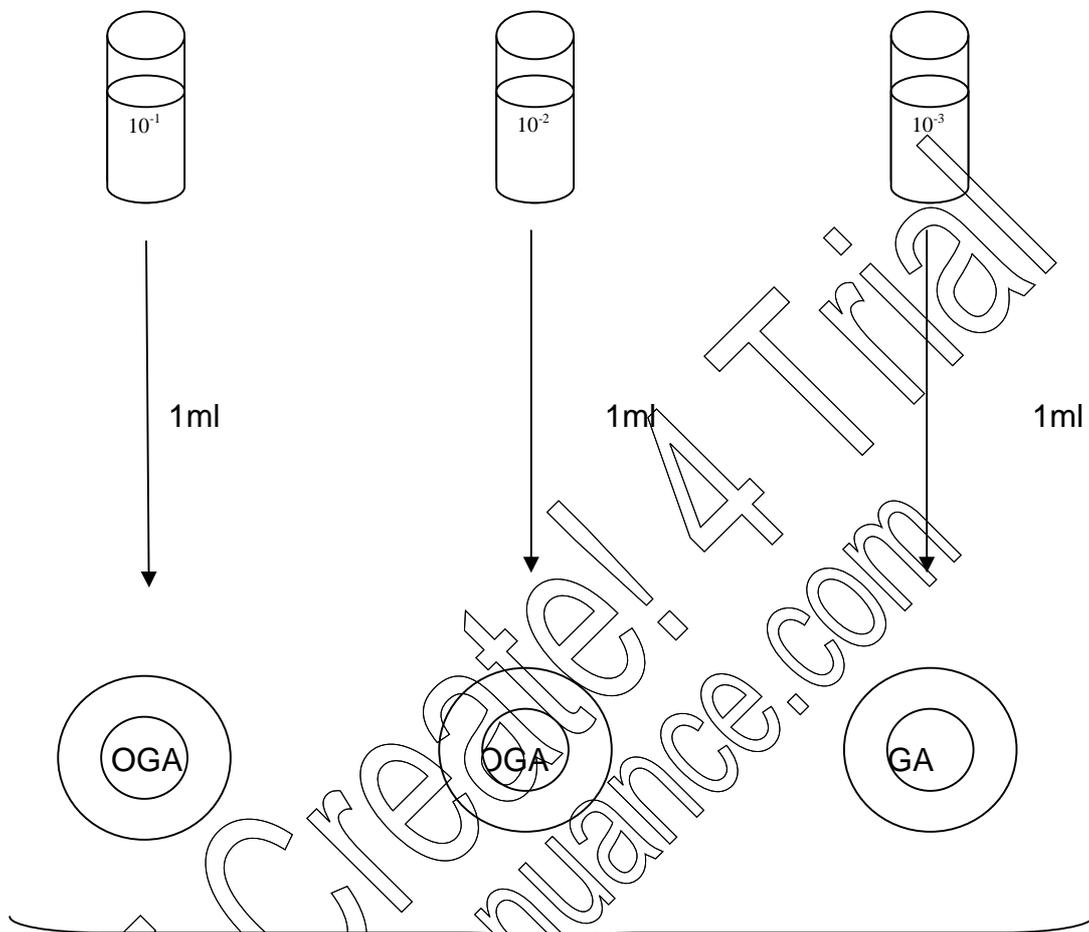
A partir des dilutions décimales



- Ajouter environ 15 ml de gélose au YRBL. Laisser solidifier sur pailleasse.
- Incuber selon accord à 30, 35 ou 37°C pendant 24h \pm 2h.
- Dénombrer les colonies fluorescentes ayant poussé en masse.

Figure 3 : Recherche des coliformes par comptage des colonies

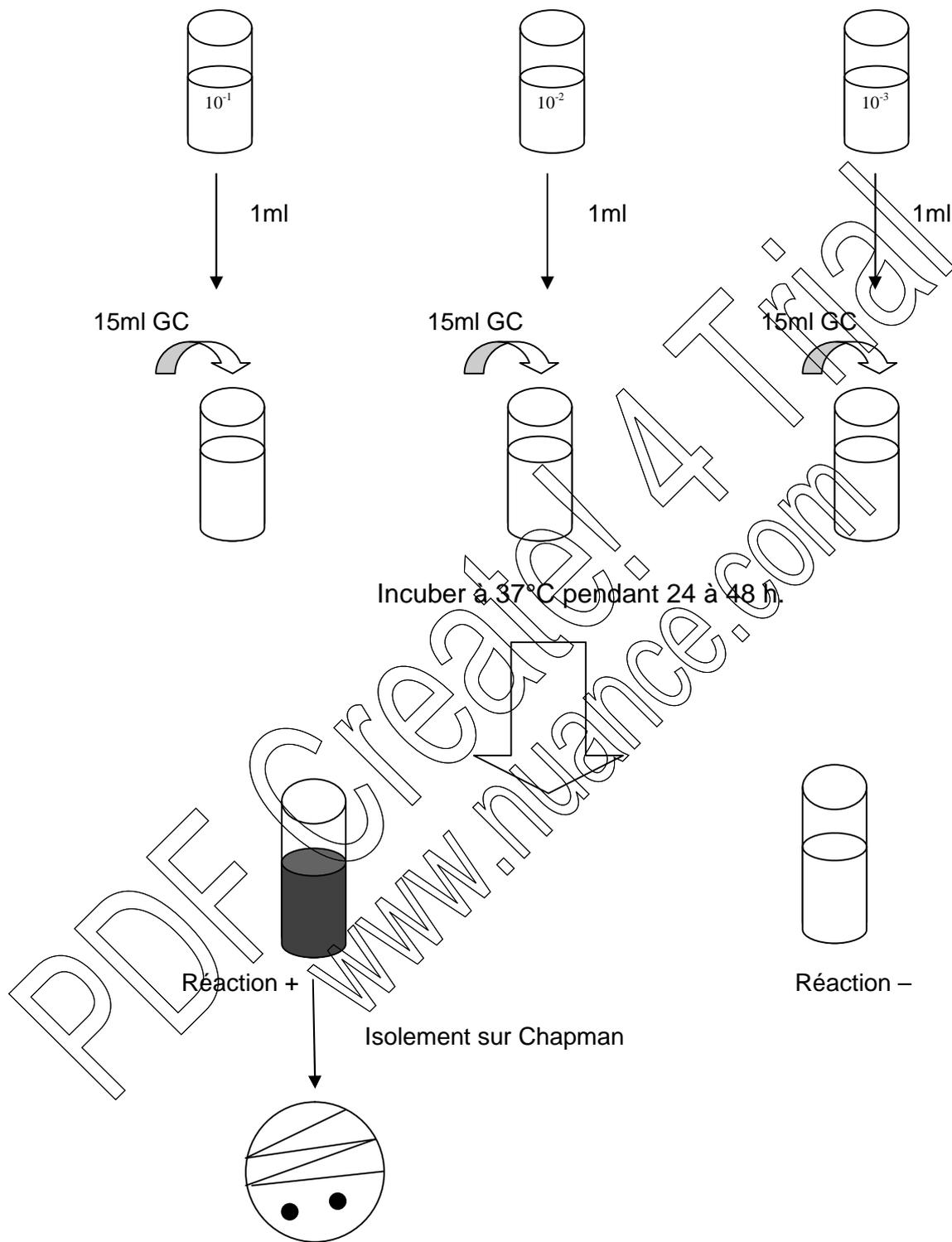
A partir des dilutions décimales



Incuber les boites à 22°C pendant 5 jours (avec lecture tous les jours).

Figure 4 : Recherche et dénombrement des levures et moisissures

A partir des dilutions décimales



37°C, 24 à 48 h Catalase, coagulase ...

Figure 5 : Recherche des *Staphylococcus aureus*

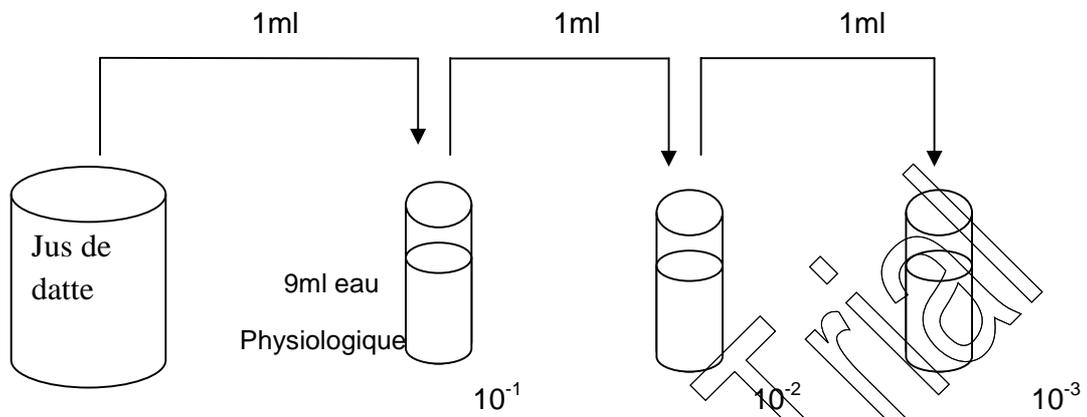


Figure 1 : Préparation et des dilutions décimales

A partir des dilutions décimales :

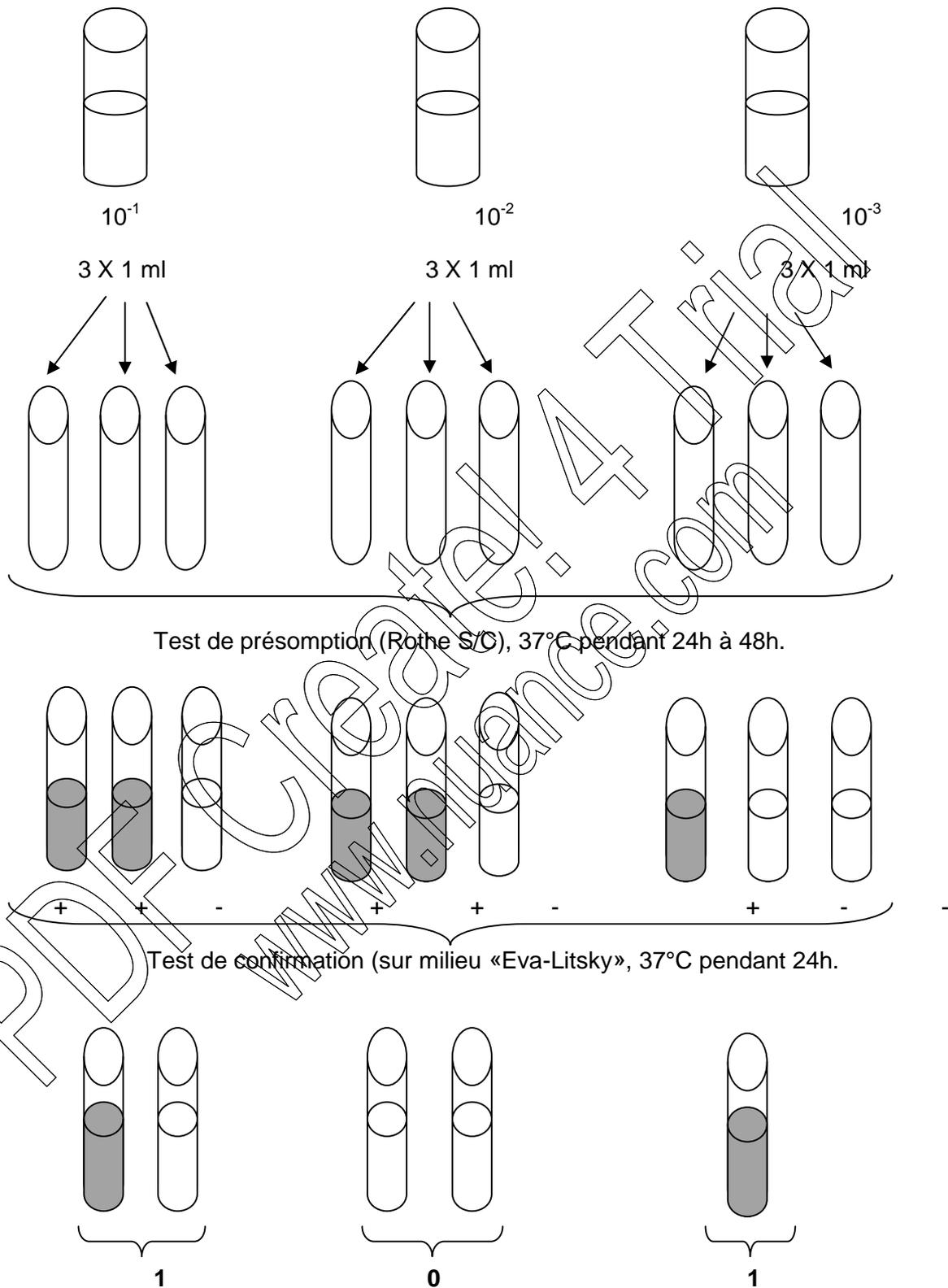


Figure 7 : Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux

A partir des dilutions décimales :

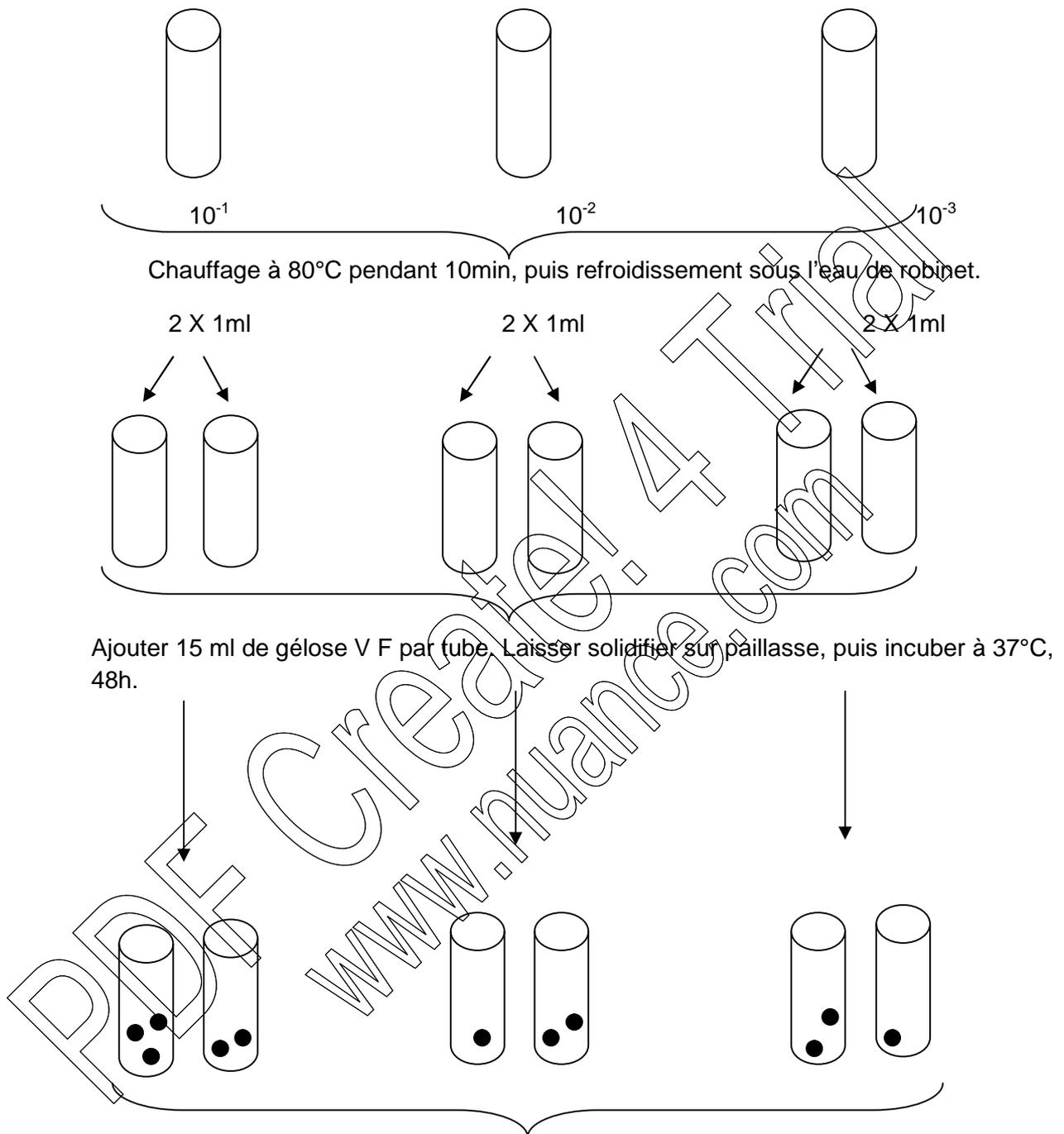


Figure 6 : Recherche des spores de Clostridium Sulfito-réducteurs.

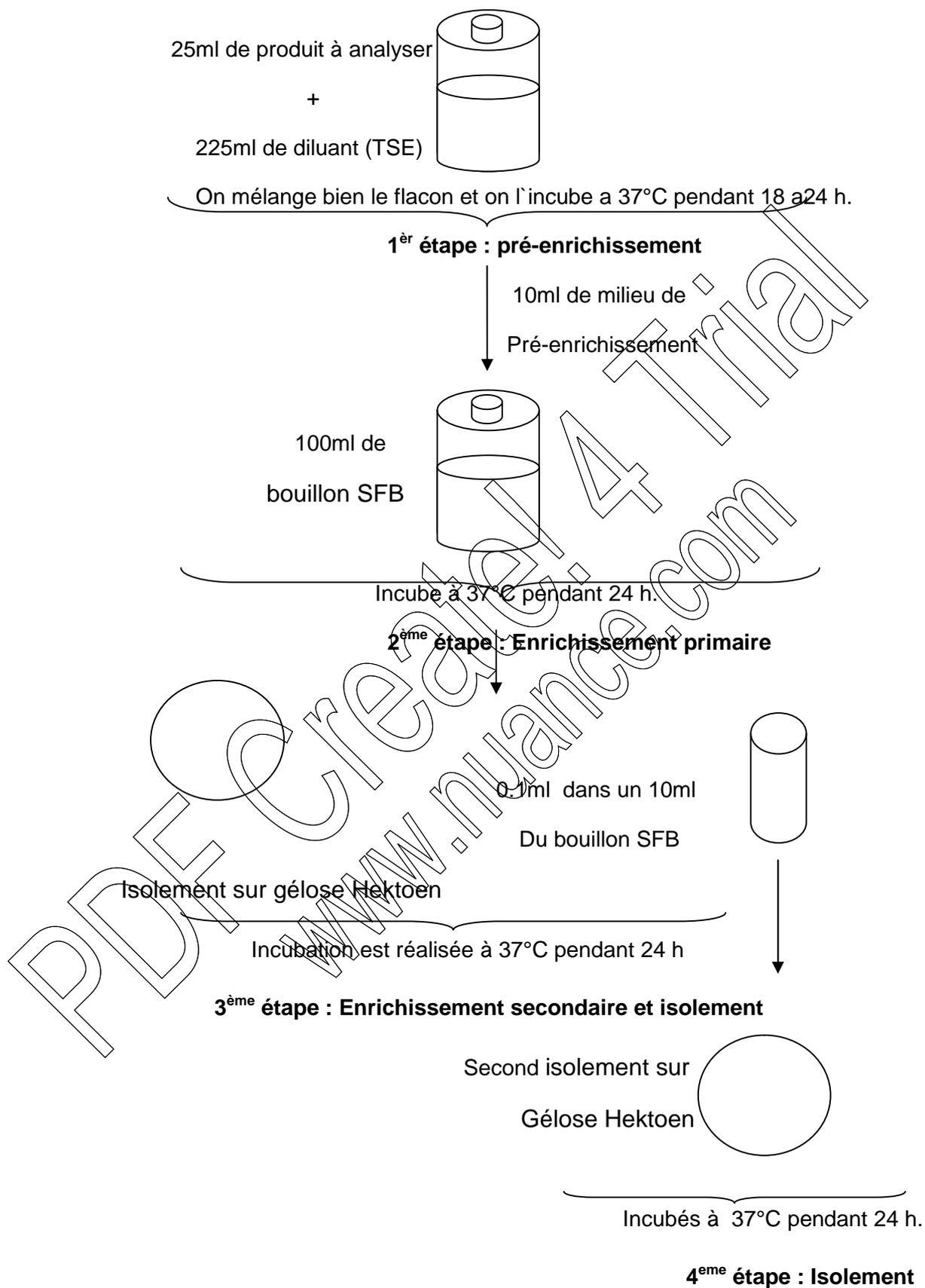


Figure 8 : Recherche des salmonelles.

Composition des milieux de culture

❖ Milieu PCA g/l

Tryptone	5,0 g
Extrait de levure	2,5 g
Glucose	4,0 g
Agar	9,0 g
PH = 7	

❖ Milieu OGA

Peptone de caséine	17,0 g/l
Peptone de farine de soja	6,0 g/l
Glucose	2,5 g/l
Chlorure de sodium	5,0 g/l
Phosphate dipotassique	2,5 g/l
Eau	1000 ml
PH : 7,3 ± 0,2	

❖ Milieu VF

Base viande foie	30,0 g
Glucose	2,0 g
Agar	6,0 g
PH = 7,4	

❖ Milieu MRS

Peptone	10,0 g
Extrait de viande	8,0 g
Extrait de levure	4,0 g
Glucose	20,0 g
Acétate de sodium trihydraté	5,0 g
Citrate d'ammonium	2,0 g

Tween 80	1,0 ml
Hydrogénophosphate de potassium	2,0 g
Sulfate de magnésium heptahydraté	0,2 g
Sulfate de manganèse tétrahydraté	0,05 g
Agar	10,0 g
PH = 6,2	

❖ Milieu VRBL

Peptone	7 g
Extrait de levure	3 g
Lactose	10 g
Chlorure de sodium	5 g
Mélange sel biliaire	1,5 g
Cristal violet	0,002 g
Rouge neutre	0,03 g
Agar-agar	15 g
Eau distillé	1 000 ml
PH 7,4	

❖ Milieu GC

Peptone de caséine	10g
Extrait de levure	5g
Extrait de viande	5g
Chlorure de lithium	5g
Mannitol	20g
Chlorure de sodium	5g
Glycine	1,2g
Pyruvate de sodium	3g

❖ Milieu Chapman

Peptone	10g
Extrait de viande	1g
Chlorure de sodium	5g

Mannitol	10g
Rouge de phénol	25g
Agar-agar	15g

❖ Milieu SFB

Peptone	5g
Lactose	4g
Phosphate disodique	10g
Sélénite acide de sodium	4g
Cystéine	100ml
PH=7,0.	

❖ Milieu Hektoen

Protéose-peptone	12g
Extrait de levure	3g
Chlorure de sodium	5g
Thiosulfate de sodium	5g
Sels biliaires	9g
Citrates de fer ammoniacal	1,5g
Salicine	2g
Lactose	12g
Saccharose	12g
Fushine acide	0,1g
Bleu de bromothymol	65mg
Agar-agar	13g
Eau distillée	1000ml
PH=7,4±0,2.	

❖ Milieu de Rothe

Tryptose	20g
Glucose	5g
Chlorure de sodium	5g
Phosphate monopotassique	2,7g

Azide de sodium	0,2g
Eau distillée	1000ml

❖ Mlieu EVA-Litsky

Tryptose	20g
Glucose	5g
Chlorure de sodium	5g
Phosphate monopotassique	2,7g
Phosphate bipotassique	2,7g
Azide de sodium	0,3g
Ethyle violet	0,0005g
Eau distillée	1000ml
PH 6,8-7	

❖

Tryptone	1g
Chlorure de sodium	8,5g
PH=7,5.	

Coloration de Gram

But :

La coloration de Gram permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne par coloration du cytoplasme cellulaire. De ce fait, elle permet de classer les bactéries en deux grands groupes : Bactéries à Gram négatif et Bactéries à Gram positif.

Elle permet aussi d'observer la morphologie des cellules bactériennes et leur groupement.

Principe :

La coloration de Gram s'effectue en trois temps. Dans un premier temps, les bactéries sont colorées en violet par un colorant basique (violet de gentiane) puis par une solution de lugol.

Dans un deuxième temps, qualifié de temps de différenciation, les bactéries sont soumises à l'action de l'alcool. Les bactéries se répartissent en deux catégories : celles qui conservent la coloration violette et qui sont qualifiées de bactéries à Gram positif et celles qui sont décolorées et qui sont appelées bactéries à Gram négatif.

Dans un troisième temps, afin de mieux visualiser les bactéries décolorées, on procède à un traitement par la fuchsine. Les bactéries à Gram positif apparaissent alors violettes et les bactéries à Gram négatif se recolorent en rose.

Technique :

- On Préleve une colonie bien isolée.
- On dépose une goutte d'eau physiologique stérile à 0,9% sur lame puis réaliser un étalement bactérien séché et fixé à la chaleur.
- On recouvre la lame avec le violet de gentiane et on la laisser agir 1min.
- On rince à l'eau.
- On recouvre la lame par le lugol et on la laisse agir 1 min.
- On rince à l'eau.
- On décolore à l'alcool puis on rince à l'eau.
- On recouvre la lame avec de la fuchsine et on laisse agir 1 min, on rince à l'eau puis on sèche.

Lecture:

On observe la lame au microscope optique au grossissement $\times 100$ à l'huile d'émersion

Coloration

Couleur rose : bactérie Gram négatif.

Couleur violette : bactérie Gram positif.

Test de la catalase

On prélève quelques colonies isolées qu'on disperse à l'aide d'une pipette Pasteur stérile dans une goutte d'eau oxygénée (H_2O_2) précédemment déposée au centre d'une lame. L'observation d'une effervescence est considérée comme un test positif.

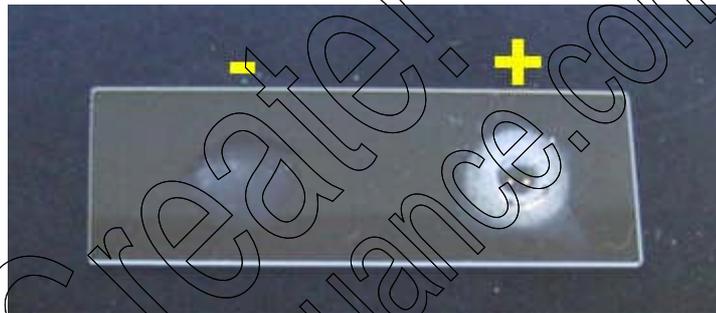


Figure. Mise en évidence de la catalase.