

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE DE SAIDA-Dr.MOULAY TAHAR

Faculté des sciences

Département de Biologie



Mémoire

Présenté par

CHERIGUI Ikram

Pour l'obtention du diplôme de Master Microbiologie appliquée

THÈME

Simulation d'une production à l'échelle industrielle de divers alicaments

Soutenu en Juillet 2021, devant le jury d'examen composé de :

Président	Dr. DAHANI Moufida	Maitre de Conférences« B »
Examineur	Dr. CHALANE Fatiha	Maitre de Conférences« A »
Rapporteur	Dr. AMARA Sabrina	Maitre de conférences« B »

Année Universitaire: 2020/2021

Remerciements

Avant tout je remercie dieu tout puissant de m'avoir donnée le privilège, la chance d'étudier et de m'avoir donnée santé, courage, et patience pour la réalisation de ce travail.

Ce travail n'aurait pu être effectué sans l'accord, le soutien et l'aide de plusieurs personnes. Je remercie mon promotrice Mme AMARA .S pour sa précieuse aide, ces orientations et le temps qu'elle m'a accordé pour cet encadrement.

J'adresse mes remerciements les plus respectueux aux membres du jury pour le grand honneur qu'il me fônd en acceptant d'examiner ce mémoire

Je remercie profondément tous les enseignants qui m'ont encouragé et soutenu au cours mon cursus.

J'adresse mes sincères remerciements à mes parents, à toute la famille et à tous mes amis.

Mes remerciements vont également à tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Résumé:

Un aliment fonctionnel il affecte avantageusement une ou plusieurs fonctions cibles de l'organisme indépendamment des effets nutritionnels adéquats, en provoquant une amélioration de l'état de santé et du bien-être et/ou une réduction des risques d'apparition de maladies. Les aliments fonctionnels sont, comme leur nom l'indique, des aliments, et leurs effets doivent être perceptibles après leur ingestion en quantités normales. Il ne s'agit en aucun cas de capsules/gélules ou de comprimés, mais bien d'aliments. En ce qui concerne l'aliment probiotique, il est défini comme un produit transformé qui contient des microorganismes probiotique viables en concentration appropriée dans une matrice alimentaire. Cela signifie que la viabilité et l'activité métabolique doivent être maintenues à travers toutes les étapes de transformation des aliments, depuis leur fabrication jusqu'à leur ingestion par le consommateur, et aussi qu'ils doivent être capables de survivre dans les voies gastro-intestinales de l'hôte . Ce sont des aliments capables de prévenir l'incidence de maladies issues du syndrome métabolique, comme les maladies cardiovasculaires ou le diabète de type 2. En effet, ils contiennent des composés dits "bioactifs", comme des phytostérols, des caroténoïdes provitaminiques A, des acides gras essentiels polyinsaturés (omega-3), des prébiotiques ou encore des probiotiques.

الملخص:

غذاء وظيفي ، يؤثر بشكل مفيد على واحدة أو أكثر من الوظائف المستهدفة للكائن الحي بشكل مستقل عن التأثيرات الغذائية الكافية ، مما يؤدي إلى تحسين الحالة الصحية والرفاهية و / أو تقليل مخاطر الأوبئة. الأطعمة الوظيفية ، كما يوحي الاسم ، الأطعمة ، ويجب أن تكون آثارها ملحوظة بعد تناولها بكميات طبيعية. إنه ليس بأي حال من الأحوال كبسولات / كبسولات أو أقراص ، ولكنه طعام. فيما يتعلق بأطعمة البروبيوتيك ، يتم تعريفها على أنها منتج معالج يحتوي على كائنات حية دقيقة بروبيوتيك في التركيز المناسب في مصفوفة الغذاء. وهذا يعني أنه يجب الحفاظ على الحيوية والنشاط الأيضي في جميع مراحل معالجة الأغذية ، من التصنيع إلى الاستهلاك من قبل المستهلك ، كما يجب أن يكونوا قادرين على البقاء على قيد الحياة في الجهاز الهضمي. من المضيف. هذه الأطعمة قادرة على منع حدوث الأمراض الناتجة عن متلازمة التمثيل الغذائي ، مثل أمراض القلب والأوعية الدموية أو مرض السكري من النوع 2. وفي الواقع ، فهي تحتوي على ما يسمى بالمركبات "النشطة بيولوجيًا" ، مثل فيتوستيرول ، بروفيتامين أ ، كاروتينات ، أحماض دهنية أساسية متعددة غير مشبعة (أوميغا 3) أو البريبايوتكس أو البروبيوتيك.

Abstract:

A functional food, it advantageously affects one or more target functions of the body independently of the adequate nutritional effects, by causing an improvement in the state of health and well-being and / or a reduction in the risk of the appearance of diseases. Functional foods are, as the name suggests, foods, and their effects should be noticeable after ingestion in normal amounts. It is by no means capsules / capsules or tablets, but food. With regard to probiotic food, it is defined as a processed product which contains viable probiotic microorganisms in appropriate concentration in a food matrix. This means that viability and metabolic activity must be maintained through all stages of food processing, from manufacturing to consumption by the consumer, and also that they must be able to survive in the gastrointestinal tract. from the host. They are foods capable of preventing the incidence of diseases resulting from the metabolic syndrome, such as cardiovascular disease or type 2 diabetes. In fact, they contain so-called "bioactive" compounds, such as phytosterols, provitamin A carotenoids, polyunsaturated essential fatty acids (omega-3), prebiotics or probiotics.

Sommaire

Remerciement

Résumé

Liste des figures.....I

Liste des tableaux.....II

Liste des abréviations.....III

Introduction1

Chapitre I : Les Aliments fonctionnels - Les médicaments.

I. Aliments fonctionnels.....3

I.1. Généralité3

I.2. Définition3

I.3. Origine des aliments fonctionnels.....4

I.3.1. Existence ancestrale des aliments dits « fonctionnels »4

I.3.2. Origine des « aliments fonctionnels ».....5

I.4. Classification des aliments6

I.5. Marché des aliments7

II. Les médicaments.....8

II.1. Définition du médicament.....8

II.2. Composition du médicament.....8

II.2.1. Principe actif.....	8
II. 2.2. Excipient	8
II.3. Cycle de vie du médicament.....	9
II.4. Médicaments probiotiques.....	12

Chapitre II : Les bactéries lactiques - Les ferments lactiques-Les probiotiques.

I. Les bactéries lactiques.....	13
I.1. Généralités.....	13
I.2. Définition des bactéries lactique.....	14
I.3.Habitat et origine des bactéries lactiques.....	14
I.4. Classification des bactéries lactiques.....	15
II. Les ferments lactiques	16
II.1.Définition.....	16
II.2. Taxonomie des micro-organismes utilisés dans l'industrie laitière	16
II.2.1. Levures	16
II.2.2. Moisissures.....	17
II.2.3. Bactéries.....	17
II.3. Rôle des ferments.....	19
II.4. Types de ferments.....	19
i. Ferments artisanaux.....	19
ii. Ferments commerciaux.....	20

ii.1. Selon leur composition, les ferments commerciaux peuvent être classés en trois catégories.....	20
ii.2. Technologie de production des ferments commerciaux	21
ii.2.1. Modes d'ensemencement	21
ii.2.2. Diagramme général de production.....	22
III. Les probiotiques.....	25
III.1. Découverte	25
III.2. Définition	25
III.3. Processus de production.....	25
III.4. Caractéristiques des probiotiques	27
III.5. Les principaux micro-organismes probiotiques à usage humain	30
III.6. Effets bénéfiques des probiotiques sur la santé humaine	32
III.6.1. Soulagement de la constipation	32
III.6.2. Amélioration de l'utilisation du lactose par l'organisme	33
III.6.3. Prévention ou raccourcissement de la durée des diarrhées	33
III.6.4. Contrôle des infections intestinales par <i>Helicobacter pylori</i>	34
III.6.5. Activité antivirale	34
III.6.6. Diminution des allergies alimentaires	34
III.6.7. Réduction du taux de cholestérol sanguin.....	35

Chapitre III : Les aliments à base des microorganismes.

A. Les aliments à base des microorganismes.....	36
I.1. Les légumes fermentés	36

I.1.1. Contexte historique des produits fermentés	36
I.1.2. Bénéfices et risques de la lactofermentation de légumes	36
I.1.3. Les bactéries lactiques : modes d'action au sein des fermentations des légumes	37
I.1.4. Les fermentations spontanées	37
I.1.5. Les fermentations contrôlées.....	38
II. Produits laitiers fermentés.....	39
II.1. Lait fermenté	39
II.1.1. Définition.....	39
II.2. Yaourt.....	41
II.2.1. Historique	41
II.2.2. Définition.....	41
II.2.3. Classification des différents types de yaourts	41
II.2.4. Caractéristiques des bactéries du yaourt	42
II.2.4.1. Streptocoques Thermophiles	42
II.2.4.2. Lactobacillus bulgaricus	43
II.2.5. Processus technologiques de la fabrication du yaourt	43
II.2.5.1. Matières utilisées	43
II.2.5.2. Le procédé de fabrication du yaourt	45
II.3. Fromage	47
II.3.1. Définition du fromage	47
II.3.2. Fabrication des fromages	48

II.3.3. Classification des fromages	52
II.4. Lait fermenté acidifié « l'ben ».....	53
II.4.1. Procèdes de fabrication de « l'ben » industriel	53
II.5. Raïb	55
II.5.1. Définition	55
II.5.2. Les types de raïb	55
II.6. kéfir	56
II.6.1. Généralité	56
II.6.2. Structure et formation des grains de kéfir	56
II.6.3. Méthode de préparation du kéfir	59
Conclusion	60
Références bibliographiques.....	61

Liste des figures

Chapitre I :

Figure1: Classification des «aliments santé et place des probiotiques7

Figure 2: Cycle de vie du médicament, de la recherche à la commercialisation.....10

Chapitre II :

Figure 1: Différents types de fermentation14

Figure 2: Arbre phylogénétique consensus, basé sur la comparaison de séquence d'ARNr 16S, montrant les principaux groupes de bactéries lactiques, ayant un faible contenu mol% de G+C de l'ADN ainsi que les bactéries Gram positives non reliées des genres *Bifidobacterium* et *Propionibacterium*15

Figure 3: Représentation schématique d'une cellule de levure de bière17

Figure 4: Exemple de flore positive : Roquefort obtenue avec l'ensemencement de *Penicillium roquefortii*. (Observation au microscope électronique à balayage).....17

Figure 5: *Lactobacillus acidophilus*18

Figure 6: Modes d'ensemencement traditionnel et direct : principales étapes de mise en œuvre par le producteur de ferments et par l'utilisateur21

Figure 7: Diagramme de production de ferments lactiques concentrés congelés ou lyophilisés22

Figure 8: Caractéristiques des souches probiotiques 28

Figure 9: Présentation des effets bénéfiques de la consommation des probiotiques sur la santé humaine	32
---	----

Chapitre III

Figure 1: Processus de fermentation des fruits et des légumes.....	39
Figure 2: Schéma général de la filière lait	40
Figure 3: <i>Streptococcus thermophilus</i>	43
Figure 4: Diagramme général de fabrication des yaourts et des laits fermentés	47
Figure 5: Bactéries et levures à la partie intermédiaire du grain de kéfir situées sur la matrice lamellaire qui forme une masse spongieuse x3040	58
Figure 6: Grains de kéfir. Site de « Kombuchakefir. »	58
Figure 7: Processus général de la préparation du kéfir	59

Liste des tableaux

Chapitre II

Tableau 1: Exemples de produits laitiers fermentés et leurs pays d'origine	24
Tableau 2: Micro-organismes probiotiques les plus importants à usage humain	31

Chapitre III

Tableau 1 : classification des différents types de fromages et micro -organismes utilisés dans leur fabrication	52
Tableau 2: Les microorganismes entrés en fermentation comme facteurs de sécurité.....	56
Tableau 3: Bactéries et levures présentes dans les grains de kéfir	58

Liste des abréviations

- ADN : acide désoxyribonucléique.
- AMM: autorisation de mise sur le marché.
- ANSM: l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des Produits de Santé.
- ARNr : Acide RiboNucléique ribosomal.
- BL: Bactérie Lactique.
- CO₂ : Dioxyde de carbone.
- DVI : Direct Vat Inoculation.
- EFSA :l'Agence européenne de sécurité sanitaire des aliments.
- FAO : Food and Agriculture Organization.
- FOSHU: Foods for Specified Health Use.
- g/l : gramme par litre Log : logarithme décim.
- G+C :Glucoside cyanogénique.
- GRAS : Generally Recognized As Safe.
- LF : Légumes Fermentés.
- Log : Logarithme décimal.
- NaCl : Chlorure de sodium.
- NAD : Nicotinamide adénine dinucléotide.
- NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.
- OMS : Organisation mondiale de la santé.
- PH : potentiel d'hydrogène.
- QSP :Qualified Presumption of Safety.
- UFC : Unité Formant Colonie.

Depuis les années 80, un nouveau concept alimentaire a été mis au point. Il s'agit des « Aliments Fonctionnels ». Leur fonctionnalité se caractérise, ici, par les effets bénéfiques qu'ils possèdent, en terme de prévention et de traitement, sur la santé et le bien-être des consommateurs, dans cette situation, des aliments dans le but de satisfaire des besoins individuels ou collectifs.

De ce fait, la France et donc les industries françaises en profitent pour lancer sur les marchés des aliments dits fonctionnels aux propriétés multiples et variées qui nécessitent une vérification des effets « santé » avancés. Le marché français des aliments santé est cependant en pleine croissance. En 2003, il représentait 5,1 milliards d'euros avec une croissance annuelle de 12,9% par rapport à 2002. Les aliments fonctionnels, quant à eux, représentent 1,4 milliards d'euros. Les précurseurs de ce concept sont les japonais. Ce concept alimentaire a ensuite été adopté par les américains puis les européens. Les aliments fonctionnels sont des aliments relativement récents.

Les bactéries lactiques font partie de la flore intestinale normale et ont toujours montré un effet bénéfique sur la santé et en particulier sur l'équilibre de la flore intestinale. La consommation des produits issus d'une fermentation lactique est de plus en plus accrue grâce aux propriétés probiotiques qui caractérisent les bactéries lactiques et leur effet positif sur la santé et la microflore intestinale (Gorbach, 1996).

Les aliments commercialisés avaient principalement comme but d'améliorer ou de restaurer le contenu nutritionnel ou énergétique des produits, perdu lors d'un traitement technologique. Les ingrédients utilisés étaient dans la majorité des cas des vitamines et des minéraux. Aujourd'hui, les aliments fonctionnels reposent, en plus, sur de nouveaux ingrédients aux propriétés actives (acides gras essentiels, probiotiques, fibres, ...) visant spécifiquement un ou plusieurs problèmes de santé publique. Leur développement est intimement lié aux initiatives et innovations des fournisseurs d'ingrédients. Les aliments fonctionnels d'aujourd'hui, sont plus proches de la santé. En effet, ils se focalisent sur la prévention ou du moins sur la diminution du risque de certaines pathologies. Les principales pathologies ciblées en ce moment sont les affections cardiovasculaires (notamment l'hypercholestérolémie), les troubles gastro-intestinaux et l'ostéoporose (et plus globalement la santé des os et des articulations). Les ingrédients le plus couramment employés, sont les extraits

végétaux (phytostérols, oméga 3, fibres, etc.), les probiotiques et les minéraux. « Cette seconde génération d'aliments fonctionnels est vouée à s'étoffer, notamment parce que plus une pathologie affecte ou menace une part importante de la population, plus le marché potentiel pour un aliment fonctionnel est important »

Dans le cadre de notre projet, nous aurons pour objectif de mettre en lumière les aliments fonctionnels essentiellement ceux qui contiennent des souches probiotiques, les probiotiques sous forme de compléments ainsi que les différents processus pour leur production à l'échelle industrielle et plus spécifiquement les produits laitiers fermentés.

CHAPITRE I

I. Les alicaments

II. Les médicaments

I. Aliments fonctionnels:

I.1. Généralité :

Il n'existe pas de définition réglementaire du terme « aliment », né de la contraction entre « aliment » et « médicament » (Martin,1999). Il s'agit incontestablement d'un terme de marketing (Martin,2000), au même titre que les termes de « nutraceutiques », « pharmafoods », « vitafoods », « cosmétofoods », etc. Les scientifiques préfèrent parler d'« aliments fonctionnels » Bellisele et *al.*, (1998), (modulant une fonction physiologique dans un sens favorable à la santé ou à la réduction d'un risque de maladie), surtout pour des aliments nouveaux spécifiquement conçus dans ce but, ou de valeur santé des aliments pour les aliments traditionnels. Si les principes réglementaires généraux concernant la publicité non trompeuse et la concurrence loyale peuvent en théorie suffire à réguler le développement de cette thématique nouvelle dans le champ alimentaire, il est vite apparu qu'une régulation correcte nécessitait des réflexions plus précises sur deux points : la justification scientifique des effets revendiqués et la manière de communiquer sur ces effets à travers l'étiquetage ou la publicité. Ainsi, depuis une dizaine d'année, dans de nombreux pays industrialisés, des réflexions se sont développées sur ce sujet des «allégations santé » portées par les aliments. La lecture de ces différents textes montre clairement que les modalités de la justification scientifique sont pratiquement consensuelles et des textes internationaux commencent à apparaître. (Codex Committee on nutrition and foods for special dietary use,2000;Guidelines on health claims for functional foods,2001).

I.2. Définition :

1. Nous devons la première définition à un pionnier dans le domaine, le Professeur M. Roberfroid. Pour lui, «un aliment fonctionnel est un aliment qui affecte les fonctions du corps d'une manière ciblée, de façon à en obtenir des effets positifs sur des fonctions physiologiques, par le fait qu'il contient des ingrédients qui améliorent la santé et qui pourront en temps utiles, justifier des revendications de santé ».

2. La seconde est d'origine japonaise, et se rapporte aux "Foods for Specified Health Use" dénommés FOSHU. « Un aliment fonctionnel est un aliment qui, sur base de la connaissance concernant la relation entre des aliments ou des

composants d'aliments et la santé, est susceptible d'avoir des effets favorables sur la santé et qui a été autorisé à porter un étiquetage revendiquant que si une personne l'utilise à un usage de santé particulier, elle peut s'attendre par sa consommation, à en obtenir l'usage de santé ».

3. Pour Goldberg (1994), « un aliment fonctionnel est tout aliment qui, en plus de sa valeur nutritive, a un impact positif sur la santé de l'individu, sur sa performance.

I. 3. Origine des aliments fonctionnels :

I.3.1. Existence ancestrale des aliments dits « fonctionnels » :

Certains aliments sont utilisés depuis très longtemps pour leurs fonctionnalités et leurs effets bénéfiques pour la santé, comme le décrit le Dr Jean-Michel ANTOINE (Direction de la Recherche et du Développement de Danone).« A côté des traditions que la science ne sait pas encore justifier, tout le monde connaît les pratiques hellènes*, où le lutteur mangeait de l'ours et le coureur du cheval, je voudrais mentionner trois pratiques d'aliment fonctionnel :

- La première, sera l'usage du vin. Chez les Grecs, le maître de cérémonie dosait l'adilution du vin servi lors d'un symposium, pour l'adapter à l'objet du symposium. Ainsi le vin, outre sa fonctionnalité hygiénique de rendre l'eau buvable (cf. 1ère Epître de St Paul à Timothée 5-23,24), avait, et a toujours, une fonctionnalité intellectuelle. D'autres travaux scientifiques étudient le bénéfice potentiel sur le système cardiovasculaire, et tentent d'identifier les composants, polyphénoliques en particulier, qui pourraient expliquer ces bénéfices.
- La seconde, plus nautique, était la pratique d'embarquer des agrumes à bord des navires. Nous savons depuis que la vitamine C des citrons permettait effectivement de lutter contre le scorbut qui décimait les équipages, mais à l'époque les vitamines n'étaient pas connues. Notons que le citron ne faisait partie ni de l'avitaillement* ni de la pharmacie du bord. Comme le rhum, il fait partie des usages du bord et cet aliment dit « fonctionnel » se trouvait déjà entre aliment et médicament. Le grog restant une boisson fonctionnelle pratiquée par les terriens.
- La troisième m'a laissé des souvenirs digestifs inoubliables, il s'agit de l'huile de foie de morue qui empoisonnait mon enfance. Cette cuillère d'huile, prise le matin, n'était ni tout à fait un médicament, ni tout à fait un aliment, et si la raison

médicale officielle d'alors était la vitamine D, aujourd'hui on ne sait exactement quel ingrédient était le plus important : les vitamines, ou les acides gras essentiels, ou les antioxydants qui accompagnent ces lipides. Mais c'était un élément très utile, sinon indispensable, à une croissance harmonieuse. L'huile de foie de morue nourrissait probablement des fonctions cérébrales par exemple, en plus d'établir l'autorité parentale ! ».

Mais c'est aussi l'usage de consommer de la levure de bière ou de boulangerie pour avoir un teint plus clair, une peau plus lumineuse. Cet usage des micro-organismes comme adjuvant fonctionnel reste aujourd'hui un des moteurs principaux de développement des aliments fonctionnels au travers des laits fermentés vivants. Ce sont aussi les pâtes qui permettent aux sportifs d'utiliser au mieux leur énergie musculaire, ou les laits fermentés qui renforcent diverses fonctions : ainsi par exemple le yogourt permet à chacun de digérer le lactose du lait car il pallie une déficience enzymatique digestive.» (Forum). Ces aliments sont utilisés pour leurs fonctionnalités et sont dits « fonctionnels ». Cependant, ils ne répondent pas à la définition fixée auparavant. Les « aliments fonctionnels » (répondant à la définition), quant à eux, ont été inventés beaucoup plus tard.

I.3.2. Origine des « aliments fonctionnels »:

Au Japon, la recherche sur les aliments fonctionnels débuta dès les années 1980, lorsque le ministère de l'éducation lança une bourse universitaire en faveur de 86 programmes de recherche portant sur l'analyse et le développement systématiques des fonctions alimentaires. Ces recherches engendrèrent à la fin des années 80 et au début des années 90, le parrainage, par le ministère de l'éducation japonais, d'autres programmes d'études centrés sur deux thèmes : l'analyse de la fonction de régulation physiologique des aliments et l'analyse des aliments fonctionnels et de la conception moléculaire. En 1991, le ministère de la santé et des affaires sociales japonais instaure une réglementation de l'étiquetage pour les denrées alimentaires à usage diététique déclaré. On détermina alors quatre catégories alimentaires que la loi sur l'amélioration nutritionnelle décrivit comme « aliments à usage diététique spécifique » et sur lesquels, il est admis d'inscrire les effets sanitaires spécifiques. Ces aliments ont pour but d'améliorer l'état de santé des personnes.

Aux Etats-Unis, la loi sur l'étiquetage et sur l'éducation en matière de nutrition (Nutrition Labelling and Education Act), mise en application en 1994, autorise l'emploi d'allégations sanitaires sur les aliments contenant certains ingrédients. Ces ingrédients doivent avoir été scientifiquement reconnus être en relation avec certaines maladies par l'office de contrôle pharmaceutique et alimentaire (Food and Drug Administration). Quant à l'Union Européenne, elle mise tout sur la recherche pour renforcer la position concurrentielle de l'industrie alimentaire. La recherche européenne doit être parmi les premières à reconnaître le rôle que joue la modification des fonctions corporelles par les composants alimentaires pour maintenir et améliorer bien-être et santé et pour réduire les risques de maladies graves. (Forum).

I.4. Classification des aliments :

Qu'ils s'appellent aliments-santé, aliments, aliments fonctionnels, nutraceutiques, cosmétofood ou autres, tous ces aliments se rejoignent sur un point : ils prétendent prévenir et / ou soigner des maladies et redonner force, forme et beauté. De par leur positionnement à la frontière entre aliments et médicaments, les aliments sont difficiles à classer. Certains chercheurs essaient de mieux les cerner, tel Bernhard Kitous qui opère une classification en douze catégories,(Arrieux, 2001) :

- ✚ Aliments améliorés, allégés, enrichis,
- ✚ Produits de l'agriculture biologique,
- ✚ Compléments alimentaires ou nutritionnels,
- ✚ Denrées diététiques pour adultes,
- ✚ Diététique infantile,
- ✚ Aliments pour la forme et la minceur,
- ✚ Liquides et eaux minérales,
- ✚ Médicaments avec autorisation de mise sur le marché en vente libre,
- ✚ Denrées alimentaires dont les allégations bénéficient de preuve,
- ✚ Produits-conseils vendus en pharmacie et parapharmacie,
- ✚ Plantes médicinales autorisées hors pharmacie,
- ✚ Cosmétiques à ingérer.

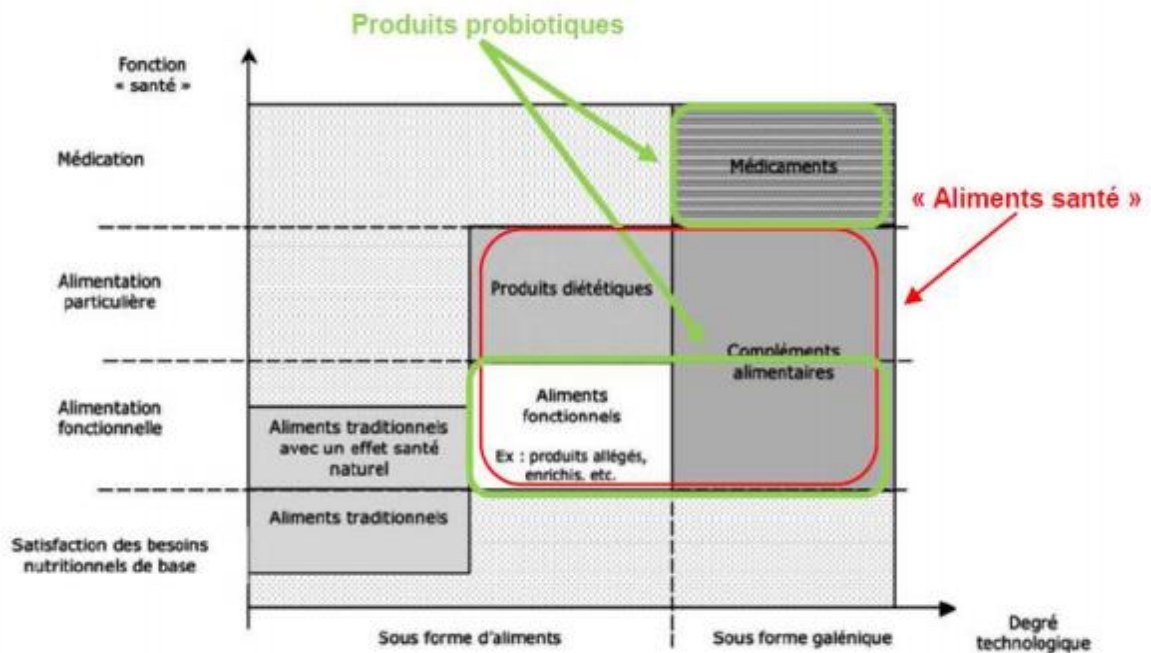


Figure1: Classification des «aliments santé et place des probiotiques (Boudouhi et al.,2005).

I.5. Marché des alicaments :

Bien que le marché des alicaments connaisse une forte croissance en Europe, il est beaucoup plus développé en Asie, en particulier au Japon, et aux Etats-Unis. Selon les pays, la gamme d'aliments est plus ou moins vaste et se développe plus ou moins rapidement. En 1998, l'Allemagne était le premier pays européen en termes de volume de vente d'aliments-santé. En 2000, la croissance des alicaments était estimée à 20 %, soit 5 à 10 % du marché de l'alimentation El Dahr, (2001), Et il suffit aujourd'hui de se rendre dans un magasin d'alimentation pour constater que ces produits prennent de plus en plus de place dans les rayons et, partant, dans les ménages. S'il y a croissance continue et soutenue de la consommation d'aliments, elle ne les touche pas tous de la même manière. La diététique représente sans doute l'alimentation fonctionnelle la plus répandue, une des premières catégories à être apparue sur le marché ; son évolution remarquable pendant les années 80 est en diminution depuis quelques années. Les compléments alimentaires (vitamines en gélule, par exemple) ont tendance à moins se vendre depuis quelque temps, les consommateurs leur préférant désormais des aliments « enrichis en sels minéraux » ou

« à teneur garantie en vitamine C », par exemple. La vente de produits biologiques ou labellisés (« Naturaplan », « Bio », « Eco », etc.) est en constante augmentation ; en Europe, les ventes auraient augmenté de 70% entre 1996 et 2001. (El Dahr, 2001).

II. Les médicaments :

II.1. Définition du médicament:

Un médicament est toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales. Il est administré en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, de corriger ou de modifier leurs fonctions organiques. (Article 170. 1985).

II. 2. Composition du médicament:

Un médicament comprend une partie responsable de ses effets sur l'organisme humain qui est le principe actif, et une partie inactive faite d'un ou plusieurs excipients. (Pharmacopée Européenne.,2005).

II.2.1. Principe actif:

Toute substance pharmacologiquement active au niveau de l'organisme, établie à l'origine des indications thérapeutiques. Son dosage est établi en fonction de la capacité du patient, généralement en très faible concentration dans le médicament par rapport aux excipients. (Pharmacopée Européenne,2005).

II. 2.2. Excipient :

C'est une substance auxiliaire inerte sur le plan thérapeutique, permettant la préparation du médicament. L'excipient a pour fonction d'améliorer l'aspect ou le goût, d'assurer la conservation, de faciliter la mise en forme et l'administration du médicament. Il sert aussi à acheminer la substance active vers son site d'action et à contrôler son absorption par l'organisme. La pharmacopée européenne définit un excipient comme : tout composant autre que le(s) principe(s) actif(s), qui est présent dans un médicament ou utilisé pour sa fabrication. La fonction d'un excipient est de servir de vecteur aux principe(s) actif(s) ou d'entrer dans la composition de vecteur, contribuant ainsi à certaines propriétés de produits telles que la stabilité, le profil biopharmaceutique, l'aspect et l'acceptabilité pour le patient, la facilité de fabrication.

(Pharmacopée Européenne.,2005).On discerne plusieurs types d'excipients, dans le cas d'un comprimé nous distinguons:

- ✚ **Diluant** : phase continue qui permet la dispersion des constituants du médicament dans un volume suffisant.
- ✚ **Liants** : permettent au mélange de poudre d'être cohésif, et assure la formulation des comprimés.
- ✚ **Colorants** : substances colorées servant de témoin d'homogénéité d'un mélange de poudres ou à identifier le médicament fini.
- ✚ **Edulcorant** : excipients qui assurent la modification du goût, permettant de rendre une préparation agréable et de masquer le goût amer d'un principe actif.
- ✚ **Intermédiaires** : substances qui entrent dans formulation des médicaments en assurant sa stabilité intrinsèque.
- ✚ **Conservateurs** : substances destinées à empêcher la dégradation physique, chimique ou l'altération microbiologique d'un médicament. (Dangoumau, 2006).

II.3. Cycle de vie du médicament:

Le cycle de vie du médicament est un processus très long et très réglementé. Il faut environ 13 ans avant de pouvoir sortir sur le marché un médicament. Cette durée varie en fonction du type de médicament étudié. Au début de la recherche plus de 10000 molécules sont identifiées et vont être testées. Les résultats des tests précliniques et cliniques vont permettre de ne sélectionner qu'une seule molécule qui sera le candidat médicament. Avant de pouvoir la commercialiser, il faudra demander une autorisation de mise sur le marché (AMM) auprès des autorités compétentes, le prix du médicament et son taux de remboursement seront fixés à la suite de cette autorisation. Quand tous les accords réglementaires sont obtenus, la production à grande échelle débutera et le médicament sera mis à disposition du patient pour la ou les pathologie(s) identifiée(s). Le médicament reste sous surveillance des autorités de santé et la pharmacovigilance sera en charge du suivi de l'efficacité, de la qualité et de la pureté et de la sûreté du médicament envers le patient (M. Jean-Paul, *et al.*, 2016).

DE L'IDÉE AU PRODUIT : GENÈSE D'UN MÉDICAMENT

Source : Leem

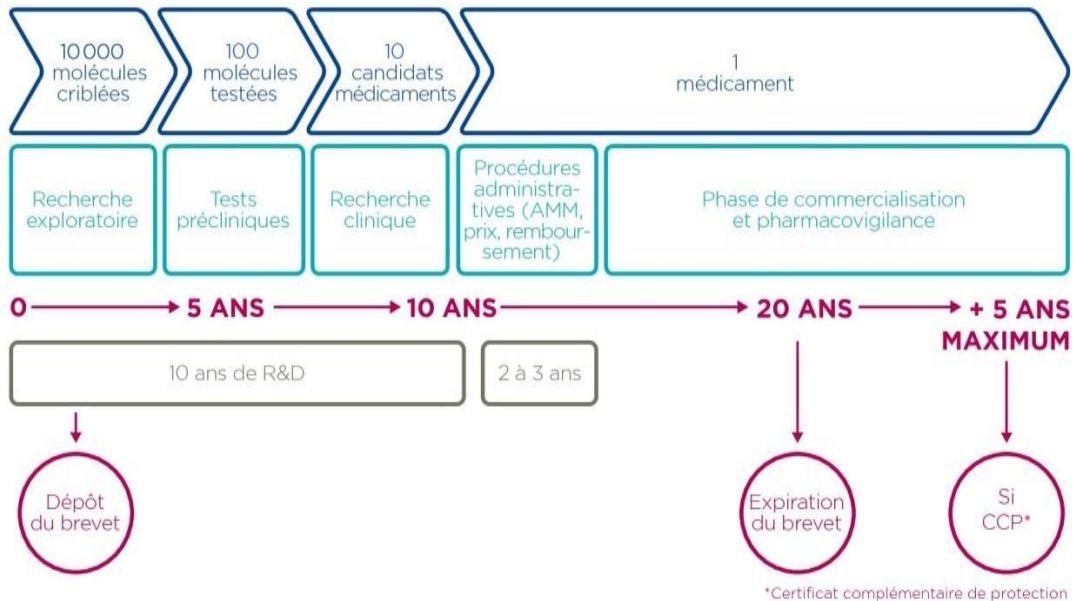


Figure 2: Cycle de vie du médicament, de la recherche à la commercialisation (M. Jean-Paul ,et al., 2016).

II.3.1. Recherche et développement :

Le développement permet d'établir l'efficacité et le devenir des molécules dans l'organisme, ainsi que sa toxicité. Il se déroule en deux temps, les essais pré-cliniques et les essais cliniques, et est soumis à une autorisation délivrée par l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des Produits de Santé (ANSM). Le développement industriel du médicament sera également défini ainsi que son mode d'administration. Ces différentes étapes durent environ 8 à 10 ans.

II.3.1.1 Recherche :

La recherche va permettre d'identifier plusieurs molécules susceptibles de devenir un médicament. Elle est réalisée par les laboratoires des universités, des hôpitaux ou bien des entreprises et elle s'oriente en fonction des découvertes de la recherche fondamentale, des besoins médicamenteux ou bien en fonction de la stratégie d'une entreprise. Il existe différentes façons d'obtenir une substance :

- L'extraction à partir de produits naturels d'origine animale, végétale ou minérale.
- La synthèse chimique.

- La création et la production de substances biologiques par les biotechnologies.
- La modélisation de molécules thérapeutiques actives.

Plus de 10 000 molécules vont être ciblées et étudiées notamment par la méthode duscreening qui permet d'étudier les propriétés chimiques et pharmaceutiques des molécules afin de ne retenir que celles qui présentent l'intérêt thérapeutique recherché. Au terme de cette étape une centaine de molécule seront sélectionnées pour les essais pré-cliniques. Le développement est réalisé en parallèle et permet dans un premier temps de développer la production du principe actif. Puis, dans un deuxième temps de déterminer la galénique associée aux médicaments, c'est-à-dire la forme pharmaceutique et la voie d'administration.

II.3.2. Développement pré-clinique :

Les essais pré-cliniques consistent en la réalisation de tests *in vitro* sur des cellules puis *in vivo* sur des modèles animaux. Ces essais ont pour but de vérifier l'innocuité, la tolérance et l'efficacité du médicament à ses différents stades de développement. Au terme de ces essais, les doses à administrer à l'homme lors de la phase d'essais cliniques seront déterminées.

II.3.3. Développement clinique:

II.3.3.1. Phase 1 du développement clinique:

Réalisée sur un échantillon limité de volontaires sains et rémunérés qui vont recevoir le candidat médicament afin d'évaluer sa tolérance. Lors de cette phase, des études cinétiques vont être menées, elles consistent à observer l'évolution du médicament dans l'organisme en fonction du temps. Cette phase va aussi permettre d'analyser la toxicité sur l'être humain grâce à l'observation d'éventuels effets secondaires. Au terme de cette phase sera établi un ordre de grandeur des doses tolérées.

II.3.3.2. Phase 2 du développement clinique:

Etablir la relation dose-effet du médicament par son administration à un petit nombre de patients malades. Plusieurs doses vont être testées pour établir la plus petite dose efficace et tolérée et les effets secondaires nocifs. Cette étape permet de définir la marge thérapeutique du médicament, c'est-à-dire la concentration minimale et

maximale du médicament pour laquelle il est efficace et ne présente pas d'effets indésirables.

II.3.3.3. Phase 3 du développement clinique :

Ce médicament est administré à un grand nombre de patients pour évaluer son efficacité et sa tolérance dans des conditions d'utilisations plus large sur la population cible. Un grand nombre de patients sont sélectionnés sur des critères bien précis pour avoir une représentativité de la population cible. Ils vont former deux groupes, l'un va recevoir le médicament testé et l'autre un placebo ou un traitement de référence s'il existe. Ainsi l'efficacité et le bénéfice du nouveau médicament seront comparés au placebo ou au traitement de référence. Ces données permettront de décider si ce nouveau médicament peut devenir un standard pour le traitement d'une maladie donnée. Toutes ces phases sont très surveillées et réglementées et le développement d'un médicament peut être arrêté à tout moment s'il présente un risque pour le patient. Parallèlement aux essais cliniques, le développement galénique procédera à la transposition d'échelle afin d'établir la formulation définitive du médicament permettant d'établir la production du principe actif et du médicament sous sa forme galénique définitive. (Ordre National des Pharmaciens, 2016. Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé, 2014).

II.4. Médicaments probiotiques :

Le cadre réglementaire actuel intègre les probiotiques dans le statut "complément alimentaire", qui correspond à des produits dédiés à des consommateurs en pleine santé souhaitant agir en prévention et aucune allégation thérapeutique n'est faite sur l'emballage. D'autre part, des preuves de concept existent concernant le potentiel thérapeutique des probiotiques, mais le cadre réglementaire actuel est trop incertain pour que les industriels puissent déposer des demandes d'autorisation de mise sur le marché du médicament (IRP).

CHAPITRE II

I. Les bactéries lactiques

II. Les ferments lactiques

III. Les probiotiques

I. Les bactéries lactiques:

I.1. Généralités:

Les BL forment un groupe de bactéries se caractérisant par la capacité à fermenter des glucides, tel que le glucose, le sucrose ou le fructose, en acide lactique. Il s'agit de bactéries Gram-positif, en forme de coque ou de bacille, ne formant pas de spores. Elles sont anaérobies et pour la plupart aérotolérantes. Cette tolérance à l'oxygène est médiée par des superoxydedismutase pour certaines BL ou parfois par l'accumulation de métaux, tel que le manganèse, permettant de piéger les espèces réactives de l'oxygène (Archibald, 1981). Elles rassemblent un certain nombre de genres qui se caractérisent par la production, liée à un métabolisme exclusivement fermentaire, de quantités importantes d'acide lactique à partir des sucres. La fermentation est dite:

- ✚ **Homolactique:** Les bactéries homolactiques, utilisant la voie homofermentaire, pratiquent la glycolyse pour fermenter une molécule de glucose en deux molécules d'acide lactique. Pour cela, la cascade de réactions va aboutir à la formation de pyruvate, avec une étape nécessitant la réduction du NAD en NADH. La dernière réaction de la voie homofermentaire est celle catalysée par la lactate déshydrogénase, permettant la formation d'acide lactique à partir de pyruvate, en réoxydant le NADH (Endo, Dicks, 2014).
- ✚ **Hétérolactique facultatives:** si elles produisent de l'acide lactique et de l'acide acétique,
- ✚ **Hétérolactique stricte:** si elles produisent de l'acide lactique, de l'acide acétique ou de l'éthanol et du CO₂ (Leveau et Bouix, 1993 ; Pilet et al, 2005 ; Vandamme et al, 1996).

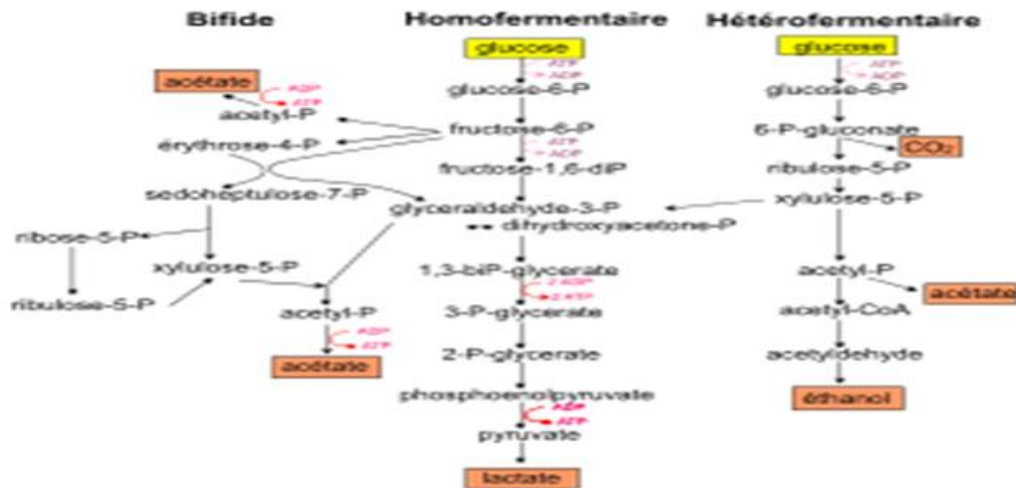


Figure 1: Différents types de fermentation (Axelsson, 2004)

I.2. Définition des bactéries lactiques:

Il faudra attendre Pasteur et ses travaux sur la fermentation en 1857 pour établir un lien entre la fermentation lactique et les bactéries. La première culture bactérienne pure sera d'ailleurs une culture de *Lactococcus lactis* obtenue et décrite par Joseph Lister en 1873 cité par (Penaud, 2006). Metchnikoff isole en 1904 le « bacille bulgare » (*Lactobacillus delbrueckii* sp. *bulgaricus*) présent dans le yaourt. Il étudie les propriétés acidifiantes des bactéries du yaourt et il développera l'idée que les bactéries contenues dans les laits fermentés ont un effet bénéfique sur la santé (Metchnikoff, 1907). Il plaidera en faveur de l'introduction de produits laitiers fermentés dans le régime alimentaire et en 1905, les premières entreprises fabricant du yaourt à partir des souches de l'Institut Pasteur voient le jour (Bibel, 1988).

I.3. Habitat et origine des bactéries lactiques:

Les bactéries lactiques sont très fréquentes dans la nature. Elles se trouvent généralement associées à des aliments riches en sucres simples. Elles peuvent être isolées du lait, du fromage, de la viande, des végétaux ou des alimentsensemencés par les végétaux. Elles se développent avec la levure dans le vin, la bière et le pain. Quelques espèces colonisent le tube digestif de l'homme et des animaux (Leveau et Bouix, 1993; Hassan et Frank, 2001).

I.4. Classification des bactéries lactiques:

Du point de vu taxonomique, les bactéries lactiques sont un vaste ensemble de microorganismes procaryotes qui se rattache au phylum des Clostridium des bactéries à Gram positif dont le pourcentage de G+C est inférieur à 50%. Elles appartiennent à la lignée des Firmicutes, à la classe des Bacilli et à l'ordre des Lactobacillales (Garrity et al., 2007). De plus, le genre *Lactobacillus* a été subdivisé en 25 genres: *Lactobacillus*, *Paralactobacillus*, *Holzapfelia*, *Amylolactobacillus*, *Bombilactobacillus*, *Companilactobacillus*, *Lapidilactobacillus*, *Agrilactobacillus*, *Schleiferilactobacillus*, *Loigolactobacillus*, *Lacticaseibacillus*, *Latilactobacillus*, *Dellaglioia*, *Liquorilactobacillus*, *Ligilactobacillus*, *Lactiplantibacillus*, *Furfurilactobacillus*, *Paucilactobacillus*, *Limosilactobacillus*, *Fructilactobacillus*, *Acetilactobacillus*, *Apilactobacillus*, *Levilactobacillus*, *Secundilactobacillus* et *Lentilactobacillus*. Du fait du caractère récent de cette réattribution, l'ancienne taxonomie sera utilisée dans cette étude pour parler des bactéries lactiques. D'autres taxons bactériens sont parfois assimilés, à tort, aux BL, C'est notamment le cas des espèces appartenant au genre *Bifidobacterium*. Ce genre appartient à l'ordre des Bifidobacteriales du phylum des Actinobacteria. Ce genre est constitué de 75 espèces de bactéries en forme de bâtonnets, Gram-positives et anaérobies, avec quelques espèces aérotolérantes (Holzapfel et al., 2014).

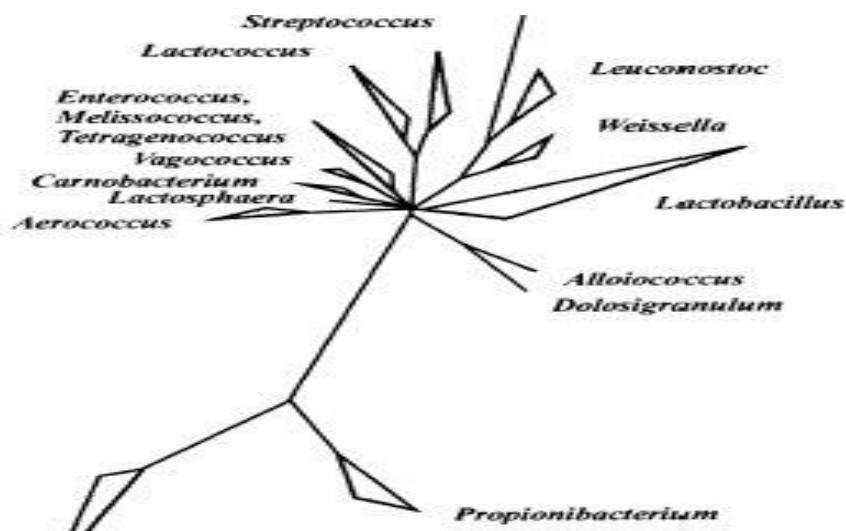


Figure 2: Arbre phylogénétique consensus, basé sur la comparaison de séquence d'ARNr 16S, montrant les principaux groupes de bactéries lactiques, ayant un faible contenu mol% de G+C de l'ADN ainsi que les bactéries Gram positives non reliées des genres *Bifidobacterium* et *Propionibacterium* (Holzapfel et al., 2001).

II. Les ferments lactiques :**II.1.Définition:**

Un ferment lactique est une préparation comprenant un grand nombre de microorganismes (une seule espèce ou plusieurs), qui est ajoutée au lait pour produire un aliment fermenté en accélérant et en orientant son processus de fermentation (Yildiz,2010; Leroy et De Vuyst,2004).La production des ferments lactiques est fondée sur la technique de la « culture pure» initialement élaborée par Robert Koch. Dans une culture pure, chaque colonie microbienne se compose de cellules qui proviennent toutes de la même cellule. Ceci assure que les cultures ne sont pas un mélange de différents micro-organismes inconnus et elles peuvent donc être dénombrées et exploitées pour produire les réactions biochimiques prédéterminées (Solieri et Giudici, 2009; Chamba, 2008; Makarova et al., 2006; Parente et Cogan, 2004).

II.2. Taxonomie des micro-organismes utilisés dans l'industrie laitière :**II.2.1. Levures :**

Les levures, identifiées comme des champignons unicellulaires, pouvant prendre une forme allongée, ovoïde ou même sphérique. Elles sont hétérotrophes : elles ont besoin d'une source de carbone pour se développer, d'azote organique, de vitamines et de sels minéraux. Les levures principalement utilisées comme probiotiques sont les *Saccharomyces cerevisiae* et plus particulièrement la souche *S.boulardii*. D'ailleurs, de nombreuses études montrent que cette dernière est résistante à l'acidité gastrique, à la dégradation protéolytique et aux agents antimicrobiens(Gaier). Les levures sont des micro-organismes largement utilisés aux procédés de production de produits laitiers notamment les fromages (fromages à pâtes molles à croûte fleurie, fromages à pâtes molles à croûte lavée, fromages à pâtes persillées, fromages à pâtes pressées). Et pour la production de certains laits fermentés (Candida kéfir, Torulopsis kéfir). Les levures interviennent essentiellement par production d'éthanol (Branger, 2012).

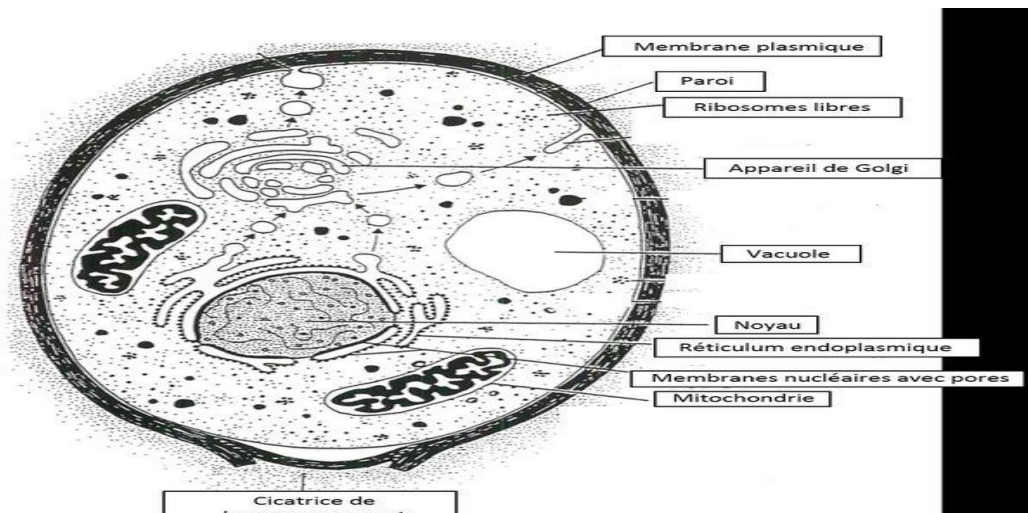


Figure 3: Représentation schématique d'une cellule de levure de bière (Ultrastructure des levures, 2015).

II.2.2. Moisissures:

La production d'une large gamme de fromages (fromages à pâtes molles à croûte fleurie, fromages à pâtes molles à croûte lavée, à pâtes persillées, fromages à pâtes pressées (Ray et Bhljnia, 2008; Baduel, 2002; Robinson, 2002). Les espèces les plus couramment utilisés sont *Penicillium camemberti*, *Penicillium roqueforti*(Branger, 2012).

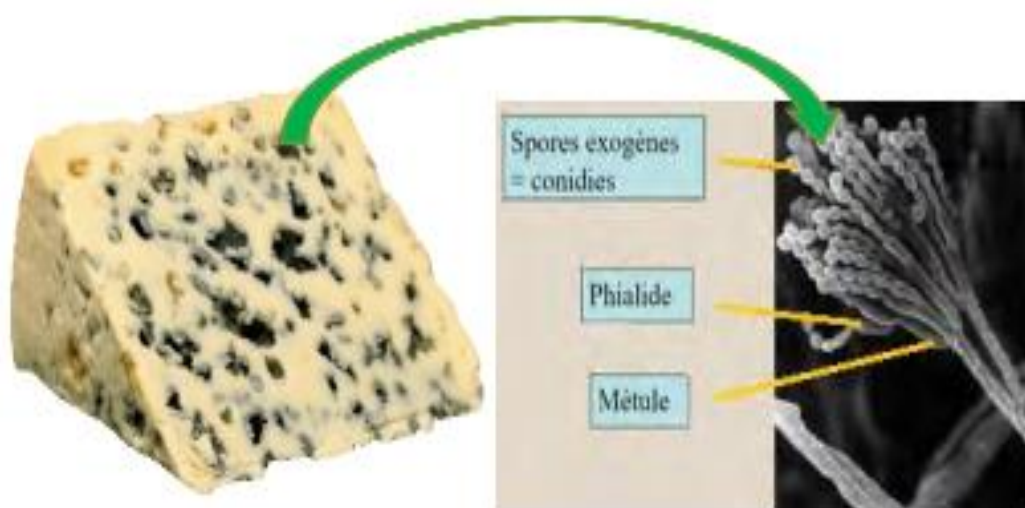


Figure 4: Exemple de flore positive : Roquefort obtenue avec l'ensemencement de *Penicillium roquefortii*. (Observation au microscope électronique à balayage).

II.2.3. Bactéries:

Les bactéries lactiques utilisées dans l'industrie laitière sont restreints à cinq genres principaux: *Lactococcus lactis* sp. *lactis* et *cremoris*; *Streptococcus thermophilus*; *Leuconostoc* espèces *lactis*, *mesenteroides* sp. (*cremoris* et *dextranum*) et *pseudomesenteroides*; *Enterococcus faecalis* et *faecium*; et plusieurs espèces de *Lactobacillus*, notamment *bulgaricus*, *casei*, *brevis*, *helveticus*, *rhamnosus*, *acidophilus*, *fermentum*, *curvatus*, *johnsonii*, et *gasseri* (Shetty et al., 2006).

1. *Lactobacilles* :

Les lactobacilles sont un groupe très hétérogène de bactéries et très répandu dans les environnements végétaux, animaux et humains. Ces bactéries sont employées depuis longtemps pour la fermentation et la conservation de matières premières végétales alimentaires. On les retrouve normalement chez l'homme dans la flore buccale, l'iléon et le côlon, et sont également dominantes dans la flore vaginale (Allaert, Pillon, 2011). Les lactobacilles se présentent sous forme de bâtonnets, et se regroupent en chaînettes. Elles se développent rapidement à température comprise entre 40 et 50°C. Ce sont des bactéries homofermentaires et sont, parmi les bactéries lactiques, celles qui produisent le plus d'acide lactique (Orla-Jensen, 1924) .



Figure 5: *Lactobacillus acidophilus* (Micro-découvertes en ligne, 2019)

2. Les coques :

Les coques font partie de la famille des *Streptococcaceae* dont les plus répandues sont les *Streptocoques*, les *Lactocoques* et les *Entérocoques*. Ils sont de forme sphérique ou ovoïde et peuvent se regrouper en chaînettes. Ils sont anaérobies-

aérotolérants, et forme de l'acide lactique par fermentation du glucose (Garnier, Denis, 2007).

II.3. Rôle des ferments :

La pasteurisation du lait réduit fortement la microflore indigène, le rôle principal des ferments est par conséquent d'initier et conduire le procédé de fermentation selon les propriétés souhaitées dans le produit fini (Carminati et *al.*, 2010; Mozzi et *al.*, 2010; Saithong et *al.*, 2010; Hylckama Vlieg et Hugenoltz van, 2007).

Les ferments contribuent également aux caractéristiques organoleptiques, nutritionnelles et sensorielles des produits et à leur sûreté (Yildiz, 2010). L'impact sur la qualité du produit est fortement dépendant de la souche utilisée et varie entre les souches selon leurs activités et voies métaboliques (Hylckama et Hugenoltz, 2007). Les ferments sont utilisés en raison de leur capacité de production d'acide lactique à partir du lactose. De plus, ils possèdent d'autres fonctions importantes comme l'inhibition des micro-organismes indésirables, l'amélioration des propriétés sensorielles et rhéologiques, en plus de leurs bienfaits prouvés pour la santé. Etant donné que les ferments commerciaux comportent des souches choisies d'espèces prédéfinies ayant des propriétés métaboliques connues, l'introduction de ces ferments a significativement amélioré la qualité commerciale et hygiénique des produits laitiers fermentés et a contribué à l'harmonisation des normes de qualité (Parente et Cogan, 2004).

II.4. Types de ferments :

Les ferments peuvent être classés sur la base de leur fonction, leur température de croissance, ou leur composition. Avant l'arrivée de la biotechnologie moderne, des ferments artisanaux étaient utilisés. Bien qu'ils soient encore en usage, leur instabilité microbiologique a favorisé l'évolution de production de mélanges de bactéries lactiques prédéfinies afin d'obtenir une activité et une qualité d'acidification plus stables dans les produits finaux (Marth et Steele, 2001).

i. Ferments artisanaux :

Tous les ferments disponibles actuellement sont dérivés des starters artisanaux de composition non définie (contenant un mélange de différentes souches et/ou

espèces non définies) (Brusetti et *al.*, 2008; Uchida et *al.*, 2007). La production de telles cultures, aussi définies comme « ferments naturels » est dérivée d'une pratique antique dénommée "backslopping" (l'utilisation d'un vieux batch d'un produit fermenté pour inoculer un produit neuf) et/ou par l'application des pressions sélectives (traitement thermique, la température d'incubation, baisse de pH) (Carminati et *al.*, 2010). Aucune précaution spécifique n'est employée pour empêcher la contamination à partir du lait cru ou à partir de l'environnement de fabrication, et le contrôle du milieu et des conditions de culture pendant la production de starters est très limité (Robinson, 2002).

ii. Ferments commerciaux:


Les ferments commerciaux sont en général commercialisés sous forme lyophilisée et peuvent être utilisés pour l'inoculation directe de la cuve de fermentation (Direct Vat Inoculation, DVI). Ces ferments sont développés en grands volumes à partir d'une culture initiale définie ou non définie, concentrée (typiquement par centrifugation) et ensuite congelée ou lyophilisée pour le stockage et la distribution (Robinson, 2002; Marth et Steele, 2001). Le ferment concentré est directement introduit dans la cuve, ce qui évite la contrainte de la propagation sur place. Actuellement, les ferments de type DVI sont devenus plus accessibles vu l'amélioration des technologies de la concentration et la conservation de ces micro-organismes (Carminati, 2010).

ii.1. Selon leur composition, les ferments commerciaux peuvent être classés en trois catégories :

ii.1.1. Les ferments purs: constitués d'une souche d'une seule espèce bien caractérisée

ii.1.2. les ferments mixtes: dont la composition est partiellement ou non déterminée

ii.1.3. les ferments mixtes sélectionnés: qui contiennent plusieurs souches bien définies issues d'une ou de plusieurs espèces (Carminati et *al.*, 2010; Corrieu et Luquet, 2008; Robinson, 2002).

 **Cultures pures:** Plusieurs ferments lactiques disponibles sur le marché sont composés d'une seule souche pure lyophilisée, il s'agit des cultures starters pures (Leroy et De Vuyst, 2004; Parente et Cogan, 2004).

✚ **Cultures à variétés mélangées partiellement ou non définies:** Pour beaucoup de fromages, les ferments artisanaux ont été remplacés par les ferments à variétés mélangées commerciales (Mixed Strain Starters, MSS). Ces préparations sont dérivées des meilleures cultures naturelles et produites dans des conditions contrôlées par des entreprises spécialisées (Robinson, 2002). Bien que la composition des MSS soit non définie, leur production sous des conditions plus contrôlées réduit la variabilité intrinsèque liée à l'utilisation des ferments artisanaux (Solieri et Giudici, 2009; Parente et Cogan, 2004; Limsowtin *et al.*, 1996).

ii.2. Technologie de production des ferments commerciaux :

ii.2.1. Modes d'ensemencement :

Traditionnellement, les ferments lactiques étaient fabriqués dans l'usine dans laquelle ils étaient ensuite utilisés. Ils étaient conservés sur milieux solides, ou liquides, soit à 4 °C, soit sous forme congelée. Avant leur utilisation, ils étaient propagés sur un milieu nutritif, en plusieurs précultures successives, pour atteindre le volume nécessaire à l'ensemencement des cuves de fabrication. Actuellement, ces précultures subsistent chez certains producteurs notamment en fromagerie, malgré des inconvénients liés à leur lourdeur de mise en œuvre, leur répétabilité incertaine et les difficultés de maintien de l'hygiène au sein de l'unité de production (sensibilité aux infections phagiques) (Corrieu et Luquet, 2008).

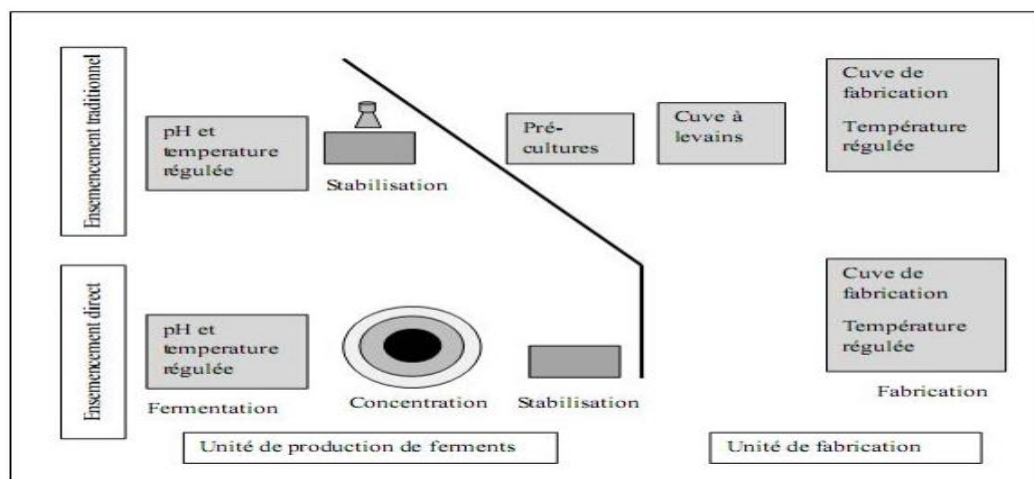


Figure 6: Modes d'ensemencement traditionnel et direct : principales étapes de mise en œuvre par le producteur de ferments et par l'utilisateur (Corrieu et Luquet, 2008).

ii.2.2. Diagramme général de production:

La production industrielle des ferments lactiques concentrés se déroule selon les étapes illustrées dans la Figure 7:

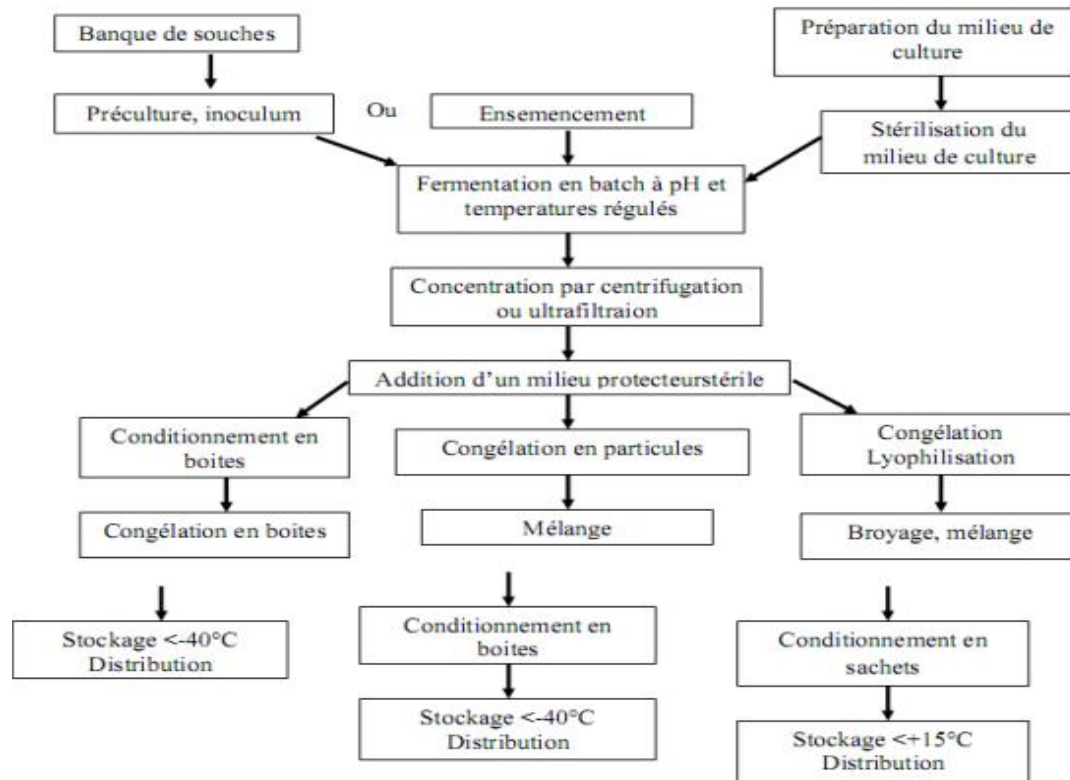


Figure 7: Diagramme de production de ferments lactiques concentrés congelés ou lyophilisés (Corrieu et Luquet, 2008).

- ✚ **Préparation du milieu de culture:** la préparation des milieux fait intervenir en premier lieu un choix raisonné des matières premières, en fonction des besoins des micro-organismes, du coût des constituants et du savoir-faire du producteur;
- ✚ **Traitement thermique :** le milieu de culture constitué doit être traité thermiquement afin de le débarrasser des micro-organismes contaminants, puis refroidi à la température de fermentation. Son pH est ajusté à la valeur optimale pour la bactérie à cultiver ;
- ✚ **Inoculation ou Ensemencement:** l'inoculum est constitué soit d'une préculture préalablement incubée, soit de bactéries congelées ou lyophilisées qui sont ajoutées directement dans le fermenteur. Quand les bactéries lactiques sont isolées pour être développées comme ferments, elles doivent démontrer une aptitude à être produites à grande échelle, pour résister au processus de lyophilisation et pour maintenir leur activité fonctionnelle (Edward et *al.*, 2010; Schwab et *al.*, 2007). La

majorité des productions de ferments est effectuée en cultures pures, même si les cultures mixtes peuvent présenter un intérêt ;

- ✚ **Fermentation:** la fermentation est généralement conduite en discontinu, dans des conditions contrôlées de température et de pH et sous une faible agitation. Une anaérobiose partielle ou totale peut être maintenue ;
- ✚ **Concentration et récolte :** une étape de récolte et de concentration suit la phase de propagation des bactéries. Elle permet d'éliminer la majeure partie de l'eau contenue dans les milieux de culture et d'aboutir à une concentration cellulaire élevée. Elle est réalisée par centrifugation ou filtration tangentielle (Luquet et Corrieu, 2008; Salminen et al., 2004).
- ✚ **Conditionnement:** la concentration des cellules est suivie de l'addition de molécules de protection, dont le rôle est d'aider les cellules à survivre et à se maintenir dans un état physiologique actif, à l'issue des étapes de stabilisation et de stockage ultérieures.
- ✚ **Stabilisation:** la stabilisation des bactéries concentrées protégées est réalisée soit par congélation, soit par lyophilisation. Les conditions de réalisation de ces opérations sont définies de façon à limiter les dommages cellulaires qu'elles entraînent.
- ✚ **Conditionnement final:** le conditionnement final des concentrés bactériens intervient soit avant, soit après l'étape de stabilisation, en fonction des conditions dans lesquelles, celle-ci est réalisée. Il peut être précédé d'une étape de mélange de plusieurs souches.
- ✚ **Stockage:** le stockage des ferments concentrés stabilisés est réalisé à température contrôlée, pendant une durée au moins égale à trois mois, selon les spécifications du producteur (Corrieu et Luquet, 2008; Salminen et al., 2004).

Tableau 1: Exemples de produits laitiers fermentés et leurs pays d'origine (INRA, 2009)

Nom	Description	Pays présumé d'origine	Ferment(s) impliqué(s)
Yoghourt/ Yaourt	Produit ferme ou brassé, arôme caractéristique.	Asie, Balkans	<i>S. thermophilus</i> <i>Lb. bulgaricus</i> (+ <i>Lb. acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium</i> ssp.)
Lait à l'<i>acidophilus</i>	Produit ferme, brassé ou liquide, faible arôme.	Etats-Unis	<i>Lb. acidophilus</i>
Kéfir	Boisson brassée, consistance crémeuse, arôme et gout caractéristique (CO ₂).	Caucase	<i>Lc. lactis</i> , <i>Lc. cremoris</i> , <i>Lb. kéfir</i> , <i>Lb. casei</i> , <i>Lb. acidophilus</i> , <i>Leuconostoc</i> ssp., levures
Koumis	Boisson pétillante, acide, gout rafraîchissant et arôme caractéristique.	Mongolie	<i>Lb. bulgaricus</i> , <i>Lb. acidophilus</i> , levures
Lassi	Boisson laitière aigre diluée avec de l'eau, consommée sale, épicée ou sucrée.	Inde	<i>Lactococcus</i> ssp., <i>Lactobacillus</i> ssp., <i>Leuconostoc</i> ssp., levures
Dahi	Produit ferme ou brassé, ou boisson liquide, flaveur agréable, acide ou faiblement acide.	Inde	<i>S. thermophilus</i> , <i>Lb. bulgaricus</i> , <i>Lc. diacétylactis</i> , <i>Leuconostoc</i> ssp.
Leben	Produit ferme ou brassé, gout et arôme agréable.	Moyen orient	<i>S. thermophilus</i> , <i>Lb. bulgaricus</i> , <i>Lb. acidophilus</i> , <i>Lc. lactis</i> , levures
Filmjölkk	Boisson brassée, visqueuse, saveur acidulée.	Suède	<i>Lc. lactis</i> , <i>Lc. cremoris</i> , <i>Lc. diacétylactis</i> , <i>Ln. cremoris</i>
Villi	Produit brassé visqueux, acidulé et gout agréable	Finlande	<i>Lc. lactis</i> , <i>Lc. cremoris</i> , <i>Lc. diacétylactis</i> , <i>Lc. dextranicum</i> , moisissure (<i>Geotrichum candidum</i>)

III. Les probiotiques:

III. 1. Découverte:

Au début du XXème siècle, en 1907, le biologiste d'origine ukrainienne Elie Metchnikoff s'intéresse à la consommation de produits laitiers fermentés contenant des bactéries lactiques. Il observe chez les individus les consommant une longévité de la santé et donc des effets bénéfiques. Metchnikoff, co-lauréat du prix Nobel de physiologie et de médecine en 1908, a découvert en travaillant à l'Institut Pasteur de Paris la bactérie *Lactobacillus bulgaricus*, une souche qu'il introduisit par la suite dans des produits laitiers en France et en Europe (Meurman,2005).

Parallèlement, le pédiatre français Henri Tissier observa dans les selles d'enfants souffrant de diarrhées un faible nombre de bactéries de forme bifides, appelées par la suite bifidobactéries, par rapport aux selles d'enfants en bonne santé. Il proposa donc d'en administrer à des individus souffrant de diarrhées pour rétablir la flore intestinale (FAO / OMS.,2001).

III.2. Définition:

Les bactéries probiotiques sont des bactéries lactiques entériques. Elles sont présentes naturellement dans le tractus intestinal de l'animal à un moment ou un autre de sa vie. Les bifidobactéries et les lactobacilles sont les deux principales souches de bactéries probiotiques utilisées dans les produits alimentaires (Heyman et *al.*, 2006). Les souches de probiotiques (lactobacilles et bifidobactéries) introduites dans l'alimentation sous forme de produits lactés fermentés ou de suppléments alimentaires (dans les produits non-fermentés), et qui s'implanter vraiment dans le tube digestif, peuvent interagir avec la flore intestinale, les cellules épithéliales intestinales et dans une moindre mesure les cellules immunitaires (Heyman et *al.*, 2006).

III.3. Processus de production:

Quel que soit le probiotique, le processus de production est toujours le même et se divise en neuf étapes que nous allons détailler ci-après.

III.3.1 Conservation des souches :

Tout commence par des bactéries issues de la banque de cellules. Celle-ci comprend l'ensemble des bactéries qui ont été isolées, étudiées et sélectionnées, puis conservées à une température de -80°C. Cette conservation permet une bonne stabilité génétique des bactéries sur le long terme. Lors du prélèvement d'une souche, différents contrôles de qualité sont réalisés dans le but de détecter d'éventuelles contaminations et vérifier la caractérisation de la souche (innocuité, fonctionnalité et résistance au tractus digestif) (Allemand Human Health).

III.3.2 Préparation de l'inoculum :

L'étape suivante consiste en la préparation, dans les conditions stériles, du milieu de culture adapté et riche en nutriments afin de permettre la croissance de la souche à produire (Allemand Human Health).

III.3.3 Inoculum industriel :

L'inoculum est peu à peu introduit au milieu de culture adapté, les bactéries commencent alors à proliférer (Allemand Human Health).

III.3.4 Pré-fermentation et fermentation :

Une fois la qualité et la pureté de l'inoculum vérifiées, ce dernier est transféré dans des conditions stériles à un pré-fermenteur dont les conditions de croissance sont surveillées en continu (pH, température, pression...). Les pré-colonies obtenues sont ensuite transférées à un fermenteur industriel. La culture dure souvent moins de 24 heures au cours desquelles il est important de régler précisément les paramètres du milieu (Allemand Human Health).

III.3.5 Centrifugation ou ultrafiltration :

A la fin de la fermentation, la biomasse est récupérée et isolée du milieu de culture par centrifugation. 75% de l'eau sont éliminés à ce stade. La concentration en bactéries est alors augmentée de 50 à 100 fois plus. Une formule cryoprotectrice est ensuite mélangée à la colonie bactérienne afin de la protéger pour l'étape qui suit (Allemand Human Health).

III.3.6 Lyophilisation :

Est une étape de déshydratation durant laquelle les bactéries sont soumises à une température extrêmement basse, ce qui va permettre d'éliminer l'eau restante par phénomène de sublimation. Cette étape peut durer de un à trois jours et aboutit à la formation d'un « gâteau » solide (Allemand Human Health).

III.3.7 Broyage :

La dernière étape physique est le broyage du « gâteau » permettant d'aboutir à une poudre fine et homogène appelée « culture pure ». La culture est alors très concentrée puisqu'un grain de poudre contient jusqu'à 10⁹ bactéries (Allemand Human Health).

III.3.8 Mélange et formulation

Pour obtenir la concentration finale souhaitée dans le produit fini, la culture pure est diluée par mélange avec d'autres composants comme par exemple des agents de charge ou des diluants. Elle pourra aussi être associée à d'autres cultures bactériennes pures ou encore à des enzymes digestives, des vitamines, des minéraux, des extraits de plante... Cette étape se fera évidemment dans des conditions strictes de température et d'humidité (Allemand Human Health).

III.3.9 Conditionnement :

une étape clé pour la survie des cultures et doit être optimal quel que soit la forme galénique du produit fini (G. Lemetais, 2012).

III.3.10. Contrôles qualité :

Pour satisfaire à l'exigence de sécurité des produits, les industriels doivent effectuer des contrôles stricts et répétés au cours de la production. Il s'agit de s'assurer de l'innocuité des souches de micro-organismes utilisées.

III.4. Caractéristiques des probiotiques:

Qu'il soit d'origine bactérienne ou fongique, un probiotique doit respecter des conditions scientifiques, réglementaires et économiques pour être qualifié comme tel Fontana et *al.*, (2013). Ces critères, rappelés dans le rapport de l'AFSSA en 2005, doivent être mis en évidence lors d'études *in vitro* et *in vivo*.

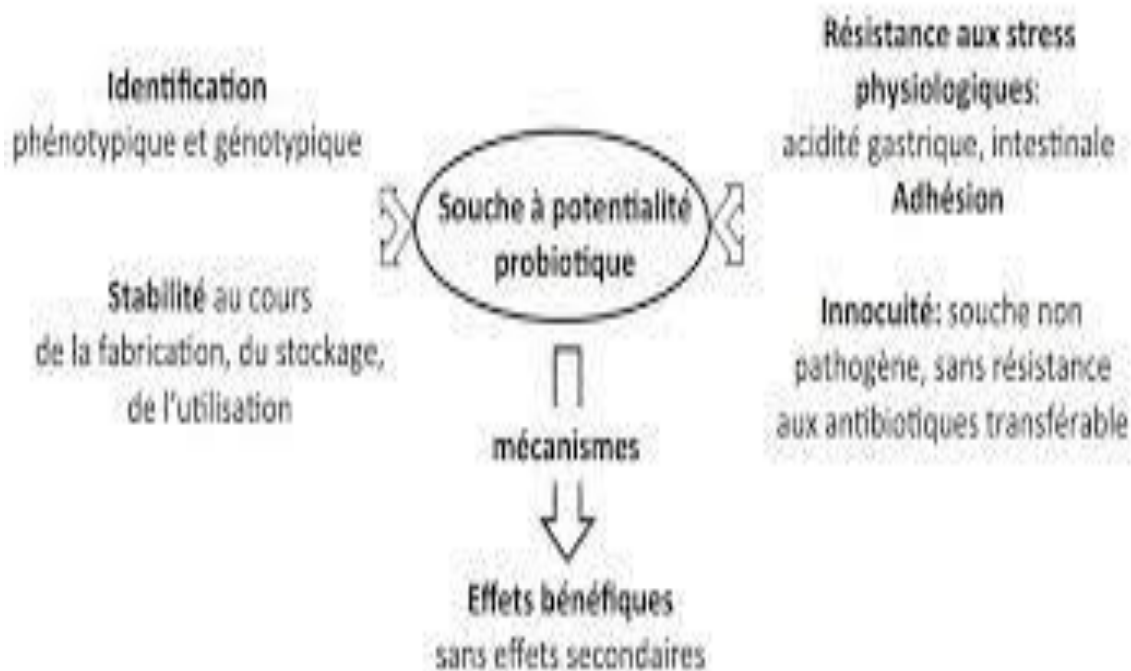


Figure 8: Caractéristiques des souches probiotiques (Butel,2014).

III.4.1. Identification de la souche :

Il faut savoir tout d'abord que les différentes souches d'une même espèce bactérienne ne sont pas équivalentes en termes d'effets biologiques et cliniques. De ce fait, les résultats de travaux sur une souche donnée ne peuvent être extrapolés à une autre souche, même si elles appartiennent au même genre ou à la même espèce bactérienne. C'est pourquoi les souches utilisées dans les produits probiotiques doivent être caractérisées de façon précise. Pour ce faire, il existe des méthodes moléculaires de détermination phénotypique et génotypiques. La méthode de référence est la méthode d'hybridation ADN-ADN, ou le séquençage du gène codant pour l'ARNr 16S. Ensuite, la caractérisation de la souche doit être réalisée par une méthode reconnue telle que l'électrophorèse en champ pulsé (Berta et *al.*,2019). Les souches sont ensuite déposées dans une collection de cultures reconnue à l'échelon international, où un code alphanumérique d'identification leur est attribué (B. H. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture, 1950).

III.4.2 Innocuité:

Une souche probiotique se doit d'être exempte de toute pathogénicité vis-à-vis du consommateur. Leur évaluation doit démontrer l'absence d'effets secondaires, de pathogénicité et d'effets carcinogènes. Leur innocuité reste pour le moment plus présumée que prouvée puisque c'est leur consommation historique dans le domaine agroalimentaire qui constitue une preuve de sécurité pour certains microorganismes. En effet, la directive relative aux nouveaux aliments et nouveaux ingrédients alimentaires, impose que les souches n'ayant pas été utilisées pour la consommation humaine avant 1997 doivent fournir un dossier toxicologique complet avec commercialisation afin d'évaluer son innocuité. Le niveau d'exigence étant élevé, seuls 14 dossiers sur 53 ont été approuvés (Azaïs-Braesco, 2007). Par ailleurs, les industriels sont tenus d'éliminer les souches probiotiques pouvant être des réservoirs de gènes de résistance aux antibiotiques ou encore l'éventuelle présence de métabolites de fermentation (notamment des entérotoxines) potentiellement délétères, dans le produit fini (Azaïs-Braesco, 2007).

Depuis 2007, l'Agence européenne de sécurité sanitaire des aliments (EFSA), dresse une liste de compléments alimentaires jugés inoffensifs pour l'homme : la liste QSP (Qualified Presumption of Safety). La plupart des souches probiotiques font partie de cette liste pour leur présomption d'innocuité. Parallèlement, aux Etats-Unis, les probiotiques ont le statut GRAS (pour Generally Recognized As Safe) lorsqu'ils sont jugés dénués de pathogénicité.

III.4.3 Stabilité

Les probiotiques doivent être ingérés vivants pour être actifs dans l'organisme. Pour cela, ils requièrent une stabilité optimale durant la préparation, l'entreposage et jusqu'à l'ingestion chez l'hôte. Ils doivent résister aux différentes conditions de stress rencontrées lors du traitement industriel et plus spécifiquement durant le temps de séchage, de chauffage ou de congélation.

III.4.4 Survie au cours du transit et adhésion aux cellules intestinales :

Une fois ingéré, les probiotiques doivent faire face aux différents facteurs de résistance de l'organisme et arriver vivants au niveau du site d'action. La capacité de survie dépend de la résistance de la souche, de la dose de probiotique ingérée, des

facteurs liés à l'hôte mais aussi du vecteur alimentaire ou galénique avec lequel ils sont ingérés (Boclé, 2005). Dans l'estomac, l'acidité gastrique est le premier facteur de défense auquel les microorganismes sont confrontés. Par conséquent, une tolérance élevée à l'acidité stomacale est requise pour tout probiotique. Le prochain obstacle se trouve au niveau du duodénum où les acides biliaires sécrétés exercent une activité antiseptique et donc détergente pour les bactéries exogènes. Là encore, le pourcentage de survie des probiotiques peut diminuer. Dans l'intestin, les microorganismes probiotiques doivent résister au mucus, qui contient des substances antimicrobiennes, ainsi qu'au péristaltisme qui limite toute colonisation bactérienne par son important effet propulsif. Pour cela, les souches probiotiques ingérées doivent avoir une grande capacité d'adhésion à la paroi intestinale afin d'augmenter leur survie et leur efficacité (Flourié, Nancey, 2007). La flore endogène, quantitativement plus importante que la flore allochtone, est une barrière puissante contre l'implantation des bactéries exogènes, et empêche de ce fait toute colonisation de probiotiques. Ces derniers font partis de la flore de passage : ils ne s'implantent pas dans l'intestin mais le colonisent de façon transitoire (de deux à vingt jours en moyenne). Il est donc indispensable d'apporter des probiotiques de manière régulière pour avoir un effet bénéfique persistant.

III.5. Les principaux micro-organismes probiotiques à usage humain :

Selon la FAO et l'OMS, les probiotiques sont des "micro-organismes vivants qui lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates produisent un avantage pour la santé de l'hôte" (Fijan, 2014). Certains médicaments, aliments (principalement les produits laitiers fermentés) ou compléments alimentaires contiennent des micro-organismes vivants représentés par des bactéries ou des levures. Les principaux micro-organismes probiotiques à usage humain peuvent être répartis en trois groupes.

Tableau 2: Micro-organismes probiotiques les plus importants à usage humain (Huys,2013).

Groupe	Bactéries lactiques			Bactéries non lactiques	Levures
	<i>Lactobacillus</i>	<i>Bifidobacterium</i>	Autre		<i>Saccharomyces</i>
Espèces	<i>L. acidophilus</i> <i>L. brevis</i> <i>L. casei</i> <i>L. crispus</i> <i>L. delbrueckii subsp. bulgaris</i> <i>L. fermentum</i> <i>L. gasseri</i> <i>L. helveticus</i> <i>L. johnsonii</i> <i>L. lactis</i> <i>L. paracasei</i> <i>L. plantarum</i> <i>L. reuteri</i> <i>L. rhamnosus</i> <i>L. salivarius</i>	<i>B. adolescentis</i> <i>B. animalis</i> <i>B. bifidum</i> <i>B. breve</i> <i>B. infantis</i> <i>B. lactis</i> <i>B. longum</i>	<i>Enterococcus faecium</i> <i>E. faecalis</i> <i>Streptococcus lactis</i> <i>S. thermophilus</i> <i>Lactococcus lactis</i>	<i>Bacillus cereus</i> <i>B. subtilis</i> <i>Escherichia coli</i> Nissle 1917 <i>Pr. acidopropionici</i>	<i>S. boulardii</i> <i>S. cerevisiae</i>

III.6. Effets bénéfiques des probiotiques sur la santé humaine :

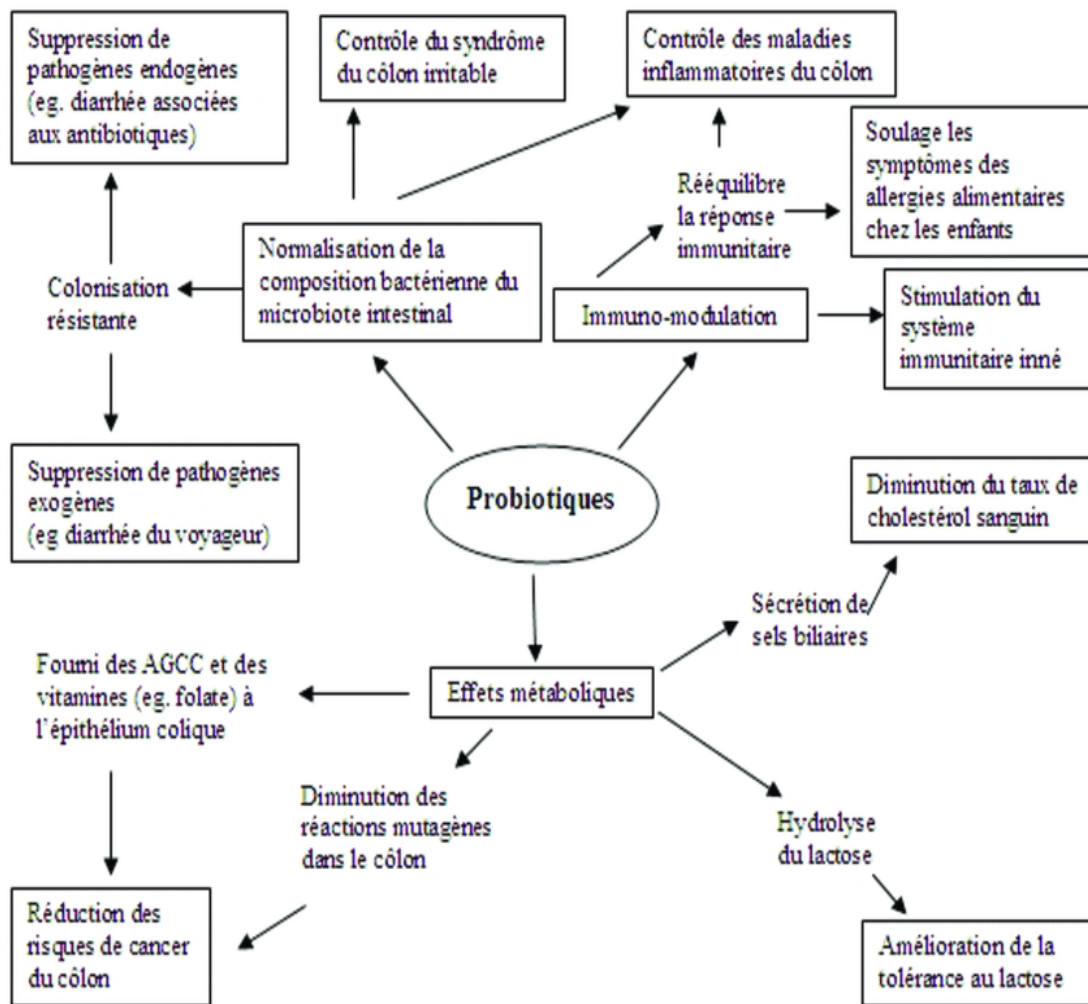


Figure 9: Présentation des effets bénéfiques de la consommation des probiotiques sur la santé humaine (Saarela et al., 2000).

Les principaux effets bénéfiques sur la santé de l'hôte sont les suivants :

III.6.1. Soulagement de la constipation :

Les lactobacilles peuvent avoir des effets sur la constipation (selles difficiles, dureté excessive des selles, transit intestinal lent) et permettent de réduire l'utilisation de laxatifs, qui ont l'inconvénient majeur d'éliminer différentes substances essentielles à l'organisme comme les acides aminés, les minéraux... (Guarner et al., 2008).

III.6.2. Amélioration de l'utilisation du lactose par l'organisme :

L'un des effets des bactéries lactiques qui a été le plus mis en avant et démontré chez l'Homme est celui qui concerne l'amélioration de l'intolérance au lactose (De Vrese et al., 2001). Chez les personnes souffrant d'intolérance au lactose, un déclin de la production de β -galactosidase est observé au-delà de la petite enfance. La deuxième cause d'intolérance (intolérance secondaire) est représentée par les maladies comme les résections intestinales, les gastro-entérites, la maladie céliaque ou les gastrectomies. Plusieurs études ont montré que la β -galactosidase des bactéries lactiques participait à la digestion du lactose dans l'intestin. En principe, le remplacement du lait par du yaourt conduit à une meilleure absorption et une meilleure tolérance chez les sujets présentant une intolérance au lactose (primaire et secondaire). *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* sp. *bulgaricus* améliorent la digestion du lactose et réduisent les symptômes liés à l'intolérance au lactose (douleurs abdominales, ballonnements). Plusieurs travaux explicatifs ont montré que la lactase de bactéries lactiques participe à la digestion du lactose du yaourt (90%) chez les sujets déficients en lactase (Guarner et al., 2008).

III.6.3. Prévention ou raccourcissement de la durée des diarrhées :

Des études cliniques ont démontré que la diarrhée du voyageur, diarrhée aux rotavirus, diarrhée associée aux antibiotiques comme celle causée par *Clostridium difficile*, peuvent être contrecarrées avec succès par l'utilisation de probiotiques tels que: *L. rhamnosus*, *B. bifidum*, *S. thermophilus*, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus* (Wang et al., 2004). Les mécanismes potentiellement impliqués incluent la production d'acide lactique, de peroxyde d'hydrogène, d'autres substances antimicrobiennes telles que les bactériocines, la compétition pour des nutriments ou des récepteurs d'adhésion, des actions anti toxines et la stimulation du système immunitaire (Gill, 2003). Plusieurs études randomisées contrôlées sur l'Homme ont montré l'efficacité des souches probiotiques pour prévenir ou atténuer les perturbations digestives liées à la prise d'antibiotiques Cremonini et al., (2002); Fooks et Gibson (2002) et les diarrhées nosocomiales infantiles dues surtout à des rotavirus (Szymanski et al., 2006).

III.6.4. Contrôle des infections intestinales par *Helicobacter pylori* :

L'infection par *Helicobacter pylori* favorise les risques d'ulcère du duodénum et de l'estomac et de certains cancers et lymphomes gastriques (Dial et Lichtenberges, 2002). Wang et *al.*, (2004) ont rapporté que la consommation régulière de yaourt additionné de *L. acidophilus* La5 ou de *Bifidobacterium lactis* BB12 induit une suppression effective de l'infection due à *Helicobacter pylori*. La croissance d'*Helicobacter pylori* est inhibée par la production de quantités importantes d'acide lactique (Zubillaga et *al.*, 2001) et par la production de bactériocines notamment la lacticine produite par *Lactococcus lactis* et qui exerce une activité antimicrobienne contre plusieurs souches d'*Helicobacter pylori*.

III.6.5. Activité antivirale :

Les probiotiques, comme une partie de la microflore intestinale, sont signalés à promouvoir la défense de l'hôte et à moduler le système immunitaire (Clancy, 2003; Cross, 2002). Parmi elles, les genres *Lactobacillus sp.* et *Bifidobacterium sp.*, sont indiqués pour stimuler l'immunité systémique à médiation cellulaire (TH1) et sont aujourd'hui largement utilisés dans les thérapies probiotiques (Clancy, 2003; Cross, 2002). Ils ont plusieurs avantages à l'hôte, y compris le potentiel de stimuler l'activité antivirale (Kidd, 2003 ; Kaila et *al.*, 1995).

Les avantages des probiotiques ont été démontrés chez les patients présentant des diarrhées associées aux rotavirus et au VIH (Goossens et *al.*, 2003; Rosenfeldt et *al.*, 2002; Rolfé, 2000). Les mécanismes par lesquels elles combattent les infections ont suggérés d'inclure l'exclusion des agents pathogènes par le biais de la concurrence pour la fixation et la stimulation des défenses immunitaires de la cellule hôte (Isolauri, 2003).

III.6.6. Diminution des allergies alimentaires :

L'allergie alimentaire du nourrisson se traduit souvent par de l'eczéma atopique. Les traitements curatif et préventif de cette pathologie par des BAL ont été évalués lors d'une étude clinique sur 27 enfants nourris au sein et souffrant d'eczéma atopique (Arvola et *al.*, 2000). Il a été notamment observé qu'après deux mois de traitement avec une formule supplémentée en *L. rhamnosus GG* et *B. lactis BB12*, il y a eu une amélioration plus rapide de l'état atopique en comparaison avec le groupe placebo.

Un effet préventif de *L. rhamnosus GG* a aussi été observé chez des enfants à risque nés de parents atopiques (Kalliomaki et al., 2001).

Les mécanismes ainsi que les processus régulateurs de l'allergie sont loin d'être tous connus. Plusieurs mécanismes touchant à l'immunité ou à l'état de la muqueuse ont été suggérés pour expliquer l'effet protecteur des BAL. Celles-ci pourraient, en diminuant la perméabilité intestinale très augmentée en période de réactivité allergique, participer à la diminution du passage des protéines alimentaires (Rautava et al., 2002).

III.6.7. Réduction du taux de cholestérol sanguin:

Des tests *in vitro* ont montré une réduction du taux de cholestérol dans un milieu de culture avec certains *Lactobacillus* (Zhang et al., 2008). Plusieurs hypothèses ont été émises pour expliquer ce fait, comme l'assimilation du cholestérol par les bactéries ou l'hydrolyse des sels biliaires conjugués. Les acides biliaires, synthétisés par le foie à partir du cholestérol, sont "recyclés" et utilisés en moyenne trois fois pendant un même repas. L'hydrolyse des sels biliaires conjugués (les acides biliaires doivent être conjugués à la taurine et à la glycine pour être solubles) rend nécessaire la synthèse de sels biliaires supplémentaires, ce qui conduirait à une réduction du cholestérol (Liong et Shah, 2005).

Bien que la déconjugaison des sels biliaires puisse avoir des effets bénéfiques sur l'hôte, comme la diminution des niveaux de cholestérol, une déconjugaison excessive ou une déshydroxylation des acides biliaires par certains microorganismes semble avoir plusieurs effets néfastes sur l'hôte. Les bactéries les plus fréquemment désignées comme probiotiques, telles que les souches des genres *Lactobacillus* et *Bifidobacterium*, sont incapables de déshydroxyler les sels biliaires déconjugés.

Une autre explication évoque une diminution du taux de cholestérol qui serait uniquement due à la co-précipitation du cholestérol avec les sels biliaires déconjugés, phénomène qui ne peut pas se produire *in vivo* car le pH est plus élevé que dans un milieu de culture acidifié par les BAL. Des études ont été réalisées sur des humains pour tester l'influence de la consommation des produits laitiers fermentés sur le taux de cholestérol sanguin, mais les résultats n'ont jamais été confluents (Pereira et Gibson, 2002).

CHAPITRE III

***Les alicaments à base des
micro-organismes.***

A. Les alicaments à base des microorganismes :

I. 1. Les légumes fermentés:

I.1.1. Contexte historique des produits fermentés:

La fermentation lactique est un processus que l'être humain utilise depuis maintenant plusieurs siècles. En effet, les premières traces d'aliments fermentés remontent à l'Antiquité, époque durant laquelle les moyens de conservation des aliments n'étaient pas aussi développés qu'aujourd'hui. De nombreux types d'aliments peuvent être fermentés, tels que les aliments d'origine animale (lait, viande, poisson) et végétale, avec les fruits, céréales, légumineuses et légumes. En ce qui concerne les LF, les premières fermentations de concombres et cornichons (*Cucumissativus*) sont estimées être apparues en 2000 avant J-C, au Moyen-Orient (Breidt et al.,2013).

I.1.2.Bénéfices et risques de la lactofermentation de légumes:

Un des principaux intérêts des LF est la longue durée de conservation de ces produits. En effet, la plupart des légumes se dégradent relativement rapidement après leur récolte, ce qui est principalement dû au mécanisme naturel de sénescence ainsi qu'aux dommages causés lors de la récolte et transport, ces deux causes augmentant le risque d'infection par différents microorganismes d'altération (Pogson et al., 2004). Singh (2018). La transformation de ces aliments permet donc de les conserver plus longtemps. Cependant, les procédés de transformation peuvent avoir des impacts sur la composition nutritionnelle des légumes. Par exemple, il a été montré que les traitements thermiques induisent notamment une diminution de la teneur en vitamine C dans le chou rouge et le brocolis (Xu et al.,2014).

Les LF peuvent posséder à l'inverse une teneur en vitamines supérieure aux légumes frais, due à la production de ces vitamines par les bactéries associées à la lactofermentation (Septembre et al.,2018). Il a également été montré que le kimchi contenait une petite quantité de vitamine B12 (Kwak et al., 2011), vitamine retrouvée généralement dans les produits d'origine animale et étant parfois source de carence pour les personnes suivant un régime végétarien. De plus, les LF présentent une bioaccessibilité importante de composés variés tels que les protéines, vitamines ou

polyphénols grâce à la production d'enzymes, encore une fois par les micro-organismes associés à la fermentation (Septembre et al., 2018).

I.1.3. Les bactéries lactiques : modes d'action au sein des fermentations des légumes :

Espèces microbiennes concernées Les bactéries lactiques responsables de la fermentation végétale, dans l'ordre croissant d'acidotolérance, sont : *Leuconostoc mesenteroides* (hétérofermentaire); *Lactobacillus brevis* (hétérofermentaire); *Lactobacillus plantarum* (homofermentaire); *Leuconostoc mesenteroides*. sont rarement en quantité importante si la saumure dépasse 5% de NaCl car leur acidotolérance est insuffisante pour ces milieux. Au contraire, *Lactobacillus brevis* et *Lactobacillus plantarum* terminent souvent la fermentation car elles figurent dans les espèces les plus acidotolérantes (Le Guern, 1989).

I.1.4. Les fermentations spontanées:

La fermentation spontanée est définie comme étant la résultante des activités compétitives entre plusieurs microorganismes qui dérivent de la surface du végétal ou de l'environnement (Holzapfel, 1997). La surface des fruits et des légumes est caractérisée par une flore microbienne très diversifiée composée de bactéries à Gram positif (*Micrococcus*, *Staphylococcus*, bactéries lactiques, bactéries formant des spores des genres *Bacillus* ou *Clostridium*), ou négatif (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Escherichia*, *Enterobacter*) pathogènes ou non, des levures et des champignons. La population microbienne varie entre 5,0 et 7,0 log UFC.g-1 et est largement dominée par les bactéries à Gram négatif et les levures (Di Cagno et al., 2013; Leff et al., 2013). En effet, la population de levures varie entre 2 et 6 log UFC.g-1. Les bactéries lactiques ne représentent qu'une toute petite partie, entre 2 et 4 log UFC.g-1 (Holzapfel, 1997). Les bactéries lactiques ont besoin de nutriments, d'acides aminés, de minéraux et d'acides gras pour leur croissance, la surface des végétaux n'est pas un milieu adapté pour leur croissance. Par exemple, les bactéries lactiques ne représentaient que 16,7 % de la flore totale présente à la surface de différents types de laitue, alors que les levures et les entérobactéries représentaient 46,9 % et 36,5 %, respectivement (Abadias et al., 2008).

Cependant, quand les conditions de température, d'oxygène et en nutriments sont optimales, les fruits et/ou légumes entreprennent une fermentation lactique, largement prédominée par les bactéries lactiques : c'est une fermentation spontanée. Les fermentations spontanées de légumes sont caractérisées soit par l'ajout de sel au végétal préalablement lavé et coupé pour développer une saumure ou soit en immergeant le produit frais dans une solution salée, ce qui permet de protéger le mélange de la lumière et de l'oxygène (Wouters et al, 2013). Avec cette étape de salage, les bactéries à Gram négatif sont inhibées dès le début de la fermentation. Avec des conditions de température, d'humidité et d'oxygène idéales, les bactéries lactiques, étant très tolérantes au sel et plus rapides à se développer, dominent les fermentations spontanées. Les autres bactéries restent inhibées par la production d'acide lactique. Les fruits sont généralement fermentés sans l'ajout de sel.

I.1.5. Les fermentations contrôlées:

Les fermentations contrôlées sont de plus en plus utilisées par les industries alimentaires. Les fermentations contrôlées consistent à inoculer la matière première fraîche (fruit ou légume) avec un ou plusieurs microorganismes, qu'on appelle ferments ou starters, dans le but d'accélérer le processus de fermentation et d'apporter des propriétés intéressantes, en excluant tous les autres microorganismes. Contrairement aux fermentations spontanées, dans ce type de fermentation, le microorganisme initiant la fermentation a été volontairement choisi pour conduire la fermentation, la rendant ainsi aisément contrôlable. Dans la plupart des fermentations contrôlées, la matière première est d'abord traitée afin d'éliminer et contrôler la microflore naturelle, ensuite le starter est rajouté pour conduire la fermentation.

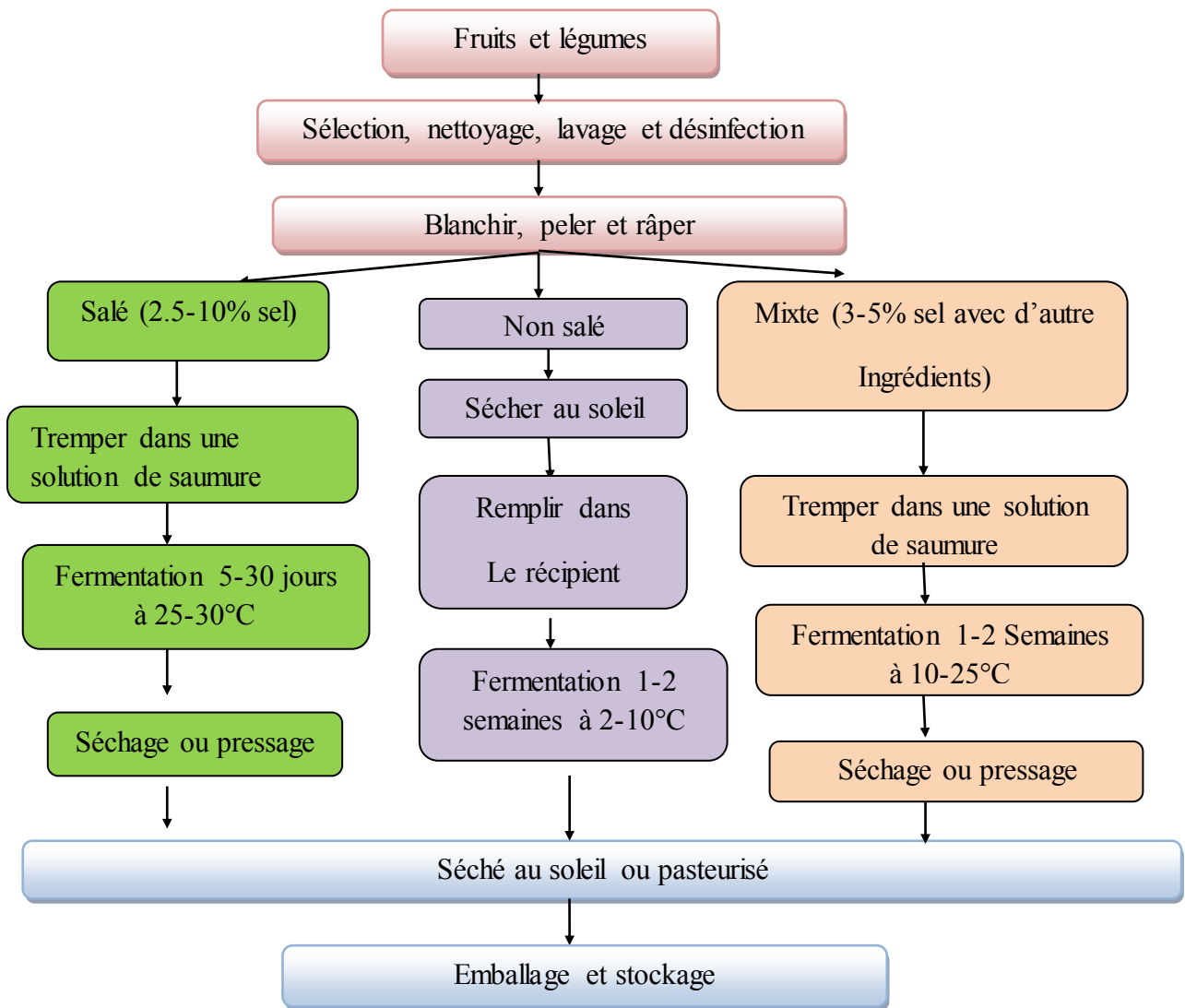


Figure 1: Processus de fermentation des fruits et des légumes, d'après (Swain et al., 2014)

II. Produits laitiers fermentés

Une large gamme de produits laitiers fermentés est commercialisée à travers le monde. Il existe un grand nombre de laits fermentés provenant de plusieurs pays et qui diffèrent par leur matière première, leur flore microbienne, leur technologie, leur texture, leur goût et leur durée de conservation (Leksir, 2012).

II.1.Lait fermenté:

II.1.1. Définition:

La dénomination « lait fermenté » est réservée aux produits laitiers préparés à partir de différents types de laits (écrémé, concentré, en poudre), ayant subi un traitement thermique au moins équivalent à la pasteurisation,ensemencés avec des micro-

organismes appartenant à l'espèce ou aux espèces caractéristiques de chaque produit. La coagulation des laits fermentés ne doit pas être réalisée par d'autre moyen que l'activité des micro-organismes qui sont utilisées (J.O.R.A, 1993).

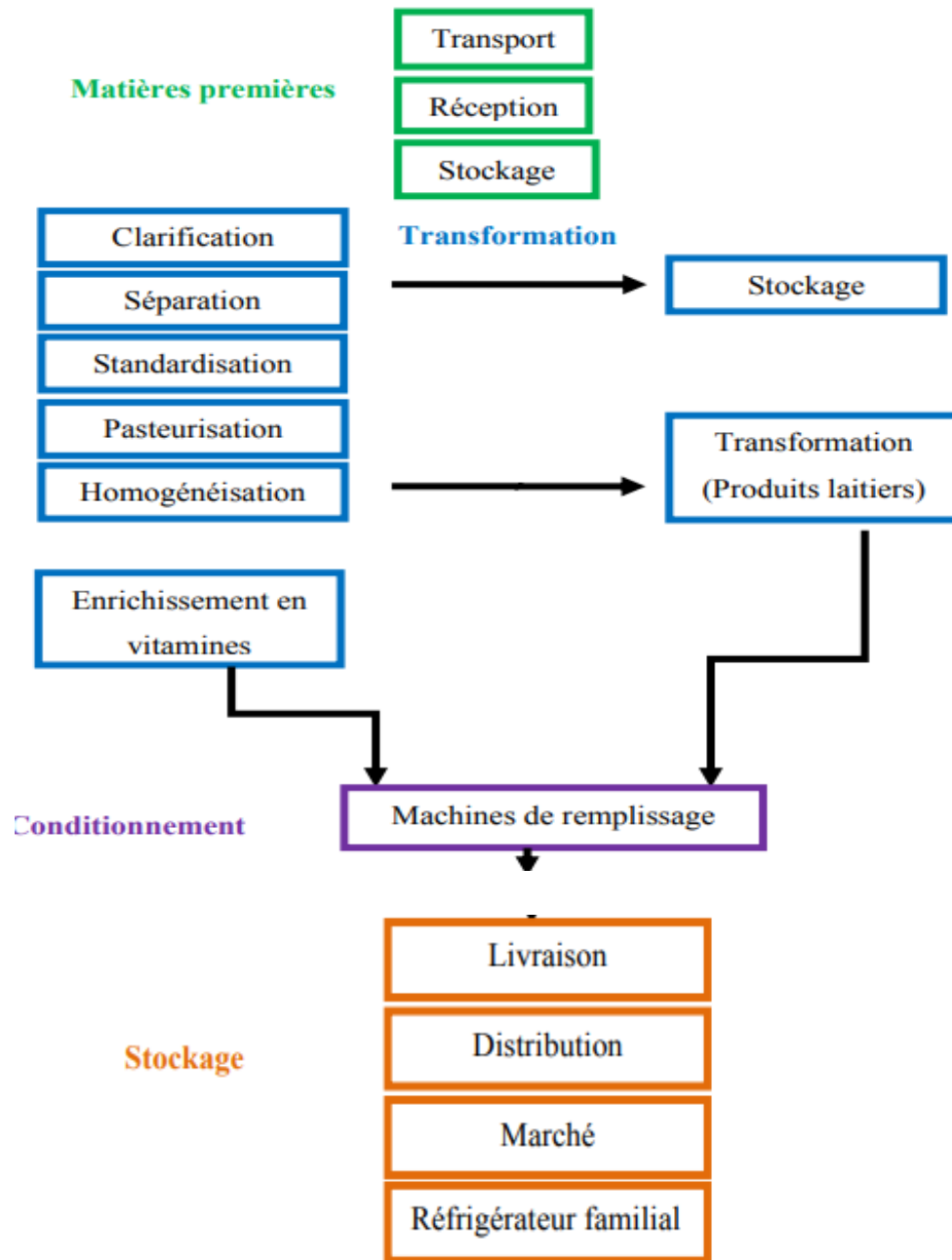


Figure 2: Schéma général de la filière lait (Chisti, 2004)

II.2. Yaourt:

II.2.1. Historique:

Le mot yaourt (yoghourt ou yogourt) originaire d'Asie, vient de «yoghurmark», mot turc signifiant «épaissir» (Tamime et Deeth, 1980). En 1902, deux médecins français, Ris et Khoury, isolent les bactéries présentes dans un lait fermenté égyptien. Metchnikoff (1845-1916) isole ensuite la bactérie spécifique du yaourt «le bacille bulgare», analyse l'action acidifiante du lait caillé et suggère une méthode de production sûre et régulière (Rousseau, 2005). En effet, c'est en 1919 qu'Isaac Carasso commence à produire du yaourt à Barcelone selon des procédés industriels (Pelletier et al., 2007).

II.2.2. Définition:

Le yoghurt ou le yaourt est un lait fermenté obtenu par la multiplication dans le lait de deux bactéries lactiques spécifiques associées : *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*. Ces bactéries lactiques sont cultivées sur du lait préalablement pasteurisé, dans le but d'éliminer la plus grande partie ou la totalité de la flore microbienne préexistante. Après la fermentation, le yaourt est refroidi à une température comprise entre 1 et 10°C, à l'exclusion de tout autre traitement thermique, il est alors prêt à être consommé » (Luquet, 1990).

II.2.3. Classification des différents types de yaourts:

1. Selon la texture:

- ✚ **Yaourts fermes:** ce sont les yaourts coagulés en pots, selon veisseyre (1997) généralement des yaourt naturels ou aromatisés, dont la fermentation s'opère après la mise en pot à une température comprise entre 42 et 44°C dans le cas des yaourt sucrés, aromatisés, aux fruits, à la confiture, etc..... l'apport des additifs se fait avant ou après le remplissage des pots.(Keddar et Koubich, 2009).
- ✚ **Yaourts brassés:** ce sont les yaourts coagulés en cuve et brassés avant la mise en pot
- ✚ **Yaourts à boire :** leur texture est liquide.

2. Selon la teneur en matières grasses :

- ✚ **Yaourts maigres**: les yaourts renferment des teneurs en matières grasses inférieures à 1%.
- ✚ **Yaourts ordinaires nature** : les yaourts renferment des teneurs en matières grasses 1 % minimum.
- ✚ **Yaourts entiers** : les yaourts renferment des teneurs en matières grasses 3,5 % (en pratique de 3 à 4,5%).

3. Selon le goût :

- **Yaourts sucrés** : ils sont additionnés de saccharose à un taux variable de %.
- **Yaourts aux fruits, au miel, à la confiture** : ils subissent une addition inférieure à 30 % de ces différents produits.
- **Yaourts aromatisés** : les produits contiennent des arômes naturels renforcés par un produit de synthèse.

II.2.4. Caractéristiques des bactéries du yaourt:

II.2.4.1. *Streptocoques Thermophiles*:

Streptococcus thermophiles est une Cocci, Gram positif, anaérobie facultative, non mobile. On la trouve dans le lait fermenté et les fromages, C'est une bactérie dépourvue d'antigène du groupe D, thermorésistante sensible au bleu de méthylène (0.1%) et aux antibiotiques. Elle est isolée exclusivement du lait et des produits laitiers sous forme de coques disposées en chaîne de longueurs variable ou par paires. Sa température optimale de croissance varie entre 40 et 50 °C. Son métabolisme est du type homofermentaire (Affèr, 2013). Le rôle principal de *Streptococcus thermophilus* est la fermentation du lactose du lait en acide lactique et en plus de son pouvoir acidifiant, elle est responsable de texture dans les laits fermentés. Elle augmente la viscosité du lait par production de polysaccharides (composés de galactose, glucose, ainsi que de petites quantités de rhamnose, arabinose et de mannose) (Affèr, 2013).

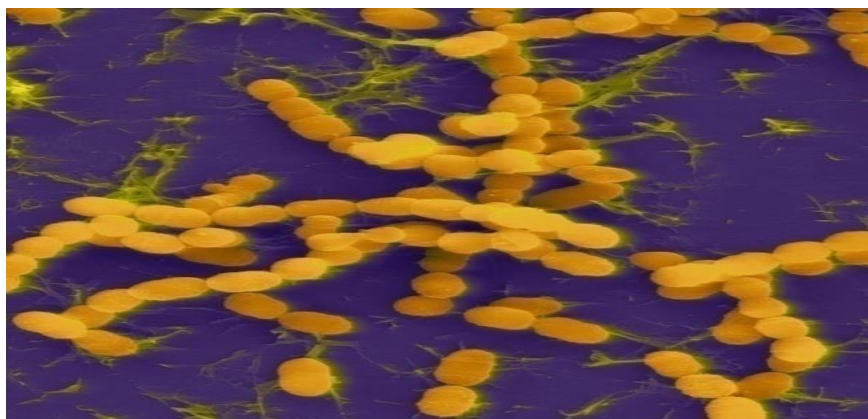


Figure 3: Streptococcus thermophilus (Armand-Frappier, 2019).

II.2.4.2. *Lactobacillus bulgaricus*:

Lactobacillus Bulgaricus est un bacille Gram positif, immobile, sporulée, micro-aéroophile. Il est isolé sous forme de bâtonnets ou de chainettes. Il possède un métabolisme strictement fermentaire avec production exclusive d'acide lactique comme principal produit final à partir des hexoses de sucre par voie d'Embden Meyerhof. Il est incapable de fermenté les pentoses. *Lactobacillus bulgaricus* est une bactérie thermophile, très exigeante en Calcium et en Magnésium et sa température optimale de croissance est d'environ de 42°C. Cette bactérie a un rôle essentiel dans le développement de qualité organoleptique et hygiénique du yaourt (Affèr, 2013).

Ces deux bactéries tolèrent de petites quantités d'oxygène. Ceci peut être probablement relié au peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) qui est produit dans les cellules aérobie. Le système le plus efficace pour éliminer le peroxyde d'hydrogène est l'utilisation d'une enzyme, la catalase dont les bactéries lactiques sont déficientes. Ces dernières possèdent plutôt une peroxydase (pseudo catalase) qui est moins efficace que la catalase. Comme les bactéries lactiques n'éliminent pas facilement le peroxyde, elles sont dites micro-aéroophile (Affèr, 2013).

II.2.5. Processus technologiques de la fabrication du yaourt :

II.2.5.1. Matières utilisées :

➤ Lait frais

Le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée, il doit être recueilli proprement et ne pas

contenir de colostrum, c'est le produit de la sécrétion mammaire normale obtenue par une ou plusieurs traites sans aucune addition ou soustraction d'élément (Bylund, 1995).

➤ **Lait en poudre**

Selon le J.O.R.A. Arrêté du 27 octobre 1999 « Le lait en poudre ou lait déshydraté ou lait sec industriel est le produit obtenu directement par élimination de l'eau du lait ». « La dénomination lait en poudre industriel correspond à un lait dont la teneur en matière grasse est égale ou maximum à 26 % ».

➤ **Eau**

L'eau est l'une des matières premières de tous les types de produits laitiers reconstitués et recombinaison. Elle doit être une eau potable de bonne qualité, dépourvue de micro-organismes pathogènes et d'un niveau de dureté acceptable (Bylund, 1995).

➤ **Sucre**

On entend généralement par « sucre », le sucre blanc de consommation, c'est-à-dire le saccharose qui est un diholoside formé de la combinaison du glucose et du fructose, sa formule chimique est : $(C_{12} H_{22} O_{11})$, extrait à partir de la betterave sucrière ou de la canne à sucre (Bylund, 1995).

➤ **Amidon**

L'amidon est un homopolymère : il est formé par l'assemblage de très nombreuses unités d'une même molécule, un sucre à six carbones, ou hexose, nommé D-glucopyranose, l'une des formes cycliques du glucose. Ces briques moléculaires, ou monomères sont reliées entre elles par des liaisons nommées glucosidiques, entre le carbone 1 et 4 ou 1 et 6, pour former des chaînes simples ou branchées (L'éveque et al., 2000).

➤ **Arôme**

Selon la norme ISO 5492 : Afnor, (2002) « c'est l'ensemble des constituants présents dans les aliments, soit naturellement soit rajoutés, et susceptibles d'être à l'origine de sensations olfactives » (Salles, 2012).

➤ **Préparation à base des fruits**

Selon le codex alimentaire (Codex Stan 192-1995) « Les pulpes de fruits ne sont pas en général destinées à la consommation directe. Il s'agit des fruits frais, écrasés ou coupés en morceaux, cuits légèrement à la vapeur et égouttés, avec ou sans adjonction d'agents de conservation ».

II.2.5.2. Le procédé de fabrication du yaourt :

Les procédés de fabrication des yaourts et des laits fermentés se caractérisent trois grandes étapes : la préparation du lait, la fermentation et les traitements post fermentaires du produit (Beal et Sodini, 2012), le diagramme de production diffère selon le type de produit (yaourt ferme ou brassé) et présente des variantes selon sa teneur en matières grasses et son arôme (Lucey, 2004).

➤ **Réception du lait :**

Dès la réception du lait il est généralement reconnu qu'on ne peut pas faire un produit de qualité avec une matière première (lait) de mauvaise qualité. Dans cet esprit, il est primordial de mettre en place dès la réception du lait des méthodes et des procédures rapides et simple (Vignola, 2002).

➤ **Standardisation du lait :**

La matière première utilisée (lait frais, lait recombine, mélange des deux) doit être de bonne qualité microbiologique, exempte d'antibiotiques ou autres inhibiteurs et parfaitement homogénéisée. La teneur en matière grasse du yaourt est variable. Généralement elle est ajustée de sorte que le produit entre dans l'une des catégories ci-après :

➤ **Homogénéisation :**

Le lait standardisé en matières grasses et enrichi en protéines, éventuellement sucré, constitue le mix de fabrication, il est homogénéisé afin de réduire la taille des globules gras. Cette opération est indispensable pour éviter la remontée des matières grasses pendant la fermentation, elle permet aussi d'augmenter la viscosité du yaourt et de réduire le phénomène d'exsudation de sérum (ou synérèse) pendant le stockage

du yaourt ferme. Enfin, elle confère un aspect plus blanc au lait et, par conséquent, au yaourt (Beal et Sodini, 2012; Luquet et Corrieu, 2005)

➤ **Traitement thermique:**

Le lait enrichi subit un traitement thermique à 90-95°C pendant 3 à 5 min. ce traitement thermique a pour but de détruire tous les germes pathogènes et indésirables (bactéries, levures et moisissures) ainsi que d'inactiver les α - globulines et de nombreuses enzymes (phosphatase, peroxydase) et de favoriser le développement de la flore lactique spécifique (streptocoque thermophile) par la formation d'acide formique qui est un facteur de croissance (Mahaut et al., 2000).

➤ **Refroidissement :**

Dans certains cas, en production de yaourt, le lait est refroidi à 4°C, avant inoculation, il peut être alors conservé quelques heures dans des cuves à basse température, il est ensuite porté à la température de fermentation après inoculation au moment du conditionnement, par des systèmes de chauffage spécifique, étalonnés par rapport à la conditionneuse, cette méthode permet plus de souplesse et limite les pertes en cas de panne de la conditionneuse (Beal et Sodini, 2012).

➤ **Ensemencement :**

C'est l'inoculation de deux germes spécifiques du yaourt *Streptococcus* et *Lactobacillus*, avec un taux suffisamment élevé, il est d'ailleurs préférable avec une quantité trop grande plutôt que trop faible pour but d'avoir l'assurance d'une acidification correcte (Mahaut et al., 2000).

➤ **Réchauffage :**

La température optimale de développement se situe selon les auteurs de 37 à 46°C pour *Streptococcus thermophilus* et de 42 à 50°C pour *Lactobacillus bulgaricus* (Mahaut et al., 2005). Le mix laitier est porté à la température de fermentation (42-45°C) par réchauffage en ligne (Luquet et Corrieu, 2005).

➤ **Conditionnement et stockage :**

Les yaourts, conditionnés dans les pots en verre ou en plastique, sont stockés et dans des chambres froides à 4°C en passant au préalable dans des tunnels de refroidissement. A

ce stade, ils sont prêts à être consommés, La durée limite de leur consommation est de 28 jours. Pendant le stockage. Les bactéries lactiques maintiennent une activité réduite, cette évolution est appelée post-acidification, se traduit par une légère baisse de pH ; surtout pendant les 2 premiers jours de stockage (Mahaut et al., 2000)

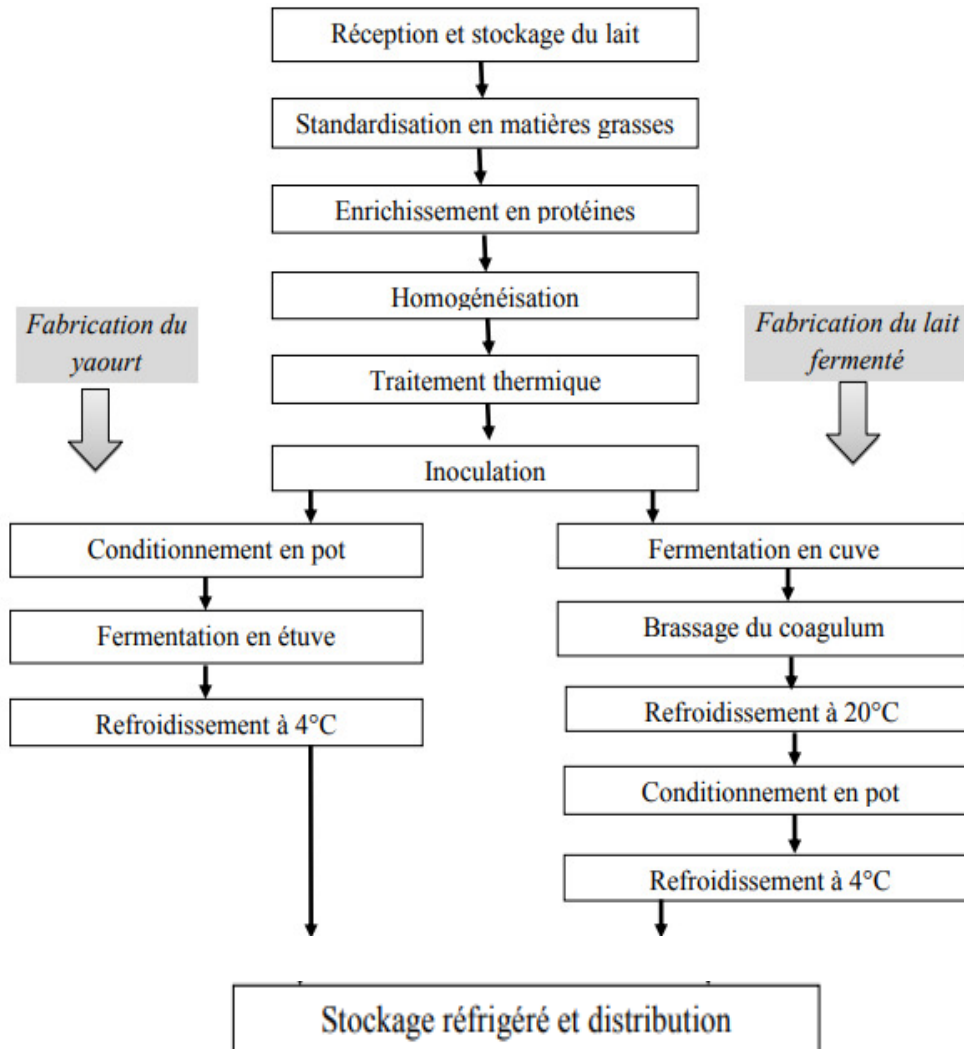


Figure 4: Diagramme général de fabrication des yaourts et des laits fermentés (Béal et Sodini, 2012).

II.3. Fromage :

II.3.1. Définition du fromage :

Le fromage est le produit frais ou affiné, de consistance solide ou semi solide, dans lequel le rapport protéines de sérum/caséine ne dépasse pas celui du lait et qui est obtenu soit par coagulation complète ou partielle des matières premières suivantes:

du lait écrémé, du lait partiellement écrémé, de la crème, de la crème de lactosérum résultant de cette coagulation, et/ou par l'emploi de techniques de fabrication entraînant la coagulation du lait et/ou de matière provenant du lait (Gillis, 1997).

II.3.2.Fabrication des fromages :

II.3.2.1. Principales étapes de la fabrication des fromages :

La fabrication fromagère peut être considérée comme un phénomène d'agglomération, correspondant à une synérèse, associée à un phénomène d'écoulement. Il s'agit de l'agglomération des éléments protéiques du lait, de la caséine principalement, plus ou moins modifiées, qui emprisonnent les autres constituants et, ensuite, de l'agglomération de morceaux de caillé moulés. Ce phénomène d'agglomération est associé à celui d'un écoulement de la phase liquide, composée de l'eau du lait et des éléments solubles emprisonnée dans des pores, puis libérée (Luquet, 1990). Habituellement la fabrication du fromage comprend trois étapes : La formation d'un gel de caséines, c'est la coagulation du lait ; la déshydratation partielle du gel, c'est l'égouttage qui aboutit à un caillé et le salage. Ces étapes concernent les fromages frais. Le reste des fromages subissent en plus une étape d'affinage, ce sont les fromages affinés (Camembert, Roquefort, Gouda, Tulum,...).

➤ Coagulation du lait :

La coagulation du lait résulte de l'association des micelles de caséine plus au moins modifiées. Cette agglomération mène à la formation d'un coagulum dont le volume est égal à celui du lait mis en œuvre. Ces modifications physico-chimiques des caséines sont induites soit par acidification soit par action d'enzymes coagulantes (Gastaldi-bouabid, 1994). L'acidification du lait peut être obtenue par les produits de fermentation de bactéries acidifiantes ou par des composés chimiques d'action acidifiante directe ou indirecte. La diminution concomitante du pH a pour effet de faire régresser l'ionisation des fonctions acides des caséines induisant le déplacement progressif du calcium et du phosphate inorganique de la micelle vers la phase aqueuse. Ceci induit la désorganisation des micelles et une réorganisation des sous unités micellaires (Brule et al., 1997).

L'acidification microbienne du lait est un processus progressif, lent et uniforme. Il est caractérisé par des difficultés liées à la maîtrise du développement microbien (cinétique de multiplication, état physiologique, facteurs de croissance, produits de métabolismes et autres). Le coagulum édifié est un ensemble de flocons caséiniques emboîtés les uns sur les autres (Attia et al., 2000). Le taux et l'importance de l'acidification influencent la texture du gel en contrôlant son taux de déminéralisation (Mc Sweeny et al., 2004). Le gel acide obtenu est friable, lisse et homogène.

Dans la coagulation enzymatique, plusieurs enzymes protéolytiques d'origine animale (veau, taurillons, porc et poulets), végétale (artichaut, chardon) et microbienne (*Kluyvermyces*, *Mucor miehi*, *Mucorpusills* et *Endothiaparasitica*) sont utilisés (Dalglish, 1982; Ramet, 1985; Ramet, 1987; Alais et Linden, 1997). L'enzyme la plus fréquente en fromagerie est la présure, sécrétée dans la caillette des jeunes ruminants nourris au lait. Son mécanisme d'action fait apparaître trois étapes (Alais et Linden, 1997; Brule et al., 1997) : hydrolyse enzymatique de la liaison peptidique phe105-Met106 de la caséine k, ensuite agrégation des micelles de caséines déstabilisées et puis développement d'un réseau par réticulation et formation d'un gel. Les gels obtenus sont élastiques et peu friables. Leur raffermissement est rapide et important par rapport au gel lactique. Leur porosité est bonne, mais leur imperméabilité est forte (Ramet, 1985).

➤ **Egouttage :**

L'égouttage est un phénomène dynamique qui se caractérise par la quantité de lactosérum éliminé durant le temps. En effet, il fixe les caractéristiques physiques (pH et Activité en eau) et chimique du caillé et par conséquent l'affinage du fromage (Weber, 1997). Le processus d'égouttage est lié à des facteurs directs correspondant à des traitements de types mécanique et thermique, des facteurs indirects (acidification et coagulation enzymatique) et des facteurs liés à la matière première (richesse en caséine laitière, en protéines solubles et en matière grasse) (Ramet 1986 et 1997).

➤ **Salage :**

En fromagerie, le salage est une phase indispensable de la fabrication des produits affinés. La teneur en sel des fromages varie selon le type de fromage, en moyenne elle est de 0,5-2 g/100 g dans la plupart des fromages, dans certains cas (les fromages

bleus et quelques fromages de chèvres), elle peut s'élever à 3-4 g/100g. Par contre, certains fromages orientaux conservés en saumure ont des teneurs assez élevées (8-15 g/100 g). Les modalités de salage sont par saumurages (Emmental, et Camembert), salage à sec et salage en masse (Alais et Linden, 1997). Le salage en masse est utilisé dans les fabrications traditionnelles de quelques fromages typiques du bassin méditerranéen. Il permet préservation du lait, prolonge les phases de coagulation et d'égouttage du fromage (Ramet, 1986).

Le sel permet d'atteindre l'humidité appropriée du fromage (Ponce de LeonGongalez et *al.*, 2000). Il exerce, selon sa concentration, une action microbienne sélective et un effet inhibiteur sur l'activité des enzymes. A titre d'exemple, la croissance des bactéries lactiques des levains est inhibée à une teneur en sel supérieure à 2,5 g/100 g, est pratiquement nulle au-dessus de 5 g/100 g. *P.roqueforti* subit une inhibition de la germination des spores pour des taux de 3-6 g/100 g. L'effet du sel sur le développement de la flore microbienne des fromages ne peut toutefois être apprécié pleinement qu'en tenant compte de la tolérance des microorganismes au sel dans le milieu fromage et de la teneur en sel de la pâte fromagère (Choisy et *al.*, 1997 b).

➤ Affinage des fromages :

L'affinage est l'étape la plus complexe de la fabrication des fromages maturés qui dépend de chaque caractéristique physico-chimique ou microbiologique du fromage (Bennett et Johnston, 2004). C'est un processus biochimique complexe et long qui correspond à une phase de digestion enzymatique des constituants du caillé par les différents agents (Jeantet et *al.*, 2008). Le fromage devient donc le siège de différentes dégradations qui s'effectuent simultanément ou successivement aboutissant à la libération de substances sapides et odorantes en même temps que la modification de la texture (Choisy et *al.*, 1997 a). Le fromage est ainsi comparé à un bioréacteur complexe dont le praticien devra maîtriser l'évolution pour la porter vers les caractéristiques optimales recherchées (Ramet, 1997). La durée d'affinage varie selon le fromage, elle dure quelques semaines à deux ans ou plus à des températures spécifiques pour les différents types de fromages (Fox et *al.*, 1994).

➤ **Agents d'affinage des fromages :**

Les agents responsables de l'affinage des fromages sont les enzymes. Selon FOX et al., (1993) quatre ou éventuellement cinq agents sont impliqués dans la maturation des fromages :

- la présure ou substitut de présure (la pepsine ou protéases microbiennes) ;
- les enzymes indigènes du lait, très importants dans les fromages au lait cru ;
- les ferments lactiques et leurs enzymes, qui sont libérés après que les cellules sont mortes et lysées ;

II.3.3. Classification des fromages :

Tableau 1 : classification des différents types de fromages et micro -organismes utilisés dans leur fabrication :

Type de fromage	Description	Micro-organismes utilisés	Références
Fromages à pâte Fraiche	Fromages peu égouttés qui n'ont pas été affinés, il y'a juste coagulation des protéines du lait sous l'effet des ferments lactiques (acidification).	Lactococcus lactis, Lactococcus lactis cremoris, Lactococcus lactis diacetylactis	Chamba et Irlinger, 2004
Fromages à pâte Ferme	Constitués d'une pâte compacte, renfermant un peu moins d'eau que les fromages frais, mais contenant plus de sels minéraux dont les sels de calcium notamment. Dans cette catégorie, on distingue : - les fromages à pâte ferme non cuite (Edam, Saint-Paulin, etc.) - les fromages à pâte ferme cuite (Gruyère, Conti, etc.)	Lactococcus lactis cremoris, Streptococcus thermophilus, Lactobacillus casei, levures, moisissures diverses.	Parente et Cogan, 2004 Yildiz, 2010
Fromages à pâte Molle	Fromages ayant subi un affinage relativement prolongé (protéolyse et lipolyse intenses par la flore de surface) après une fermentation lactique (ex. Camembert).	Lactococcus lactis, Lactococcus lactis cremoris, Streptococcus thermophilus, Brevibacterium linens, Geotrichum candidum, Penicillium camemberti, levures.	Branger, 2012 Yildiz, 2010
Fromages à pâte Persillée	Fromages affinés, à moisissures interne (ex. Roquefort). Il y'a développement interne de Penicillium roqueforti grâce à l'action de leuconostoc et des levures qui produisent une ouverture et une petite quantité d'éthanol.	Lactococcus lactis, Lactococcus lactis cremoris, Streptococcus thermophilus, Leuconostoc, Penicillium roqueforti, levures	Settanni et Moschetti, 2010
Fromages fondus	Constitués d'un mélange de fromage(s), de beurre, de crème et de lait, pasteurisé	Pas d'ajout de ferments Lactiques	Boutonnier, 2012

II.4. Lait fermenté acidifié « l'ben »:

Le lait acidifié, appelé selon les différents zones géographiques : Laban ; L'ben ; Ayran, est un produit de grande consommation au long de saison chaude. Il peut être fabriqué à partir de la poudre de lait de vache ou de lait frais d'origine bovine ou caprine. Il est obtenu par un caillage lactique plus ou moins long, allant de 3h à 18h, selon le caillage, le produit obtenu est d'aspect identique mais de goût et de flaveur très différente (Luquet, 1986).

II.4.1. Procèdes de fabrication de « l'ben » industriel :

➤ La reconstitution

La reconstitution est une opération qui consiste à mélanger les poudres du lait entier (26%MG) et écrémé (0%MG) avec l'eau adoucie. La poudre du lait est déversée dans un tri blinder comportant une pompe de recirculation avec apport des deux types dz poudre par une trémie située avant la pompe, ensuite la poudre est mise en contact avec l'eau de reconstitution ayant une température de 25°C. Selon Luquet, (1990) la température de reconstitution permet une meilleure dissolution et mouillabilité de la poudre de lait. Ensuite, le mélange eau et poudre de lait subit une agitation douce pendant 20 minutes afin d'augmenter la dispersion et l'hydratation des molécules et d'éviter la formation d'agglomérats.

➤ Filtration préchauffage

La filtration est utile pour éliminer les impuretés macroscopiques et les grumeaux (les particules résiduelles), par passage de ce dernier à travers deux filtres de 1mm de diamètre. Le lait est préchauffé à une température (63-65°C/15S) inférieure à la température de pasteurisation, pour inhiber provisoirement la croissance des bactéries (Gosta, 1995).

➤ Le dégazage

Cette opération a pour but de permettre une meilleure homogénéisation et d'éliminer une partie des odeurs caractéristiques des laits reconstitués. Le dégazage se fait généralement à 75°C avec une chute de température de l'ordre de 8 à 10°C (Avezard et Lablee, 1990).

➤ **Homogénéisation et la pasteurisation**

L'opération vise avant tout à réduire la taille des globules gras, elle est indispensable pour éviter la remontée de la matière grasse pendant la fermentation (Vignola, 2002). Elle se fait à une température de 60 et 70°C sous une pression de 100 à 250 bars (Gosta, 1995). Le barème de pasteurisation utilisé est de 85°C pendant 15 à 20 secondes. (Avesard, 1980).

➤ **Le refroidissement**

Le lait est refroidit immédiatement à l'eau froide dans un échangeur à plaque (échange thermique : lait/eau glacée) à une température 30°C, pour ramener le lait à une température convenable à l'ensemencement envisagé.

➤ **Ensemencement et incubation**

C'est l'inoculation des souches caractéristiques du produit, il doit se faire à un taux suffisamment élevé, pour obtenir une acidification désirée (Boudier, 1990). L'ensemencement se fait par des bactéries lactiques homofermentaires (*Lactobacilles*, *Streptococcus lactis* et *Streptococcus cremoris*), les bactéries lactiques permettent la transformation de plus de 90% du lactose en acide lactique, alors que dans le cas des bactéries lactiques hétérofermentaires (*Leuconostoc*) environ 50% du lactose est converti en acide lactique, le reste donne des produits divers comme le dioxyde de carbone et l'éthanol (Goursaud, 1985). La phase d'incubation correspond au développement de l'acidité dans le produit, elle dépend de deux facteurs, la température et la durée. On choisira une température proche de la température de développement des micro-organismes d'ensemencement (Boudier, 1990).

➤ **Maturation et brassage**

Au cours de la maturation qui dure 16 à 18 heures, le lactose se transforme en acide lactique. Quand l'acidité du lait atteint l'intervalle de 60 à 80 °D, un brassage modéré est assuré à l'aide de lames métalliques disposées en hélice cette opération a pour but d'émietter le coagulum en petites particules et pour avoir un produit fluide et sans grumeaux (Kadi, 2010).

➤ **Conditionnement et commercialisation**

Après le brassage, le lait fermenté est refroidi à +6°C par échange thermique (L'ben/ eau glacée) dans un échangeur à plaque pour éviter toute évolution de l'acidité. Il est ensuite stocké dans un tank puis conditionné dans des sachets en polyéthylène de contenance de 1 litre au niveau des conditionneuses de type Thimonnier (1800 à 2500 sachets/heure). En fin, les sachets pleins sont placés dans des cassies en plastique pour être stockés dans une chambre froide à une température de 4 à 6°C jusqu'à la commercialisation (la durée de stockage est de 13 jours) (Kadi, 2010)

II.5. Raïb :

II.5.1. Définition :

Le Raïb fait partie des produits laitiers fermentés populaires en Algérie, en plus du L'ben (lait écrémé fermenté). Le Raïb a une très ancienne tradition en Algérie; il est fabriqué à partir du lait cru de vache ou de chèvre. La fermentation du lait, comme de nombreux procédés traditionnels de fermentation, est spontanée et incontrôlée et pourrait être une source précieuse des bactéries lactiques autochtones (Mechai et Kirane, 2008). Contrairement au L'ben, le Raïb ne subit pas une opération de barattage et d'écémage, il s'agit d'un lait fermenté entier.

II.5.2. Les types de raïb :

➤ Le raïb traditionnel:

C'est un lait fermenté, obtenu par acidification naturelle d'un lait cru à une température ambiante. La coagulation est obtenue ou résulte de la flore microbienne originelle et de contamination, avec ou sans additions des acides organiques (citron, vinaigre), pendant une durée variée selon la saison entre 24 heures à 72 heures (Guerzani, 2003).

➤ Le raïb industriel:

C'est un lait entier ou écrémé, pasteurisé, fermenté, obtenu par la fermentation naturelle après ensemencement par des levains lactiques. La coagulation est obtenue par l'activité des ferments lactiques, avec ou sans addition de substances coagulantes (présure, pepsine) pendant une durée de 20 heures à 24 heures à 37°C (Guerzani, 2003).

Tableau 2: Les microorganismes entrés en fermentation comme facteurs de sécurité.

Nom populaire	Description	Microorganismes entrés en fermentation comme facteurs de sécurité	References
<i>Raïb</i>	Lait cru caillé spontanément. Il peut s'agir d'un produit fini (consommé seul) ou c'est un intermédiaire pour la production de fromages traditionnels ou d'autres laits fermentés. Un produit laitier commun dans tous les pays d'Afrique du Nord mais avec des noms différents.	<i>Lc. Lactis, Lc. lactis ssp. Lactis</i> <i>Ln. mesenteroides. Ln. mesenteroides subsp. mesenteroides.</i>	Benkerroum et Tamime, 2004 ; Mechai et Kirane, 2008; Bendimerad et al., 2012

II.6. kéfir:

II.6.1.Généralité:

C'est un lait fermenté alcoolisé, avec un goût fortement acide et de légers arômes de levures et d'alcool. Il est le fruit d'une fermentation lactique par lactobacilles, streptocoques et d'une levure qui transforme le lactose en alcool. On le retrouve en Asie du sud-ouest, en Europe de l'est (Vignola, 2002).

II.6.2.Structure et formation des grains de kéfir:

L'étude des grains de kéfir à l'aide du microscope électronique (Bottazzi et Bianchi, 1980) a révélé que la partie périphérique du grain était peuplée presque exclusivement de bactéries, les levures étant rares. Vers l'intérieur du grain, la composition de la microflore évolue progressivement en faveur des levures qui prédominent au centre. Les microorganismes se situent dans la matière spongieuse du grain qui semble les soutenir et qui se présente sous forme d'une matrice lamellaire fortifiée par des cordons plus denses. La population de la partie centrale est plus faible que celle de la partie périphérique du grain. Les levures (en particulier) et les lactobacilles forment des accumulations (microcolonies), à la différence des streptocoques. A l'intérieur du grain, les cellules des lactobacilles et des levures ne sont pas associées mais enrobées dans une matière gluante de polysaccharide microbien (Molska et al., 1980).

La matrice insoluble du grain est composée d'un polysaccharide ramifié, probablement produit par les lactobacilles du centre du grain. La population microbienne du centre diffère morphologiquement de celle de la surface et pose des

difficultés pour l'isolement de souches. Ces organismes sont étroitement liés avec le polysaccharide par leurs parois cellulaires. L'insolubilité du polysaccharide limiterait la diffusion des substances nutritives et des métabolites microbiens. Ainsi, les microorganismes inclus meurent, devenant des parties inséparables de la structure du grain (Marshall et Cole, 1984).

La culture des bactéries isolées du kéfir dans le lait entraîne son acidification mais ne conduit pas à la formation des grains. Probablement, un « support » de la microflore, représenté par le grain lui-même, est-il nécessaire. Peut-être, les levures en fonction de leur localisation dans la partie centrale et les canaux périphériques du grain constituent-elles les points de prolifération qui sont à l'origine d'un noyau secondaire. Celui-ci, détaché, donnera naissance à un nouveau grain. Le mécanisme de la formation des grains dépendrait aussi du lait utilisé et en particulier du traitement thermique subi (Rosi et Rossi, 1978).

La biosynthèse du polysaccharide qui confère au grain son élasticité est attribuée à *Lactobacillus brevis* (LA Riviere et al., 1967). Cette propriété est rapidement perdue pendant l'isolement des souches et c'est pour cela qu'elle n'a pas été détectée par d'autres chercheurs. Cependant, Ottogalli et al. (1973) attribuent la formation du kéfirane à *Lactobacillus acidophilus*. Rosi et Rossi (1981) ont obtenu la biosynthèse du kéfirane dans le lait par une souche de *Streptobacterium*, en présence d'autolysat de levure et de cellules vivantes de *Saccharomyces delbrueckii*. Selon les mêmes chercheurs, la synthèse du kéfirane dans un milieu synthétique nécessite la présence du lactose (à un taux de 3 à 9 %) ou du saccharose, un pH voisin de 6 et une température de 30 °C.



Figure 5: Bactéries et levures à la partie intermédiaire du grain de kéfir situées sur la matrice lamellaire qui forme une masse spongieuse x3040 (Bottazziet Bianchi,1980).



Figure 6: Grains de kéfir. Site de « Kombuchakefir. »

Tableau 3: Bactéries et levures présentes dans les grains de kéfir (Gülitz et al., 2011)

Genre	Espèces	
Bactéries lactiques	* <i>Lactobacillus casei</i>	* <i>Lactobacillus hilgardii</i>
	* <i>Lactobacillus hordeii</i>	* <i>Leuconostoc mesenteroides</i>
	* <i>Lactobacillus nagelii</i>	* <i>Leuconostoc citreum</i>
Bactéries acétiques	* <i>Acetobacter fabarum</i>	* <i>Acetobacter orientalis</i>
Levures	* <i>Lachancea fermentati</i>	* <i>Zygorhizula Florentina</i>
	* <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	* <i>H. valbyensis</i>

II.6.3.Méthode de préparation du kéfir:

- Recouvrir les grains de Kéfir de lait en respectant les proportions suivantes : 250ml grains de kéfir pour 1 litre de lait et fermer le récipient.
- Laisser fermenter à la température ambiante environ 24 heures ; pour un goût un peu piquant, laisser fermenter pendant plus longtemps sans dépasser 40 heures. À l'opposé, pour un goût plus doux, réduire le temps de fermentation.
- Passer au tamis les grains de kéfir. Le liquide recueilli sera le kéfir à consommer.
- Rincer les grains, de préférence une fois par semaine, avec une eau non chlorée.
- Recouvrir les grains de kéfir de lait en respectant les mesures données précédemment.
- Recommencer le processus mentionné ci-haut (Cyrill, 2009).

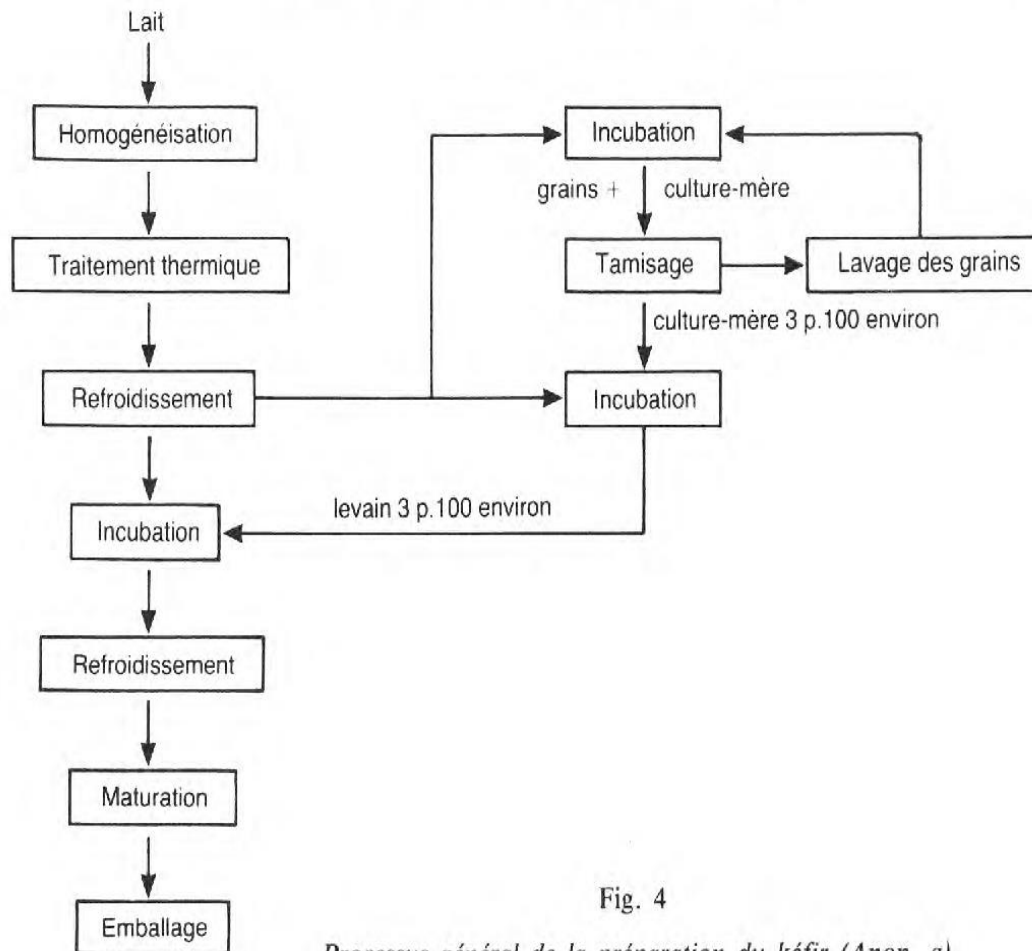


Fig. 4

*Processus général de la préparation du kéfir (Anon. a).
General process of kefir production (Anon. a).*

Figure 7: Processus général de la préparation du kéfir (Anonymous a).

Conclusion:

L'alicament est un nouveau concept inventé par les industriels pour désigner un aliment de consommation courante qui est, en même temps, un médicament dans le sens où il est censé réduire les risques ou prévenir l'apparition de certaines maladies grâce à des substances qu'il contient. Même s'il n'existe aucune définition légale de ce terme, le produit -pour être un alicament et non une allégation de santé- doit être doté d'une preuve scientifique validée par l'Agence Européenne pour la Sécurité des Aliments (EFSA) qui reconnaisse la causalité entre la consommation du produit et l'état de santé du consommateur.

Les produits lactofermentés, par la présence des bactéries lactiques probiotiques et de leur produits métabolique procure au consommateur des bénéfices santé indéniables, leur consommation au quotidien contribue à l'enrichissement de la flore intestinale et à son rééquilibrage. Les bienfaits qui sont attribués aux bactéries probiotiques confèrent aux aliments qui les contiennent le statut d'alicament ou aliment fonctionnel.

Ces microorganismes peuvent être consommés sous forme de médicaments, de compléments alimentaires ou d'aliments fonctionnels, néanmoins en Algérie la totalité des microorganismes utilisées pour les produits fermentés industriels sont des souches importées commercialisées par de grandes firmes internationales alors que notre pays débord de souches autochtones plus efficaces que celles importées par nos industriels. Elles sont issues du lait de chamelles ou de juments par exemples, leurs effets bénéfiques sont été démontrés par de nombreuses études locales.

Les perspectives qui pourraient être envisagées seraient la réalisation d'études cliniques sur les souches autochtones pour s'assurer de leur innocuité.

La commercialisation de ces souches à moindre cout pour une meilleure efficacité aux industriels algériens afin de promouvoir les microorganismes issus de notre terroir local.

Références bibliographiques

- Abadias M, Usall J, Anguera M, Solsona C, Viñas I. Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. *Int J Food Microbiol* 2008 ;123 ;121/9. doi :10.1016/j.ijfoodmicro.2007.12.013.
- Affèr .M, Bouziane.T, (2013). L'effet de l'incorporation de la farine de pois chiche sur le lait fermenté type yaourt.
- Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé, "Autorisation de Mise sur le Marché de Médicaments à usage humain - Avis aux demandeurs," Sep. 2014.
- Alais C. et Linden G., (1997). Abrégé de biochimie alimentaire. 4ième éd. , Masson, 248 p.
- Allemand Human Health, "Les procédés de fabrication." .
- Archibald FS, Fridovich I. (1981). Manganese, superoxide dismutase, and oxygen tolerance in some lactic acid bacteria. *Journal of Bacteriology* 146:928–936.
- Arrieux Y. (2001), Santé et aliments, légiférer suffit-il ?, www.novethic.fr (<http://www.novethic.fr/novethic/site/dossier/index.jsp?id=72255&dos=72254>, page consultée le 30 avril 2005).
- Article 170. Titre V. Chapitre I. *Journal officiel de la république algérienne* du 17 février 1985. p. 133.
- Arvola T., Sutas Y., Moilanen E. and Salminen S. (2000). Probiotics in management of atopic eczema. *Clinical and experimental allergy*,30:1604-1610.
- Attia H., Kheronatou N. et Ayadi J., 2000. Acidification chimique directe du lait. Corrélations entre la mobilité du matériel micellaire et micro et macrostructure des laits acidifiés. *Sci. des aliments*, 20, 289-307.
- Avesard, (1980) - Les laits reconstitués. Ed. APRIA, Paris : PP 36-62.
- Avezard.C.L, et Lablee . J, 1990-Laits et produits laitiers recombines, In Luquee F.M, Laits et produits laitiers vache brebis chèvre, Tec et Doc, Lavoisier, Paris, 637 pages.
- Axelsson,L. (2004). Classification and physiology. In: Lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects ((Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A.). 3e Ed., Marcel Dekker, Inc. New York. 1-66.
- Azaïs-Braesco V. Les exigences des dossiers scientifiques et réglementaires. *Cah Nutr Diététique* 2007;42:87-92.

Références bibliographiques

- B. H. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture. Popul Fr Ed 1950;5(4):764.
- Béal C. et Sodini I. (2012). Fabrication des yaourts et des laits fermentés, Techniques de l'Ingénieur f6315, ParisFrance, 16 p.
- Bellisle F, Diplock AT, Hornstra G, Koletzko B, Roberfroid M, Salminen S, Saris whm (1998). Functional food science in Europe. Br J Nutr, 80 (Suppl. 1) : S1-193.
- Benkerroum N, Tamime AY. (2004). Technologytransfer of some Moroccan traditional dairy products (lben, jben and smen) to small industrials cale: a review. Food Microbiol. 21:399–413.
- Bennett R.J. and Johnston K.A., (2004). General Aspects of Cheese Technology. Pp 23-50. In Cheese Chemistry, Physics and Microbiology. Volume 2 Major Cheese Groups. Third edition, Ed. P.F. Fox, P.L.H. Mcsweeney, T M. COGAN and T.P. Guinee. Amsterdam. 434p.
- Berta et al. - Coordination éditoriale Editorial co-ordination.pdf [Internet]. [cité 2019sept23];Availablefrom:<https://www.ladocumentationfrancaise.fr/var/storage/rapportspublics/044000422.pdf>
- Bibel, D. J. (1988). Elie Metchnikoff's bacillus of long life. ASM News , 54: 661-665.
- Boclé J-C. Effets des probiotiques et prébiotiques sur la flore et l'immunité de l'homme adulte. 2005;128.
- Bottazzi V., Bianchi F., (1980). A note on scanning electron microscopy of microorganisms associated with the kefir granule. J. App/. Bacteriol., 48, 265-268.
- Boudier. J. F, (1990) -Produits frais In « lait et produits laitiers Vache, Brebis, Chèvre » Vol II. Luquet. F. M .Ed. Tec et Doc, Lavoisier Paris, pp 39-56.
- Boudouhi R., Ferreira C., Morel E., Szymanski A., Tizaoui S. Aliments fonctionnels : « réalité et/ou allégation ». Lille : Université Lille 1 Sciences et Technologies, 2005. 202 p.
- Boutonnier J-L., (2012). Fabrication du fromage fondu, Techniques de l'Ingénieur, f6310, Paris-France, 14 p.
- Branger A. (2012), Fabrication de produits alimentaires par fermentation : l'ingénierie, f3501, Paris-France, p. 17.

Références bibliographiques

- Breidt F, McFeeters RF, Prez-Diaz I, Lee C-H. (2013). Fermented Vegetables, p. 841–855. In Doyle, Buchanan (eds.), Food Microbiology. American Society of Microbiology.
- Brule G., Lenoir J. et Ramet F., (1997). Les mécanismes généraux de la transformation du lait en fromage Chapitre 1 : La micelle de caséine et la coagulation du lait. Dans Le fromage (coord. ECK A. et GILLIS J.C.) p. 7, 3ème ed. Tec et Doc. Lavoisier.
- Butel M-J. Les probiotiques et leur place en médecine humaine. J Anti-Infect 2014;16(2):33-43.
- Carminati D., Giraffà G., Quiberoni A., Binetti A., Suárez V. et Reinheimer J., (2010). Advances and Trends in Starter Cultures for Dairy Fermentations, In Mozzi F. Biotechnology of Lactic Acid Bacteria Novel Applications, Wiley-Blackwell Publishing, USA, 393 p
- Chamba J.- F., et Irlinger F., (2004). Secondary and adjunct cultures. In Cheese, Chemistry, Physics and Microbiology, Vol. 1 General Aspects, P. F. Fox, P. McSweeney, T. M. Cogan, and T. P. Guinee, p. 191-206. London, UK : Elsevier Academic Press Inc.
- Choisy C., Desmaeud M., Gueguen M., Lenoir J., Schmidt J., et Tourneur C., 1997 (b). Les phénomènes microbiens, Dans Le fromage (Coord. ECK A. et GILLIS J.C.), 3ème ed., Tec et Doc. Lavoisier. pp 377.
- Clancy R.(2003). Immunobiotics and the probiotic evolution. FEMS Immunology and medical microbiology 38,9-12.
- Codex Committee on nutrition and foods for special dietary uses (2000). Discussion paper on the scientific criteria for health related claims. Berlin.
- Corrieu G. et Luquet F-M., (2008). Bactéries lactiques, de la génétique aux ferments, édition Tec. et Doc. Lavoisier, Paris France, 849 p.
- Cremonini F., Di Caro E C., Nista F., Bartolozzi G., Capelli G. and Gasbarrini A.(2002). Meta analysis: The effect of probiotic administration on antibiotic associated diarrhea. Alimentary pharmacology and therapeutics,16pp: 1461-1467.
- Cross M L.(2002). Immunoregulation by probiotic lactobacilli: pro- Th 1 signals and their relevance to human health. Clinical and applied immunology Reviews 3,115-125.

Références bibliographiques

- Dagleishd.G., 1982. The enzymatique coagulation of milk. In developments in dairy chemistry - 1- Proteins (Coord. FOX P.F.) A.S. Publishers, pp.157-188, 410p.
- Dangoumau. J - Pharmacologie générale. Département de pharmacologie - Université Victor Segalen Bordeaux 2. Edition 2006.
- Di Cagno R, Coda R, De Angelis M, Gobbetti M. Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation. Food Microbiol 2013;33:1–10. doi:10.1016/j.fm.2012.09.003.
- Dial E J.and Lichtenberger L M.(2002). Effèct of laetolerrin on Helicobacter felids induced gastritis. Biochem Cell Biol.,80(1) pp: 113-117.
- El Dahr H. (2001), Le marché des alicaments : un marché spécifique, série Master of Science n° 60, Montpellier, CIHEAM/IAMM. En ligne :<http://www.bns.fr/images/aliments.pdf>
- Endo A, Dicks LMT. 2014. Physiology of the LAB, p. 13–30. In Lactic Acid Bacteria. John Wiley & Sons, Ltd..
- FAO / OMS. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture. Population (French Edition). 2001;5(4):764.
- Fijan S. Microorganisms with Claimed Probiotic Properties: An Overview of Recent Literature. International Journal of Environmental Research and Public Health. 2014;11(5):4745-4767.
- Flourié B, Nancey S. Propriétés fonctionnelles des probiotiques. Cah Nutr Diététique 2007;42:38-44.
- Fook L J et Gibson G .(2002). Probiotics as modulators of the gut flora. British journal of nutrition, 88pp: 39-49.
- Forum ; les aliments fonctionnels, 1er-2 décembre 1998 Palais de l'Europe Strasbourg, France, organisé par la Division de l'Accord partiel dans le domaine social et de la santé publique.
- Forum ; P216 : « Aliments fonctionnels : le point de vue de la Commission des Communautés Européennes » par le Dr Basil MATHIOUDAKIS.
- Forum ; P49 : « Introduction aux aliments fonctionnels » par le Professeur Marcel VANBELLE.
- Forum ;P 61et 63 : « La science des aliments fonctionnels » par le Professeur Marcel B. ROBERFROID P170 : « Les aliments fonctionnels : La perspective de

Références bibliographiques

- l'industrie alimentaire » par le Dr Jean-Michel ANTOINE, Direction de la Recherche et du Développement de Danone.
- Fox P.F., Snigh T.R. and Sweney M.C., 1994. Proteolysis in cheese during ripening. In : Biochemistry of milk products. (ed. FOX P.F.) p. 1-31, The Royal Society of chemistry.
 - G. Lemetais, "Sélection et intégration d'une souche probiotique fonctionnelle dans une matrice sèche," 2012.
 - Gaier W. les ferments lactiques : classification, propriétés, utilisations agroalimentaires.
 - Garrity, G.M. et Holt, T.G. (2001). «Taxonomic Outline of the Archaea and Bacteria » p. 155-166. In D.R. Boone & R.W Castenhols (ed), Bergey's Manual of Sydtematic Bacteriology, 2eme ed, vol. 1 (The Archaea and the deeply branching and phosphoric Bacteria). Spinger- verlag, New York.
 - Gastaldi-Bouabid E., 1994. Etude de l'évolution des micelles de caséine au cours de l'acidification : mise en évidence d'un état de transition entre pH 5.5 et pH 5.0 - Thèse Doctorat Académie de Montpellier. Université de Montpellier II.
 - Gill H S. (2003). Probiotics to enhance anti-infective defences in the gastro-intestin. Best pract. Res. clin. Gactroenterol., 17pp: 755-773.
 - Gillis J.-C., (1997). Définition du fromage et normalisation. In : Le fromage de la science à l'assurance qualité, 3ème édition, Paris, PP. 846-849
 - Goossens D., Jonkers d., Stobberingh E., Van Den Bogaard A., Russel m., Stockbrugger R.(2003). Probiotics in gastroenterology: indications and future perspectives. Scandinavian journal of Gastroenterology, Supplement 239,15 23.
 - Gosta, (1995) -CD manuel de transformation du lait .Ed. Tetra pack processing systems, AB. Sweden, PP : 215-232
 - Guarner F, Aamir G. Khan ,Aamir G. Khan . Recommandation pratique : Probiotiques et Prébiotiques .Organisation mondiale de gastroentérologie 2008.
 - Guidelines on health claims for functional foods (2001). Committee of experts on nutrition, food safety and consumer health. Accord partiel dans le domaine social et de la santé publique. Conseil de l'Europe, Strasbourg.
 - GÜlitz.A , Stadie. J, Wenning. M, Ehrmann.M.A , Vogel.R, (2011), La Diversité microbienne de l'eau kéfir, International Journal of Food Microbiology, Volume 151, Issue 3, , pages 284-288.

Références bibliographiques

- Hassan A.N.et Frank J.F .,2001.Starter Cultures and their use .In:Applied Dairy Microbiology (Marth E.H.et Steele J.L.)2e Ed .,Marcel Dekker,Inc.New york .151- 205.
- Heyman, M., Heuvelin, E. (2006). Micro-organismes probiotiques et régulation immunologique le paradoxe. Nutrition clinique et métabolisme, 20: 85–9.
- Holzapfel W.H., Haberer P., Geisen R., Björkroth J. et Schillinger U.(2001).Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. Am. J. Clin. Nutr.73 (Suppl): 365-373.
- Holzapfel WH, Wood BJB. 2014. Physiologically ‘related’ genera, p. 507–508. In Lactic Acid Bacteria. John Wiley & Sons, Ltd
- Huys G, Botteldoorn N, Delvigne F, Vuyst L, Heyndrickx M, Pot B, et al. Microbial characterization of probiotics–Advisory report of the Working Group « 8651 Probiotics » of the Belgian Superior Health Council (SHC). Molecular Nutrition and Food Research. 2013;57(8):1479-1504
- Hylckama Vlieg J. E. T. et Hugenholtz van J., (2007). Mining natural diversity of lactic acid bacteria for flavour and health benefits, International Dairy Journal, 17:290–1297.
- IRP:l'expert européen des probiotiques www.pharmabiotic.org.
- Isolauri E. (2003). Probiotics for infectious diarrhoea. Gut 52,436-437.
- J.O.R.A.N°69, 1993 : Arrêté interministériel du 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation, pp16-20.
- Kadi Souad, 2010-Etude de la caractéristique physico-chimique et microbiologique du lait fermenté«leben» fabriqué à l'unité SWEETLE de Ain oussera Wilaya de Djelfa.
- Kaila M., Isolauri E.,Saxelin M., Arvilommi h. and Vesikari T.(1995). Viable versus inactivated Lactobacillus strain gg in acute rotavirus diarrhea. Archives of disease in Childhhod 72,52-53.
- Kalliomaki M., Salminen S., Arvilommi H., Kero P., Koskinen P.and isolauri E.(2001). Probiotics in primaryprevention of atopic disease: A symbiotic placebo-controlled trial. Lancet, 357pp: 1076-1079.
- Keddar.F, Koubich. S, 2009. Etude de l'effet antagoniste entre les deux bactéries du yaourt (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*) et les germes pathogènes (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*)

Références bibliographiques

- Kidd P. (2003). Th1/Th2 balance: the hypothesis, its limitations, and implications for health and disease. *Alternative Medicine Review*.8,223-246.
- Kwak CS, Lee MS, Oh SI, Park SC. 2011. Discovery of Novel Sources of Vitamin B12 in Traditional Korean Foods from Nutritional Surveys of Centenarians. *Current Gerontology and Geriatrics Research*. Review Article, Hindawi.
- LA Riviere J. W .M., Kooiman P., Schmidt K., 1967. Kefiran, a novel polysaccharide produced in the kefir grain by *Lactobacillus brevis*. *Arch. Microbiol.*, 59, 269-278.
- LE Guern .J, 1989 Chapitre 7 : Les légumes fermentés. In : ACCOLAS, J.P. et al. *Microbiologie alimentaire. Tome 2 : Les fermentations alimentaires*. Paris : Technique et Documentation –Lavoisier, p.137
- Leff JW, Fierer N. Bacterial Communities Associated with the Surfaces of Fresh Fruits and Vegetables. *PLoS One* 2013;8:1–9. doi:10.1371/journal.pone.0059310.
- Leksir Choubaila. (2012). Caractérisation et contrôle de la qualité de ferments lactiques utilisés dans l'industrie laitière algérienne. Mémoire de magister. Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agroalimentaires (INATAA). Université Mentouri de Constantine, Algérie
- Leroy F. et De Vuyst L., (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends Food Science and Technology*, 15:67–78.
- *Leveau J.Y. et Bouix M.. 1993. Microbiologie industrielle: les microorganismes d'intérêt industriel. Tec&Doc, Lavoisier. Paris. 85-87.*
- Limsowtin G. K. Y., Powell I. B. et Parente E., (1996). Types of starters. In *Dairy Starter Cultures*, ed. T.M. Cogan and J. - P. Accolas, New York, USA: VCH. p.101 – 129.
- Liong M T. and Shah N P.,(2005). Bile salt deconjugation and BSH activity of five bifidobacterial strains and their cholesterol co-precipitating properties. *Food Research international.*, 38pp:135-142.
- Luquet F.M, 1986 : Lait et les produits laitiers : vache, brebis, chèvre. ED.TEC et DOC. Lavoisier, paris, T3, 445P.
- Luquet F.M., 1990. Lait et produits laitiers : vache, brebis chèvre. Tome II, Tech. Et Doc., 2ième édition, Lavoisier, Paris.

Références bibliographiques

- Luquet, F.M, 1990. Les produits Laitiers Transformation et technologie. 2ème édition lait et produits laitiers vache, brebis, chèvre. Tech-doc Apria Lavoisier. P2-85-206.
- M. Jean-Paul, C. Danièle, and P. Jérôme, Code de la Santé Publique 2016 - Article L5111-1, 30ème édition. DALLOZ, 2016.
- Makarova K., Slesarev A., Wolf Y., Sorokin A., Mirkin B. et Koonin E., (2006). Comparative genomics of the lactic acid bacteria. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, 429(103) :15611–15616.
- Marshall V.M., COLE W.M., 1984. Studies on kefir. IDF Bull., 179, XIII
- Marth E. H. et Steele J. M., (2001). Applied dairy microbiology, 2nd Edition, Marcel Dekker, Inc, New York, USA, 744 p.
- Martin A (1999). Les alicaments. Rev Prat, 49 : 1721-2. 2. MARTIN A (2000). La nutraceutique : concept marketing ou nouvelle science. Rev Prat, 50 : 817-8.
- Mattarelli P, Holzapfel W, Franz CMAP, Endo A, Felis GE, Hammes W, et al. Recommended minimal standards for description of new taxa of the genera *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* and related genera. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2014;64(4):1434-1451.
- Mc Sweeney P.L. H. , 2004; Biochemistry of cheese ripening. Vol 57, No 2/3 , Int. J. of Dairy Technol , 127-144.
- Mechai A, Kirane D. (2008). Antimicrobial activity of autochthonous lactic acid bacteria isolated from Algerian traditional fermented milk —Raïbl Afr J Biotechnol 7:2908–14. Mechai A. et Kirane D., (2008). Antimicrobial activity of autochthonous lactic acid bacteria isolated from Algerian traditional fermented milk “Raïb”. African Journal of Biotechnology, 7 (16) : 2908-2914.
- Mechai A. and Kirane D. (2008). Antimicrobial activity of autochthonous lactic acid bacteria isolated from Algerian traditional fermented milk —Raïbl. African Journal of Biotechnology, 7 (16) : 2908-2914.
- Metchnikoff E., (1907). The prolongation of life. In Optimistic Studies (Heinemann W., Ed.), pp. 1-100. G. P. Putnam and Sons, London, UK.
- Meurman JH. Probiotics: do they have a role in oral medicine and dentistry? Eur J Oral Sci. juin 2005;113(3):188-96.

Références bibliographiques

- Micro-découvertes en ligne - Le yogourt [Internet]. [cité 2019 oct 20]; Available from: http://www.museefrappier.qc.ca/fr/index.php?pageid=3114c&image=3114c_lactobacillus
- Molska I., Kocon J., Zmarlicki S., 1980. Electron microscopic studies on structure and microflora of kefir grains. *Acta Aliment. Pol.*, 6, 145-154 (OSA 1981, n° 7063).
- Mozzi F., Raya R. R. et Vignolo G. M., (2010). *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria Novel Applications*, Wiley-Blackwell Publishing, USA. 393 p.
- Ordre National des Pharmaciens, “Le médicament.” [Online]. Available: <http://www.ordre.pharmacien.fr/Le-pharmacien/Champs-d-activites/Le-medicament>. [Accessed: 22-Nov-2016].
- *Orla-Jensen S. La Classification Des Bactéries Lactiques. Le Lait*
- Ottogalli G., Galli A., Resmini P., Volonterio G., 1973. Composizione microbiologica, chimica ed ultrastruttura dei granuli di kefir. *Ann. Microbiol.*, 23, 109-121.
- Parente E. et Cogan T. M., (2004). Starter cultures: general aspects. In: Fox, P. F., McSweeney P. L. H., Cogan T.M. et Guinee, T. P. (Eds.), *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Vol. I. Chapman and Hall, London, p.123-148.
- *Pelletier J-F., Faurie J-M. & François A. (2007). Lait fermenté : la technologie au service du goût. In Cahiers de Nutrition et de Dietetique, Volume 42, Issue 2, 18-05-2007, pp. 2S15*
- Pereira D I A. and Gibson G R. (2002). Effects of consumption of probiotics and prebiotics on serum lipid levels in humans. *Critical Reviews in biochemistry and Molecular biology*, 37pp: 259-281.
- Pharmacopée Européenne, 8ème édition. Conseil de l'Europe, Strasbourg, 2014.
- *Pilet M.F., Magras C. et Federighi M. 2005. Bactérie lactique. In : bactériologie alimentaire (Federighi M). 2^e Ed., economica. Paris. 219-240*
- Pogson BJ, Morris SC. 2004. 22 - Postharvest Senescence of Vegetables and its Regulation, p. 319–329. In Noodén, LD (ed.), *Plant Cell Death Processes*. Academic Press, San Diego.
- Ponce De Leon-Gonzalez L., Wendorff W. L., Ingham B. H., Jaeggi J. J. and Houck K. B., 2000. Influence of Salting Procedure on the Composition of Muenster-Type Cheese. *J Dairy Sci* 83:1396–1401

Références bibliographiques

- Ramet J.P., 1997. L'égouttage du coagulum. Dans Le fromage (Coord. ECK A. et GILLIS J.C.). 3ème édition, Ed. Tec et Doc. Lavoisier. p. 43. RAMET J.P., 1997. La préparation du caillée, 1- : La présure et les enzymes coagulantes (p. 101-107). Dans Le fromage (Coord. ECK A. et GILLIS J.C.) , 3ème ed. Tec et Doc. Lavoisier.
- Ramet J.P., 1985. La fromagerie et les variétés de fromages du bassin méditerranéens. Ed. Etude FAO. Production et santé animale, 187 P.
- Ramet J.P., 1987. La préparation du caillée, 1- : La présure et les enzymes coagulantes. Dans Le fromage (Coord. ECK A.), Tec et Doc. Lavoisier, pp 101-107, 539 p.
- Rautava S., Kirjavainen P. and Salminen S. (2002). Role of probiotics in food hypersensitivity. *Current opinion in Allergy and Clinical Immunology*, 2pp: 2663-271.
- Ray B. et Bhajania A. (2008). *Fundamental food microbiology*, fourth edition Taylor & Frands Group CRC Press, 492 p.
- Robinson R. K., (2002). *Dairy Microbiology Handbook*, third Edition, John Wiley and Sons, Inc., New York USA, 764 p.
- Rolfe R D.(2000). The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *The journal of Nutrition* 130: 396-402.
- Rosenfeldt ., Michaelsen K F., Jakobsen M., Larsen C N., Moller PL., Pedersen P., Tvede M., Weyrehter H., Valerius, N H. and Paerregaard A. (2002). Effect of probiotic *Lactobacillus* strains in young children hospitalized with acute diarrhea. *Pediatric Infectious disease journal*.21, 411-416.
- Rosi I., Rossi J., (1981). Condizioni per la produzione di polisaccaride in alcuni *Lactobacilli*, in relazione alla formazione dei granulo di kefir. Atti dei XLI Convegna della sezione Tosco-UmbraEmiliana-Marchigiana-abruzzese (TUEMA) della Società Italiana di Microbiologia, Siena, 29-30 Maggio 1981.
- Rossi J., Costamagnal, Ingi M., (1978). Boissons fermentées de différents types microbiens (*L. acidophilus*, *L. bifidus*, *L. bulgaricus* et *Str. thermophilus*) produites avec du lait à faible contenu glucidique (Lait ultrafiltré, lait dé lactosé par voie microbienne, lait de soja). *Lait*, 58, 155-172.

Références bibliographiques

- Saarela M., Lichtenhan L., Crittenden R., Salminen S. AND Mattila-Sandholm T. (2000). Gut bacteria and health foods: the European perspective. *Int. J. Food Microbiol.*, 78:99-117
- Saithong P., Panthavee W., Boonyaratanakornkit M. et Sikkhamondhol Ch., (2010). Use of a starter culture of lactic acid bacteria in plaasom, a Thai fermented fish, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 110(5):553– 557.
- Salminen S., Wright A. et Ouweland A., (2004). *Lactic Acid Bacteria Microbiological and Functional Aspects*, Third Edition, Marcel Dekker, Inc. USA, 628 p.
- Septembre-Malaterre A, Remize F, Poucheret P. 2018. Fruits and vegetables, as a source of nutritional compounds and phytochemicals: Changes in bioactive compounds during lactic fermentation. *Food Research International* 104:86–99.
- Settanni L. et Moschetti G., (2010). Non-starter lactic acid bacteria used to improve cheese quality and provide health benefits, *Food Microbiology*, 27:691-697.
- Shetty K., Paliyath G., Pometto A. et Levin R. E., (2006). *Food biotechnology*, Second Edition, CRC Press Taylor & Francis Group, 1982 p.
- Solieri L. et Giudici P., (2009). *Vinegars of the World* Springer-Verlag Italia, 297p.
- Swain MR, Anandharaj M, Ray RC, Praveen Rani R. Fermented Fruits and Vegetables of Asia: A Potential Source of Probiotics. *Biotechnol Res Int* 2014;2014:1–19. doi:10.1155/2014/250424
- Szymanski H., Pejcz J., Jawien M., Chmilarczyk A., Strus M. and Heczko P B. Treatment of acute infectious diarrhoea in infants and children with a mixture of *Lactobacillus rhamnosus* strains- A randomized, double blind, placebo-controlled trial. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 23pp:247-253.
- Tamime A.Y. & Deeth H.C. (1980). *Yoghurt : technology and biochemistry*. *Journal of Food Protection*, 43 (12), 939-977.
- Togola, Anne. (2006). « Présence et devenir des substances pharmaceutiques dans les écosystèmes aquatiques ». Thèse de doctorat. Université de Bordeaux 1, France.
- Ultrastructure des levures [En ligne]. [Cité le 13 décembre 2015]. Disponible sur: <http://www.abmauri.fr/levure-de-panification-definition-etdescription.html>

Références bibliographiques

- Vadamme P., Pot B., Gillis M., Devos P., Keresters K. and Swings J.. 1996. Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiol. Rev.* 60 : 407
- Vignola. C. L, 2002 : *Science et Technologie du Lait : Transformation du Lait*. Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada, 600 pages.
- Wouters D, Grosu-Tudor S, Zamfir M, De Vuyst L. Bacterial community dynamics, lactic acid bacteria species diversity and metabolite kinetics of traditional Romanian vegetable fermentations. *J Sci Food Agric* 2013;93:749–60. doi:10.1002/jsfa.5788.
- Xu F, Zheng Y, Yang Z, Cao S, Shao X, Wang H. 2014. Domestic cooking methods affect the nutritional quality of red cabbage. *Food Chemistry* 161:162–167.
- Yıldız F., (2010). *Development and manufacture of yogurt and other dairy products*, CRC Press Taylor & Francis Group, USA, 435 p.
- Zubillaga M., Weill R., Postaire E., Goldman C., Caro R. and Boccia J b. (2001). Effect of probiotic and functional foods and their use in different diseases. *Nutr. Res.*, 21pp : 569-579.

