

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

UNIVERSITE SAAD DAHLAB - BLIDA
FACULTE DES SCIENCES AGRO-VETERINAIRE
DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUE

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

Filière : Sciences Alimentaire

Spécialité : Nutrition et Contrôle des Aliment

Thème :

**Etude de Pouvoir Acidifiant de *Lactobacillus bulgaricus* sur le jus
de datte**

Présenté par :

BENNAI Naima

Devant le jury compose de :

M ^{me} BOUTEKRABT L.	MCA	USDB	Présidente
M ^{me} DOUMANDJI A.	MCA	USDB	Promotrice
M ^{me} ABDELLAOUI Z.	MAB	USDB	Examinatrice
M ^{me} ACHEHEB H.	MAB	USDB	Examinatrice

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2011-2012

Remerciements

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

J'adresse mes reconnaissances et mes plus sincères remerciements à ma promotrice, M^{me} DOUMANDJI A., maître de conférence 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} BOUTEKRABT L., maître de conférence 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} Acheheb h., maître assistante à l'université Saad Dahlab de Blida pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant d'examiner ce travail.

Mes plus sincères remerciements aussi vont également à M^{me} Abdellaoui Z., maître assistante à l'université Saad Dahlab de Blida, pour l'honneur qu'il m'a fait en accepter d'examiner ce travail.

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

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

Dédicaces

Je dédie ce travail à:

Ma mère et mon père pour leur soutien,

Leur aide, leur patience et leur amour.

Mon frère

Mes sœurs

Toute ma famille

Tous mes amis (es)

** Naima **

Table des matières

RESUME

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

LISTE DES ABRIVIATION

Introduction..... 1

Étude bibliographique

Chapitre I : les palmiers dattiers et les dattes

1. Généralités sur palmier dattiers.....	3
1.1. Description botanique.....	3
1.2. Répartition géographique.....	3
1.2.1. Dans le monde.....	3
1.2.2. En Algérie.....	4
2. généralités sur les dattes.....	4
2.1. Description des dattes.....	4
2.2. Classification des dattes.....	5
2.3. Formation et maturation.....	5
2.4. Variétés des dattes.....	7
2.5. Production des dattes.....	7
2.5.1. Dans le monde.....	7
2.5.2En Algérie.....	8
2.6. Composition biochimique de la datte.....	8
2.6.1. Composition biochimique de la pulpe.....	8
2.6.2. Composition biochimique du noyau.....	12
2.7. Usage alimentaire et médicinale de la datte	13
2.7.1. Usage alimentaire de la datte	13
2.7.2. Usage médicinale de la datte	14

2.8. Intérêt nutritionnel.....	14
--------------------------------	----

Chapitre II : Technologie de la datte

1. Conditionnement de la datte	16
2. Transformation de la datte	16
2.1. Produits non fermentés.....	16
2.1.1. La farine des dattes.....	16
2.1.2. La pate de datte	17
2.1.3. Le miel de dattes	17
2.1.4. Le jus de dattes.....	17
2.1.5. Le sirop de dattes	17
2.2. Produits obtenus après fermentation.....	17
2.2.1. L`alcool de dattes.....	17
2.2.2. Le vinaigre.....	18
2.2.3. L`acide citrique $C_6H_8O_7$	18
2.2.4. La vitamine B_{12}	18
2.3. La biomasse.....	18
2.3.1. La levure boulangère.....	18
2.3.2. La levure alimentaire S.C.P (Signale celle protéine).....	18
3. Importance économique de la transformation des dattes.....	19

Chapitre III : les bactéries lactiques

1. Les bactéries lactiques.....	21
2. Propriétés générales des bactéries lactique.....	21
3. Origine et habitat des bactéries lactique	22
4. Les différents genres des bactéries Lactiques	23
5. Différents types de fermentation.....	23
5.1 Bactéries lactiques homofermentaires.....	24

5.2. Les bactéries lactiques hétérofermentaires	25
6. Principaux facteurs influençant le métabolisme des bactéries lactique	25
7. Rôle et importance des bactéries lactiques.....	27
7.1. Rôle dans l'industrie laitière (rôle utile).....	27
7.1.1. Rôle dans la production des composés d'aromes et de leurs précurseurs.....	27
7.1.2. Rôle dans la production des facteurs antimicrobiens.....	28
8. Le genre <i>Lactobacillus</i>	29
8.1. Les propriétés communes au genre.....	29
8.2. Les subdivisions du genre <i>Lactobacillus</i>	29
8.3. Habitat	32
8.4. <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	32

Chapitre IV : L'acide lactique

1 Généralités sur l'acide lactique.....	34
2. Propriétés physicochimique de l'acide lactique.....	34
3. Production de l'acide lactique.....	35
3.1. La voie chimique.....	35
3.2. La voie enzymatique.....	36
3.3. La voie fermentaire.....	36
4. Utilisation et intérêt d'acide lactique.....	37

Partie expérimentale

Chapitre V : Matériel et méthodes

1. Matériel végétal.....	40
1.2. Obtention et conservation des échantillons	40
2. Matériels biologique.....	41
3. Méthodes d'analyses.....	41
3.1. Analyses morphologique de la datte entière et de ses deux tissus.....	41

4.2. Analyses physicochimique de jus de datte.....	40
4.2.1. Détermination de la teneur en eau.....	43
4.2.2. Détermination de pH.....	44
4.2.3. Mesure de la conductivité électrique.....	44
4.2.4. Détermination de la densité relative à 20°C.....	45
4.2.5. Détermination de l'acidité titrable totale.....	45
4.2.6. Dosage des sucres totaux et sucres réducteurs.....	46
4.2.7. Détermination de la teneur en cendre.....	48
4.2.8. Détermination de la teneur en protéine.....	49
4.3. Analyses microbiologiques.....	51
4.3.1 Préparation de la suspension mère et des dilutions décimales.....	51
4.3.2. Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux.....	51
4.3.3. Recherche t des coliformes par comptage des colonies.....	52
4.3.4. Recherche et dénombrement des levures et moisissures.....	54
4.3.5. Recherche des <i>Staphylococcus aureus</i>	55
4.3.6. Recherche des spores de clostridium sulfite-réducteurs.....	56
4.3.7. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux.....	57
4.3.8. Recherche de salmonelles.....	59
4.4. Isolement de <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	60
4.5. Suivi de pouvoir acidifiant de <i>Lactobacillus bulgaricus</i> et la cinétique de Croissance tout les 100 minute	62

Chapitre VI : Résultat et discussion

1. Analyses morphologique de la datte.....	64
2. Composition physicochimiques et biochimiques de jus de datte (<i>Degla-Beida</i>).....	66
3. les analyses microbiologiques	69
4. Isolement et purification de la souche <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	70
5. Résultats de l'acidification et la cinétique de la croissance de la souche.....	71
Conclusion	75

Références bibliographiques

Annexes

Liste des tableaux

Chapitre I : les palmiers dattiers et les dattes

Tableau I-1 : Stade d'évolution et d'appellation de la datte.....

Tableau I-2 : Minéraux et vitamines pour 100 gde pulpe.....

Tableau I-3 : Composition moyenne en acides amines de la datte sèche.....

Tableau I-4 : Composition en acides gras de la datte Deglet-Nour, en % de matière grass.....

Tableau I-5 : Teneur en composés phénolique de quelque variétés de datte algériennes.....

Tableau I-6:Composition biochimique du noyau de dattes.....

Tableau I-7 : Composition (g/100) et valeur énergétique des variétés (Iran)....

Tableau I-8 : Teneur en éléments minéraux dans la pulpe, en mg /100g de matière sèche.....

Chapitre III : les bactéries lactiques

Tableau III.1.Les différent genres des Bactéries Lactiques.....

Tableau III.2. Type de fermentation des bactéries lactiques.....

Tableau III.3. Les exigences de croissance de quelques bactéries lactiques.....

Tableau III.4.Caractéristiques de quelques espèces de Lactobacilles.....

Chapitre IV : L'acide lactique

Tableau IV.1. Les applications les plus courantes de l'acide lactique et de ces sels.....	39
--	----

Chapitre V : Matériel et méthodes

Tableau V.1 : Les facteurs correspondant à chaque acide organique.....	46
---	----

Chapitre VI : Résultat et discussion

Tableau VI.1. Les caractéristiques physiques de la datte Degla-Beida	64
---	----

Tableau VI.2. Les caractéristiques physicochimiques et biochimiques de Jus de Degla Beida	66
--	----

Tableau IV.3. Résultats des analyses microbiologiques.....	69
---	----

Tableau VI.3 : Isolement et purification de la souche <i>Lactobacillus acidophilus</i>	70
---	----

Tableau VI.4. Résultats de l'acidification et la cinétique de la croissance de la souche.....	71
--	----

Liste des figures

Chapitre I : les palmiers dattiers et les dattes

- Figure I-1** : Datte et noyau du palmier dattier.....4
- Figure I-2** : Formation et maturation des dattes.....7

Chapitre II : Technologie de la datte

- Figure II.1** : Technologie de datte20

Chapitre IV : L'acide lactique

- Figure IV.1.** Acide lactique forme L et D.....34

Chapitre V : Matériel et méthodes

- Figure V.1.** *Degla-Beida*.....40

- Figure V.2.** Jus de datte.....43

- Figure V.4** : Isolement et purification de *Lactobacillus bulgaricus*.....61

- Figure V.5** : Suivi du pouvoir acidifiant des bactéries lactique et la cinétique
de croissance bactérienne63

Chapitre VI : Résultat et discussion

- Figure VI.1** : Pourcentage de la pulpe, de ses deux tissus constitutifs et du noyau
dans la datte entière.....65

- Figure VI.2.** Variation de pH de milieu71

- Figure VI.3.** Evolution de l'acidité titrable de milieu.....72

- Figure VI.4.** Production de l'acide lactique.....73

- Figure VI.5.** Evaluation de la croissance bactérienne par spectrophotométrie.....74

Liste des abréviations

FAO :Food and Agriculture Organazation

S.C.P: Signale Celle protéine

ATP: Adenosine triphosphate

DO: densite optique

g:Gramme

cm: Centimètre

Abs: Absence

mn: Minute

Mi: Masse initiale

Mf: Matière finale

MO: Matière Organique

ml: Milliliter

DM: Dilution mere

MRS: Gelose de Man,Rogosa,Sharpe

MS: Matière sèche

MG: Matière grasse

Cen: Cendre

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. Ils proviennent soit directement des palmeraies, soit des écarts des stations de conditionnement et sont impropres à la consommation. Les dattes, de part leur grande richesse en hydrates de carbone et leur conservation relativement longue, offrent de nombreuses possibilités technologiques suivant les traitements auxquels elles sont soumises. En effet, elles peuvent servir en tant que matières premières dans la fermentation pour la production de divers métabolites tels que l'acide citrique, l'éthanol, la vitamine B12, et l'acide lactique. L'objectif de ce travail, l'étude de pouvoir acidifiant de *Lactobacillus bulgaricus* par l'utilisation du jus issu de datte de faible qualité marchande (Degla-Beida) comme substrat dans la fermentation pour la production d'acide lactique. Les résultats obtenus à partir des essais de fermentation montrent que *Lactobacillus bulgaricus* peut produire jusqu'à 0.313 g/l d'acide lactique sur milieu à base de jus de dattes contenant 26.71% de sucres totaux après 24 h de fermentation.

Mots clés: Les dattes, Acide lactique, *Lactobacillus bulgaricus*, Jus de dattes, Fermentation.

ABSTRACT

Agribusiness industry generates important quantities of waste generally not developed. The Algerian phoenicicole sector provides to each countryside nearly 60.000 tons of waste of dates. They come either directly from the palm plantations or of the variations of the stations of conditioning and are unsuitable with consumption. The dates, of share their great wealth of carbohydrates and their relatively long conservation, offer many technological possibilities according to the treatments to which they are subjected. Indeed, they can be useful as raw materials in fermentation for the production of various metabolites such as the citric acid, the ethanol, the B12 vitamin, And lactic acid. The objective of this work, L`study of capacity acidifying of *Lactobacillus bulgaricus* by the use of the juice resulting from date from low marketable quality (Degla-Beida) like substrate in fermentation for the production of lactic acid. The results obtained starting from the tests of fermentation show that *Lactobacillus bulgaricus* can produce up to 0.313 g/l of lactic acid on medium containing juice of dates containing 26.71% of total sugars after 24:00 of fermentation.

Key words: Dates, Lactic acid, *Lactobacillus bulgaricus*, date Juice, Fermentation

ملخص

الصناعة الغذائية تخمر كميات معتبرة من المخلفات الغير مستعملة.

قطاع الفلاحة الجزائري يسوق أكثر من 60000 ألف طن من مخلفات التمر الناتجة عن النخيل مباشرة أو عن طريق المجال الصناعي للتمور الغير صالحة للأكل.

التمور بفضل الكمية المعتبرة التي تحتويها على الكربون و خفضها لمدة طويلة تسمح بإعادة تصنيعها عن طريق معالجتها بمختلف الطرق.

و لهذا فهي تعتبر كمادة أولية في التخمر من اجل إنتاج مختلف مثل حمض الليمون،الاثانول،فيتامين ب12 وحمض اللبن،و الهدف من هذا العمل هو دراسة الاستطاعة الحمضية ل *Lactobacillus bulgaricus* باستعمال عصير التمور الناتج عن تمر دقلة البيضاء ذات الجودة الضعيفة كقوام من اجل التخمر و إنتاج حمض اللبن و النتائج المتحصل عليها انطلاقا من تجارب التخمر تبين إن تستطيع إنتاج حتى 0.313 غ/ ملل من حمض اللبن انطلاقا من عصير التمور الذي يحتوي على 26.71 غ من السكريات بعد مرور 24 ساعة من التخمر.

الكلمات الدالة: التمور، حمض اللبن، *Lactobacillus bulgaricus* ، عصير التمور، التخمر

Introduction

Le palmier dattier (*Phoenix Dactylifera L.*) est une plante vitale pour les régions désertiques du Moyen Orient et du nord africain ou il constitue une base de survie à leurs populations. On compte actuellement de par le monde, plus de 2000 variétés ou cultivars différents, mais seul un nombre limité est valorisé pour la qualité de leurs fruits (Al Houti et *al.*, 2002) .

La datte, fruits du palmier dattier, constitue l'aliment de base des populations locales et nomades de Sahara et sa production mondiale s'élève à 5,85 millions de tonnes en 2004 (FAO, 2004).

L'Algérie, 6^{ème} producteur mondiale avec 450 000 tonnes en 2004 (FAO, 2004), héberge un patrimoine génétique très diversifié. Elle compte environ 13 millions de palmiers composés de 940 cultivars différents (Hanachi et *al.*, 1998) dont les plus importants sont Deglet-Nour, Degla-Beida et Mech-Degla (Anonyme, 2002).

Les fruits lui-même, fait l'objet d'une activité commerciale très intense et la variété Deglet-Nour détient le monopole des marchés nationaux et internationaux. Elle bénéficie même, d'un certain marketing (présentation, emballage...). En revanche, les autres variétés dites communes et représentant 30% environ de la production nationale ne retiennent aucune attention particulière.

En Algérie, la technologie de transformation de la datte, se limite à son conditionnement et à la production de pâte à partir de la variété molle Ghars. Pourtant, un développement réfléchi de cette technologie, par une meilleure maîtrise des procédés peut être d'un grand apport quant à la recherche de nouveaux débouchés pour les variétés communes.

Les dattes, de par leur grande richesse en sucres et leur conservation relativement longue, offrent de nombreuses possibilités technologiques suivant le traitement auquel elles sont soumises. En effet, elles peuvent servir de matière première de fermentation pour la production de divers métabolites tels que l'acide

citrique (Abou-Zeid et Khoja, 1993), les levures de type *Sacharomyces Cervisae* (Nancib et al., 1997).

La production d'acide lactique par des micro-organismes s'est très bien développée depuis d'une dizaine d'années et souvent ce sont des procédés qui utilisent des substrats relativement coûteux (glucose, lactose...). Actuellement, différentes matières premières peu coûteuses servent de sources de carbone 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 coût 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 technologiques 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 de l'acide lactique, est nouveau.

Le présent travail entre dans le cadre de la valorisation des dattes sèches en générale et de Degla-Beida en particulier. L'objectif sera consacré à l'utilisation de jus de datte variété sèche de faible valeur marchande (Degla-Beida) en tant que substrat de fermentation pour la production d'acide lactique par *Lactobacillus bulgaricus*. Ceci dans le but d'améliorer la production d'acide lactique.

Chapitre I : Les palmiers dattiers et les dattes

1. Généralités sur palmier dattiers

Le palmier dattier *phœnix Dactylifera L.*, est constitué de deux mots, un mot latin « *phœnix* » qui signifie dattier chez les phéniciens, et « *Dactylifera* » dérive du terme grec « *dactulos* » signifiant doigt, allusion fait à la forme du fruit (Djerbri, 1994 ; Amellal, 2007).

Le dattier cultive est connue depuis la plus haute antiquité. son origine serait située dans l'ouest de l'Inde ou dans la région du golfe persique. Il est réparti dans toutes les zones chaudes d'Afrique du nord, le Sahara, de puis l'atlantique jusqu'à la mer rouge, ainsi qu'au Moyen-Orient et vers l'est jusqu'à l'Inde (Gilles, 2000 ; Mazoyer, 2002).

1.1. Description botanique

Le nom scientifique du palmier dattier est *phœnix Dactylifera*. C'est une espèce Dioïque, monocotylédone, appartenant à la famille des *palmaceae*, et à la sous famille des *coryphineae*. la famille des *palmaceae* compte environ 235 genres et 4000 espèces (Munier, 1973). la datte est une baie, la fleur à trois carpelles dont un seul se développe au moment de la pollinisation. le fruit est généralement de forme plus ou moins ellipsoïdale. la graine, appelée aussi noyau, est ligneuse et sa couleur va du gris au brun et elle porte un petit embryon. le palmier dattier est l'arbre des zones arides et semi aride, il est originaire des pays chauds et humides, mais il a de large possibilités d'adaptation.

1.2. Répartition géographique

1.2.1. Dans le monde

Le palmier dattier fait l'objet d'une plantation intensive en Afrique méditerranéenne. en Europe l'unique pays producteur de dattes c'est l'Espagne principalement dans la célèbre palmeraie d'Elche (Toutain, 1977). A l'Etats-Unis D'Amérique, le palmier dattiers fut introduit au XVIII^{ème} siècle.

Sa culture n`à débutée réellement que les années 1900 avec l`importation des variétés irakiennes (Metallah, 2004) .le premier dattiers est également cultivé à plus faible échèle au risque, en argentine et Australie (Metallah, 2004).

1.2.2. En Algérie

Le palmier dattiers es cultive au niveau de 17 willayas seulement, pour une superficie de 120 830 hectares .Biskra 23%, el oud 22%, Adrar 21%.

2. Généralités sur les dattes

2.1. Description des dattes

Ce sont des baies a une seule graine « noyau » avec un mésocarpe « la pulpe » épais et charnu recouvert d`un péricarpe très fin. Le noyau est dur avec un endocarpe réduit a une mince membrane .la maturation est longue .elle débute vers le mois de mars –avril, tandis que le récolte commence en Octobre, dans le nord du Sahara. Dans les oasis du Sahara centrale, on cueille les premiers dattes, une friandise, des le mois d`aout, et même en juillet. Dans le sud, le régime des pluies differe, on doit alors cueillir les dattes à la fin de la saison sèche, début juillet, avant les pluies d`été (Munier, 1973 ; Benchelah et Maka, 2006).

La figure I-1montre une coupe de la datte et du noyau.

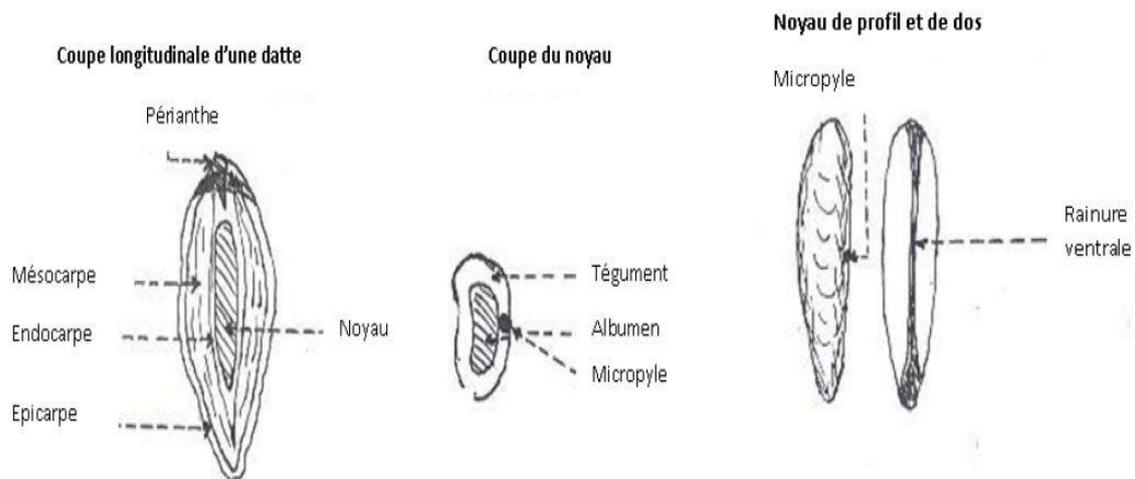


Figure I-1 : Datte et noyau du palmier dattier (Belguedj, 2001).

Les dimension de la dattes sont très variable , de 2 à 8 Cm de longueur et d`un poids de 2 à 8 Grammes selon les variétés .leur couleur va du blanc jaunâtre au noir

en passant par les couleurs ambre ,rouge ,brune plus ou moins fonces (Djerbi,1994).un arbre produit en moyenne 60 Kg de dattes par an mais , dans certains cas ,il peut donner plus de 100Kg, et cela pendant cinquante a quatre vingt ans , et jusqu`a cent ans par fois(Benchelah et Maka,2006).

2.2. Classification des dattes

D`après la consistance, on à coutume de distinguer a maturité trois catégories de dattes : les molles, les sèches, les demi-molles (la Deglet-Nour est un bon exemple de demi-molle). (Booij et Ali., 1992).

- **Les dattes sèches** : moins de 20 % d`humidité, riche en saccharose selon notre investigation Degla-Beida tout particulièrement, Mech-Degla, Frezza....sont les plus réponsus en Algérie.
- **Les dattes semi-molles** : 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 (Cook et Furr, 1952).
- **Les dattes molles** : taux d`humidité supérieur ou égale à 30 %, elles sont a base de sucres invertis (fructose, glucose).

2.3. Formation et maturation

Chaque étape de la maturation de la datte à été identifiée nominalement, ce qui permet de suivre l`évolution du fruit au cours de son développement. Les expressions utilisées sont celle de la nomenclature Irakienne adoptées par de nombreux auteurs.

Le tableau I-1 illustre les nomenclatures des différents stades d`évolution adoptées dans quelque pays producteurs de datte.

Tableau I-1 : Stade d`évolution et d`appellation de la datte.

(Munier, 1973)

pays	Stade de développement de la datte				
	I	II	III	IV	V
Irak	Hababouk	Kimiri	Khlal	Routab	Tamr
Algérie	Loulou	Khlal	Beser	Martouba	Tamr
Libye	-	Gamag	Beser	Routab	Tamr
Mauritanie	Zeï	Tefejena	Engueï	Blah	Tamr

-stade I(Hababouk) : stade qui suit la pollinisation ;

-stade II (Kimiri) : caractérisé par le grossissement des dattes (augmentation du poids et du volume), un taux d`humidité élevé, une accumulation de sucre réducteurs et une très forte acidité ;

-stade III(Khlal) : marque par une augmentation rapide de la teneur en sucre totaux, du saccharose et de la matière solide, alors que l`acidité et le taux d`humidité décroissent ;

-stade IV(Routab) : la datte devient molle et le perd son astringence(les tannins sous la peau précipitent sous forme insoluble) ;

-stade V(Tamr):correspondant à l`étape finale de la maturation du fruit ; la datte à alors perdu presque toute son peau (Booij et *al.* 1992).

La figure I-2 résume les différents changements de la datte au cour de son développement.

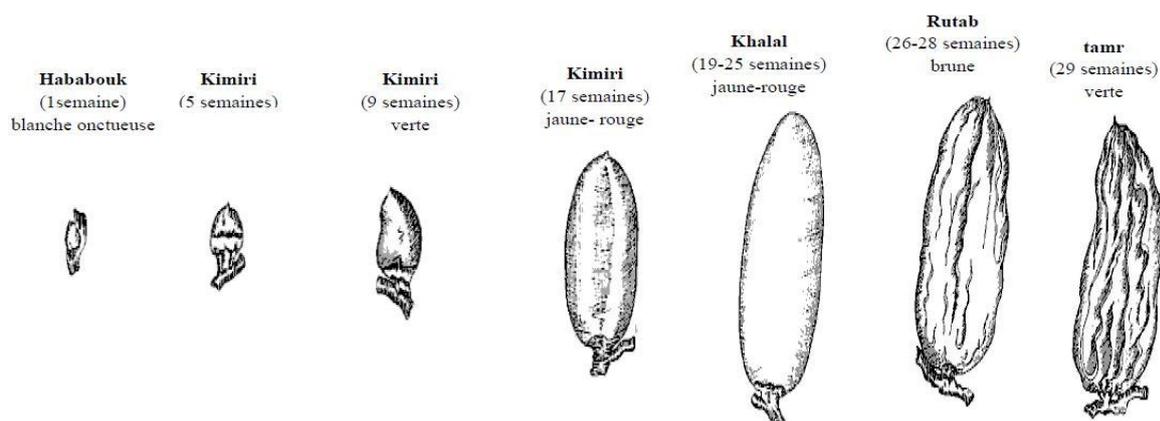


Figure I-2 : Formation et maturation des dattes (Barreveled, 1993).

2.4. Variétés des dattes

En Algérie les principales variétés cultivées sont représentées par :

-Deglet-Nour : qui est les variétés de premier choix, elle représente 47% de la production. C'est une datte excellente au goût exquis, très appréciée sur le marché national et international du fait de son aspect de sa saveur de son onctuosité.

-les dattes communes : la production est estimée à 53% représentée par trois variétés : Chars, Degla-Beida, Mech-Degla.

-les variétés secondaire : elles comptent plus de 150 variétés dont les majorités est très peu appréciées. Les plus répandus sont : Hamra, Tinnaceur, Tegaza, Tezerzait et Takerbouchet (qui présente un intérêt par sa résistance au bayoudh). (Boughnou, 1988)

2.5. Production des dattes

2.5.1. Dans le monde

Avec une production mondiale de 2,5 millions de tonnes par an le palmier vient au quatrième rang des productions fruitières tropicales et subtropicales, après les agrumes, les bananes et l'ananas. Le nombre de palmiers dans le monde peut être estimé à 100 millions d'arbres répartis essentiellement au Proche Orient et en Afrique du Nord. Le rendement moyen mondial est seulement de 20 kg par palmier. (Quinten, 1995)

Les principaux pays producteurs de dattes sont : l'Égypte, l'Iran, l'Arabie-saoudite, le Pakistan, l'Algérie et le Soudan, les Emirats Arabes Unis...etc. La production mondiale de dattes réalisée en 2007 est de 5,09 millions de tonnes. L'Irak, quant à lui a atteint une production de 0,91 millions de tonnes. (FAO, 2007)

Du point de vue quantitatif, la production algérienne représente 10% de la production mondiale occupent ainsi la quatrième place, mais du point de vue qualitatif, elle occupe le premier rang grâce à la variété Deglet-Nour, la plus appréciée mondialement. (Ouinten, 1995)

2.5.2. En Algérie

L'Algérie occupe le cinquième rang mondial avec une production annuelle entre 400 000 et 430 000 tonnes dont plus de 48% est représentée par la variété Deglet-Nour soit une moyenne de 190 000 à 210 000 tonnes par an qui est souvent exportée. La production réalisée dans la campagne agricole (2006/2007) est de 4,18 millions de quintaux. (FAO, 2007)

2.6. Composition biochimique de la datte

La datte est constituée de deux parties distinctes : une comestible « la pulpe ou la chair » et une autre non comestible « noyau » qui révèlent des compositions très intéressantes.

2.6.1. Composition biochimique de la pulpe

Le sucre et l'eau sont les constituants prédominants de la chair. C'est leurs proportions qui déterminent la consistance de la datte (Munier, 1973). En plus de ces deux composés, la pulpe renferme : des fibres, des lipides, des éléments minéraux, des protéines, des polyphénols, des vitamines.

a- l'eau : la teneur en eau est en fonction des variétés, du stade de maturation et du climat. Elle varie généralement entre 8 et 30% du poids de la chair fraîche.

b- les glucides : les sucres sont les constituants les plus prédominants de la datte. L'analyse des sucres de la datte a révélé essentiellement la présence de trois types de sucre : le Saccharose, le Glucose, et le Fructose (Estanova, 1990 ; Acourene et al., 1997). Ceci n'exclut pas la présence d'autres sucres en faible proportion tels que :

Galactose, le Xylose...).les dattes constituent une source de prédilection de sucres avec une teneur de 60 et 80% contre environ 12 à 20% dans le cas de la betterave et la canne à sucre (Decloux,2008).Il n`ya aucune raison de les purifier (sucre de datte) entièrement et de débarrasser de toute trace de minéraux et micronutriments avant de les utiliser dans la confection des aliments(Rémésy,2008).

c-fibres : une grande partie de ces composés sont insolubles constituées principalement par la cellulose.

Les dattes fins, comme la Deglet Nour, ne contiennent qu`une faible proportion en cette substance, mais des proportions plus élevées atteignant parfois plus de 10% dans le cas des dattes communes particulièrement fibreuses (Munier, 1973).

Selon Bonaz et al. (2007) il se pourrait que l`augmentation de la consommation des raffinés, la diminution de la consommation de fibres, de vitamines, de sels minéraux et d`acide gras essentiels jouent un rôle dans les maladies inflammatoires Cryptogénétiques de l`intestin.

d-les minéraux : la caractéristique la plus remarquable des dattes réside dans la présence de minéraux et d`oligo-éléments particulièrement abondants dépassant nettement les autres secs (tableau I-2).

e-les vitamines : la pulpe de dattes contient des vitamines en quantités variable avec les types de dattes et leur provenance. En général, elle contient des caroténoïdes et des vitamines du groupe B en quantité appréciables, mais peu de vitamines C (Munier, 1973).

Le tableau I-2 présente la composition en différents minéraux et vitamines de la pulpe de datte.

Tableau I-2 : Minéraux et vitamines pour 100 g de pulpe.

(Benchelah et Maka, 2008).

minéraux		vitamines	
Potassium	670-750 mg	B3	1,7 mg
Calcium	62-65 mg	B5	0,8 mg
Magnésium	58-68 mg	B2	0,10mg
Fer	3 mg	B6	1,15mg
Phosphore	3 mg	Vitamines PP signalées	0,03mg
Cuivre	3 mg	provitamines A	
Zinc	3 mg	Vitamine C	Présente en faible quantité dans la datte fraiche, a presque disparu dans la datte sèche.
Manganèse	1-3 mg		

f-les acides amines : les dattes sont caractérisés par une faible teneur en protéines (Tableau I-3). Elle varie entre 0,38 et 2,5% du poids sec. Malgré cette faible teneur, les protéines de la datte sont équilibrées qualitativement (Yahiaoui, 1998 ; Amellal, 2007).

Tableau I-3 : Composition moyenne en acides amines de la datte sèche

(Favier et *al.*, 1993).

Acides aminés	Teneur de la pulpe, en mg/100g
Isoleucine	64
Leucine	103
Lysine	72
Méthionine	25
Cystine	51
Phénylalanine	70
Tyrosine	26
Thréonine	69
Tryptophane	66
Valine	88
Arginine	68
Histidine	36
Alanine	130
Acide aspartique	174
Acide glutamique	258
Glycocolle	130
Proline	144
Serine	88

g-les acides gras : la datte renferme une faible quantité de lipides. Leur taux varie entre 0,43 et 1,9 % du poids frais (Djouab, 2007).cette teneur en fonction de la variété et du stade de maturation (Amellal, 2007).

Selon Yahiaoui (1998), la teneur en lipides passe de 1,25% au stade Hababaouk à 6,33% au stade Kimiri (tableau I-4).cette teneur diminue progressivement au stade Routab pour atteindre une valeur de 1,97% de matière sèche a stade Tamar (Amellal, 2007).

Tableau I-4 : Composition en acides gras de la datte Deglet-Nour, en % de matière grasse (Yahiaoui, 1998)

Acides gras	Teneur en % de matière grasse
Acide linoléique (C18 :3)	12,30
Acide linoléique (C18 :2)	11,47
Acide oléique (C18 :1)	10,74
Acide stéarique (C18 :0)	10,47
Acide palmitique (C16 :0)	7,89
Acide myristique (C14 :0)	8,66

h- les composés phénoliques : la datte renferme des substrats dits composés phénoliques (Mansouri et *al.*, 2005 ; Amellal, 2007).

Tableau I-5 : Teneur en composés phénolique de quelque variétés de datte algériennes (Mansouri et *al.*, 2005)

Variétés	Teneur en mg/100g du poids frais
Tazizaout	2,49
Ougherouss	2,84
Akerboyche	3,55
Tazarzait	3,91
Tafiziouine	4,59
Deglet-Nour	6,73
Tantbouchte	8,63

2.6.2. Composition biochimique du noyau

Dans le tableau I-6 est citée la composition des noyaux de deux dattes Mauritanienne et Irakienne.

Tableau I-6:Composition biochimique du noyau de dattes

(Munier, 1973)

constituants	Noyau (Mauritanie) %	Noyau (Irak) %
Eau	7,16	6, 6
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

Comme le montre le tableau, le noyau constitue donc un sous produit des plus intéressants, qui ne doit pas être négligé et doit être récupéré au niveau des ateliers de traitement et de conditionnement.

2.7. Usage alimentaire et médicinale de la datte

On à recours à la datte sous différentes formes. Les utilisations sont en fait multiples et variable d'une région à l'autre .Qu'elles soient médicinales ou alimentaire (Benchelah et Maka, 2008).

2.7.1. Usage alimentaire de la datte

Les dattes constituent la matière première pour l'élaboration d'un bon nombre de produits alimentaire. Elles accompagnent les plats cuisines, tels que couscous, tajines, en une grande variété de recettes propre à chaque régions, elles se marient bien avec les viandes. Elles entrent dans la composition de nombreuses pâtisseries sous forme de pates de datte, aussi les célèbres makrout sont très apprécié (Ould El Hadj et *al.*, 2001 ; Benchelah et Maka, 2008).Quand aux noyaux même si l'auteur n'est pas explicite ,ils serait utilisés comme compliments alimentaire en périodes difficiles. Aussi, ils sont utilisés comme café après torréfaction (Benchelah et Maka, 2008).

2.7.2. Usage médicinale de la datte

Energétique et riche en minéraux, les fruits permet de lutter contre l'anémie et les déminéralisations, il est donc recommande aux femmes qui allaitants. Les dattes pilées dans de l'eau soignent les hémorroïdes, les constipations et aussi l'ictère (jaunisse) .Quant aux diarrhées, elles sont traites par la datte vertes tonifiantes.

Calmantes sous forme de sirop très concentré, le robb, cette préparation apaise et endort les enfants. Elle est aussi utilisée pour les maladies nerveuses et dans les affections broncho-pulmonaires. En gargarisme, elles soignent les maux de gorge (Benchelah et Maka, 2008).

2.8. Intérêt nutritionnel

Les dattes constituent un excellent aliment que les caravanes utilisent dans le désert souvent presque exclusivement pendant de longs temps ; leur richesse nutritive est renforcée par une certaine quantité de vitamines « A », et de vitamines « B ». (Lecoq, 1965).

Le taux élevé des sucres permet de classer la datte parmi les aliments glucidiques ce qui a permis de constituer un aliment de grande valeur nutritive et énergétique. Les matières sucres peuvent atteindre 70% du poids des fruits et ne descendent jamais en dessous de 50% ce concentré de sucre permet aux dattes d'être utilisées dans les cas de fatigues physiques (Toutain, 1977).

Tableau I-7 : Composition en nutriments (g/100) et valeur énergétique des variétés (Iran)(Al-Farsi et al., 2006).

Composition	Fard	Khasab	Khalas
Eau	18,5	16,5	12,6
Protéine	1,47	1,61	1,68
Lipides	1,41	0,98	0,52
Cendres totaux	1,49	1,59	1,79
Sucres totaux	77,13	79,32	83,41
énergie	278	281	301

La datte est caractérisée par :

- une forte teneur en glucide, due à sa richesse en sucres réducteurs (Maatallah, 1970).
- Un pouvoir énergétique élevé : 200 à 300 K Calories/100 g du fruit (Munier, 1973).
- Protéines équilibrées qualitativement mais en faible quantité. (Tabib, 1999).

- Elle est riche en éléments minéraux plastiques : Ca, S, Mg, P et en éléments minéraux catalytique : Fe, Mn. (Noui, 2007).

Tableau I-8 : Teneur en éléments minéraux dans la pulpe, en mg /100g de matière sèche (Chibane et *al.*, 2007)

Eléments	Mech-degla	Degla-Beida	Frezza
K	678	575	610
Ca	231,75	286,22	249,49
Mg	21,34	2,55	1,80
Na	34	12,25	15,77
Zn	1,27	2,02	1,82
Fe	0,99	2,74	2,84

Chapitre II : Technologie de la datte

La technologie de la datte recouvre toutes les opérations qui, de la datte à la consommation, ont objet de préserver tout les qualités des fruits et de transformer ceux qui ne sont pas consommés, ou consommables à l'état, en divers produits, bruts ou finis, destinés à la consommation humaine ou animale et à l'industries (Estanove, 1990).

1. Conditionnement de la datte

L'industrie de conditionnement joue un rôle primordial dans la préservation, l'amélioration et la qualité et l'augmentation de la valeur marchande des fruits, surtout celles qui sont destinées à l'exploration.

Le conditionnement des dattes, concerne l'ensemble des opérations effectuées après la cueillette et destinées à présenter un produit fini prêt à être consommé. Ces opérations sont : désinsectisation, le triage, le lavage éventuel, l'humidification et /ou le séchage l'enrobage éventuel par le sirop, la mise en caisse ou en boîte et entreposage frigorifique (Abdelfattah, 1989).

Les conditionnements sont très personnalisés dans chaque entreprise et selon la clientèle destinataire (Espiard, 2002).

2. Transformation de la datte

2.1. Produits non fermentés

2.1.1. La farine des dattes

Obtenue par broyage de dattes dénoyautées, dattes sèches du type Degla-Beida Ou Mech-Degla, ou susceptible de le devenir après dessiccation (Maatallah, 1970).

A l'échelle industrielle le séchage se fait par des séchoirs avec système de réglage de la vitesse de circulation d'air, et la température de séchage.

2.1.2. La pate de datte :

Les dattes molles ou ramollies par humidification donnent lieu à la production de pate de datte. la fabrication est faite mécaniquement. Lorsque le produit est trop humide, il est possible d'ajouter la pulpe de noix de Cocco ou la farine d'amende douce. La pate de datte est utilisée en biscuiterie et en pâtisserie (Espiard, 2002).

2.1.3. Le miel de dattes :

Sa préparation nécessite des variétés de datte molle. L'extraction se fait par pressages de la pulpe de dattes, et le produit ainsi obtenu présentant l'aspect du miel d'abeilles.

2.1.4. Le jus de dattes :

Le jus de datte est connu depuis longtemps dans la plupart des pays producteurs de dattes, se jus est appelé « Roub » en Algérie et « Debs » en Irak.

Ce jus est extrait après trempage dans de l'eau chaude 80°C pendant 1 heure au moins. Un autre procédé d'extraction par diffusion (procède utilise en sucrerie) est employé en Irak, l'eau d'extraction et les dattes circulent en sens inverse. L'avantage de ce procédé c'est d'extraire le minimum possible de non sucre (Dubourg, 1952 in Boughnu, 1980).

2.1.5. Le sirop de dattes

Il peut être fabrique avec n'importe quelle datte de qualité secondaire, c'est un produit stable d'une couleur plus ou moins brune, utilise en pâtisserie comme édulcorant (Abbas Hassan, 1982 et Rahmouni, 1999).

2.2. Produits obtenus après fermentation

2.2.1. L'alcool de dattes

Le moût datte sert de milieu de fermentation pour la production d'éthanol. Ce dernier est ensemence directement par la levure boulangère : *Saccharomyces cereviceae*, cependant il faut tenir compte de certaine conditions à savoir : la température, le pH, et l'anaérobiose (Cheikh, 1994).

2.2.2. Le vinaigre

Après la fermentation alcoolique, le jus alcoolisé obtenu servira de substrat pour la biosynthèse de l'acide acétique. Les bactéries utilisées sont des bactéries acétiques dont la principale est : *Acetobacter acetal* (Boughnou, 1988).

2.2.3. L'acide citrique C₆H₈O₇

L'acide citrique est synthétisé par : *Aspergillus Niger*. La culture se fait dans des fermenteurs où la température, pH et la pression sont constamment surveillés.

Le milieu de culture qui est du jus de dattes dilué à 10% permet d'obtenir un rendement de 8,9% (El Akidi Hassan, 1982).

2.2.4. La vitamine B₁₂

La production de la vitamine B₁₂ est assurée par : *Streptomyces albidoflavus antibioticus*, ou *Streptomyces aureoflavus*.

Les rendements sont similaires à ceux obtenus sur d'autres substrats tels que la mélasse (El Akidi Hassan, 1982).

2.3. La biomasse

2.3.1. La levure boulangère

Jusqu'à présent, la production industrielle de la levure boulangère se fait sur la mélasse, ou sur les produits amylicés (Amidon).

En Algérie, des essais ont été entrepris par ; Rangeieux .R et Girard en 1960, leurs résultats sont comparables à ceux trouvés à l'échelle industrielle sur des substrats classiques.

Le rendement maximum atteint après 22 heures de culture en aérobiose est de l'ordre de 9g/l, calculé en poids sec (Boughnou, 1988).

2.3.2. La levure alimentaire S.C.P (Signale celle protéine)

Les espèces de levure cultivées sur le jus de datte (1 à 4%) sont ; *Candida utilis* et *Torula S.P.*

Le rendement maximum est atteint en moins de 24 heures de culture. Selon (El Akidi Hassan, 1982) une tonne de dattes pourrait assurer une production de 250kg de S.C.P, dont la teneur en protéine est estimée à 52%.

3. 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.).

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 (Touzi, 1997).

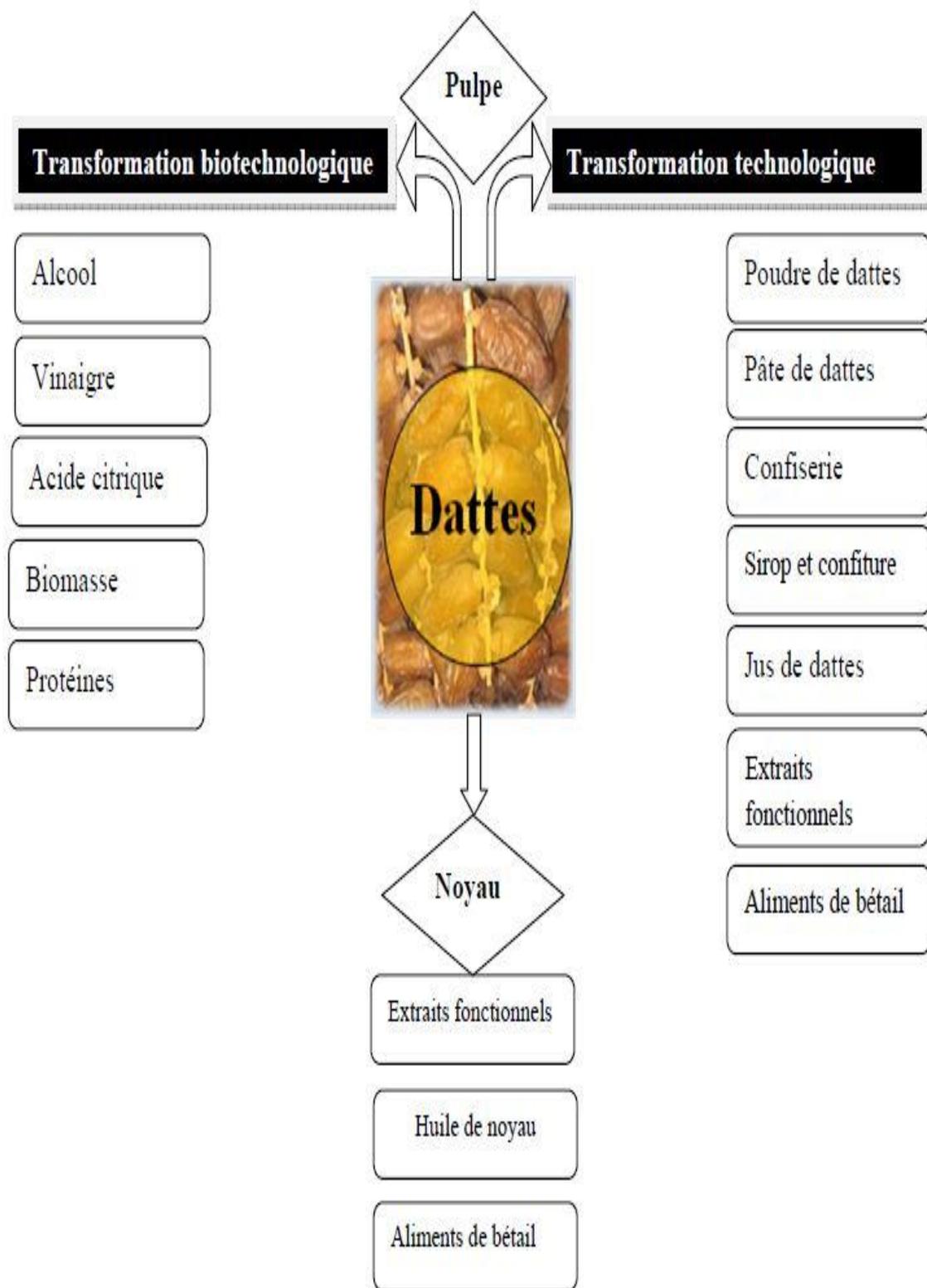


Figure II.1 : Technologie de datte (Boukhiar, 2009).

Chapitre III : Les bactéries lactiques

1. Les bactéries lactiques

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

La fermentation est dite «homolactique» si l'acide lactique est pratiquement le seul produit formé et «hétérolactique» si d'autres composés sont aussi présents (acide acétique, éthanol, CO₂) (Leveau et Bouix, 1993).

Le groupe des ferments lactiques se caractérise par la capacité de ces microorganismes à produire de grande quantité d'acide lactique sous l'une des formes isomères L (+) ou D(-) ou bien en mélange (DL) à partir de sucres fermentescible (Béal et Sodini, 2003).

Les bactéries lactiques sont très exigeantes en ce qui concerne leurs besoins azotés et vitaminique. La présence dans le milieu de culture de facteurs de croissances et d'oligoéléments est indispensable pour leur développement (Lebenf et Lacroix, 1998).

2. Propriétés générales des bactéries lactique

- **Caractères morphologique**

Les bactéries lactiques sont des cocci ou des bâtonnets, Gram positives qui se caractérisent par une composition en (G+C) compris entre 33 et 54% généralement immobiles, jamais sporulés, catalase négatives. Ce sont des anaérobies facultatives : microaérophiles, capables de fermenter en aérobiose comme en anaérobiose (Bourgeois et Larpent, 1996).

-Des coques (cocci) en forme sphérique plus ou moins ovoïdes, de 0,5 à 1,5 µm de diamètre dont la division peut engendrer des paires, des tétrades, des chaînettes ou des amas. Ce sont des bactéries non sporulés et immobiles (Devoyod et poulain, 1988 ; Medina, 2000).

-Des bacilles : en forme de bâtonnets de 0,5 à 2 µm de diamètre, ils peuvent avoir différents aspects : droits, de coccobacilles ou de longue chaîne de bacilles. Le

bâtonnet peut s'incurver dans certains cas ou s'allonger en filament (De Roissart et Luquet, 1994).

- **Ecologie des bactéries lactique**

Les bactéries lactiques ont été isolées de nombreux milieux naturels végétaux (plantes et fruits), animaux et humains (cavités buccale et vaginale, les fèces, le lait) (Danone, 1999 ; Luquet et corrieu, 2008).

3. Origine et habitat des bactéries lactique

Grâce à leur souplesse d'adaptation physiologique, elles sont présentes dans plusieurs milieux riches en principaux nutriment à savoir : produits laitiers, carnés, de pêche et végétaux (Desmazeaud, 1992 ; Luquet et Corrieu, 2008).

Le lait par sa composition riche en substances nutritionnelles et facteurs de croissance, constitue un excellent milieu de culture pour les bactéries lactiques aptes à assimiler ses constituants par différentes voies microbiennes (Alias, 1984).

Chez les mammifères, elles se retrouvent dans la bouche et les cavités rhino-pharyngiennes, la première partie de l'intestin, chez la femelle dans le vagin et sur les mamelles d'où elles passent dans le lait. (Vrignaut, 1982). Ces bactéries s'avèrent généralement sans danger et bénéfique à la santé lorsqu'elles sont ingérées vivantes et en nombre élevée, leur habitat diffère selon les genres. (Luquet, 1993).

- **Habitat selon les genres**

Les espèces du genre *Streptococcus* ou *Leuconostoc* se rencontrent plutôt chez l'homme, les animaux et les oiseaux, on peut les isoler de la peau des animaux et des matières fécales, mais aussi de l'ensilage.

Les espèces du genre *Lactobacillus* se rencontrent plus couramment dans la nature. On les retrouve aussi dans l'intestin des animaux et de l'homme car *Lactobacillus acidophilus* résiste aux sels biliaires. *Lactobacillus acidophilus* entre dans la flore normale du vagin où sa présence empêche l'innovation par les *Candida albicans*. Peu d'espèces ont un caractère pathogène.

Les espèces du genre *Pediococcus* ne se rencontrent pratiquement que sur les plantes. (Lenoir et *al.*, 1992).

4. Les différents genres des bactéries Lactiques

Groupe hétérogène, les bactéries lactiques regroupent quatre genres essentiels (plus d'autres), *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* et *Pediococcus*, définis sur la base de critères morphologiques (leurs cellules sont soit des coques ou des bacilles), biochimiques (leur type fermentaire : homolactique ou hétérolactique) et physiologiques (voir le tableau III-1). (Leveau et Bouix, 1993 et Stiles et *al.*, 1997).

La composition de leur ADN permet de connaître l'homogénéité des espèces constituant ces genres : le pourcentage de bases (CG%) de leur ADN montre une composition assez proche pour les genres cités. Le rassemblement de ces genres dans un même groupe est confirmé par la taxonomie moléculaire (Leveau et Bouix, 1993 et Stiles et *al.*, 1997).

Tableau III-1 : Les différent genres des Bactéries Lactiques (Leveau et Bouix, 1993).

	cellules		Fermentation	ADN (GC%)
	forme	Arrangement		
<i>Streptococcus</i>	Coque	Chaîne	Homolactiques	34-46
<i>Leuconostoc</i>	Coque	Chaîne	Hétérolactique	36-43
<i>Pediococcus</i>	Coque	Tétrades	Homolactique	34-42
<i>Lactobacillus</i>	Bacille	Chaîne	Homolactique Hétérolactique	32-53

Actuellement, le genre des bactéries lactiques associé aux aliments, renferme les genres : *Coranobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* et *Weissella* (Stiles et *al.*, 1997).

5. Différents types de fermentation

Le métabolisme des hydrates de carbone se déroule en phases.

- ❖ Transport du glucide à travers la membrane grâce à la perméase ATP dépendante.
- ❖ Clivage des disaccharides en ses deux composants.
- ❖ Dégradation des mono saccharides.

Le lactose est le principal aliment énergétique des bactéries, il peut subir différentes voies métaboliques selon l'espèce bactérienne : homofermentaires ou hétérofermentaires (voir tableau III-3).

Les bactéries lactiques forment la partie la plus intéressante de la microflore acidifiante des produits laitiers, mais elles ne sont pas les seules à produire des quantités assez élevées d'acide lactique, comme le cas d'*Escherichia coli*, qui produit plus d'acide lactique qu'une bactérie lactique (Alias, 1984).

Tableau III-3 : Type de fermentation des bactéries lactiques (Dellaglio, 1989).

Genre	Type de fermentation	Principaux produits de dégradation	Isomères de l'acide Lactique produit
<i>Streptococcus</i>	Homolactique	Lactate	L
<i>Pediococcus</i>	Homolactique	Lactate	L, DL
<i>Lactobacillus</i>			
-Homofermentaire	„	„	
-Hétérofermentaire facultatif.	Homo ou hétéro lactique	Lactate ou lactate et acétate	L, D ou DL L, D ou DL
-Hétérofermentaire 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

5.1 Bactéries lactiques homofermentaires

Selon Alia, (1984) et l'Inson et *al.*, (1982) se sont les bactéries qui ne forment que des traces de produits de accessoires, à coté de l'acide lactique qui représente 90 à

97% du lactose fermenté. Ces bactéries lactiques ne produisent ni de gaz ni d'ammoniac.

Deux sous groupes appartiennent à ce groupe de bactéries lactiques homofermentaires :

Les *Lactobacillus* et les *Streptococcus* lactiques.

5.2. Les bactéries lactiques hétérofermentaires

Ces bactéries produisent en plus de l'acide lactique (représente 50% du lactose fermenté), d'autres acides accessoires comme l'acide acétique, l'acide succinique de l'alcool, du gaz carbonique et de l'hydrogène. Se sont des cocci ou des bacilles, attaquent notamment les glucides végétaux, mais qui existe aussi dans le lait les produits laitiers. On trouve parmi elles : les *Betabactérium*, et les *Bétacoccus*, qui représentent 90% de la flore fécale du nourrisson allaité par sa mère et qui sont strictement anaérobies.

6. Principaux facteurs influençant le métabolisme des bactéries lactique

La capacité de croissance et l'acidification des bactéries lactiques dépendent de plusieurs types de facteurs : Des facteurs nutritionnels, propres aux bactéries lactiques, des facteurs de l'environnement, notamment ; des facteurs physiques tel que la température et chimiques tel que le pH et les facteurs bactériologiques (taux d'ensemencement) (Béal et Sodini, 2003).

- **Facteurs nutritionnels**

Les bactéries lactiques sont caractérisées par des exigences nutritionnelles nombreuses (voir le tableau III-4). Aussi ne peuvent croître facilement que dans des milieux riches en vitamines, bases nucléiques, sources de carbone et d'azote et en minéraux (Leveau et Bouix, 1993).

- **Facteurs physiques**

La température est le premier facteur environnemental à considérer pour le développement des bactéries lactiques. Elle agit sur les vitesses de réactions chimiques. Elle doit trouver autour de 42°C pour les espèces thermophiles (Béal et Sodini, 2003).

- **Facteurs chimiques**

Le pH est le facteur chimique important pour la croissance des bactéries lactiques. Il intervient sur la disponibilité en nutriments du milieu et sur les vitesses d'activités enzymatiques (Béal et Sodini, 2003).

- **Facteurs microbiologiques**

Le taux d'ensemencement avec des bactéries lactiques influence fortement la transformation de produitensemencé plus il est élevé, plus rapide est la fermentation (Béal et Sodini, 2003).

Tableau III-4 : Quelques exigences de croissance de quelques bactéries lactiques (Leveau et Bouix, 1993).

Exigences pour croissance			
Métabolites	<i>Lb. Lactis</i> subsp. <i>Lactis</i>	<i>Sc.therophilus</i>	<i>Lactobacillus</i>
Vitamines			
B12	+	+	+
Biotine	+	+	+
Nicotinamide	+	+	+
Panthothénate	+	+	+
Riboflavine	+	+	+
Thiamine	+	+	-
Pérodaxal	+	+	-
Acide folique	+	+	-
Acides organiques			
Acide acétique	+	?	?
Acide oléique	+	?	S
Acide orotique	?	?	S
Acide formique	?	?	S

+ : Exigence ; **-** : Indépendance ; **S** : Stimulation ; **?** : Non déterminé

7. Rôle et importance des bactéries lactiques

7.1. Rôle dans l'industrie laitière (rôle utile)

De nombreuses espèces microbiennes sont utilisées dans la fabrication des produits laitiers variés : laits fermentés, crèmes, beures et fromages. Ces germes utiles sont à l'origine des modifications des produits et notamment leur qualité organoleptique. En technologie laitière, on s'efforce de choisir les espèces et les souches des bactéries lactiques en fonction de leurs propriétés de telle sorte que celles-ci permettent au mieux les transformations souhaitées et donnent aux produits les caractères physico-chimiques recherchés (Lenoir et *al.*, 1992).

7.1.1. Rôle dans la production des composés d'arômes et de leurs précurseurs

- **Rôle de l'acide lactique dans la coagulation et production de composés d'arômes à partir du lactose.**

Tous les produits laitiers fermentés par les bactéries lactiques présentent un fon laitier « Clean acide odour » du à la présence d'acide lactique.

Le diacétyle et l'acétaldéhyde sont des composés intervenant fortement dans l'arome des produits fermentés. L'acide lactique produit abaisse le pH, une fois le pHi de la caséine atteint, il ya formation d'un gel. Il faut noter que le caillé acide est fortement déminéralisé et que le lactosérum qui on résulte est riche en sels minéraux (Béal et Sodini, 2003).

- **Production d'acétaldéhyde**

L'acétaldéhyde est normalement réduit par le métabolisme chez les bactéries lactiques mésophiles. Donc, il n'en apparait que très peu dans le milieu. Mais, il peut en être autrement chez les bactéries lactiques thermophiles. En effet, les germes du yaourt ne possèdent pas l'alcool déshydrogénase, l'acétaldéhyde intra cellulaire de ses microorganismes ne sera réduit en éthanol mais sera excrété comme produit final.

En culture pure *Lb.bulgaricus* produit plus d'acétaldéhyde que *Sc.thermophilus*, mais en culture mixte les Streptocoques produit de plus grandes quantités de ce composé (Lenoir et *al.*, 1992).

La protéolyse due aux bactéries lactiques va surtout conduire à des peptides courts et à des aminés libres. Ces derniers sont des précurseurs pour de nombreux produits d'arôme. Dans le cas des bactéries lactiques thermophiles utilisés pour la fabrication des fromages à pâte pressée cuite, il a été montré que ce sont elles qui ont un rôle fondamental pour la libération des peptides courts et des acides aminés. Il y a eu effet
Etude bibliographique 3 une corrélation entre l'intensité de la saveur et la proportion de l'azote soluble (Lenoir et *al.*, 1992).

7.1.2. Rôle dans la production des facteurs antimicrobiens

- **Rôle de l'acide lactique et du pH**

Les bactéries lactiques ont un rôle fondamental dans l'inhibition des flores non lactiques des produits laitiers. Deux facteurs principaux parfois difficilement dissociables : le pH et les acides, notamment l'acide lactique. (Piard et Desmazeaud, 1991).

Parmi les bactéries non lactiques, rare, sont celles qui peuvent croître à divers valeurs de pH inférieures à celles obtenus avec les germes lactiques, aussi une bonne acidification lactique entraîne une inhibition de la croissance de *E.coli*, des *Pseudomona*, des *Salmonelle*, et des *Clostridia*.

En général, c'est la flore moléculaire (non dissociée) de l'acide lactique qui est le facteur toxique par les bactéries lactiques. (Lenoir et *al.*, 1992).

- **Composés divers**

Les concentrations d'acétaldéhyde atteignant 25 p.p.m dans les yaourts peuvent avoir des effets inhibiteurs sur *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* ou *E.coli*, car ses germes indésirables voient leur croissance ralentir à partir de 10p.p.m. (Piard et Desmazeaud, 1991).

En présence d'oxygène, les bactéries peuvent produire des peroxydes d'hydrogène, (H₂O₂) qui est toxique pour différentes bactéries. Ce composé par lui même est capable d'endommager les membranes bactériennes, les germes Gram(-) étant les plus

sensibles. De plus, (H₂O₂) peut aussi provoquer des altérations au niveau de l'ADN, notamment chez *E.coli*. (Lenoir et *al.*, 1992).

- **Production des bactériocines**

Les bactéries du yaourt produisent également des bactériocines, substances à caractères bactéricide qui inhibent principalement le développement des bactéries Coliformes et d'autres bactéries indésirables. La production de bactériocines au départ d'acide lactique concerne principalement les Lactobacilles, mais en quantités moindres les Streptocoques. La présence de bactériocines dans l'intestin assurait une certaine protection contre les germes pathogènes et banaux spécifiques et contre les troubles intestinaux qui peuvent leur être liés. (Guyot, 1992).

8. Le genre *Lactobacillus*

8.1. Les propriétés communes au genre

Les espèces de *Lactobacillus* sont caractérisées par des cellules en forme de batonnets souvent groupés en chaînes, une forte exigence en facteurs de croissance : *Lb. delbrueckii* exige de 11 à 15 acides aminés selon les souches, une acidification du lait plus lente qu'avec les streptocoques mais généralement plus intense grâce à une meilleure résistance aux pH acides (jusqu'au pH 3,5) et d'une concentration plus élevée d'acide lactique (au maximum 27g/litre). (Leveau et Bouix, 1993).

8.2. Les subdivisions du genre *Lactobacillus*

Les espèces du genre *Lactobacillus* sont caractérisées par l'hétérogénéité de la composition de leur ADN : le GC% varie de 32 à 53%. Originellement elles ont été classées par Orla-Jensen (1919) : en trois sous genres : *Thermobacterium*, *Streptobacterium* et *Betabacterium* (Leveau et Bouix, 1993).

Ce classement avait été fait suivant des critères de température optimale de croissance et de produits de fermentation des sucres.

Le genre *Lactobacillus* se subdivise en trois sous groupes :

-Groupe I : anciennement appelé *Thermobacterium*. Ces bactéries ont un métabolisme strictement homofermentaire (ni les pentoses ni le gluconate ne sont fermentés). Ces bactéries possèdent une fructose 1-6-disphosphate aldolase et une phosphofructokinase. Elles se développent à 45°C, mais pas à 15°C. (Larrent, 2000).

Il contient 2 complexes d'espèces centrés l'un sur *Lb. delbrueckii* et l'autre sur *Lb. acidophilus*. Les sous-espèces de l'espèce *Lb. delbrueckii* possèdent un ADN homologue à plus de 80% : *Lb. delbrueckii* subsp. *delbrueckii*, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lb. delbrueckii* subsp. *lactis* et *Lb. delbrueckii* subsp. *leichmanii*. Ces bactéries produisent jusqu'à 18g/litre d'acide D(-) lactique ; elles se distinguent entre elles par divers caractères fermentaires.

Le complexe d'espèces *Lb. acidophilus* est au contraire très hétérogène et formé de 3 sous-groupes caractérisés chacun par les espèces suivantes : *Lb. acidophilus* (la souche-type), *Lb. gasseri* et *Lb. helveticus*. L'ADN de l'espèce *Lb. gasseri* hybride peu (25%) avec celui de *Lb. acidophilus*. L'espèce *Lb. helveticus* est considérée comme dérivée de *Lb. acidophilus* par adaptation au lactosérum acide : son ADN hybride faiblement mais constamment avec celui des autres espèces du groupe ; elle est caractérisée par plus forte production d'acide (DL) lactique parmi les *Lactobacillus* : 27g/litre. (Leveau et Bouix, 1993).

-Groupe II : anciennement appelé *Streptobacterium*. Ce groupe comprend des espèces à métabolisme hétérofermentaire facultatif. Les hexoses sont fermentés par la voie d'Ember-Meyerhof en acide lactique, mais les pentoses peuvent être dégradés en empruntant la voie hétérofermentaire avec production d'acide lactique et l'acide acétique par une phosphocétolase inductible. Ces bactéries ont une forte activité fructose 1,6-diphosphate adolase, un glucose 6-phosphate et 6-phosphogluconate déshydrogénase. *Lb. sakei* et *Lb. curvatus* se divisent chacun en 2 sous-groupes (sous espèce *curvatus* et sous-espèce *melibiosus* ; sous-espèce *sakei* et sous-espèce *carneus*). *Lb. casei* est scindé en 4 espèces : *Lb. zaeae*, *Lb. paracasei*, *Lb. casei* et *Lb. rhamnosus*. (Larrent, 2000). Ces bactéries produisent généralement peu d'acide lactique ; de 3 à 13 g/litre, soit de L(+) soit de DL selon les espèces (Tableau III.4). (Leveau et Bouix, 1993).

Groupe III : anciennement appelé *Betabacterium*. Ces espèces ont un métabolisme strictement hétérofermentaire. Il n'y a pas de fructose 1,6-di-P-aldolase, ni de

phosphofructokinase mais elles ont une forte activité glucose-6-P gluconate déshydrogénase. Elles fermentent le gluconate et les pentoses. Elles produisent de l'acide lactique, de l'acide acétique, du CO₂ et de l'éthanol. Ces bactéries possèdent une phosphocétolase mais pas d'aldolase. (Larrent, 2000).

Tableau III-4 : Caractéristiques de quelques espèces de Lactobacilles.

(Leveau et Bouix, 1993).

	Espèce	ADN GC%	Acide lactique	Habitat
I	<i>Lb. delbrueckii</i>	49-51	D	Végétaux
	subsp. <i>delbrueckii</i>	49-51	D	Yaourt, fromage
	<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	49-51	D	Fromage
	<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i>	34-37	DL	Bouche, vagin
	<i>Lb. acidophilus</i>	33-35	DL	Bouche, vagin
	<i>Lb. gasseri</i>	38-40	DL	Fromage
	<i>Lb. helveticus</i>	45-47	L	Rumen
II	<i>Lb. casei</i> subsp. <i>casei</i>	45-47	DL	Fromage,
	<i>Lb. casei</i> subsp. <i>casei</i>	45-47	L	fourrage
	<i>Lb. casei</i> subsp. <i>pseudoplanarum</i>	45-47	L	Bouche, vagin
	<i>Lb. casei</i> subsp. <i>tolerans</i>	42-44	DL	Tractus
	<i>Lb. casei</i> subsp. <i>rhannosus</i>	42-44	L	intestinal
	<i>Lb. sake, L.b curvatus</i>	44-46	DL	Végétaux
	<i>Lb. bavaricus</i>	44-46	DL	Végétaux,
III	<i>Lb. plantarum</i>	45-47	DL	fromage
	<i>Lb. bifementans</i>	44-46	DL	
	<i>Lb. brevis</i>	40-42	DL	Fromage
	<i>Lb. buchneri</i>	40-42	DL	Végétaux,
	<i>Lb. kefir</i>	52-54	DL	fromage
		45-47	D	Végétaux,

8.3. Habitat

Les Lactobacilles, de par leur variété, sont présents dans des milieux très différents. Les espèces mésophiles- *Lb.casie* subsp. *casei* , *Lb. plantarum* , *Lb. curvatus*, *Lb. brevis*- sont caractérisées par un large spectre de fermentation et sont présentes dans le lait et dans des fromages comme le cheddar, dans les laits fermentés : le Kéfir (*Lb. brevis*, *Lb. kefir*, *Lb. fermentum*, *Lb. curvatus*) , dans le vin (*Lb. brevis*, *Lb.buchneri*) , la bière (*Lb. malefermentans*) , le cidre, dans les produits de panification : *Lb. sanfrancisco*, dans viandes fraîches ou fermentés les saucissons : *Lb. sake* et dans le tube digestif de l'homme et des animaux (*Lb.acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. fermentum*, *Lb. reuteri*, etc). la présence des thermophiles à spectre étroit de fermentation est plus limitée, dans les laits fermentés (*Lb. delbrickii* subsp. *bulgaricus* dans le yaourt ; *Lb. acidophilus* dans les laits à acidophilus) et dans certains fromages fabriqués à une température supérieure à 40°C comme le parmesan (*Lb. helveticus*, *Lb.delbrueckii* subsp. *lactis*, *Lb. delbrueckii* subsp *bulgaricus*) et l'Emmental. (Leveau et Bouix, 1993).

8.4. *Lactobacillus bulgaricus*

Cette espèce se présente sous forme de court bâtonnets lorsque la culture est jeune et elle présente des ramifications lorsqu'il s'agit d'une en culture âgée. *Lb. bulgaricus* présente de granules métachromatiques colorées en bleu de méthylène (Larpent, 1989).

C'est un *Thermobacterium* qui ne se développe pas à 15°C mais croit à 45°C. Sa température optimale de croissance est de 41°C. (Warwich,2000). Cette bactérie est thermorésistante (60°C/ 90mn et 65°C/30mn). (Terre, 1986).

Lb. bulgaricus est Gram positive, catalase négative, homofermentaire. Elle présente une bonne croissance dans un milieu à pH compris entre 4,5 et 6,4 (Larpent et coll., 1996 ; Zourari et al., 1992). Elle produit exclusivement de l'isomère D de l'acide lactique, ne produit pas de gaz à partir du glucose (Accolas, 1986).

Lb. bulgaricus peut dégrader le lactose, le glucose et le galactose mais n'attaque ni les pentoses, ni le saccharose, il est dépendant du lait (F.A.O, 2002).

Le pourcentage en GC, varie de 49 à 51%, le pont peptidique est de type lys-D-asp (Luquet, 1986 ; Novel, 1993). Le dénombrement des *Lb. bulgaricus* doit effectuer sur milieu MRS, l'incubation dans ce cas est faite en anaérobiose à 37°C pendant 48-72 heures (Bourgeois et Leveau, 1991).

Chapitre IV : L'acide lactique

1. Généralités sur l'acide lactique

L'acide 2-Hydroxy-propanoïque ou l'acide lactique est élément principal de tous les produits laitiers acidifiés auxquels il donne leurs caractéristiques fondamentales. C'est un produit naturel non toxique. Il fut identifié en 1847 par Blondeau comme produit de la fermentation bactérienne et mis en évidence pour la première fois dans le lait par Scheele en 1870. C'est en 1881 que sa production industrielle commence aux USA. En 1894, la production, essentiellement destinée aux industries du cuir et du textile atteint 5 tonnes/an (Vick Roy, 1985). Chaque année, environ 50 000 à 80 000 tonnes d'acide lactique sont produites à travers le monde dont 90% sont réalisées à partir de fermentation microbienne.

2. Propriétés physicochimique de l'acide lactique

L'acide lactique existe sous formes D ou L. Ces deux isomères sont caractérisés par des positions différentes des atomes dans l'espace (voir la figure IV-1). Les bactéries lactiques produisent l'un ou l'autre de ces isomères, par fois les deux à la fois, tout dépend de leur contenu en lactate déshydrogénase (LDH). L'activité de cette enzyme est spécifique : L(+) LDH et D(-) LDH, car chacune d'eux n'engendre qu'une seule forme (Pelmout, 1993).



Figure IV-1 : Acide lactique forme L et D (source : Djidel, 2007)

L'acide lactique est soluble dans l'eau, incolore et très peu volatil. En solution à 20% ou plus, il peut se produire une auto-estérification due à la

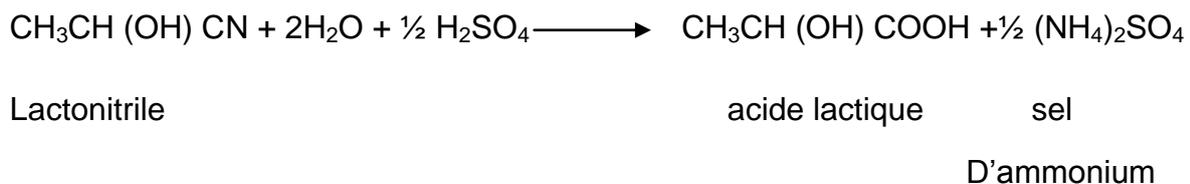
Présence des groupements hydroxyle et carboxyle dans la molécule d'acide lactique. Le lactate forme un dimère cyclique appelé lactide ou des polymères linéaires de forme générale $H [OH(CH_3) CO]_n OH$.

Dans l'appréciation du rôle physiologique et de la physiologie de la nutrition de l'acide lactique dans l'organisme il est nécessaire de distinguer entre les formes L(+) et D(-) de cet acide. Il faut couramment admis que la forme L(+) est plus rapidement métabolisée que la forme D(-) (Alma, 1982). Aussi il est souvent attribué à l'acide L(+) des qualités nutritionnelles supérieures.

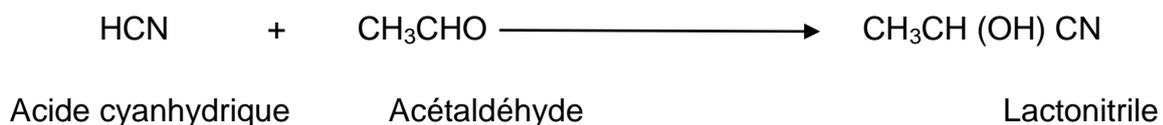
3. Production de l'acide lactique

3.1. La voie chimique

La méthode principale de préparation synthétique est basée sur l'hydrolyse du Lactonitrile par l'acide chlorhydrique ou l'acide sulfurique. (Narayanan, 2004):



Le lactonitrile est obtenu par la réaction entre l'acétaldéhyde et l'acide cyanhydrique.



La production d'acide lactique par voie chimique présente l'intérêt d'utiliser des co-produits de l'industrie chimique, mais surtout de produire de l'acide lactique thermostable d'une haute pureté et incolore.

3.2. La voie enzymatique

Deux types d'enzyme sont obtenue par fermentation de *Pseudomonas* :La L et LA DL2-halo acide dehalogenase (Motosugi et al.,1982a et 1982 b).Elles catalysent la dehalogénéation de l'acide 2-halo-propionique comme l'acide 2-chloropropionique avec inversion de la configuration C₂.(Motosugi et al.,1984 ;Liu et al.,1995 ;Nardi-Dei et al.,1997).

Les réactions catalysées par ces enzymes sont les suivants :



L-2-halo acide dehalogenase



DL-2-halo acide dehalogenase

La L-2- halo acide dehalogenase agit sur l'isomère L de l'acide chloropropionique alors que la DL-2-halo acide dehalogenase catalyse la dehalogénéation des deux énantiomères de l'acide chloropropionique.

3.3. La voie fermentaire

Ces dernières années montrent un tournant décisif dans la production d'acide lactique au niveau mondial. L'acide lactique est presque exclusivement produit par fermentation. Les microorganismes généralement utilisés pour sa production sont variés, mais ce sont les lactobacilles qui sont les plus fréquemment utilisés.

-Microorganismes producteurs d'acide lactique

Un nombre très important de genres et d'espèces bactériennes et même quelques moisissures transforment des carbohydrates en acide lactique.

❖ Les bactéries lactiques

Depuis la fin du dernier siècle, les progrès se sont considérablement accélérés, aussi bien dans la connaissance des microorganismes responsables de la fermentation lactique que pour la mise en point de méthode de sélection des souches sur des critères d'activité et de résistance. La place importante des bactéries lactiques réside dans leur capacité à fermenter rapidement les sucres en acide lactique. Les bactéries lactiques homofermentaires comprenant des espèces de streptocoques, entérocoques, lactocoques et lactobacilles convertissent presque quantitativement le glucose en acide lactique (90 à 95%).

Le rôle principal des bactéries lactiques est la production par fermentation d'acide lactique et d'autres composés organiques à partir des sucres, produits qui influencent la texture, le goût et la qualité microbiologique des aliments (Singh et al., 2006 ; Devos et Hugenholtz, 2004 ; Caplice et Fitzgerald, 1999). Les propriétés technologiques apportées par ces bactéries sont nombreuses et variées, parmi elles, l'activité acidifiante est un critère de sélection de première importance, mais à cause de leur faible aptitude à la biosynthèse, elles sont considérées comme un des groupes les plus exigeants au point de vue nutritionnel.

❖ **Les cultures mixtes**

Il est assez rare que l'on utilise pour la fabrication des produits laitiers une seule souche de bactérie lactique. En règle générale, on associe plusieurs souches, voir plusieurs espèces et genre bactériens. L'association qui a été la plus étudiée est celle du yaourt, constituée de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* (Juillard et al., 1987, Zouari et Desmazeaud, 1991 ; Beal et Corrieu, 1994). Dans un mélange de deux souches, c'est celle dont le taux de croissance est le plus rapide qui devient dominante (Juillard et al., 1987).

Le rôle prépondérant joué par les cultures mixtes dans la production d'acide lactique a justifié que leur soit consacrée une attention particulière. Cependant ce système n'est pas encore utilisé à l'échelle industrielle à cause des difficultés rencontrées au cours de l'optimisation des conditions de cultures pour chaque souche, tels que le pH, la température, la demande en oxygène et la composition du milieu de culture.

4. Utilisation et intérêt d'acide lactique

L'acide lactique est largement utilisé par les industries, il trouve ses diverses applications dans les industries chimiques, alimentaires et pharmaceutiques (Boudjelal et Nancib, 2001).

❖ C'est le secteur alimentaire qui est le plus gros consommateur de lactate (Tableau IV.1). Ce dernier est employé comme conservateur pour les saumures, les produits laitiers, les viandes et le pain, mais aussi comme acidulant pour les bières, les vins et les sucreries. Le lactate de calcium est un bon stabilisant et épaississant. Le lactate ferreux est utilisé comme source de fer pour la supplémentation des

laits maternisés. Enfin le lactate de potassium et d'ammonium sont connus pour être de très bons humectant, exhausteurs de goût et émulsifiants. (Djidel, 2007).

❖ L'acide lactique aide à déstabiliser les micelles de caséine et la formation de gel résulte de la coagulation et modifié la texture du produit(le yaourt). Elle va également influée sur la saveur des laits fermentés (Luquet et Corrieu, 2005). En plus de son impact organoleptique, l'acide lactique par son action sur la diminution du pH, a un rôle protecteur contre d'éventuelles contaminations par des germes indésirables (flores d'altération ou pathogènes). Le caractère acide va autoriser un allongement significatif de sa durée de conservation. (Béal et Sodini, 2003 et Luquet et Corrieu, 2005).

❖ Dans l'industrie pharmaceutique, il est utilisée sous sa forme ester optiquement active pour la synthèse de molécule chirale. Le lactate de sodium est utilisé comme solution de dialyse rénale et le lactate de calcium et celui de magnésium pour le traitement des déficiences en ces minéraux (Djidel, 2007).

❖ Au niveau cosmétique, l'acide lactique est utilisé dans les produits capillaires pour améliorer la texture des cheveux, dans les dentifrices comme agent détartrant et dans les lotions contre l'acné. (Djidel, 2007).

Tableau IV.1 : Les applications les plus courantes de l'acide lactique
Et ses sels (source : Djidel, 2007)

Acide Lactique CH₃CHOHCOOH

Industrie alimentaire	Industrie chimique	Industrie pharmaceutique	Industrie cosmétique	Matière chimique
-acidulant -agent antimicrobien -exhausteur de gout -contrôleur de pH -fortification minérale	-agent détartrage -contrôleur de pH -neutralisant -agent de nettoyage -agent de verdissement	-solution de dialyse -préparation minérale -encapsulation (comprimés) -implants biodégradable -contrôle de la libération de médicament	-hydratant -agent d'éclaircissement de peau -agent anti-acné -agent-tartre	-oxyde de propylène -acétaldéhyde -acide propénoïque -dilactide -poly (acide lactique)

Chapitre V : matériel et méthode

1. Matériel végétal

1.1. Choix de la variété

La variété de datte retenue dans cette présente étude est *Degla-Beida* qui est de consistance sèche et très répandue dans les palmeraies du sud algérien (voir photo de la figure V-1). Elle constitue environ 37% de la production nationale occupant la deuxième place après *Deglet-Nour* 53.9%(Anonyme ,2002). De faible valeur marchande cette variété n'est pas beaucoup appréciée par les consommateurs malgré sa richesse en sucres, en minéraux et en vitamines, du groupe B particulièrement. Sa faible teneur en eau (15% environ) favorise sa conservation (Chibane, 2008).

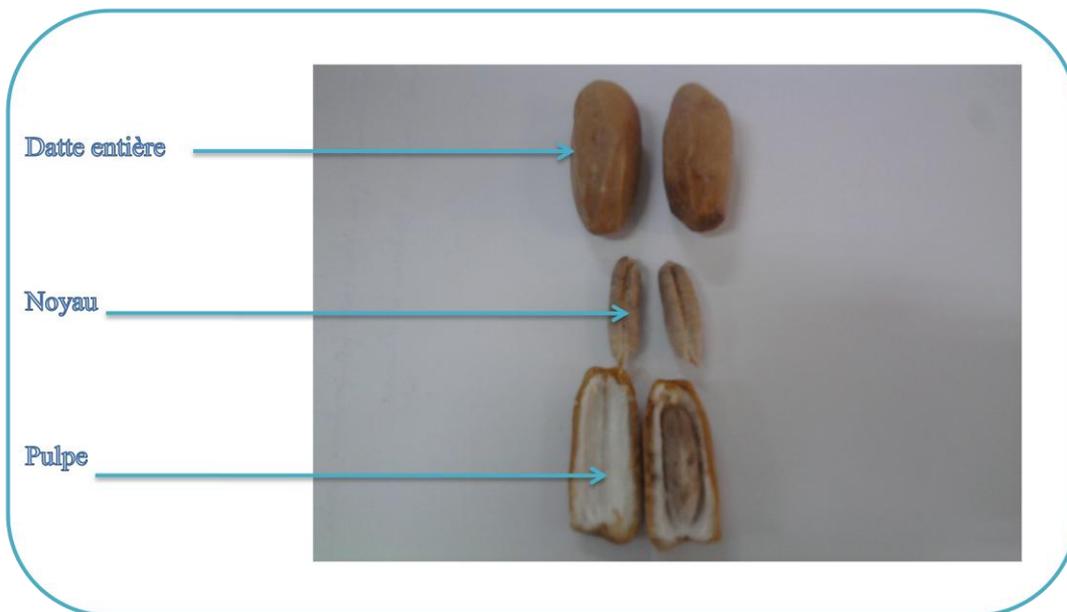


Figure V.1 : Degla-Beida et ses tissus constitutifs (photos originale).

1.2. Obtention et conservation des échantillons

Les dattes analysées (*Degla-Beida*) sont achetées le mois de Mars 2012. Elle est originaire de Sidi Oukba wilaya de Biskra. Ces dattes ont été récoltées au stade de maturité « Tamar ».

Afin de sauvegarder la qualité initiale des dattes nous avons écartés les dattes infestées par un tirage avant de les conditionner dans un sac en plastique et de les entreposer dans un réfrigérateur à 4°C.

2. Matériel biologique

• les bactéries lactiques utilisées

Le ferment lactique utilisé est représenté par *Lactobacillus bulgaricus* à l'état lyophilisé.

3. Méthodes d'analyses

3.1. Analyses morphologique de la datte entière et de ses deux tissus

Les analyses qui suivent ont été réalisées sur 10 dattes.

- La couleur a été appréciée visuellement.
- La consistance : au toucher.
- La démentation qui a été déterminé :

-Rapport Longueur / Largeur = Longueur de datte(CM) /Largeur de datte (CM)

- Le poids (pulpe entière, ses deux tissus constitutifs ainsi que le noyau) est déterminé à l'aide d'une balance analytique de type : (+/- 0,0001) et les indices suivants ont été déterminés :

-Rapport pulpe/datte (%)=Poids de pulpe (g) /Poids de datte (g)

-Rapport noyau/datte (%)=Poids de noyau (g) /Poids de datte (g)

-Rapport tissu jaune/pulpe (%)= Poids de tissu jaune(g) /Poids de datte (g)

-Rapport tissu blanc/pulpe (%)= Poids de tissu blanc (g) /Poids de datte (g)

-Rapport pulpe/ noyau (%)= Poids de pulpe (g) /Poids de noyau(g)

3.2. Caractérisation physicochimique de jus de datte (Degla-Beida)

- Toute les analyses sont effectuée au niveau de l'institut National spécialisé de formation professionnelle en industrie agro-alimentaire de Blida. seule la conductivité, dosage des protéines sont effectués au niveau des laboratoires de chimie, de zootechnie de l'université Saad Dahlab de Blida.

-Préparation du jus de datte

Selon Boudjelal et *al*, 2001 ; pour obtenir un extrait de datte (jus) variété sèche : « Degla-Beida », nous devons passer par les étapes suivantes (figure V.2) :

- La pulpe de dattes sont soigneusement lavées et dénoyautées ;
- 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 cellulosesques ;
- pasteurisation de l'extrait de datte par l'autoclave à 80°C pendant 10 mn (Espiard, 2002)
- En suite peuvent être effectués les analyses sur l'extrait obtenu.



Figure V.2: l'extrait de datte variété sèche (Dagla-Beida) (photos originale).

3.2.1. Détermination de la teneur en eau

La teneur en eau est déterminée sur 10 ml de jus de datte séché dans une étuve à une température de 105°C durant 18 h selon la méthode décrite par (Acourene et Tama, 2001).

Mode opératoire

- ◆ Sécher des capsules vides à l'étuve durant 15 mn à 105°C;
- ◆ Tarer les capsules après refroidissement dans un dessiccateur ;
- ◆ Peser dans chaque capsule l'échantillon, et les placer dans l'étuve réglée à 105°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.
 - **Expression des résultats :**

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

Soit :

H% : Teneur en eau ou humidité ;

Mi : Masse initiale « avant dessiccation » « Matière fraîche+capsule » ;

Mf : Masse finale « après dessiccation » « Matière sèche+capsule » ;

P: Masse de la prise d'essai.

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

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

2.3.2. Détermination de PH (NF V05-108,1970)

Principe

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

- **Mode opératoire :**

- Étalonnage 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.

2.3.3. Détermination de la conductivité électrique

Principe

La conductivité peut être déterminée à l'aide d'un instrument, c'est une mesure de courant conduit par les ions présents dans le produit à analyser.

- **Mode opératoire**

La mesure de la conductivité se fait par un conductimètre étalonné par la solution tampon, après rinçage de l'électrode par l'eau distillée, on la plonge dans le récipient contenant l'eau à analyser, et sous une faible agitation on fait la lecture. Les résultats sont donnés en $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$.

2.3.4. Détermination de la densité relative à 20°C (Gachot, 1955)

La densité est en relation directe avec la consistance des jus. La mesure de la densité se fait à l'aide d'un densitomètre plonge directement dans le liquide à une température de 20°C.

- **Mode opératoire :**

- Verser l'échantillon dans une éprouvette et le laisser se stabiliser.

-Introduire le densitomètre soigneusement sans toucher les parois.

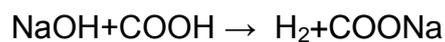
-La graduation donne directement la densité à 20°C.

2.3.5. Détermination de l'acidité titrable totale : NF (V05-101,1974)

Les milieux biologiques sont généralement des milieux complexes contenant en particulier de nombreux composés à caractère acide et de nombreux composés à caractère alcalin.

L'acidité totale d'une boisson est la somme des acidités titrables existant dans cette dernière. Elle correspond à la somme des acides organiques : citrique, malique et tartrique.

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.



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

$$\boxed{[250/25] \times [V_1/10] \times [100/V_0] = 100 \times [V_1/V_0]}$$

V_0 : volume de la prise d'essai en ml

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

Il est possible d'exprimer conventionnellement l'acidité titrable en gramme d'acidité par 100g ou 100ml de produit, en multipliant par le facteur correspondant à l'acidité (tableau I).

Tableau I : Facteurs correspondant à chaque acide organique (Anonyme, 1986).

Acide	Facteurs
Acide malique	0,067
Acide oxalique	0,045
Acide citrique	0,070
Acide tartrique	0,075

Acide sulfonique	0,049
Acide acétique	0,060
Acide lactique	0,090

- **Mode opératoire :**

-Prélever une partie de l'échantillon préalablement homogénéisé et la filtrer à travers papier filtre.

- Prélever 250 ml, compléter jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distille, récemment bouillée et refroidie, puis homogénéiser 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 (0.1 N) jusqu'à l'obtention d'une couleur rose persistant pendant 35s.

-Noter le volume V_1 de NaOH.

-Effectuer deux déterminations sur même échantillon.

2.3.6. Dosage des sucres totaux et sucres réducteurs

- Réactifs :

-Solution de Fehling I ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)

-Solution de Fehling II ($\text{CaO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)

-Solution de soude 10 N

-Solution d'HCL concentré

-Solution de phénol phtaléine (dissoudre 1g de phénol phtaléine dans 100ml d'éthanol)

-Bleu de méthylène (dissoudre 1 g de Bleu de méthylène dans 100ml d'alcool secondaire)

-Solution d'acétate de plomb (dissoudre l'acétate de plomb jusqu'à saturation)

- **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 petites quantités jusqu'au trait de jauge, puis on filtre le mélange.

- **Dosage des sucres réducteurs**

-Prélever dans 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 disparition de la tinte bleue.

-Ajouter 2 gouttes de bleu de méthylène et continuer la titration jusqu'à ce que la coloration bleue soit remplacée par une coloration rouge brique, à ce moment là, arrêter le titrage et noter le volume de filtrat dépensé soit V_1 .

- **Dosage des sucres totaux**

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

-Porter le mélange au bain marie jusqu'à 70°C pendant 5 minutes.

-Neutralisation avec NaOH (10N)/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 bleue.

-Ajouter 2 gouttes de bleu de méthylène et continuer la titration jusqu'à ce que la coloration bleue soit remplacée par une coloration marron cuivrée, à ce moment arrêter la titration et noter le volume de filtrat dépensé soit V_2 .

- Expression des résultats :

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

$$S_{r=} [240/V (V_1-0.05)] \times 10$$

V : Volume de la prise d`essai

V₁ : Volume du filtrat 1

-**sucres totaux** :(S_t= B g/l)

$$S_{t=} [500/V (V_2-0.05)] \times 10$$

V : Volume de la prise d`essai

V₂: Volume de filtrat 2

-**Saccharose** : S=g/l

$$S_{=} (B-A) \times 0.9$$

2.3.7. Détermination de la teneur en cendre (NF V05-113,1972)

Principe

Le dosage des cendre est base sur la destruction de tout matière organique sous l`effet de la température élevée (500°C) (Linden, 1981).

- **Mode opératoire**

- Peser 2ml de matière sèche dans une capsule préalablement tarée ;
- Faire passer la capsule au four a température de 500°C pendant 5 heures ;
- Apres refroidissement retirer la capsule.

Expression des résultats

$$MO\% = \frac{M_i - M_f}{p} \times 10$$

Soit :

MO% : Teneur en matière organique ;

Mi : Masse initiale « avant incinération » « matière sèche +capsule » ;

Mf : Masse finale « après incinération » « cendre +capsule » ;

p : Masse de prise d`essai.

La teneur en cendre est égale a : $\% \text{ Cendre} = 100\% - \text{MO}\%$

2.3.8. Détermination de la teneur en protéine 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.

Le sulfate d`ammonium obtenu est distillé sous forme d`ammoniac et dosé après déplacement, en milieu alcalin (Lecoq, 1965).

o Mode opératoire

-Introduire dans un matras de minéralisation 15 ml de jus de dattes, ajouter une pince de sulfate de cuivre et de potassium comme catalyseur ;

-Ajouter 15 ml d`acide sulfurique pur ;

-Après une attaque à froid pendant 15 mn jusqu`à l`apparition de vapeurs blanches d`anhydride sulfurique : porter dans un minéralisateur à une température de 420°C pendant 4 à 5 h ;

-quand la solution devient limpide, elle est refroidie puis complétée à 100 ml avec l`eau distillée ;

- La distillation se fait dans un distillateur automatique VELP ou l`ajout de 20 ml de lessive 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

-Le dégagement d`ammoniac est capté par la solution d`acide borique contenant l`indicateur coloré (mélange de bleu de méthylène et rouge de méthylène).

-L`exces d`ammoniac est titre par une solution d`acide sulfurique a 0.05 N dans un titrateur automatique jusqu`a apparition du virage.

➤ Expression des résultats :

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

$$N\% = \frac{\frac{V}{V'} \times (N - N') \times 0.05 \times 1.4}{P} = \frac{\frac{V}{V'} \times (N - N') \times 0.07}{P}$$

Soit :

V : Solution minéralisée et complétée a 100 ml ;

V' : Solution de la soude ajoutée (20 ml) ;

N : La quantité d`acide sulfurique lue après titration ;

0.05 : Normalité d`acide sulfurique ;

P : Poids de la prise d`essai (1 g).

3.3. Analyses microbiologiques

3.3.1. Préparation de la suspension 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 laide 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 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.

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

❖ But :

Le dénombrement de la flore totale, reste la meilleure méthode permettant d'estimer l'indice de la salubrité et de la qualité des aliments dans le contrôle industriel. Un aliment dont la flore totale est trop élevée montrera de mauvaises conditions de conservation et sera considéré comme impropre à la consommation. (Bourgeois et Leveau, 1991).

❖ 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).

❖ Technique :

-A partir des dilutions décimales allant de 10^{-3} à 10^{-1} , on procède à un ensemencement en profondeur, en ajoutant aseptiquement 1ml dans des boîtes de 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 boites 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).

3.3.3. Recherche des Coliformes par comptage des colonies

❖ **Définition**

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 biliée, au cristal violet et au rouge neutre lorsque l'essai est effectuée selon la méthode spécifiée.

Rappelons les colonies sont généralement des bacilles à Gram- aérobies ou anaérobies facultatifs non sporulés, ne possédant pas d'oxydase, capables de se multiplier en présence de sels biliaires et capables de fermenter le lactose avec production d'acide et de gaz en 24 à 48 heures à une température comprise entre 36 et 37°C.

❖ **Mode opératoire**

-A partir des dilutions retenues, transférer 1ml de la solution mère dans la boite de pétri préalablement préparée et 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 boite à pétri.

-Dans les même conditions et de la même manière, on transfère 1ml de la troisième dilution décimale dans la boite 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 solidifier sur la paillasse fraîche et horizontale.

-On retourne les boîtes à pétri ainsi préparées puis on les incube selon accord à 30, 35 ou 37°C pendant 24 heures ± 2 heures.

❖ **Lecture et interprétation**

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

On peut également compter toutes les colonies de deux dilutions successives présentant entre 15 et 150 colonies par boîtes et appliquées la formule suivante :

$$N = \frac{\sum C}{1,1 \times d}$$

Ou $\sum C$: somme des colonies comptées dans deux boîtes de dilutions successives

d : valeur de la 1^{ère} dilution retenue parmi les deux boîtes.

3.3.4. Recherche et dénombrement des Levures et Moisissures (NF ISO 1954).

❖ **But**

La recherche et le dénombrement des levures et moisissures sont réalisés pour deux causes :

- Leur aptitude à provoquer des altérations d'ordre organoleptique et commerciale du produit.
- Les propriétés qu'ont certaines moisissures à produire des mycotoxines notamment (les aflatoxines), pouvant nuire la santé du consommateur (Guiraud, 1998).

❖ **Principe**

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

❖ Technique

-On transfère 1ml de chaque dilution dans des boites stériles, aux quelles, on ajoute de la gélose OGA préalablement fondue et refroidie à 45°C.

-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.

3.3.5. Recherche des *Staphylococcus aureus* (NF.V08-057 Nov 1994).

❖ But

La recherche et le dénombrement des colonies des Staphylocoques à coagulase positive, parmi les quels se recontrent les souches Entérotoxinogènes, il s'agit principalement de *Staphylococcus aureus*, capable de produire des entérotoxines protéiques cause d'intoxications alimentaires (**Guiraud, 1998**).

❖ Principe

Les staphylocoques à coagulase positive sont des bactéries qui forment des colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques, en aérobiose qu'en anaérobiose (Bourgeois et *al.*, 1996).

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 revivification 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).

Technique

○ **Méthode d'enrichissement en milieu Giolitti Cantoni**

-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 chacun de la dilution 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.

❖ **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 24h 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.

3.3.6. Recherche des spores de Clostridium Sulfito-réducteurs (NFV08-056Avril.1994).

❖ Principe

Les clostridiiums 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'H₂S, qui réagit avec les sels de fer pour former un précipite de sulfure de fer, noir, insoluble qui se dépose autour des colonies et permet ainsi de caractériser. Le dénombrement des clostridiiums sulfito-réducteurs a lieu en milieu gélose Viande-Foie « VF », additionne d'alun de fer et sulfite de sodium ensemence avec des dilutions différentes (Piard et Desmazend, 1991).

❖ Technique

▪ Préparation du milieu

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

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

▪ Ensemencement

Les tubes contenant les dilutions 10⁻³ a 10⁻¹ seront soumise d'abord a un chauffage a 80°C pendant 10minutes. Puis a un refroidissement immédiat sous l'eau de robinet, dans le ut d'éliminer les formes végétatives et de garder uniquement les formes sporulées.

À partir de ces dilutions 10⁻³ a 10⁻¹, porter aseptiquement 1ml de chaque dilution en double dans de tubes stériles, puis ajouter environ 15ml 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 24h ou au plus tard 48h.

❖ **Lecture**

Après incubation, on compte les colonies noires de Clostridium sulfite-réducteurs.

Les résultats sont exprimés en nombre de spores par ml.

3.3.7. 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).

❖ **Technique**

- **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 1ml 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 l'objet d'un repiquage sur 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.

3.3.8. 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 Desmazend, 1991).

- ❖ **Technique**

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 :** Destiné à détoxifier les cellules microbiennes, qui ont pu souffrir au contact des inhibiteurs du produits en cause exemple pH, aw..., de façon à faciliter la culture en bouillon d'enrichissement. Cette étape consiste à préparer la suspension mère qu'est un rapport entre : 25ml et 225ml du produits à analyser (jus de datte) et le diluant(TSE).

On mélange bien le flacon et on l'incube à 37°C pendant 18 à 24 h.

- **2^{eme} étape : Enrichissement primaire** Consiste à porter 10ml de milieu de pré-enrichissement dans un bouillon SFB, reparti à raison de 100ml par flacon qui sera incube 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 ensemence et incube la veille fera l'objet :

-d'un second enrichissement qui consiste à ensemencer 0,1ml dans un 10 ml du bouillon « SFB ».

-d'un isolement sur « gélose Hektoen »

Incubation est réalisée à 37°C pendant 24 h.

- **4^{ème} étape : Isolement** A 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 colonies grises bleues ou vertes avec un centre noir.

4. Isolement des bactéries lactiques du ferment lyophilisé

On met 1 g du ferment lyophilisé thermophile dans 9 ml de bouillon nutritif, ce qui représente la dilution décimale 10^{-1} , on réalise des dilutions jusqu'à 10^{-7} , puis on ensemence en profondeur en double couche sur gélose MRS pour l'isolement des *Lactobacillus Bulgaricus*.

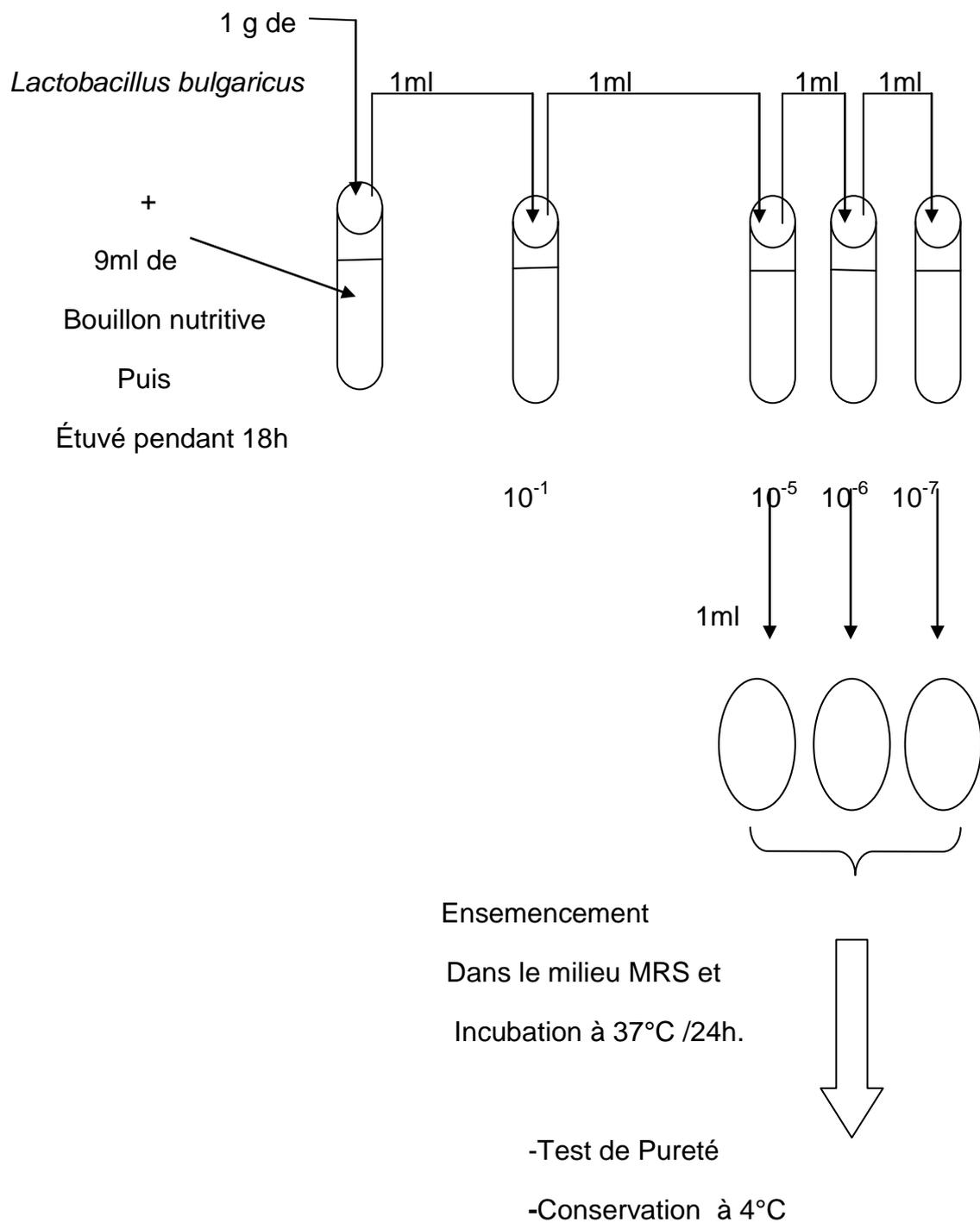


Figure V.4 : Isolement et purification de *Lactobacillus bulgaricus*

3.4. Suivi du pouvoir acidifiant des bactéries lactique et la cinétique de croissance bactérienne tout les 100 mn d'incubation

- la préparation de l'inoculum se fait par preculture on utilisant le jus de datte. ce dernier est reparti dans 6 tubes a raison de 1ml par tube, puis ensemence a l'aide de deux colonies (grandes et bien distincts) de la souche *Lactobacillus bulgaricus*, les tubes ensemence sont incubes a 37°C pendant 18 h.
- On prélève 1ml de la preculture 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 100 mn on prélève un tube, servir à suivre l'acidification du milieu par la mesure de l'acidité titrable et les variations du PH (PH-mètre de type HANNA).



Figure V.3 : photographie d'un PH-mètre de type HANNA.

(Photo originale)

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

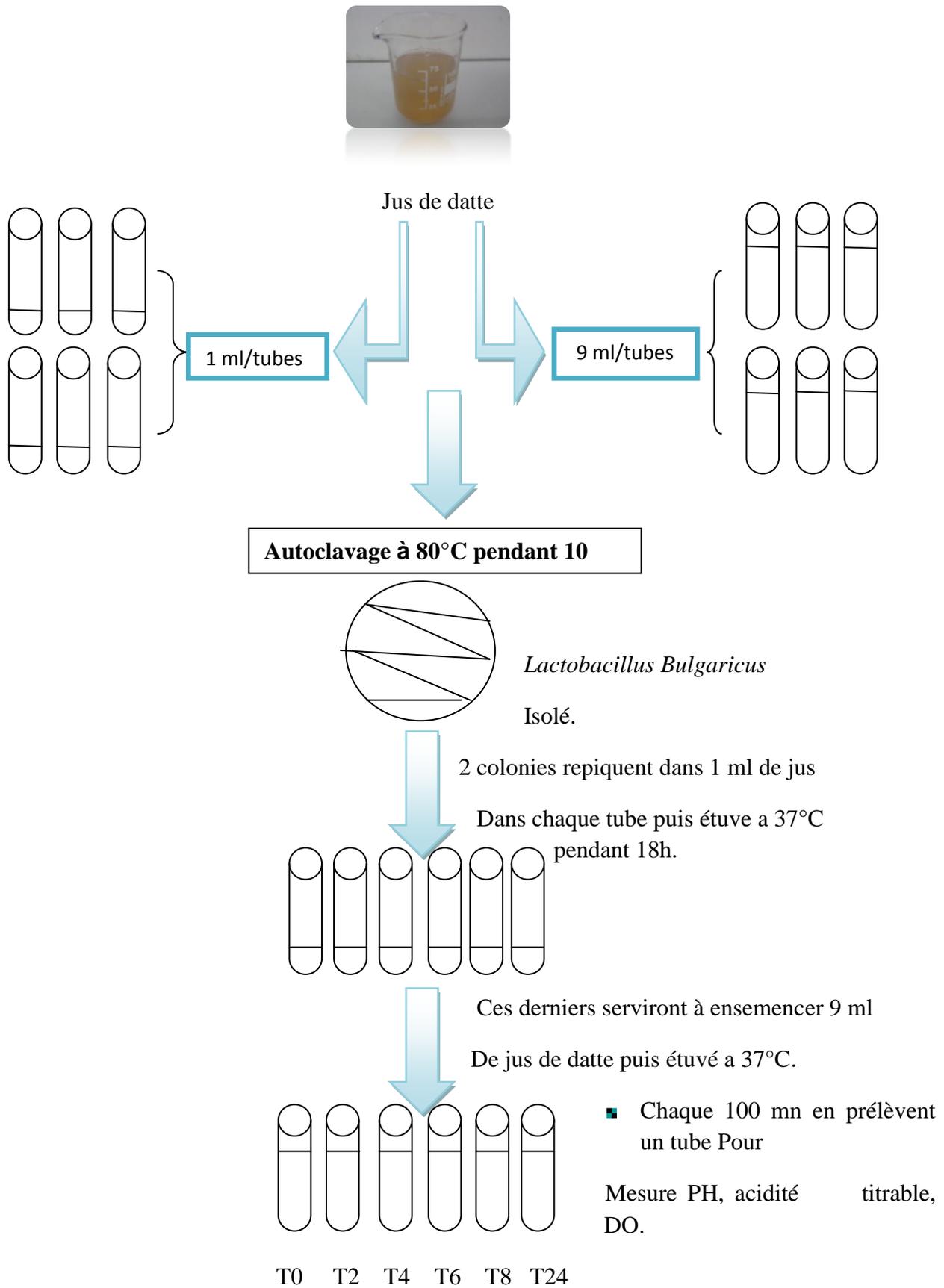


Figure V.5 : Suivi du pouvoir acidifiant des bactéries lactique et la cinétique de croissance bactérienne tout les 100 mn d'incubation.

Chapitre VI: Résultats et discussions

1. Caractéristique morphologique de la datte entière (Degla-Beida)

Les caractéristique morphologique sont réalisées sur 10 fruits de la datte étudiée sont présentées dans le tableau VI.1.

Tableau VI.1 : Les caractéristiques morphologiques de la datte étudiée (Degla-Beida).

Couleur	Jaune pale vire au blanc
Consistance	Sèche
Poids de la datte entière (g)	6,35
Poids de la pulpe(g)	5,08
Poids de noyau(g)	1,27
Poids de tissus externe de la pulpe (jaune)	3,45
Poids de tissus interne de la pulpe (blanc)	1,63
Longueur de la datte (cm)	3,72
Longueur du noyau (cm)	2,38
Largeur (diamètre) de la datte entière (cm)	1,81
Largeur (diamètre) noyau (cm)	0,82
Rapport pulpe /datte (%)	80
Rapport noyau/datte (%)	20
Rapport tissus jaune/pulpe (%)	67,91
Rapport tissus blanc/pulpe (%)	32,08
Rapport pulpe/noyau (%)	3,70
Rapport longueur/largeur (%)	2,05

Le tableau VI.1 ressort que la couleur de Degla-Beida varier du Jaune pale au blanc présentant par fois des zones brunes sur sa surface et d'une consistance sèche. La variété Degla-Beida présente une masse en datte et en pulpe varie entre (6,35 g) et (5,08 g) respectivement. La longueur et la largeur sont varie entre 3,65 et 1,78 cm respectivement.

Les résultats obtenus pour tous les indices, sont légèrement supérieures à ceux trouvés par Boukhair (2009). Ce qui peut s'expliquer par les conditions dans lesquelles sont réalisées les mesures sachant que l'instabilité de la teneur en eau du produit et donc sa structure et les zones géographiques de récolte.

Selon Meligi et Saurial. (1982) ; Mohamed et *al.* (1983) ; Acourene et *al.* (2001), une datte est dite de qualité physique acceptable quand :

- ◆ Le poids de la datte entière est supérieur ou égale à 6 g ;
- ◆ Le poids de la datte entière (pulpe) est supérieur ou égale à 5 g ;
- ◆ La longueur est supérieur ou égale à 3,5 cm ;
- ◆ Le diamètre est supérieur ou égale à 1,5 cm.

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

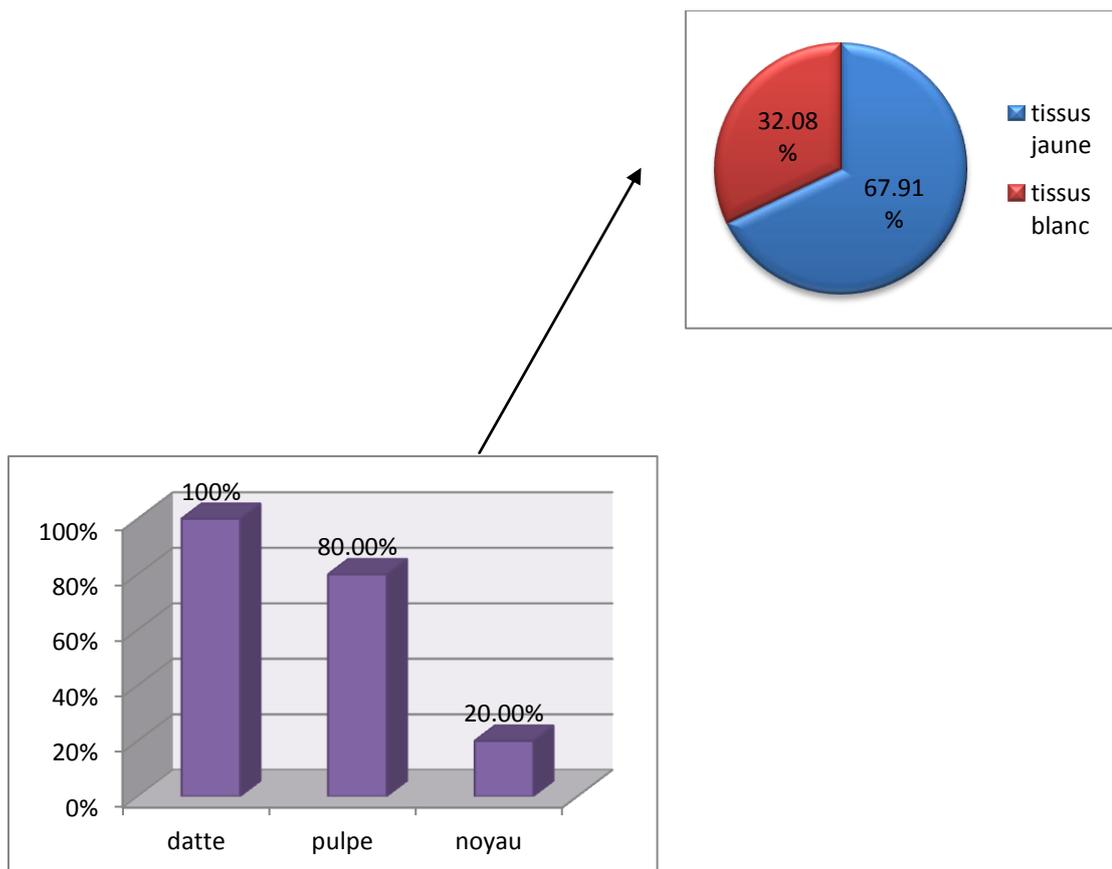


Figure IV.1 : Pourcentage de la pulpe, de ses deux tissus constitutifs et du noyau dans la datte entière.

La proportion en poids frais moyen des deux tissus dans une datte Degla-Beida est de 67,91% pour le tissu jaune et 32,08% pour le tissu blanc. Donc le tissu jaune est la partie qui prédomine dans la pulpe de la datte analysée. Ce résultat est contradictoire avec celui trouvé par Noui(2007) sur Mech-Degla pour la quelle la proportion des deux tissus brun et blanc sont respectivement 42,16% et 57,84%.

La proportion du noyau constitue une caractéristique variétal : une donnée d'appréciation des qualités commerciales et un critère de sélection pour les prospecteurs (Gille, 2000).

Le rapport Pulpe/Noyau de la datte étudiée est de 3,70%. Ce rapport se trouve dans l'intervalle des valeurs trouvées par Chibane et *al.* (2007) et Acourene et Tama(1997) qui sont respectivement de 3,8% et 4,72% pour la même variété.

2. Composition physico-chimique de jus de datte variété sèche (Degla-Beida)

Tous les résultats sont la moyenne de 3 répétitions.

Tableau IV.2 : Composition physico-chimique de jus de datte variété sèche (Degla-Beida)

Les composants	La teneur du poids frais
Conductivité électrique	2,32 $\mu\text{ss.cm}^{-1}$
densité	1,35
Teneur en eau (%)	85,66
pH	4,97
L'acidité titrable totale (%)	1,75
Sucre totaux (%)	26,71
Sucre réducteurs (%)	11,88
Saccharose (%)	13,34
Protéine (%)	2,83
Cendre (%)	0,90

La conductivité exprime l'aptitude de la solution aqueuse à conduire un courant électrique. Elle est en corrélation positive avec la teneur en sels solubles. La teneur en ces derniers dans les solutions dilués, est proportionnelle à la conductivité. La

conductivité de jus de datte est de $2,32 \mu\text{s}.\text{cm}^{-1}$; cette valeur est comparable à celle donnée par Amellal (2008) avec des teneurs $2,18 \mu\text{s}.\text{cm}^{-1}$ (variété Degla-Beida); $2,51 \mu\text{s}.\text{cm}^{-1}$ (variété Frezza); $1,77 \mu\text{s}.\text{cm}^{-1}$ (variété Mech-Degla). La conductivité électrique évolué dans la même sens que le taux de cendre.

La teneur en eau de jus de Degla-Beida est de 85,66%; cette valeur est comparable à celle donnée par Boukhair (2009) avec une teneur de 87,50% pour la même variété. Acourène et Tama (2001), donnent des teneurs de 74,00; 70,00 et 70,15% respectivement pour les variétés suivantes: rebuts de Deglet-Nour, Tantboucht et Tinissine.

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 jus de datte est acide, il est de 4,97. cette valeur est inférieure à celle donnée par: Boukhair (2009) et Bouklachi et al. (2010), avec des valeurs de 6,12 et de 5,5. Et il est conforme à celle donnée par Acourène et Tama (2001) est de 4,6.

Une forte acidité est souvent associée à une mauvaise qualité. Comme il a été par Booij 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 Degla-Beida est de l'ordre de 1,75 g/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).

Les sucres sont les constituants les plus importants dans la datte. ils sont également responsable de la douceur de l'aliment. 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.

L'extrait de datte étudié dans cette présente étude possède une teneur de sucre de l'ordre de 26,71% du poids frais. Cette teneur est conforme aux résultats donnés par : Acourene et Tama (2001), sur les trois variétés étudiées ; Deglet-Nour, Tantboucht, Tinissine, avec des valeurs de l'ordre de 22,61%, 21,20%, 22,90%, et sont supérieures à celles données par Ould el hadj et al. (2006) (Variété Deglet-Nour), avec une teneur de 16,64% du poids frais. Généralement, la valeur trouvée montre la richesse de la datte en sucre totaux, ce qui constitue un substrat favorable à la multiplication des bactéries lactiques.

D'après le tableau IV.2, la teneur de la datte sèche : «Degla-Beida» en sucres réducteurs (glucose et fructose), déterminés par la méthode de Fehling, est de 11,88% du poids frais. Cette teneur est conforme aux résultats donnés par plusieurs travaux : Acourene et Tama (2001) (variété Deglet-Nour), Ould el hadj et al. (2006), (Variété Deglet-Nour) avec des valeurs de l'ordre de 9,13%, 13,75%.

Les résultats que nous avons obtenus montrent que la datte sèche : «Degla-Beida» est riche en saccharose. En effet, les résultats obtenus par la formule est de 13,34% du poids frais. Ce taux, est supérieur à celle donnée par Acourene et Tama (2001) (variété Deglet-Nour), Ould el hadj et al. (2006) (Variété Deglet-Nour), Siboukeur et al., (variété Ghars), avec des valeurs de l'ordre de 12,80%, 2,74%, 1,18 %, les datte molles sont caractérisées par un taux élevé en sucres réducteurs et les variétés sèches par un taux élevé en saccharose.

La quantité de protéine contenue dans la datte «Degla-Beida» est de 2,83% du poids frais. Cette teneur est supérieure à celle trouvée par Boukhar (2009) avec une valeur de 2,49% (MS), et conforme à celle trouvée par Amellal (2008) avec une valeur de 2,85% du poids frais. La teneur en protéine des dattes faible et ne dépasse pas généralement les 3% (Al Hooti et al., 1997 ; Khalil et al., 2002 ; Besbes et al., 2009).

Le taux de cendres représente la quantité totale en sels minéraux présents dans un échantillon. La valeur trouvée pour le jus de *Degla-Beida* est de 0,9 cette valeur est supérieure à celle donnée par Boukhar (2009) qui est de 0,40 pour la même variété. Acourene et Tama (2001) donnent des teneurs de 1,19 ; 1,49 et 1,34 respectivement pour les variétés suivantes : rebuts de Deglet-Nour, Tantboucht et Tinissine.

3. les analyses microbiologiques

Le tableau IV.3 présente les résultats de toutes les analyses microbiologiques.

Tableau IV.3 : Résultats des analyses microbiologique.

	résultats	Normes*
Germes aérobies mésophiles totaux (GAMT)	60.10 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
Clostridium Sulfito-réducteurs	0	<100germes/g
Streptocoques fécaux	0	0/100ml
Salmonelles	0	0/25 g

* **Normes : NI** (Norme Internationale; OMS, 2002).

Les résultats des analyses microbiologiques obtenus, certifient que le jus de datte ainsi utilisée est de très bonne qualité microbiologique, 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.

En ce qui concerne les microorganismes non pathogènes ; les levures et les moisissures sont capables de se développer dans le jus de datte acide. Aussi ; les levures et les moisissures sont des contaminants proviennent avant tous de l'air ambiant. (Bourgeois et Larpent, 1996).

4. Isolement et purification de la souche *Lactobacillus Bulgaricus*

Les observations sur milieu MRS de la souche isolées du ferment lyophilisé montrent qu'il y'a eu croissance .les colonies de lactobacille isolées sont de forme plus allongées parfois rondes de couleur crémeuse, les cellules observées sous microscope apparaissent des bâtonnets larges et longs, regroupés en filaments assez longs et ondulés et parfois en chaînes.

Tableau IV.3 : rapport de toutes les observations macroscopiques et microscopique la souche *Lactobacillus Bulgaricus*.

Souche	Milieu de culture	Aspect des colonies	Aspect de cellule	Mode de regroupement	Coloration de Gram	Test de la catalase
<i>Lactobacillus Bulgaricus</i>	MRS	Plus allongées parfois rondes	Bâtonnet bien long et large	En chaine	+	-

5. Résultats de l'acidifiant et la cinétique de croissance de la souche *Lactobacillus Bulgaricus*.

Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau suivant :

Tableau VI.4 : Résultats de l'acidifiant et la cinétique de croissance de la souche *Lactobacillus Bulgaricus*.

Temps	pH	Vitesse d'acidification	Acidité titrable °D	Acide lactique g/100ml	DO
T0	4,79	00	2,70	0,240	0,201
T2	4,72	0,07	2,75	0,245	0,316
T4	4,60	0,12	2,82	0,250	0,425
T6	4,49	0,11	2,92	0,262	0,734
T8	4,35	0,14	3,00	0,270	0,945
T24	4,10	0,25	3,49	0,313	1,529

Les cinétiques de croissances, l'évolution du pH et l'acidité titrable ainsi que la production d'acide lactique durant la fermentation sur milieu (jus de datte) contenant du sucres (glucose, fructose) tant que sources de carbone sont montrés sur le tableau VI.4 ci-dessus.

-La variation du pH au cours de la fermentation est illustrée par la courbe de la figure VI.2 :

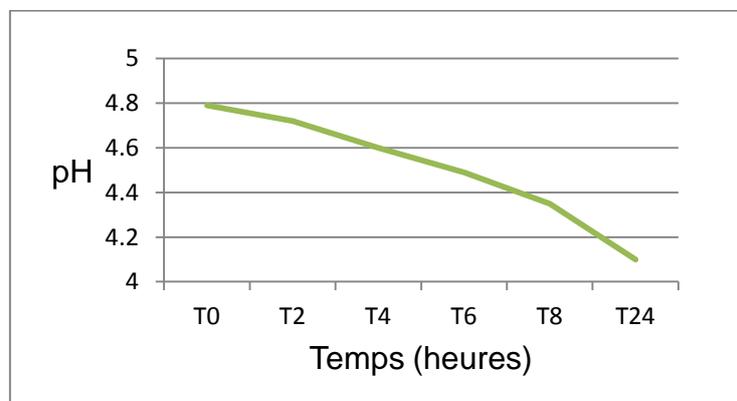


Figure VI.2 : Variation du pH du milieu au cours de la fermentation par *Lactobacillus bulgaricus*

Le pH du jus initial qui est de 4,95 valeurs relativement optimum au pH de la croissance de *Lactobacillus bulgaricus* (4,5 à 6,4) selon Leveau et Bouix (1993).

Tel qu'illustre sur la courbe ci-dessus le pH du jus diminue au cours de la fermentation pour atteindre une valeur 4,10 après 24 h d'incubation. Cette diminution traduit le métabolisme des glucides par *Lactobacillus bulgaricus* qui aboutit principalement à la production d'acide lactique responsable de l'acidification du milieu. Akin (2008) a exploité la diminution de pH comme moyen pour suivre l'évolution de fermentation.

-La variation de l'acidité titrable au cours de la fermentation est donnée dans la figure VI.3 :

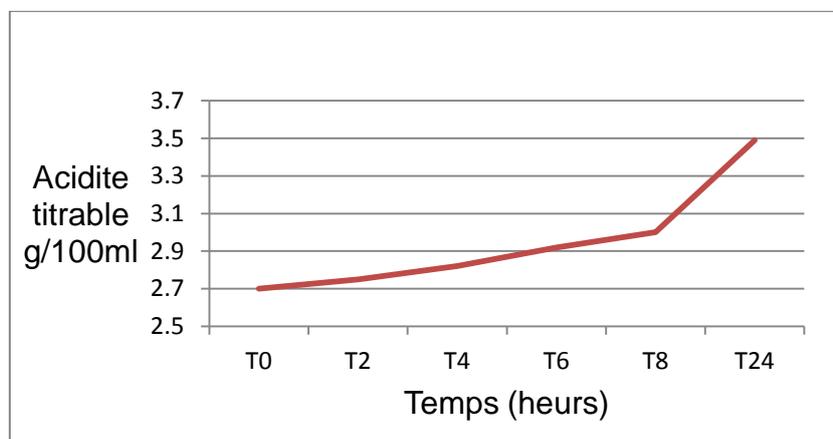


Figure VI.3 : Evolution de l'acidité titrable du milieu au cours de la fermentation par *Lactobacillus bulgaricus*

On remarque une nette concordance entre l'évolution de l'acidité titrable et celle de pH. Ces deux paramètres (pH, acidité titrable) inversement proportionnelle, d'après Mathieu (1998) «évoluent avec la composition : une teneur élevée en substance acide (acide lactique) s'accompagne d'un pH faible et d'une acidité de titration élevée ».

-La quantité de l'acide lactique est estimée à partir de l'acidité titrable.

-L'évaluation de la production d'acide lactique permet de obtenir la courbe de la figure VI.4.

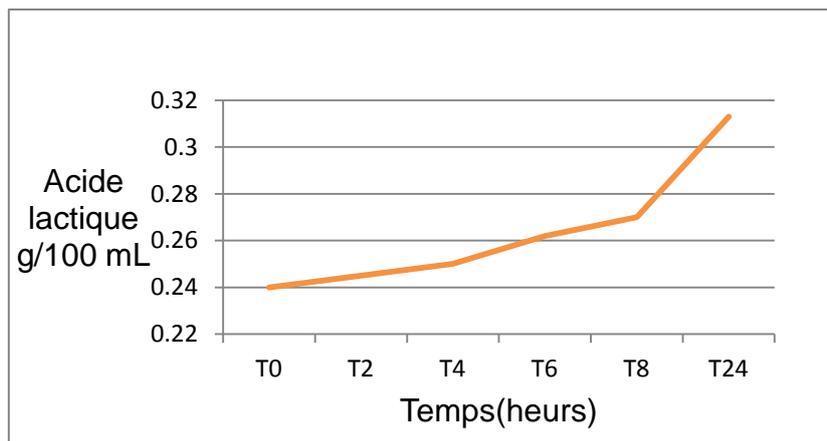


Figure VI.3 : production d'acide lactique au cours de la fermentation par *Lactobacillus bulgaricus*

La plupart des espèces du genre *Lactobacillus* fermentent rapidement les glucides (glucose, saccharose, lactose) en acide lactique D(-) ou DL, elles ne fermentent que lentement ou pas du tout les glucides complexes (Bourgeois et Larpent, 1996).

Le jus issu de Deglet-Beida de par sa richesse en glucides constitue un milieu très favorable pour le développement de *Lactobacillus bulgaricus*. Cette dernière par forte activité homofermentaire produit l'acide lactique de forme D(-). La production d'acide lactique à partir des glucides contenant dans le jus de dattes 26,71% sucre totaux et 11,88% sucre réducteurs, ainsi 13,83% saccharose ; accélère l'acidification du milieu (jus de dattes) telqu'elle l'acidité titrable passe de 2,70 à T0 jusqu'à 3,49 à T24 par la diminution du pH du milieu au cours de la fermentation.

-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 VI.5 :

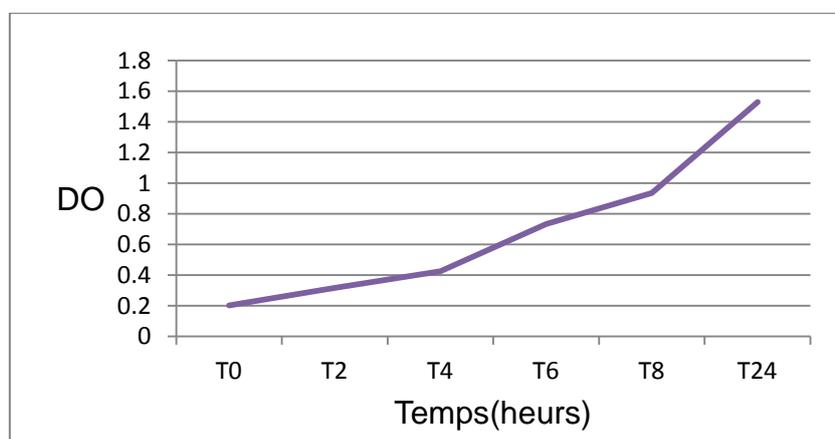


Figure VI.4 : Evaluation de la croissance bactérienne par spectrophotométrie au cours de la fermentation par *Lactobacillus Bulgaricus*

D'après nos résultats l'évolution de la culture est proportionnelle à la DO ,Les résultats obtenus montrent que la croissance bactérienne est caractérisée par un accroissement de la masse bactérienne durant la fermentation qui de 0,201 à T0 et à la fin de la fermentation elle arrive jusqu'à 1,529 , à ce moment la on remarque une production maximale de l'acide lactique qui est de 0,313 g/100ml, cela est dû à la consommation des sucres contenant dans le milieu (jus de datte).

CONCLUSION

Le palmier dattier et pour les populations de Sahara ce que l'olivier est pour les méditerranéens : une source de fruit providentiel.

Aujourd'hui une multitude de variétés dattes communes sont utilisés comme aliment de bétail quand elles ne sont tout simplement pas abandonnées.

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 Degla-Beida, matériel végétal de la présente étude.

L'acide lactique est l'un des produits de conservation biologique qui ne sont pas bien implantés dans le marché. Par contre la demande de consommateurs pour une réduction des produits chimiques dans l'alimentation permet d'espérer une place de choix pour les produits de conservation de nature biologique. Actuellement, l'acide lactique et ses sels sont utilisés pour leurs diverses propriétés.

Le présent travail a englobé la caractérisation de jus de élaboré à partir des dattes (Degla-Beida), en vue la production de l'acide lactique par *Lactobacillus bulgaricus*.

Concernant les résultats de la caractérisation de la datte entière, on peut affirmer qu'elle est de qualité acceptable avec des proportions de 80% en pulpe et de 21,57% en noyau.

L'étude biochimique de jus extrait à partir de datte (Degla-Beida) montre que ce dernier est riche en sucres (26,71 % de sucres totaux, soit 11,88% sucres réducteurs de MF). Par contre elle est pauvre en protéines (soit 2,83%). On note que le jus de Degla-Beida présent un pH de 4,97.

D'après les résultats de cette présente étude, il est possible de produire l'acide lactique par *Lactobacillus bulgaricus* à partir de jus de datte (Degla-Beida), le taux d'acide lactique atteint 0,313 g /100ml après 24 heures de fermentation.

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.

Références bibliographiques

- Abdelfattah, K., 1998.** Quelque aspect de l'économie dattière en Tunisie. Communication présentée au séminaire sur « les systèmes agricole oasiens ». Les cahiers de la recherche développement, N°22,44-56.
- Abou-zeid,A.A.,Abdelkharim,N.,Baghlaf,A.O..1993.** Use of date products in production of oxytetracycline by *Streptomyces rimosus*. Biosci.Biotechnol.Biochem. 987-988.
- Acourène S. et Tama M., 1997.** Caractérisation physicochimique des principaux cultivars de dattes de la région des Zibans. Recherche Agronomique, vol.1, pp.59-66.
- Acourene, S., Bueguedj, M., Tama, M., Taleb, B., 2001.** Caractérisation, évaluation de la qualité de la datte et identification des cultivars rares de palmier dattier de la région des Ziban. Revue Recherche Agronomique, N°8, Ed. INRAA, PP19-39.
- Alhooti,S.,Sibhu,J.S.,Al-Othman,A.2002.** Chemical composition and quality of date syrup as affected by pectinase/cellulose enzyme treatment. *food chemistry*,79,215-220.
- Alias C., 1984.** Science du lait. Principe des techniques laitières, 4^{ème} édition, Paris, 812p.
- Alma L. 1982.** Effect of fermentation on L(+) and D(-) lactic acid in milk. *Journal of Dairy Science*, 65, 4,515-520.
- Amellal, A., 2008.** Aptitudes technologiques de quelque variétés communes de dattes : formation d'un yaourt naturellement sucrés et aromatisés. Thèse doctorat. Université de Boumerdès .Algérie.
- Anonyme, 2002.** Statistiques agricoles superficies et productions. Ministère de l'agriculture et de développement rural, Série A palmiers dattier, pp.5-6.
- Barreveled, W.H., 1993.** Date palm product. FAO, Agricultural services, Bulletin N°101, FAO, Rome, 211p.
- Béal C. et Corrieu G. ,1994.** Viability and acidification activity of pure and mixed starters of *Streptococcus thermophilus* 404 and *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* 398 at the different steps of their production .*Leberismittel wissenschaft. Technologie*, 27, 86-92.

-Béal C. et Sodini I., 2003. Fabrication des yaourts et des laits fermentés. Ed. Doc ; F6315.

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

-Benchelah, A.-c., Maka, M., 2006.les dates, de la préhistoire a nos jours. Phytothérapie (ethnobotanique) Springer, Vol N°1, pp.43-47.

-Boudjelal A. et Nancib N. , 2001. Production d'acide lactique par *Lactobacillus rhamnosus* sur milieu à base de jus de datte ; revue des énergies renouvelables (Rev-Ener-Renv) : production et valorisation ; Biomasse ; Alger, pp. 41-46.

-Bonaz, B., Mathieu, N., Chambron, E., 2007.Nutrition et maladies inflammatoires cryptogénétiques de l'intestin. J.Afr Hépatol Gastroenterol, Vol.3-4, pp.136-140.

-Booij,I.,Piombo,G.,Risterucci,J.M.,Coupe,M.,Thomas,D.,Ferry,M.,1992.

Etude de la composition chimique de dates a différents stades de maturité pour caractérisations variétale de divers cultivar de palmier dattiers (*Phoenix dactylifera*).Journal of fruits, Vol.47, N°6, pp.667-677.

-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, 654p.

-Bourgeois (C., M.) et Larpent (J., P.), 1996. Microbiologie alimentaire : Aliment fermentés et fermentations alimentaires. 1^e Ed. Française, 502.

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

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

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

-Caplice E. et Fitzgerald (G, F), 1999. Food fermentations: Role of microorganisms in food production and preservation. International Journal of food Microbiology, 50,131-149.

-Cheikh, M., 1994.Contribution a l'étude de la production d'alcool et de vinaigre par quatre variétés de date communes (Degla-Beida, Terterwite, hamaraya, et assabri) de la cuvette d'Ouargla. Thèse Ing: I.N.F.S.A Saharienne, Ouargla.

- Chibane,H.,Benanar,S.,Noui,Y.,Djouab,A.,2007.**Some physico-chemical and morphological characterization of three varieties of Algerian common dates. European Journal of scientific research.18 (1):134-140.
- Chibane, H., 2008.** Aptitudes technologiques de quelques variétés d'un yaourt naturellement sucré et aromatisé. Thèse de doctorat spécialité génie alimentaire Université Boumerdès. 131 p.
- Cook, J.A., Furr, J.R., 1952.**Sugars in the fruits of soft, sem-dry and dry commercial date varieties. Date Grower`s Institute Report, 29, pp.3-4.
- Desmazeaud M., 1992.** Activités protéolytique de *Streptococcus* lactique mésophile au cours de l'affinage des fromages. Le lait, 72 :267-289.
- Danone 1999.** *Yoghourt: egyty years of active research for health*: Ed. John Libbey Eurotext. Paris: 7-45.
- Decloux, M., 2008.**Procédés de transformation en sucrerie (partie1).Technique de l'Ingénieur, traite Agroalimentaire F6 150, pp.1-18.
- Dellaglio F., 1989.** Characteristic of thermophilic lactic acid. Bacteria. Les laits fermentés Actualité de la recherché, Ed. J. Libbeyrd. , 11-18.
- Devoyd (J,J) et Poulain F.,1988.** Les leuconostocs, propriétés : leurs rôles en technologie laitière. Le lait, 68 :249-280.
- DeVos (W,M) et Hugenholtz J., 2004.** Engineering metabolic highways in lactococci and other lactic acid bacteria. Trends in Biotechnology, 22, 72-79.
- Djouab, A., 2007.**Essai de formulation d'une margarine allégée a base d'un extrait de dattes Mech-Dagla, Thèse de Magister, Université de boumerdes.102p.
- Djerbi, M, 1994.**Précis de phoeniciculture: FAO;192p.
- Djidel,A.,2007.**Production d'acide lactique par *Lactobacillus casei* subsp.rhamnosus sur jus de datte.these de Doctorat ,specialite Biotechnologie et industrie alimentaire,Institut Nationale Polytechnique de lorraine.
- Estanove, p., 1990.**Note technique : Valorisation de la datte. Option méditerranéennes. Série A.N°11.Les synthèses Agricoles oasiens. Ed. IFRA-CIRAD France.
- Espiard, E., 2002.**Introduction a la transformation industrielle des fruits. Ed. Tech et Doc. LAVIOSIER ,360P.
- Favier, J.C., Ireland, R.J., Laussucq, C., Feinberg, M., M., 1993.** Répertoire général des aliments. Table de composition des fruits exotique, fruits de cueillette d'Afrique. Tome III. Ed. ORSTOM Edition, Lavoisier INRA Edition, 27-28.

- Gille, P., 2000.Cultiver le palmier dattier .Ed. CIRAS, pp.110.
- Guiraud (J,P). 1998. Microbiologie alimentaire. Ed. Dunod, Paris. 652p.
- Guiraud A.,(1992),Les yaourt (D.L.G Food,TEC :4-11)
- Hanachi,S.,Benkhalifa,A.,1998.Inventaire variétal de la palmeraie algérienne.225p.
- Joffin C. et Joffin (J, N), 2000. Microbiologie alimentaire, 5ème éd. CRD;Paris, 212 p.
- Juillard V., Spinnler (H,E) , Desmazeaud (M, J) et Boquein (C, Y), 1987. Phénomène de coopération et inhibition entre les bactéries lactiques utilisées en industrie laitière. Le lait, 67, 149-172.
- Larpent (J, P), 2000. Introduction à la nouvelle classification bactérienne: les principaux groupes bactériens. Ed. Technique et Documentation, 182p.
- Luquet (F,M) et Corrieu G., 2005. Bactéries lactiques et probiotiques ; Ed. Lavoisier ; Paris, 307p.
- Luquet (F, M), Corrieu G., 2008. Bactéries lactiques de la génétique aux ferments. Lavoisier, Paris, 378p.
- Lui (J,Q), Kurihara T., Miyagi M., Esaki N. et Soda K. 1995. Reaction mechanism of L-2 haloacid dehalogenase of *Pseudomonas* sp. YL. Identification of Asp 10 as the active site nucleophile by 180 incorporation experiments. J ournal of Biological chemistry ,270, 18309-18312.
- Luquet (F,M), 1993.Lait et produit laitiers (vache-chèvre- brebis). Qualité, énergie et table de composition. Tome3, Ed. Tec et Doc, Lavoisier, Paris, 198p.
- Lebenf Y. et Lacroix C., 1998. La fromagerie et les variétés du bassin méditerranéen, Ed. Paris, 126p.
- Leveau (J,Y) et Bouix M. , 1993. Microbiologie industrielle : Les microorganismes d'intérêt industriel. Ed. Tec & Doc Lavoisier, 612p.
- Lecoq, R., 1965.Manuel d`analyses alimentaire et d`expertises usuelles.Tome I. Ed. DOIN, DEREN et CIE, pp241-251.
- Linden, G., 1981.Technique d`analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires. Vol II : Principe des technique d`analyse. (Ed) Collection science et Technique Agro-alimentaire. Paris, 434p.
- Lonoir J. Hermier J. et Weber F., 1992. Les groupes microbiens d'intérêt laitiers, CIPIL, pp 30-50.

- Magnuson (J,K) et Lasure (L, L), 2004.**Organic acid production by filamentous fungi. In advances in fungal biotechnology for Industry,Agriculture, and Medicine. Ed. Jane et Lene lange Kluwer Academic, 307-340.
- Mansouri,A.,Embarek,G.,Kokkalou,E.,Kefalas,P.,2005.**Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian rip date palm fruit (phoenix dactylefera).Journal of food Chemisty,Vol.89,pp.411-420.
- Marshall (V, M, E) et Law (B, A), 1984.**Physiology and growth of dairy lactic-acid bacteria. In: Advances in the microbiology and the Biochemistry of cheese and fermented Milk, Ed. F.L Davies et B.A Law, Ch.3, 67-98. Elsevier Appl. Sci.Pub., London.
- Marchal N. ,Bourdon (J,I) et Col R.,1987.** Les milieux de culture pour isolement et identification biochimique des bactéries , 3^{ème} éd. Doin, 405p.
- Mazoyer, m.2002.**Larousse agricole, le monde agricole au XXI^{ème} siècle .Ed. MATHILDE MAJOREL, p224.
- 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, 79p.
- Medina M., 2000.***Deversity of bacteriocins produced by lactic bacteria isolated from grows milk. J Dairy Pr., 10:7-15.*
- Munier, P., 1973.**Le palmier dattier. Ed. MAISONNEVVE, Paris, 221p.
- Motosugi K., Esaki N. et Soda K. 1982a.** Purification and properties of a new enzyme, DL-2. Haloacid dehalogenase from *Pseudomonas* sp. Journal of Bacteriology, ISO, 522-527.
- Motosugi K., Esaki N. et Soda K. 1984.** Enymatic preparation of D and L lactic acid from racemic 2-chloropropionic acid. Biotechnology and Bioengineering, 26,805-806.
- Motosugi K., Esaki N. et Soda K. 1982b.** Bacterial assimilation of D and L-2 chloropropionates and accurrence of new dehalogenase. Archives of Micribiology, 131, 179-183.
- Narayanan N. , Roychoudhury (P,K) et Srivasta A. 2004.** L(+) lactic acid fermentation and its product polymerization. Electronic Journal of Biotechnology , 7,2, 167-179.
- Nardi-Dei V. , Kurihata T. , Park C., Esaki N. et Soda K. 1997.** Bacterial DL-2 haloacid dehalogenase from *Pseudomonas* sp. Strain 113 :gene cloning and structural comparison with D- and L-2 haloacid dehalogenases. Journal of Bactriology, 179, 4232-4238.

- Noui, Y., 2007.**Caractérisation physico-chimique comparative des deux tissus constitutifs de la pulpe de datte Mech-Degla. Thèse de Magister, Université de boumerdes.62p.
- Oda Y. , Saito K. , Yamauchi H. et Mori M. , 2002.** Lactic acid fermentetion of potato pulp by the fungus *Rhizopus oryzae*. *Curent Microbiology* ,45, 1-4.
- Ouinten, M., 1955.**Le palmier dattier dans le système oasien.
- Ould El Hadj,M.D.,Sebihi,A.H.,Siboukeur,O.,2001.**Qualité hygiénique et caractéristique physico-chimique du vinaigre traditionnel de quelque variétés de dattes de la cuvette de Ouargla. *Rev. Ener. Ren : Production et valorisation – Biomasse*, pp.87-92.
- Pelmont J., 1993.** Bactéries et environnement: adaptation physiologique; Presse universitaires de Grenoble, 899p.
- Piard D.et Desmazeaud,(1991),**Les levains lactiques. Propriétés et comportement en technologie laitière. *Le Lait* : 487-524.
- Pollain F. ,1994.** Evolution de la préparation commerciale des ferments lactiques : Bactéries lactiques. Ed Lorica-Lavoisier, pp 200-218.
- Remesy, C., 2008.****Sucres** simples purifié`s versus sucres des fruits, ont –ils les même effets métabolique. *Journal of phytothérapie*, Vol.6, pp.91-95.
- Singh (S,K) et Ahmed (A,P), 2006.** Metabolic engineering approaches for lactic acid production. *Process Biochemistry*, 41,991-1000.
- Stiles (M, E) et Holzapfel (W,H) , 1997.** Review article; Lactic acid bacteria of food and thier current taxonomy. *Int. J. Food. Microbil.* 36:1-29.
- Tabib, R., 1999.****Contribution** a l`étude de quelque caractéristique morphologique et pomologique du fruit de quelque cultivars de palmier dattier « *phœnix dactylefera* » dans la région de M`caonneche. Mémoire d`Ingénieur. Institut d`agronomie. Batna ,67p.
- Terre S., 1986.** Propriétés technologiques, nutritionnelles et physicochimiques de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*. Ed. Techniques laitière et mercheting. 1008p.
- Toutain, G, 1979.**Elément d`agronomie saharienne : de la recherche au développement. Ed. JOVVE, Paris, 276.
- Vrignaud Y., 1982.** Les ferments lactiques dans les industries alimentaires. Importance dans la flore intestinale. Supplémentaire des aliments d`allaitement en culture de ferments lactiques, les ferments lactiques chez l`homme. Industries alimentaires et agricoles : 147-160.

-Vick Roy (T,B), 1985. Lactic acid, Comprehensive Biotechnology, Ed. Moo Yoong , M.M, Pergamon Press, 761-776.

-Yahiaoui, K., 1998.Caractérisation physico-chimique et l'évolution du brunissement de la datte Deglet-Nour au cours de la maturation. Thèse Magister.INA. El-Harrach, Alger, 103p.

-Zouari A. et Desmazeaud (M,J) 1991. Caractérisation de bactéries lactiques thermophiles isolées de yaourts artisanaux grecs II. Souches de *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* et cultures mixtes avec *Streptococcus thermophilus*, Le lait, 71 ,463-482.

Composition des milieux de culture

❖ Milieu PCA (Plate Count Agar)	g/l
Tryptone	5,0 g
Extrait de levure	2,5 g
Glucose	4,0 g
Agar	9,0 g
PH = 7	
❖ Milieu OGA (Oxytétracycline glucosé agar)	
Peptone de caséine	17,0 g/l
Peptone de farine de soja	3,0 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 (Viande-Foie)	
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 : (Giolitti Cantoni)**

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 : (gélose mannitol)**

Peptone	10g
Extrait de viande	1g
Chlorure de sodium	5g
Mannitol	10g
Rouge de phénol	25g
Agar-agar	15g

❖ **Milieu SFB :(Bouillon au Sélénite de Sodium)**

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

❖ **Milieu Hektoen : (gélose 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 :(Bouillon glucosé à l'azide de sodium)**

Tryptose	20g
Glucose	5g
Chlorure de sodium	5g
Phosphate monopotassique	2,7g
Azide de sodium	0,2g
Eau distillée	1000ml

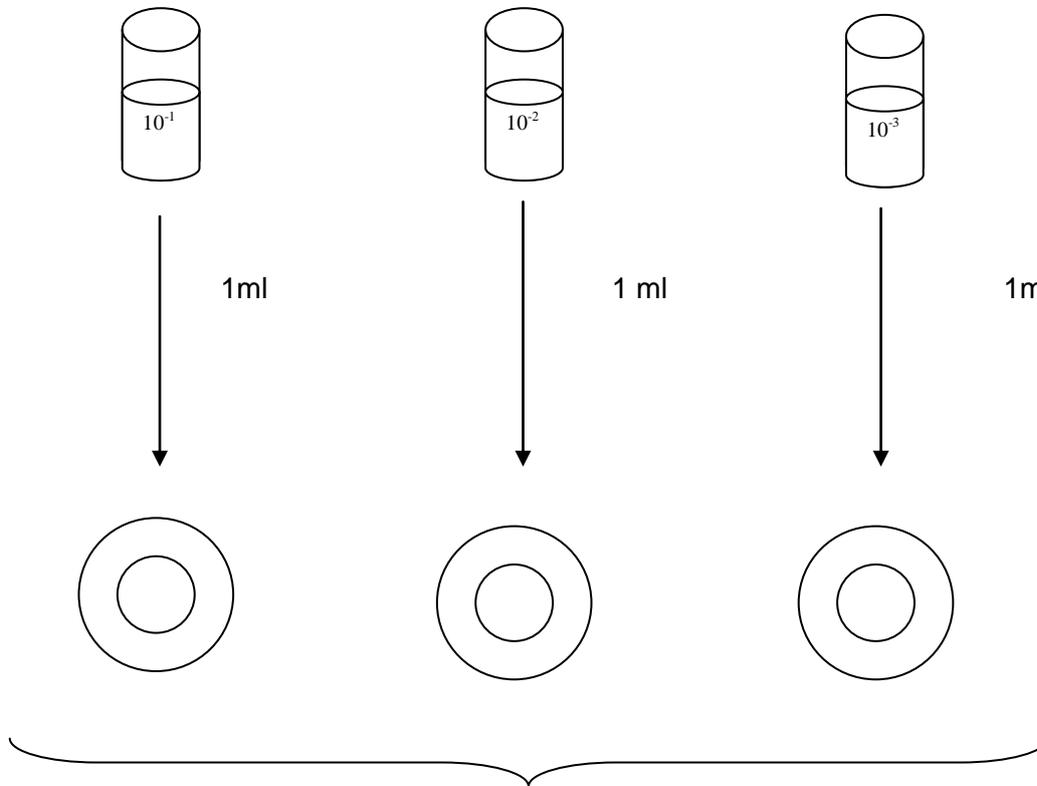
❖ **Mlieu EVA-Litsky :(bouillon glucosé à l'éthyle violet et azide de sodium)**

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	

❖ **TSE (tryptone-sel-eau)**

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

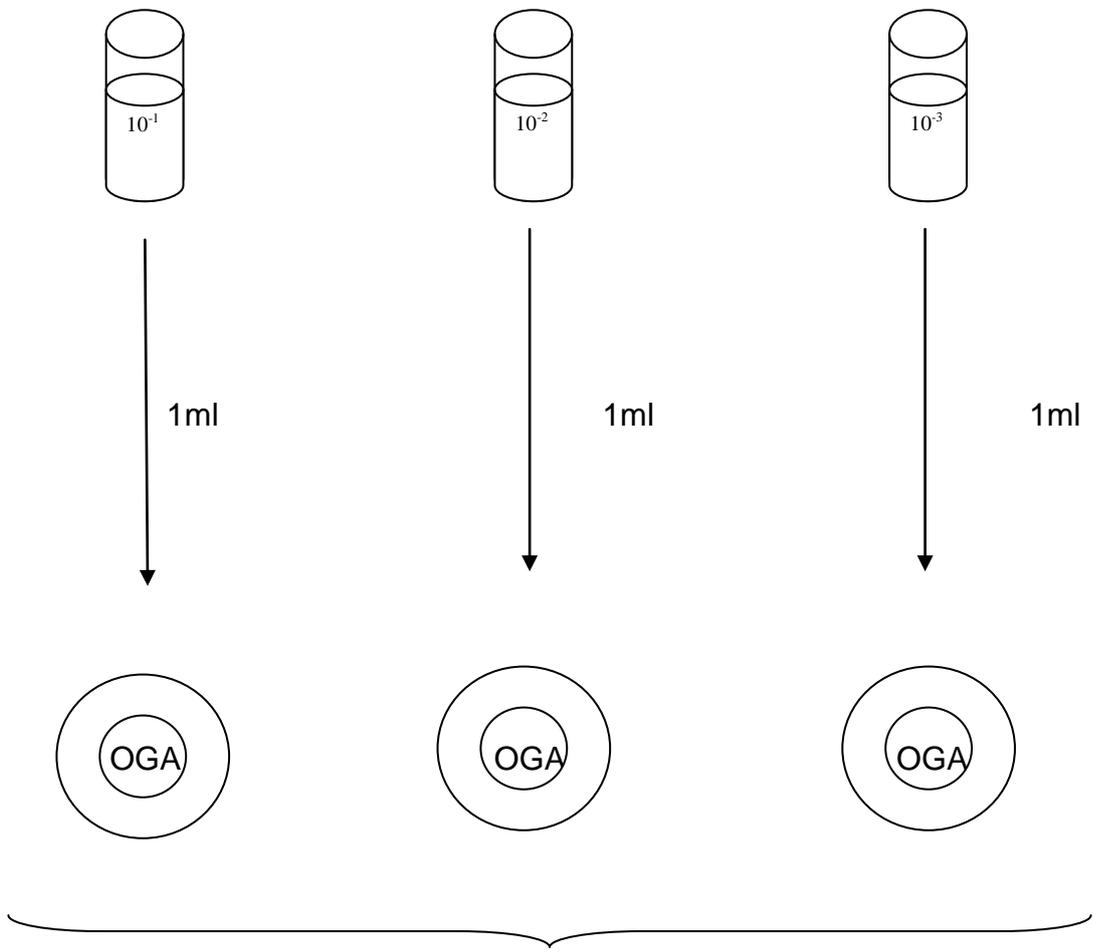
A partir des dilutions décimales



- Ajouter environ 15 ml de gélose au VRBL. 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

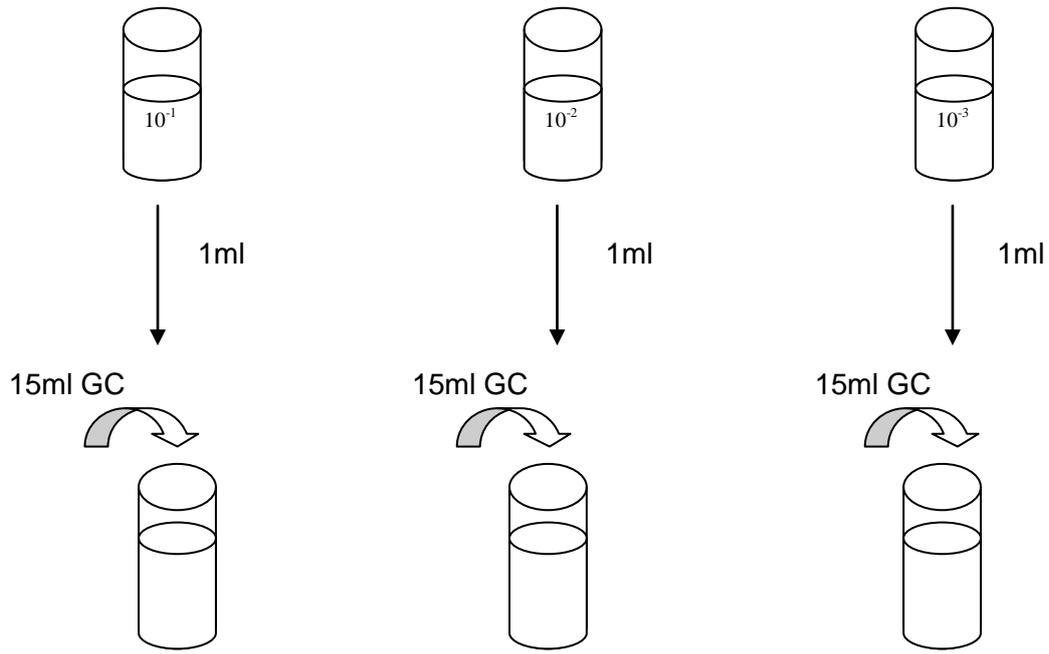
A partir des dilutions décimales



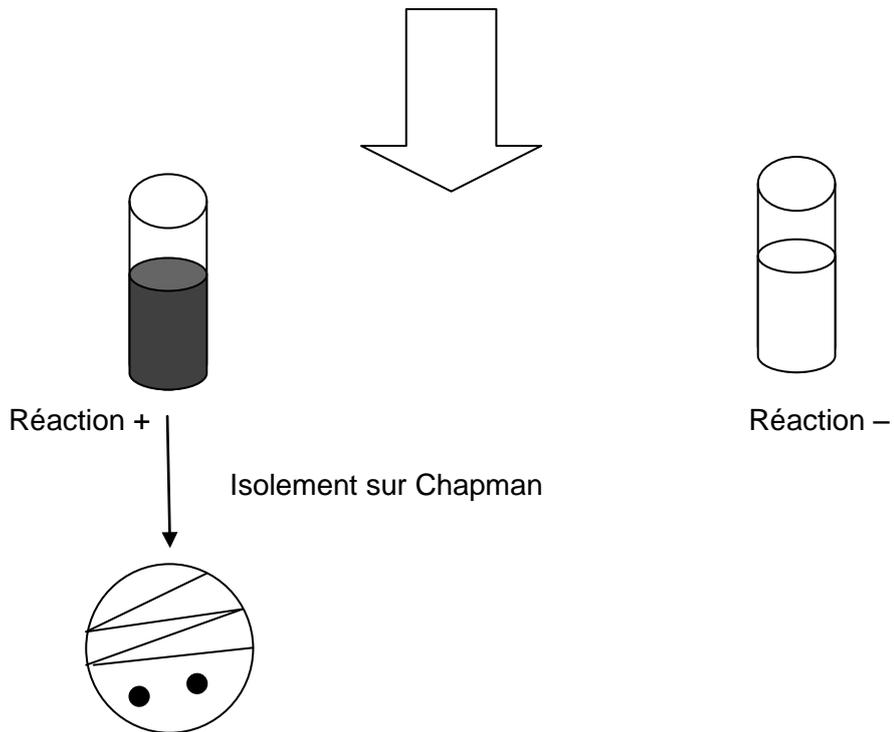
Incuber les boites à 22°C pendant 5 jours (avec lecture tous les jours).

Figure 4 : Recherche et dénombrement des levures et moisissures

A partir des dilutions décimales



Incuber à 37°C pendant 24 à 48 h.



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

Figure 5 : Recherche des *Staphylococcus aureus*

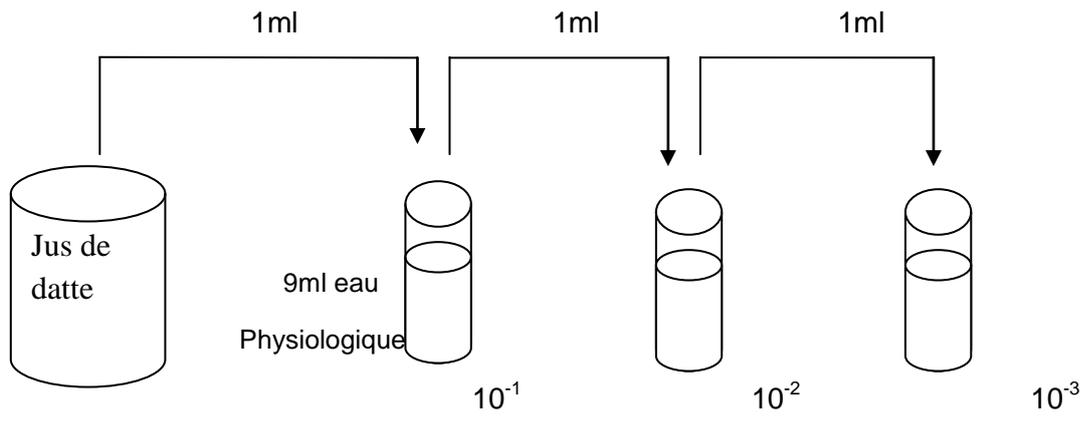


Figure 1 : Préparation et des dilutions décimales

A partir des dilutions décimales :

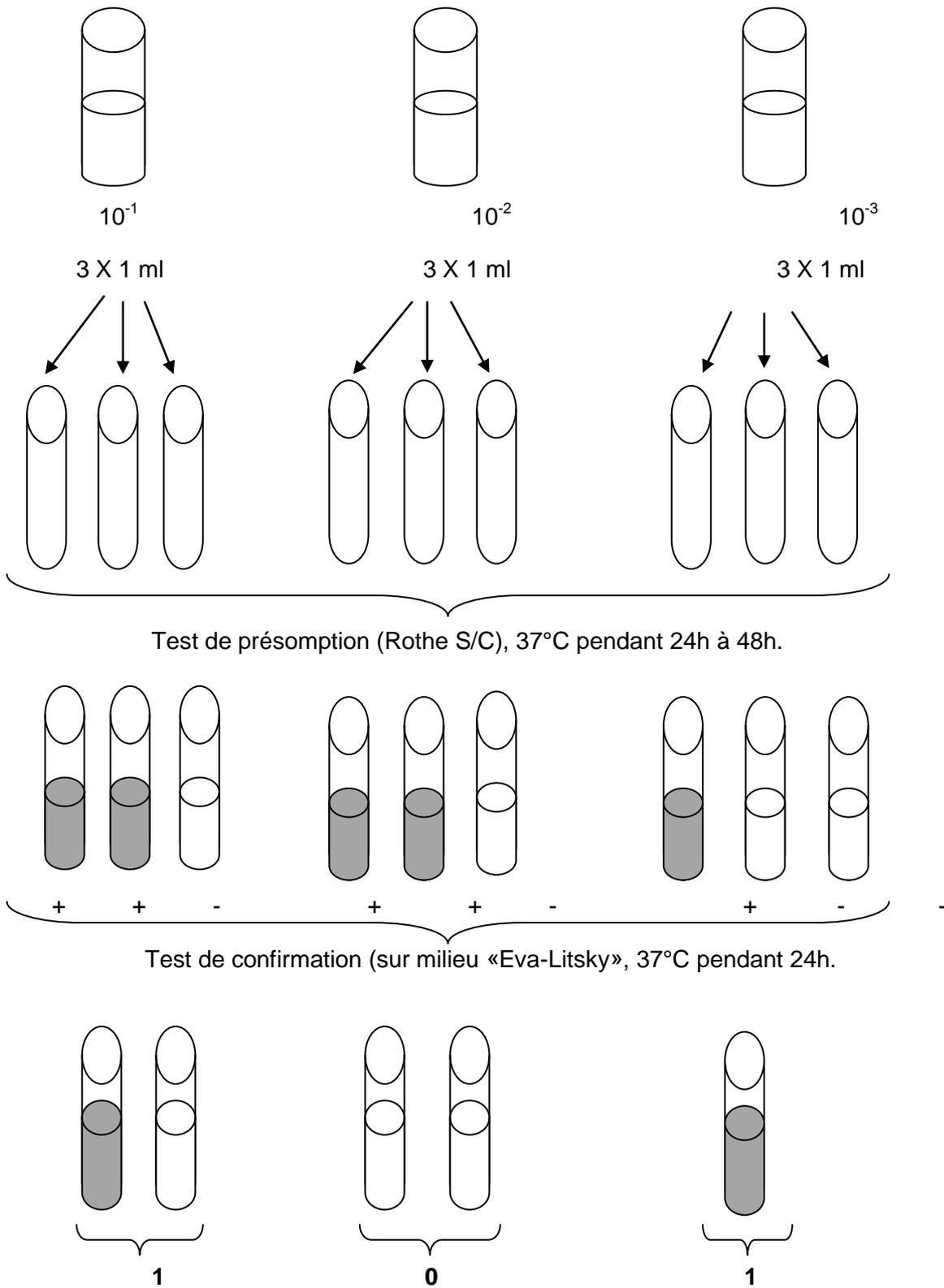
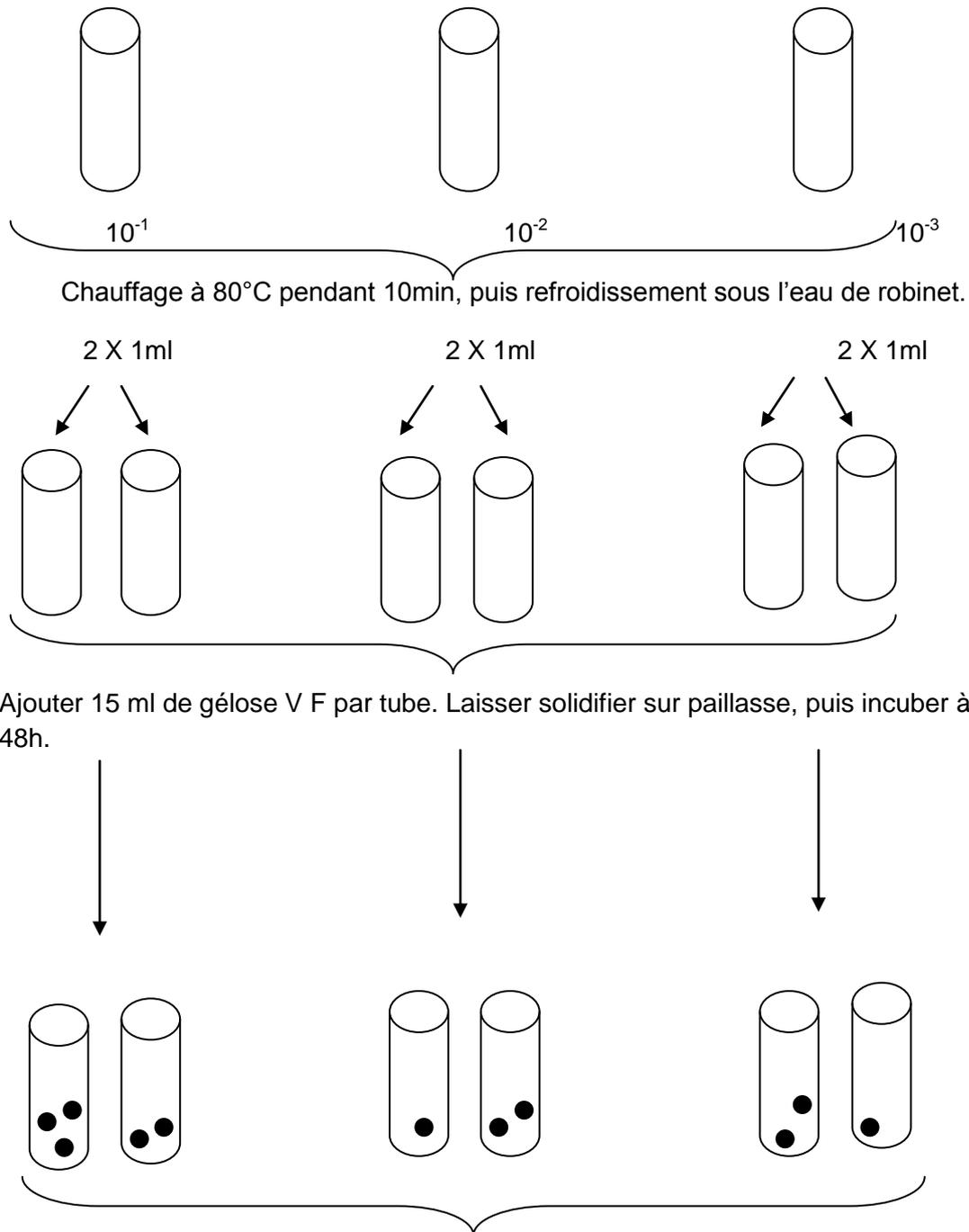


Figure 7 : Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux

A partir des dilutions décimales :



Dénombrer les colonies noires ayant poussé en profondeur.

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

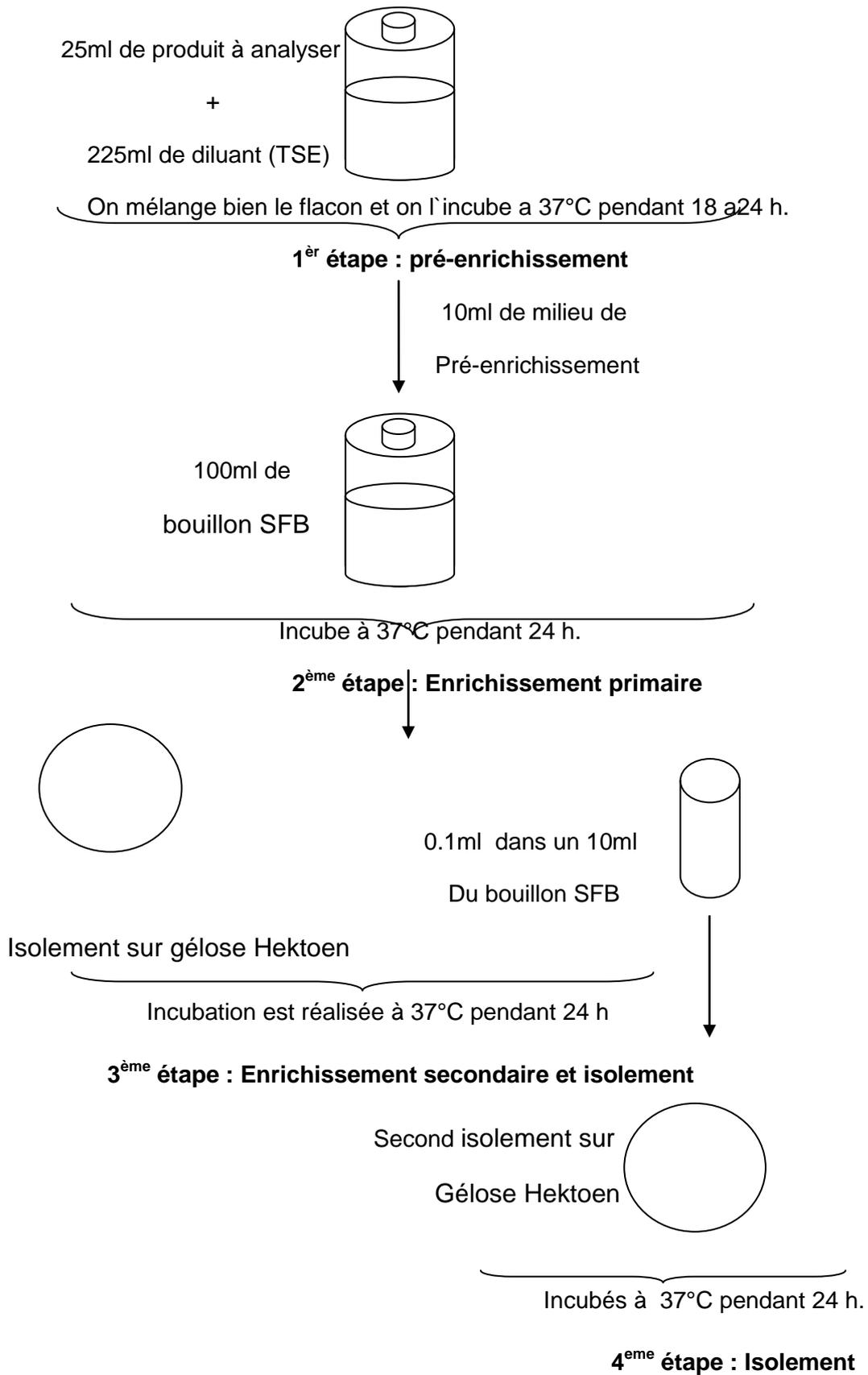


Figure 8 : Recherche des salmonelles

