

UNIVERSITE KASDI MERBAH - OUARGLA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES



Projet de Fin d'Etudes
En vue de l'obtention du diplôme de
Licence

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Biologie

Spécialité : Microbiologie fondamentale et appliquée

Thème

**Synthèse bibliographique sur les méthodes utilisées pour la
conservation des souches lactiques**

Présenté par : - BAHLOUL Amina

- DJABOU Fatima Zohra

Encadreur : M^{me} SIBOUKEUR Amina

Examinatrice : M^{me} KHALEEF Sakina

Année universitaire : 2013/2014



REMERCIEMENTS

*Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer notre profonde
gratitude et*

nos vifs remerciements à :

*Avant tout nous remercions mon dieu tout puissant qui nous a donné
le courage ,*

*la volonté et la force pour accomplir ce modeste travail . merci de nous
avoir*

éclairé le chemin de la réussite.

*En premier lieu, nous tiendrons à remercier au **M^{me} SIBOUKEUR
Amína***

*Professeur à l'U.K.M.O., qui a proposé et encadré ce travail
depuis les
premiers instants .Sa pédagogie ,son écoute,son ouverture d'esprit et
sa*

*vision de la recherche scientifique ,ont été aussi importantes pour
nous vu ses connaissances étendues et ont largement
contribué à l'évolution de ce projet.*

*Tous nos enseignants trouveront ici l'expression de notre profond
respect.*

*un grand merci à **M^{er} BEN SASSI Messoud Bachagha** maître
assistant A. au département de biologie de l'U.K.M.O., et*

***M^{me} BALLA Asma** pour tous des informations
et les idées qu'ils nous ont donné.*

*à **M^{me} KHALLEF Sakina** maître assistant A. au département de
biologie de*

*l'U.K.M.O., qui acceptent d'examiner ce modeste
travail.*

*à l'occasion m'est ici offerte pour adresser mes sincères remerciements
à toutes*

*les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation
de ce travail.*

Merci ,en fin , à tous nos enseignants , collègues et amis .

Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail aux êtres les plus chers à mon cœur :Ma
mère*

*et mon père qui m'a soutien jusqu'au bout grâce à son
aide à son sacrifice qu'elle a fait durant mes études.*

*Je le dédie également aux plus aimables au
monde*

A mes chers frères : Bahri, Adel.

A mes chères sœurs : Nawal, Latifa, Warda, Sana, Sabra, Ahlam

Mes adorable nieces: Sagida, sabrinal, rohlfoad, abdo Allah,

Mohammed raid, choaib, loai

Je dédie a toutes mes amies

Je dédie ce mémoire à toute ma famille sans exception :

Djabou et Arobe

Et à tous ceux et toutes celles que je n'ai pas cités dans mon

mémoire et que j'ai gardé dans ma mémoire.



Fatima zohra

Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail aux êtres les plus chers
à mon cœur :*

*Ma mère et mon père qui m'a soutien jusqu'au bout grâce à son
aide à son sacrifice qu'elle a fait durant mes
études.*

Je le dédie également aux plus aimables au monde

*A mes chers frères : Abd' Rahim , M^{ed} Taïb , Djamel
Elldine et Omar.*

*A mes chères sœurs : Aïcha , Nafissa , et surtout
Nousseïba.*

Je dédie ce mémoire à toute ma famille sans exception :

Bahloul et Aïssani .

*Et à tous ceux et toutes celles que je n'ai pas cités dans mon
mémoire et que j'ai gardé dans ma mémoire.*

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des photos

Liste des annexes

Introduction 01

Partie I :Bactéries lactiques

1-1- Historique	02
1-2- Définition des bactéries lactiques	02
1-3- Diversité des bactéries lactiques	03
1-4- Habitat	04
1-5- Utilisation et application	04
1-6- Fermentation lactique	06
1-6-1- La voie homofermentaire	06
1-6-2- La voie hétérofermentaire	06
1-6-3- La voie fermentaire bifide	06
1-7- Probiotiques des bactéries lactiques	08
1-7-1- Historique	08
1-7-2- Définition	08
1-7-3- Microorganismes probiotiques	09
1-7-4- Aliments riches en probiotiques	10

1-7-4-1- Yaourts et autres laits fermentés	10
1-7-4-2- Autres aliments riches en bactéries	11
1-7-4-3- Effets des probiotiques	11
1-8- Production de bactériocines par les bactéries lactiques	12
1-8-1- Importance des bactériocines dans l'industrie agroalimentaire	13
Partie II: Méthodes de conservation des souches lactiques dans l'industrie agro-	
alimentaire	
2-1- Méthodes de conservation	15
2-1-1- Congélation	15
2-1-2- Lyophilisation	16
2-1-2-1- Lyophilisation des bactéries lactiques	16
2-1-2-1-1- Description et principe de la lyophilisation	16
2-1-2-1-2- Congélation	17
2-1-2-1-3- Dessiccation	17
2-1-2-1-4- Conditions de lyophilisation	18
2-1-2-1-5- Facteurs influant la lyophilisation	19
2-1-2-1-5-1- Température	19
2-1-2-1-5-2- Congélation	19
2-1-2-1-6- Intérêt de la lyophilisation	19
2-1-3- Cryoprotection des bactéries lactiques	20
2-1-3-1- Cryoprotection intracellulaire	20
2-1-3-2- Cryoprotection extracellulaire	20
2-1-3-3- Mécanisme d'action des cryoprotecteurs	21
Conclusion	23
Références bibliographiques	24
Résumé	30

LISTE DES TABLEAUX

N°	Intitulé	Page
I	Principaux produits issus de la fermentation des bactéries lactiques (SPINNLER,1995)	05
II	Principaux probiotiques ajoutés aux produits alimentaires (HOLZAPFALS et <i>al.</i> ,1998) .	09-10
III	Les principaux effets bénéfiques attribués aux probiotiques (PATTERSON, 2008).	11-12
IV	Quelques substances utilisés comme cryoprotecteurs cellulaires (ADJIZIAN et <i>al.</i> , 1987).	21

LISTE DES FIGURES

N°	Intitulé	Page
01	Arbre phylogénique des bactéries lactiques (AXELSSON,2004).	03
02	Dégradation du glucose par les bactéries lactiques (De ROISSART et LUQUET., 1994).	07
03	Représentation schématique d'un produit en cours de lyophilisation (SIMATOS et <i>al.</i> , 1994).	18

LISTE DES PHOTOS

N°	Intitulé	Page
01	<i>Leuconostoc lactis</i> observée au microscope électronique à transmission(M.E.T.) (x 10000)	02
02	<i>Lactobacillus Rosell-11</i> observée au microscope électronique à transmission (M.E.T.) (x 10000).	02
03	<i>Lactobacillus-casei-probiotique</i> .observée au microscope électronique à transmission (M.E.T.) (x 10000).	09

04	Produits laitiers commercialisés fabriqués en ajoutant des probiotiques	10
05	Représentation des effets bénéfiques du probiotiques	12

Introducción

Introduction

Les bactéries lactiques sont de très anciens microorganismes dont les ancêtres auraient pu avoir le jour il ya 3milliard d'années .Elles seraient donc apparues avant les cyanobactéries photosynthétiques qui ont transformé l'atmosphère terrestre anciens sans oxygène en atmosphère aérobie et dont les fossiles très bien conservées dantent d'environ 2,7 milliard d'années (DRIDER D et PREVOST H , 2009).

Les bactéries lactiques largement étudiées par les chercheurs sont utilisées dans l'industrie laitière et pour la conservation des aliments dans des conditions très variés. Afin de satisfaire les besoins de consommateur, des méthodes de conservation de ces souches sont utilisées .

Ces ferments lactiques utilisées dans le domaine alimentaire sont généralement fournis aux utilisateurs sous trois formes physiques : liquide, congelée ou lyophilisée (TAMIME et ROBINSON ,1999).Pour des raisons de facilité de conservation, de transport et d'utilisation, la forme liquide a été largement supplanté par les formes congelées el lyophilisées. Afin de réduire les effets nocifs de ces traitements de conservation sur les souches et d'améliorer leur conservation, on utilise des cryoprotecteurs les plus appliqués à l'échelle industrielle, sont le lactose et le saccharose, le glutamate monosodique, l'ascorbate de sodium et le glycérol (MAYRA- MAKINEN et BIGRET, 1998)

Dans ce sens, notre projet à pour objectif :

-Une recherche bibliographique sur les bactéries lactiques et les différentes méthodes utiliser pour leur conservation afin de les utilisées dans le domaine agro-alimentaire, thérapeutique...

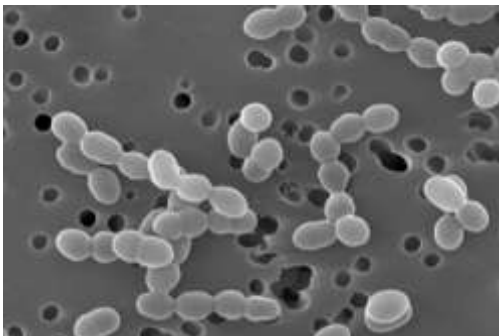
PARTIE I:
Bactéries lactiques

1-1- Historique

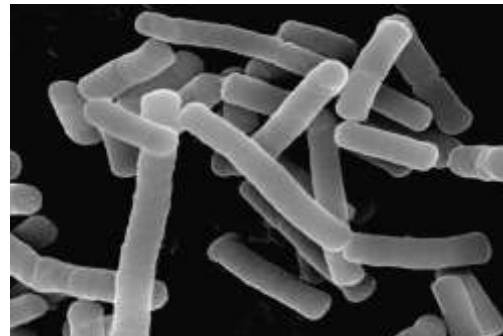
Bien avant que l'on soit conscient de l'existence des bactéries lactiques, elles avaient été utilisées dans la conservation des aliments à base de lait, de viande, de poissons, de légumes et de fruits (PAUL ROSSE et *al.*, 2002). C'est à l'époque des grandes découvertes de la microbiologie, à la fin du 19^{ème} siècle, que des chercheurs se sont penchés sur la fermentation du lait pour trouver la cause de sa coagulation acide. On a conclu que la présence de bactéries lactiques est responsable de l'acidification du lait et de la maturation de la crème (De ROISSART et LUQUET, 1994).

1-2- Définition

Les bactéries lactiques sont des bactéries à Gram positif, anaérobies partiellement tolérantes à l'oxygène, ne produisant pas en général de spores, se présentant sous formes de coques ou de bâtonnets et capables de fermenter les sucres en acide lactique. On les caractérise aussi par le faible contenu de leur ADN en paires de bases G-C guanine-cytosine (< 50 %) sauf pour les bifidobactéries qui ont un taux supérieur à 50 % de GC. Elles ont pour habitat de nombreux milieux naturels et accompagnent l'activité humaine en tant que bactéries de la flore commensale des muqueuses et de la flore alimentaire elles sont exigeantes d'un point de vue nutritionnel car elles sont incapables de synthétiser un certain nombre d'acides aminés (on dit qu'elles sont auxotrophes pour ces composés). La bactérie lactique modèle, *Lactococcus lactis* est auxotrophe pour 7 à 12 acides aminés selon les souches. L'incapacité à synthétiser ces acides aminés nécessaires à leur croissance, oblige les bactéries lactiques à trouver ces molécules dans leur milieu via un processus de nutrition azoté. Ces dernières demandent pour leur culture des milieux riches en sucres, acides aminés, acides gras, sels et vitamine et pauvres en oxygène. Elles sont généralement cultivées dans la gélose MRS (de Man, Rogosa, Sharpe). Elles sont aptes à survivre dans des milieux très acides (Photos 1 et 2)(De ROISSART et LUQUET, 1994).



Photos 01: *Leuconostoc lactis* observé au M.E.T. (x 10000).
(<http://www.oocities.com/cheezyfr/photos/Leuconostoc.jpg>).



Photos 02: *Lactobacillus Rosell-11* observé au microscope électronique à transmission (M.E.T.) (x 10000).
(http://www.institut-rosell.lallemand.com/uploads/images/souches/lactobacillus-R52_big.jpg).

1-3-Diversité des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques regroupent de nombreux genres bactériens tels que *Bifidobacterium*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Weissella*,...

De plus, l'utilisation des séquences de gènes codant pour les ARN 16S et 23S a conduit à l'identification de nouveaux genres bactériens parmi les quelles en trouve des bactéries lactiques des genres : *Carnobacteria*, *Enterococcus*, *Tetragenococcus* et *Vagococcus* issue d'une évolution taxonomique (VANDAMME et al., 1996).

Parmi les bactéries lactiques, *Lactobacillus* présente le genre le plus répandu. Ce dernier comprend à lui seul de nombreuses espèces qui diffèrent par leurs caractéristiques phénotypiques, biochimiques et génétiques (fig.1) (VANDAMME et al.,1996).

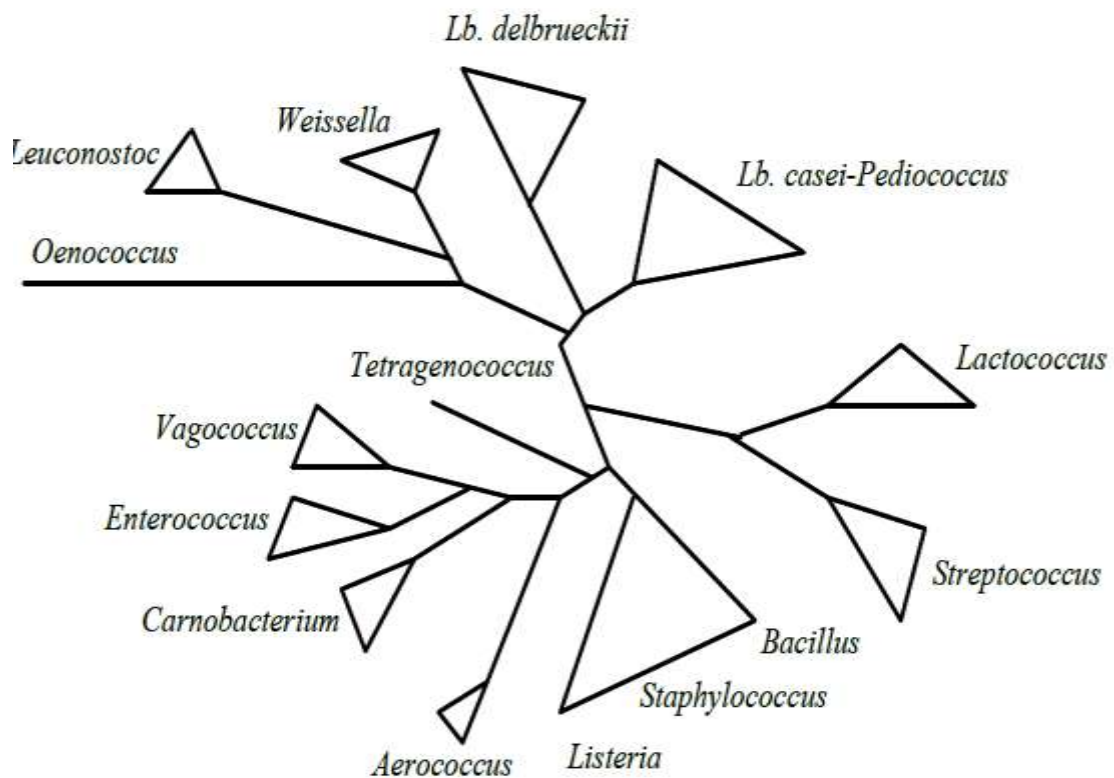


Figure 1: Arbre phylogénique des bactéries lactiques et comparaison avec les genres *Aerococcus*, *Bacillus*, *Listeria* et *Staphylococcus* (AXELSSON, 2004).

1-4-Habitat

Les bactéries lactiques sont présentes dans de nombreux milieux naturels, allant du sol, des plantes en décomposition, aux animaux. Chez ces derniers, on les trouve dans les cavités buccales et vaginales, les fèces et le lait. Le tractus gastro-intestinal des mammifères est colonisé par des bactéries lactiques comme *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, et *Weissella* (KLEIN *et al.*, 1998).

1-5- Utilisation et application

Les bactéries lactiques ont été utilisées par l'homme depuis le néolithique pour fabriquer des aliments fermentés. Leur production d'acide lactique permet d'acidifier le substrat et par là d'inhiber la prolifération de germes pathogènes ou d'agents indésirables provoquant des altérations organoleptiques. La fermentation du lait par des bactéries lactiques est à l'origine de plus de milliers de produits différents, chacun avec ses caractéristiques spécifiques d'arôme, de texture et de qualité (MAYRA-MAKINEM et BIGRET, 1998).

Les bactéries lactiques sont également utilisées dans l'industrie chimique (production d'acide lactique), dans le domaine médical (notamment pour le traitement de dysfonctionnements intestinaux) et dans l'industrie des additifs alimentaires (production d'exopolysaccharides et de mannitol) (RUAS-MADIEDO *et al.*, 2002 ; WISSELINK *et al.*, 2002).

Elles sont aussi utilisées pour la production de bactériocines (RODRIGUEZ *et al.*, 2003) et pourraient être impliquées dans la production de protéines thérapeutiques ou comme vecteurs de vaccins (LANGELLA *et al.*, 2001).

La fermentation améliore la conservation et modifie la saveur des aliments. On trouve des bactéries lactiques dans les produits laitiers (yaourts, fromages), les légumes fermentés (olives, cornichons, choucroute), les boissons alcooliques fermentées (vin, bière, cidre), la charcuterie (jambon, saucissons) et le pain au levain (Tableau I) (LANGELLA *et al.*, 2001).

Taleau I :Principaux produits issus de la fermentation des bactéries lactiques(SPINLER,1995)			
Famille	Genre	Substrat	Exemples
Lactobacillaceae	<i>Lactobacillus</i>	Lait	laits fermentés, yaourts, kéfirs, la plupart des fromages
		Viande	saucissons secs, jambons secs
		poissons	nuoc mam
		végétaux	choucroute, olives, "yaourts" au lait de soja
		céréales	pain au levain, bières, huangjiu
	<i>Pediococcus</i>	végétaux	choucroute, ensilage
		Viande	saucisses semi-séchées, saucissons secs
		poissons	nuoc mam
céréales		pain au levain, riz fermenté	
Streptococaceae	<i>Lactococcus</i>	Lait	fromages blancs, à pâte molle ou pressée non cuite, kéfirs
	<i>Streptococcus</i>	Lait	yaourts, laits fermentés, fromages à pâte pressée cuite
Enterococaceae	<i>Tetragenococcus</i>	végétaux	sauce de soja, miso
		poissons	saumure d'anchois, sauce de poisson, nuoc mam
Leuconostocaceae	<i>Leuconostoc</i>	végétaux	choucroute, olives, vin, cidre
		Lait	fromages, kéfirs
	<i>Oenococcus</i>	végétaux	Vin
Bifidobacteriaceae	<i>Bifidobacterium</i>	Lait	laits fermentés

1-6-Fermentation lactique

Les bactéries lactiques étant incapables d'obtenir leur énergie par la respiration, elles recourent à la fermentation des glucides en acide lactiques, Toutes les bactéries lactiques ont un métabolisme fermentaire strictement saccharolytique qui, en utilisant les glucides, peuvent produire soit de :

- l'acide lactique exclusivement (bactéries homolactiques strictes), (fig-2)
- l'acide lactique et de l'acide acétique (bactéries hétérolactiques facultatives), (fig-2)
- l'acide lactique, de l'acide acétique ou de l'éthanol et de CO₂ (bactéries hétérolactiques strictes) (fig-2) (VANDAMME et *al.*, 1996).

1-6-1- Voie homofermentaire

Utilise la glycolyse dans sa totalité, du glucose au pyruvate puis lactate. En condition optimale de croissance, cette voie produit deux molécules de lactate et deux molécules d'ATP par molécule de glucose consommée. Pour être qualifiée d'homolactique, cette voie doit convertir au moins 90 % du glucose consommé en lactate. Mais dans des conditions de croissance non optimales (milieu appauvri, sur certains sucres, avec des souches mutées...) (VANDAMME et *al.*, 1996).

1-6-2- Voie hétérofermentaire

Produit outre l'acide lactique, des quantités significatives de CO₂ et d'éthanol ou d'acétate. La dégradation d'une molécule de glucose conduit à la formation d'une molécule de lactate, une molécule d'éthanol (CH₃CH₂OH), d'un CO₂ et d'un ATP (VANDAMME et *al.*, 1996).

1-6-3- Voie fermentaire bifide

(ou voie de la fructose-6-P phosphocétolase FPC) est la voie empruntée par les bactéries du genre *Bifidobacterium*. Pour une molécule d'hexose consommée, cette voie produit 1,5 molécule d'acétate et 2,5 molécules d'ATP (VANDAMME et *al.*, 1996).

Les voies fermentaires des bactéries lactiques sont resumés dans la figure 2:

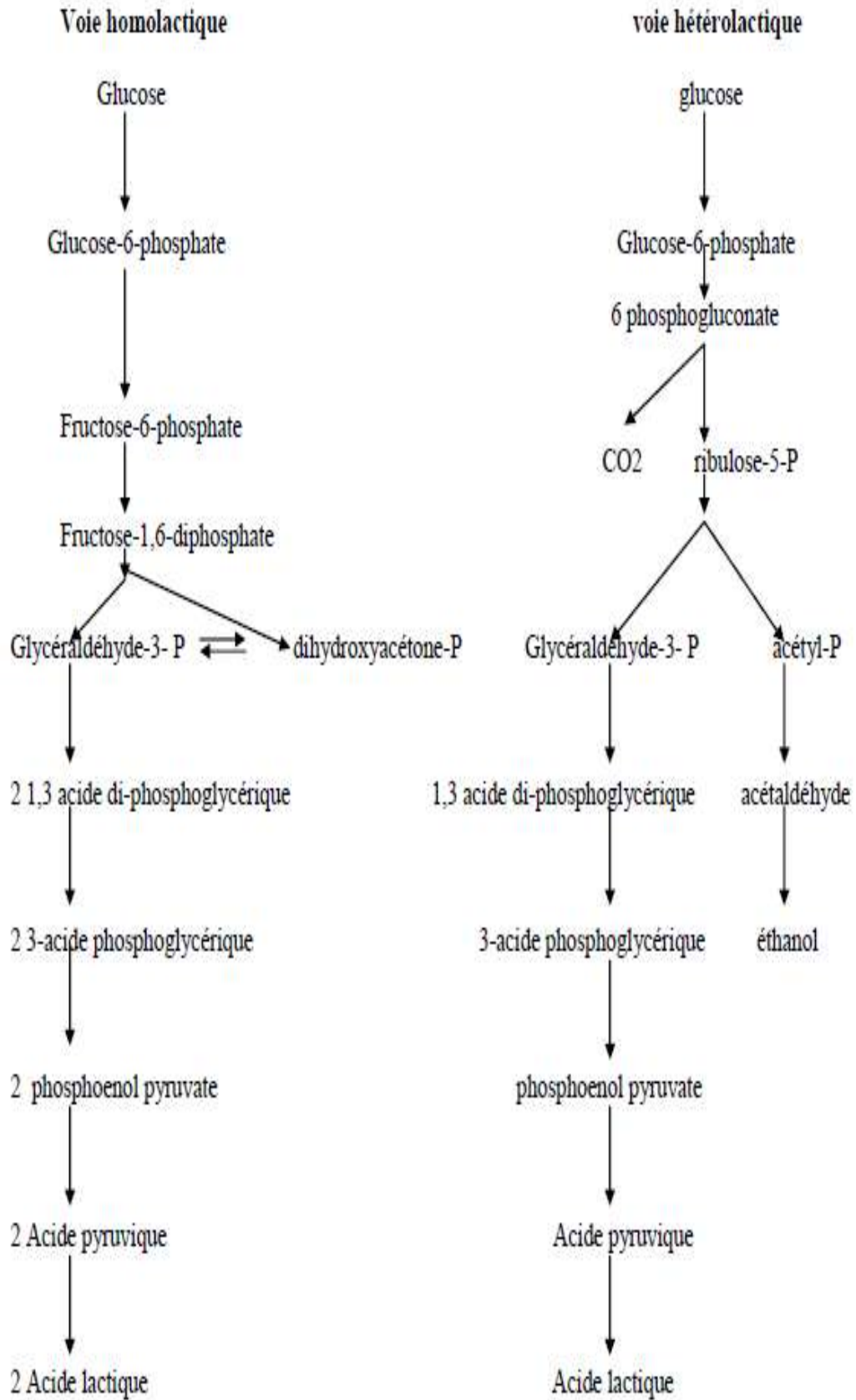


Figure 2 : Dégradation du glucose par les bactéries lactiques (De ROISSART et LUQUET, 1994).

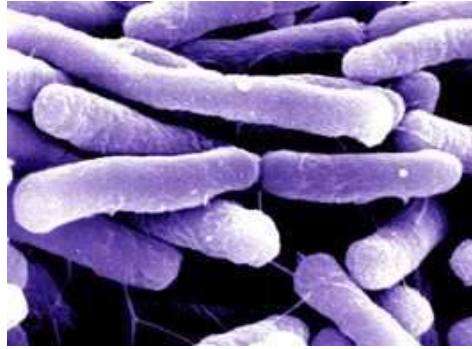
1-7- Probiotiques des bactéries lactiques

1-7-1-Historique

Le terme probiotique a bénéficié de plusieurs définitions qui ont évolué dans le temps en fonction des connaissances scientifiques et des avancées technologiques. La notion de probiotiques a été développée principalement grâce aux travaux de Metchnikoff ayant suggéré que l'ingestion de bactéries lactiques vivantes accroît la longévité en réduisant dans le tube digestif la population de bactéries putréfiantes ou produisant des toxines. Une des premières définitions des probiotiques comme « facteurs promoteurs de croissance produits par des microorganismes » a été proposée par Lilly et Stillwell en 1965. Depuis ce temps, la définition du terme probiotique a été modifiée à plusieurs reprises (LAMOUREUX, 2000 ; AIT-BELGNAOUI et *al.*, 2005). En 1989, Roy Fuller a mis l'accent sur la demande de viabilité des probiotiques et introduisit l'idée qu'ils avaient un effet bénéfique sur l'hôte (GUARNER et *al.*, 2008). LA FAO ET L'OMS (2002), ont établi récemment des lignes directrices pour l'utilisation du terme « probiotiques » dans les aliments et formulent la définition suivante : « les probiotiques sont des microorganismes vivants qui lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, exercent une action bénéfique sur la santé de l'hôte qui les ingère ».

1-7-2-Définition des probiotiques

Les probiotiques sont des microorganismes vivants qui lorsqu'ils sont administrés en quantité adéquate, produisent un effet bénéfique pour la santé de l'hôte (ROUSSEAU, 2004). Selon la taxonomie des bactéries, les probiotiques se classent selon la famille, le genre, l'espèce et la souche. Pour qu'un microorganisme soit considéré comme une probiotique, il doit respecter un certain nombre de critères. La souche doit être identifiée par des méthodes phénotypiques et génotypiques et sa sécurité doit avoir été démontrée par des études chez l'humain (BUSSIERES et *al.*, 2010) ; de plus, le microorganisme doit demeurer vivant après son passage dans le tractus gastro-intestinal. Enfin, des études contrôlées chez l'humain doivent démontrer son efficacité (Photo 03) (GUARNER et *al.*, 2008).



Photos 03: *Lactobacillus-casei*-Probiotique observé au microscope électronique

(http://www.pressebio.fr/wp-content/uploads/2012/03/jpg_files)

1-7-3- Microorganismes probiotiques

Les genres bactéries les plus utilisées comme probiotiques chez les animaux et les êtres humains sont les lactobacilles. Constituent les espèces les plus utilisées ; viennent ensuite les bifidobactéries (*Bifidobacterium* ssp). La plupart des bactéries probiotiques sont des bactéries produisant de l'acide lactique (bactéries lactiques). Il a été démontré que l'acide lactique inhibe la croissance des coliformes dans le tractus gastro-intestinal des porcelets et cet effet a été attribué à la réduction du pH du milieu (l'acide lactique a un puissant effet acidifiant). En effet, les milieux acides sont défavorables pour de nombreux agents pathogènes. Dans l'alimentation humaine ; ce sont les produits laitiers qui occupent la principale part du marché des aliments fonctionnels – les cultures probiotiques en étant l'ingrédient bioactif le plus important (ex. yogourt, fromage, etc.). A l'heure actuelle, on estime qu'il existe 80 différents types de produits contenant des cultures probiotiques à l'échelle internationale. Chez les ruminants, on retrouve surtout les lactobacilles et les entérocoques dans la composition des probiotiques (Tableau II) (FULLER, 1977).

Tableau II : Principaux probiotiques ajoutés aux produits alimentaires (HOLZAPFALS et al., 1998) .

Espèces de <i>Lactobacillus</i>	Espèces de <i>Bifidobactérium</i>	Autres bactéries lactiques
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>Entirococcus faecalis</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. animalis</i>	<i>E. faecium</i>
<i>L. crispatus</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Lactococcus lactis</i>
<i>L. gallinarum</i>	<i>B. breve</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
<i>L. gasseri</i>	<i>B. infantis</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>

<i>L. johnsonii</i>	<i>B.lactis</i>	<i>Sporolactobacillus inulinus</i>
<i>L. paracasei</i>	<i>B. longum</i>	<i>Streptococcus thermophilis</i>
<i>L. plantarum</i>		
<i>L. rhamnosus</i>		

1-7-4- Aliments riches en probiotiques

Pour la majorité des consommateurs, les probiotiques sont avant tout représentés par des compléments alimentaires et des laits fermentés spécifiques vendus en grandes surfaces. Pourtant, de nombreux aliments "ordinaires" couramment consommés contiennent également des bactéries vivantes considérées comme bénéfiques, autrement dit "des probiotiques": les yaourts, mais aussi d'autres aliments fermentés, comme les fromages. (DANONE, 2005).

1-7-4-1- Yaourts et autres laits fermentés

Les laits fermentés contiennent des micro-organismes en quantité importante dont certains sont utilisés comme probiotiques. (DANONE, 2005)



Photos 04: Produits laitiers commercialisés fabriqués en ajoutant des probiotiques.

(www.activia.co.id/img3/bottles.jpg).

1-7-4-2-Autres aliments riches en bactéries probiotiques

Les fromages fermentés, à pâte dure ou molle, contiennent des bactéries du genre *Lactobacillus* et des moisissures, en particulier au niveau de leur croûte (camembert, munster...) ou en leur sein pour les pâtes persillées (comme le roquefort).

Les produits laitiers ne sont toutefois pas les seuls à apporter naturellement des bactéries à l'alimentation. Les préparations à base de chou (choucroute crue, kimchi...) ou de soja (miso, tempeh...), les cornichons au vinaigre, les olives, certaines boissons (kéfir de fruits, bière blanche...), des charcuteries, des poissons, des crustacés... combinent naturellement différentes souches indispensables à leur obtention. (NINANE V,et *al.*, 2009).

1-7-4- 3- Effets des probiotiques

L'intestin est un organe essentiel, dans lequel a lieu la transformation et l'absorption des aliments. Il a également un rôle de barrière de protection vis-à-vis des bactéries, des virus et de nombreux produits toxiques entrant en contact avec celui-ci. Cette fonction barrière extrêmement sophistiquée peut être altérée par différents facteurs : alimentation, infections, antibiotiques, allergènes.

Il est le premier organe immunitaire de l'organisme: sa muqueuse renferme environ 60 % des cellules immunes du corps et il abrite 100 000 milliards de bactéries (Tableau III) (PATTERSON , 2008).

Tableau III : Principaux effets bénéfiques attribués aux probiotiques (PATTERSON , 2008)

Effet intestinaux	Effets sur le système immunitaire	Autres effets
<p>Contrôle des troubles suivants :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mauvaise digestion du lactose • Diarrhée due aux rotavirus • Syndrome du colon irritable • Infection par 	<ul style="list-style-type: none"> • Modulation immunitaire • Réduction des réaction des risques d'infection par des agents pathogènes courants (<i>Salmonella</i>, <i>shigella</i>) • Répression des réactions allergiques par réduction de l'inflammation 	<p>Réduction du risque de :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Maladie de voies urinaires • Certains cancers (colorectal, vessie, colutérin , sein) • Coronaropathie • Infection des voies respiratoires supérieures et

<p>Héliobactrer Pylori</p> <ul style="list-style-type: none"> • Prolifération bactérienne dans l'intestin grêle • Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (colite ulcéreuse et maladie de Crohn) 		<p>infections connexes</p> <ul style="list-style-type: none"> • Réduction du cholestérol sérique et de la pression artérielle
---	--	--



Photos 05 : Représentation des effets bénéfiques du probiotique

(<http://www.sante-globale.fr/wp-content/uploads/2013/07/cercle-probiotique.png>.)

1-8-Production de bactériocines par les bactéries lactiques

Les bactériocines sont des peptides antimicrobiens de faible poids moléculaire, sécrétés par les bactéries. Ils possèdent une activité inhibitrice contre les bactéries taxonomiquement proches et contre certains pathogènes majeurs tels que *Bacillus cereus* (responsable d'intoxication alimentaire) (HENG et al., 2007), *Clostridium botulinum* (produisant la toxine botulique) et *Listeria monocytogenes*. Les bactéries productrices sont protégées de l'action de leurs propres bactériocines. Toutes les bactériocines produites par

des bactéries lactiques décrites jusqu'à présent ont une activité dirigée contre les bactéries Gram-positives (COTTER et *al.*, 2005).

De nombreuses bactériocines sont produites par les bactéries lactiques des genres *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Carnobacterium*, *Leuconostoc*, l'industrie agro-alimentaire en raison de leur innocuité reconnue pour l'homme. Grâce à leur mode d'action différent des antibiotiques conventionnels, elles intéressent aussi l'industrie pharmaceutique car elles pourraient devenir une alternative à l'antibiothérapie actuelle face à la résistance des bactéries pathogènes (MORENCY et *al.*, 2001).

Les bactériocines sont réparties en trois classes (KLAENHAMMER, 1993) :

- Les bactériocines de classe I ou *lantibiotiques*
- Les bactériocines de classe II: La classe II peut être subdivisée en quatre sous-classes IIa à IId
- Les bactériocines de classe III

1-8-1-Importance des bactériocines dans l'industrie agroalimentaire

La bioconservation des aliments fait l'objet depuis 40 ans de nombreuses études. Elle consiste en une augmentation de la durée de vie et une amélioration de la sécurité sanitaire des produits alimentaires, en utilisant des microorganismes et/ ou leurs métabolites (ROSS et *al.*, 2002, STILES, 1996).

L'HACCP (Hazard Analysis et Critical Control Points), 'analyse des dangers et des points critiques pour leur maîtrise', est un système de gestion qui identifie, évalue et maîtrise les dangers significatifs au regard de la sécurité des aliments. Malgré la mise en oeuvre de technologies modernes et de concepts de sécurité sanitaires, l'HACCP n'est toujours pas arrivée à contrôler l'émergence de nouveaux pathogènes colonisant les denrées. Dans ce contexte, les bactéries lactiques et/ ou leurs métabolites utilisées depuis des millénaires d'une façon empirique par de nombreuses populations, peuvent contribuer à la conservation des aliments (ROSS et *al.*, 2002). C'est grâce aux propriétés antimicrobiennes de métabolites qu'ils synthétisent, tels que l'éthanol, le peroxyde d'hydrogène, le diacétyle (ATRIH, 2001), les composés antifongiques (CORSETTI et *al.*, 1998), les acides phényl-lactiques (LAVERMICOCCA et *al.*, 2000), les antibiotiques comme la reutéricycline (HÖLTZEL et *al.*, 2000) et les bactériocines, que les bactéries lactiques sont reconnues comme de bons agents de conservation des produits alimentaires (ABEE et *al.*, 1995, KLAENHAMMER, 1988). Afin de diminuer l'utilisation des additifs chimiques dans l'alimentation et d'obtenir des aliments

prêts à la consommation et respectant les règles de la sécurité sanitaire, l'industrie agroalimentaire en Europe s'intéresse à l'utilisation des bactériocines comme bio-conservateurs (ROBERTSON et *al.*, 2004).

L'absence de toxicité pour les cellules eucaryotes et la perte d'activité en présence des protéases dans le tube digestif présentent des propriétés qui pourraient placer les bactériocines parmi les substances sans danger pour l'Homme. Elles doivent cependant, pour le moment, être considérées comme un moyen de conservation complémentaire à ceux déjà existants. Pour améliorer leur conservation, les aliments sont supplémentés en bactéries productrices (DEEGAN et *al.*, 2006).

PARTIE II:
Méthodes de conservation des souches
lactiques

2-1- Méthodes de conservation

Les ferments lactiques utilisés dans le domaine agro-alimentaire, sont généralement fournis aux utilisateurs sous trois formes physiques : liquide, congelée ou lyophilisée (TAMIME et ROBINSON, 1999).

Pour des raisons de facilité de conservation, de transport et d'utilisation, la forme liquide a été largement supplantée par les formes congelées et lyophilisées. Ces dernières réduisent en effet le nombre de cultures intermédiaires en usine. Les ferments liquides restent, cependant, encore utilisés par certaines fromageries (BEAL et *al.*, 2008).

La lyophilisation est une technique de stabilisation qui permet le stockage des bactéries à 4 °C ou -18 °C. L'intérêt de la lyophilisation des ferments lactiques est lié au fait que, grâce à la réduction de volume par rapport aux bactéries congelées, les coûts de stockage et de transport sont faibles. De plus, les cellules peuvent être stockées à température ambiante pendant plusieurs jours et sont plus facilement manipulables. Cependant, la lyophilisation implique des étapes et des équipements supplémentaires par rapport à la congélation, ce qui la rend plus coûteuse. De plus, cette technique n'est pas applicable à tous les ferments, en raison de l'importante sensibilité de certaines bactéries à la déshydratation. (TAMIME et ROBINSON, 1999).

2-1-1 Congélation

La congélation est actuellement la technique de conservation des bactéries lactiques la plus utilisée dans le domaine agro-alimentaire. Une bonne maîtrise de cette opération est nécessaire pour éviter ou minimiser les pertes de viabilité liées à l'abaissement de la température et à la formation de glace au cours de la congélation. Par rapport à la lyophilisation, elle permet une reprise d'activité plus rapide des ferments et présente un coût de fabrication inférieur à celui des ferments lyophilisés. Cependant, elle induit aussi des pertes de viabilité, inégalement maîtrisées jusqu'à présent. De plus, les ferments congelés nécessitent une attention spéciale par rapport au maintien de la chaîne du froid lors de leur transport et leur stockage. Il est aussi préconisé que les bactéries congelées soient stockées à des températures inférieures à -45 °C, afin d'assurer la stabilité de la qualité et de l'activité des ferments (STREIT, 2008). Cependant la congélation à une température de -20°C permet une conservation de la plus part des microorganismes pendant 1 à 2 ans et le métabolisme de ces derniers en dessous de -18°C est totalement inhibé (LARPENT, 1997).

2-1-2 Lyophilisation

La technique consiste à éliminer l'eau d'un produit liquide, pâteux ou solide, à l'aide de l'action combinée du froid et du vide. Le principe de base est que lorsqu'on réchauffe de l'eau à l'état solide à très basse pression, l'eau se sublime, c'est à dire qu'elle passe directement de l'état solide à l'état gazeux (De BEER *et al.*, 2006). La vapeur d'eau (ou de tout autre solvant) quitte le produit et on la capture par congélation à l'aide d'un condensateur, ou piège. Cette technique permet de conserver à la fois le volume et l'aspect du produit traité. Elle peut avoir lieu naturellement (séchage en montagne), ou, plus rapidement, dans un lyophilisateur (CHOUVENC *et al.*, 2004). La lyophilisation comporte généralement trois étapes : la congélation, la sublimation et la dessiccation secondaire.

2-1-2-1 Lyophilisation des bactéries lactiques

La lyophilisation est développée pendant la seconde guerre mondiale pour le stockage du plasma sanguin (PEGG, 2002). Ainsi, pour des vaccins comme pour un grand nombre de médicaments et de micro-organismes. Cette technique de conservation est la seule technique permettant une conservation à long terme des principes actifs à l'état sec (TANG et PIKAL, 2004). Dans le domaine des industries alimentaires, les ferments lactiques (probiotiques et starters) sont de plus en plus utilisés sous la forme lyophilisée (PEGG, 2002). en générale l'opération de lyophilisation consiste à :

1. Congeler les aliments pour que l'eau qu'ils contiennent soit sous forme de glace;
2. Ensuite sous l'effet du vide, sublimer la glace directement en vapeur d'eau;
3. Récupérer cette vapeur d'eau;
4. Une fois que toute la glace est sublimée, les aliments sont séchés à froid et on peut les retirer de l'appareil.

2-1-2-1-1-Description et principes de la lyophilisation

La première phase de l'opération consiste à congeler le produit, c'est-à-dire à amener l'eau qu'il contient à l'état solide ; ceci implique de lui soustraire de l'énergie. La seconde phase consiste à extraire l'eau du produit par volatilisation en lui fournissant de l'énergie thermique (SHALAEV *et al.*, 2002). Cette seconde opération se déroule dans une enceinte où règne une pression très largement inférieure à la pression atmosphérique (de l'ordre de 0,1 à 1 m Bar).

2-1-2-1-2-Congélation

Au cours de la congélation, la solution liquide de départ est supposée homogène, une partie de l'eau se sépare des substances dissoutes pour cristalliser à l'état pur. Le reste de l'eau se solidifie ensuite peu à peu en mélange avec les solutés pour former une matière interstitielle (entre les cristaux de glace) qui adopte une structure amorphe (non cristalline ou vitreuse) (SIMATOS *et al.*, 1994). En général, à partir d'une solution complexe, les substances dissoutes ne cristallisent pas (SCHUCKH *et al.*, 2004). Un paramètre important à prendre en compte pour l'étape de la congélation est la vitesse de congélation qui conditionne la dimension des cristaux de glace. En effet, plus les cristaux de glace formés sont grands, plus le diamètre des pores est important, et par conséquent, plus la vitesse de dessiccation est élevée. Il est donc important du point de vue technologique, de produire de petits cristaux de glace par une congélation rapide conduisant à l'obtention de petits cristaux intracellulaires non dommageables pour les cellules (De ANGELIS et GOBBETTI, 2004).

2-1-2-1-3-Dessiccation

Elle se déroule en deux temps : d'abord la sublimation de l'eau cristallisée (séchage primaire, l'eau passe directement de l'état solide à l'état gazeux), puis la phase de désorption et d'évaporation de l'eau liée qui a adopté lors de la congélation, une forme non cristalline ou vitreuse (séchage secondaire). Celle-ci résulte de la solidification sans réarrangement des molécules en raison de la très grande augmentation de la viscosité (CAILLET *et al.*, 2007). Ces états (cristallin et vitreux) peuvent coexister dans des proportions variables pour un même échantillon, la proportion d'eau à l'état vitreux étant d'autant plus grande que la vitesse de congélation et leur viscosité (HAUSMAN *et al.*, 2005). Les cavités laissées par les cristaux après la sublimation de l'eau confèrent la porosité nécessaire à l'évaporation de l'eau située dans l'espace interstitiel (FONSECA et CORRIEU, 2001).

L'action de cette méthode est représenté dans la figure 04 :

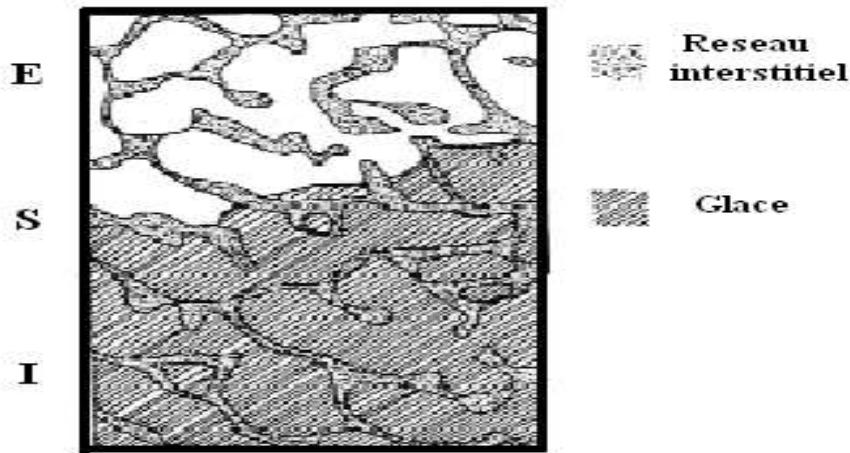


Figure 03. Représentation schématique d'un produit en cours de lyophilisation. Symbole: S=interface de sublimation; E=zone externe poreuse; I=zone interne congelée (SIMATOS et *al.*, 1994).

2-1-2-1-4-Conditions de lyophilisation

La lyophilisation des bactéries lactiques a été le premier pas fait pour améliorer la conservation des souches microbiennes. Elle permis de stabiliser les bactéries lactiques pour des périodes beaucoup plus grandes que lorsque celles-ci sont conservées dans des milieux de culture ou des milieux à base de produits fermentés. Cette amélioration est toutefois limitée par le fait que les bactéries doivent être conservées à 40°C afin de maintenir un taux de survie maximale. À cette température, les bactéries lactiques auront une courbe de décroissance de 2% à 3% du nombre de bactéries initiales par mois. Ce taux de décroissance est de 10% à 15% lorsque ces mêmes bactéries sont maintenues à une température ambiante (entre 20°C et 25°C) (SIMATOS et *al.*, 1994).

Finalemnt. La recherche continuelle de l'amélioration du taux de survie à des températures ambiantes a mené plus récemment à l'élaboration d'un nouveau procédé de fabrication breveté, appelé Probactique. Ce procédé consiste en gros à contrôler de façon très stricte les conditions de production de ces bactéries.

Le procédé Probactique fait partie des dernières étapes de fabrication des bactéries lactiques et permet de prévenir la présence d'humidité dans le produit fini, ce facteur jouant un rôle dans la décroissance de la survie. Ce procédé de fabrication nous a permis de repousser les limites de conservation des bactéries lactiques de façon significative. Alors que 40% de la population initiale de bactéries lactiques protégées par le procédé Probactique sont encore viables après 24 mois à 25°C alors que ce pourcentage est de 25%

après 6 mois pour les bactéries lactiques non-protégées (De ANGELIS et GOBBETTI, 2004).

2-1-2-1-5- facteurs influants la lyophilisation

2-1-2-1-5-1-Température

les bactéries doivent être conservées à 40°C afin de maintenir un taux de survie maximale (De ANGELIS et GOBBETTI, 2004).

2-1-2-1-5-2-Congélation

Un paramètre important à prendre en compte pour l'étape de la congélation est la vitesse de congélation qui conditionne la dimension des cristaux de glace.

En effet, dans le cas d'une congélation lente, le refroidissement de l'aliment s'effectue lentement. Cette technique a pour effet la formation des gros cristaux, qui vont détruire les cellules (De ANGELIS et GOBBETTI, 2004).

Dans le cas d'une congélation rapide, la température est abaissée rapidement. ce qui présente effet bénéfiques qui est la formation de petits cristaux de glace qui n'influencent pas la structure de la cellule (De ANGELIS et GOBBETTI, 2004).

2-1-2-1-6-Intérêt de la lyophilisation

La lyophilisation comporte de nombreux avantages par rapport aux autres procédés de séchage ou de conservation. Elle permet de conserver une grande partie des qualités organoleptiques des aliments étant donné que ceux-ci demeurent à une température sous le point de congélation durant la sublimation. L'utilisation de la lyophilisation est particulièrement importante dans le cas des bactéries lactiques puisqu'elles sont très sensibles à la chaleur (PEGG, 2002).

Les aliments lyophilisés en général ne nécessitent pas de réfrigération pour se conserver. Les coûts d'entreposage et de transport sont ainsi réduits de façon appréciable. La lyophilisation entraîne une diminution importante du poids ce qui facilite grandement le transport des aliments lyophilisés. Par exemple, plusieurs aliments contiennent jusqu'à 90% d'eau. Ils seront donc 10 fois plus légers après lyophilisation (TANG et PIKAL, 2004).

La plupart des aliments lyophilisés se réhydratent très rapidement grâce à leur texture poreuse. En effet, la lyophilisation n'entraîne pas de diminution de volume appréciable.

L'eau peut donc reprendre sa place facilement dans la structure moléculaire de l'aliment (PEGG, 2002).

2-1-3-Cryoprotection des bactéries lactiques

Il existe des substances protectrices qui permettent aux cellules de mieux supporter une congélation ou une décongélation lentes et un stockage à température supérieure à -50°C appelées cryoprotecteurs (FONSECA et CORRIEU, 2001). Ces substances, qui doivent être peu volatiles, solubles dans l'eau et n'avoir aucun caractère toxique, ont des origines diverses : polyols (glycérol, sorbitol), sucres (lactose, saccharose), protéines laitières (lait écrémé, caséines), acides aminés (glutamate), antioxydants (ascorbate) ou macromolécules (maltodextrines) (BEAL et al., 2008).

Les bactéries contiennent naturellement des cryoprotecteurs : les sucres (sucrose et le tréhalose), chez les bactéries GRAM+, les polyols (glycérol, sorbitol, et mannitol), que l'on retrouve chez les algues, les champignons, les levures, les plantes et certaines bactéries (KETS et al., 1996; HANS et al., 1995), les acides aminés et dérivés (bétaine et carnitine), chez plusieurs groupes de bactéries (CSONKA, 1989) et l'acide tetrahydroxypyrimidine carboxylique (hydroxyectoïne) chez les bactéries halophiliques, le glutamate, la glutamine, la proline et l'alanine chez *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas* et d'autres micro-organismes (BEAL et al., 2008). et les acides aminés bêta chez les bactéries méthanogènes (LAI et al., 1991).

Les cryoprotecteurs sont groupés en deux classes :

2-1-3-1- Cryoprotecteurs intracellulaires

Ce sont des substances de faible poids moléculaire (< 100) qui pénètrent à l'intérieur de la cellule. Ils sont utilisés à une concentration de l'ordre de la mole/l et agissent principalement lors d'une congélation lente. Le plus important représentant de cette catégorie, est le glycérol, mais on trouve aussi le diméthyle sulfoxyde, méthanol éthanol, polyéthylène oxyde, diméthylacétamide 1-2 propanediol (Tableau IV) (De ROISSART et LUQUET, 1994; STREIT., 2008).

2-1-3-2- Cryoprotecteurs extracellulaires

ce sont des substances de haut poids moléculaire (>10.000) qui se concentrent à l'extérieur de la cellule. Ils sont utilisés à une concentration plus faible, de l'ordre de la milli-mole/l, et sont indiqués lors des congélations rapides. Parmi les molécules les plus utilisées de cette

catégorie se trouvent le lactose, le saccharose, le tréhalose, la maltodextrine, polyvinyl pyrrolidone, le dextrane et l'amidon (Tableau IV) (De ROISSART et LUQUET, 1994; STREIT., 2008).

Selon leur origine, ces substances protègent des cellules en permettant de :

- Réduire l'activité de l'eau cellulaire;
- Minimiser l'effet négatif d'un gradient osmotique;
- Minimiser la formation de glace intracellulaire;
- Minimiser la croissance des cristaux de glace;
- Protéger les lipides cellulaires contre les processus oxydatifs;
- Stabiliser la conformation native des protéines membranaires,

Pour obtenir des cellules plus résistantes après l'addition d'un cryoprotecteur, cette étape doit être effectuée entre 10 et 15 °C, car cette zone de températures correspond à un bon compromis entre le blocage métabolique des cellules et la fluidité du mélange protecteur (LEJARD et *al.*, 1994).

Tableau IV: Quelques substances utilisées comme cryoprotecteurs cellulaires (LEJARD et *al.*, 1994).

Agents	Intracellulaires (CPI)	Extracellulaires (CPE)
Poids moléculaires (g/mol)	< 400	> 10.000
Activité à une concentration de l'ordre de	la mole (M)	la millimole (mM)
Exemples de molécules utilisées	glycérol, dyméthylsulfoxyde, méthanol éthanol, polyéthylène oxyde, (PEO-400), diméthyl acétamide 1-2 propanediol	polyvinyl pyrrolidone, Amidon hydroxyéthyle, dextran

2-1-3-1- Mécanisme d'action des cryoprotecteurs

Les mécanismes de la cryoprotection sont l'objet de nombreuses études de nos jours. Les modes d'action les plus probables sont : un accroissement du volume de la phase liquide interstitielle, à une température donnée, par dépression du point de congélation

primaire de la taille des cristaux de glace par abaissement de la température de nucléation et une réduction de leur vitesse de croissance et une stabilisation de la configuration native des protéines (LESLIE et *al.*, 1995). Lorsque les premiers cristaux de glace apparaissent, les CPE (cryoprotecteurs) se concentrent uniquement à l'extérieur des cellules, contrairement aux autres solutés qui se concentrent à l'intérieur et l'extérieur des cellules. La perte d'eau des cellules conduit donc à une concentration en autre soluté, plus faible qu'en absence de CPE, minimisant ainsi les effets de l'accroissement de concentration de la solution interstitielle. Au niveau des membranes cellulaires séchées, des sucres comme le tréhalose et le saccharose peuvent remplacer les molécules d'eau dans leur liaison avec les groupes polaires des phospholipides empêchant ainsi les dommages durant la réhydratation (LESLIE et *al.*, 1995). Le tréhalose et le saccharose stabilisent la structure des protéines intracellulaires par ce phénomène de remplacement de l'eau (CARPENTER et *al.*, 1993). D'autres études ont montré que les cryoprotecteurs étaient indispensables lors de la congélation quelles que soient les courbes de refroidissement. Tous les cryoprotecteurs ne pénètrent pas dans les cellules. Il est d'usage de les séparer en cryoprotecteurs non diffusants (la plupart des sucres ajoutés) et diffusants (le glycérol, l'éthylène glycol, par exemple) (PEGG et DIAPER, 1988). Les cryoprotecteurs diffusants vont se substituer à une partie de l'eau intracellulaire et permettre ainsi une déshydratation partielle des cellules en plus de limiter la formation de cristaux de glace intracellulaire. Ils réduisent également la vitesse de croissance de ces cristaux, abaissent la température de solidification de l'eau intracellulaire, tel un « antigel », et modifient la forme des cristaux de glace (HEY et MACFARLANE, 1998). Quand aux cryoprotecteurs pénétrants, ils protègent aussi au cours de la congélation et de la décongélation en réduisant la taille des cristaux de glace et en induisant des formes de cristaux moins traumatisantes. Ils permettent, via l'augmentation de la viscosité du milieu, la diminution de la rapidité des mouvements de l'eau et de chocs osmotiques importants. De plus, ils permettent, via l'augmentation de la pression osmotique, la réduction de la quantité de cryoprotecteurs pénétrants, nécessaires à une bonne conservation (MERYMAN, 1974).

Conclusion

Conclusion

Les bactéries lactiques forment un groupe très intéressant de microorganismes, qui se caractérisent par la capacité de fermenter les glucides en acide lactique, un acide faible favorable à la conservation et à l'amélioration de la qualité organoleptiques des aliments.

L'acidification est le rôle principal attendu des bactéries utilisées comme ferments. Celle-ci a but :

La coagulation du lait (en facilitant l'action de la présure lors de la fabrication des fromages).

Les bactéries lactiques ont d'autres rôles dans le domaine alimentaire. Ce dernier implique certaines méthodes de conservation de ces souches telles que : lyophilisation ,cryoprotection.

Les ferments lactiques sont généralement utilisés sous trois formes physiques : liquide, congelée ou lyophilisée, l'efficacité de la lyophilisation et de la congélation à un moindre degré, sur la conservation de la souche étudiée lors d'un entreposage de deux mois. En effet, les trois cryoprotecteurs utilisés ont permis l'amélioration de la viabilité durant le stockage de la souche conservée par les deux méthodes étudiées.

Les souches lactiques présentent une bonne aptitude à survivre durant le stockage, quelle soit congelée ou lyophilisée, même sans cryoprotecteur.

On rapporte que la méthode la plus utilisée dans le domaine agro-alimentaire est la lyophilisation car elle permet une reprise d'activité plus rapide des ferments .Le seul inconvénient réside dans son coût qui est plus grand par rapport à la congélation.

Finalement ce travail permet de connaître certaines méthodes de conservation des souches lactiques pour assurer la conservation des aliments dans l'industrie alimentaire et dans l'application sur la santé humaine ou animale.

Références
bibliographiques

Rréférences bibliographiques

- **ABEE T., KROCKEL L. et HILL C. (1995).** Bacteriocins: modes of action and potentials in food preservation and control of food poisoning. *Int J Food Microbiol.*28: 169-185.
- **AIT-BELGNAOUI A., LAMINE F., HAN W., EUTAMENE H., FIORAMONTI J., BUENO L. et THEODOROU V. (2005).** A probiotic strain (*Lactobacillus farciminis*) prevents stress-induced increase of colonic permeability and visceral sensitivity to distension in rats. *Nutr. Ali. Fonct.* 3 : 59-63.
- **ATRIH A., et FOSTER. S. J. (2001).** Analysis of the role of bacterial endospore cortex structure in resistance properties and demonstration of its conservation amongst species. *J Appl Microbiol.*91: 364-372.
- **AXELSSON L. (2004)** .Classification et physiology. In: Salsinen, S., Wright, A.V., Ouwehand, A. (Eds). *Lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects* (3ed edition). Marcel Dekker, Inc. New York, USA. 633, 1 - 66.
- **BEAL C.,MARIN M., FONTAINE E., FONSECA F. et OBERT J. P. (2008).** Production et conservation des ferments lactiques et probiotiques. *In* Corrieu, G. Et Luquet, F.-M. (ed.). *Bactéries lactiques, de la génétique aux ferments*. Tec&Doc Lavoisier, Paris, 661-785.
- **BEAL C., MARIN M., FONTAINE E., FONSECA F. et OBERT J. P. (2008).** Production et conservation des ferments lactiques et probiotiques. *In* Corrieu, G. Et Luquet, F.-M. (ed.). *Bactéries lactiques, de la génétique aux ferments*. Tec&Doc Lavoisier, Paris, 661-785.
- **BUSSIERES M., LAROCQU B., COULOMBE M. et RHAINDS M.(2010).**L'utilisation des probiotiques en milieu hospitalier. Unité d'évaluation des technologies et des modes d'intervention en santé <<UETMIS>>. Hôpital saint-François d'Assise 10, rue de l'espinau,(québec).Vol.2.N.10 :PP12,29,30,59,60.
- **CAILLET A., RIVOIRE A., GALVAN J.M., PUEL F. et FEVOTTE G. (2007).** Crystallization of Monohydrate Citric Acid. Part 1: In situ monitoring through the joint use of raman spectroscopy and image analysis. *Cry. Gr. Design.*, 7, 2080-2087.
- **CARPENTER J.F., PRESTRELSKI S.J. et ARAKAWA T. (1993).** Separation of freezing- and drying-induced denaturation of lyophilized proteins using stress-specific

- **CHOUVENC P., VESSOT S., ANDRIEU J. et VACUS P. (2004).** Optimization of the freeze-drying cycle: a new model for pressure rise analysis. *Drying. Technol.*, 22, 1577-1601.
- **CORSETTI A., GOBBETTI M., ROSSI J. et DAMIANI P. (1998)** .Antimould activity of sourdough lactic acid bacteria: identification of a mixture of organic acids produced by *Lactobacillus sanfrancisco* CB1. *Appl Microbiol Biotechnol.*50: 253-256.
- **COTTER P. D., HILL C. et ROSS R. P. (2005).** Bacteriocins: developing innate immunity for food. *Nat Rev Microbiol.*3: 777-788.
- **CSONKA L.N. (1989).** Physiological and genetic responses of bacteria to osmotic stress. *Review. Microbiol.*, 53, 121-147.
- **DE ANGELIS M. et GOBBETTI M. (2004).** Environmental stress responses in *Lactobacillus*: A review. *Proteomics.* 4, 106-122.
- **DE BEER T.R.M., BAEYENS W. R.G., OUYANG J., VERVAET C. et REMON J.P. (2006).** Raman spectroscopy as a process analytical technology tool for the understanding and the quantitative in-line monitoring of the homogenization process of a pharmaceutical suspension. *The Analyst.*, 131, 1137-1144.
- **DE ROISSART H. et LUQUET F.M. (1994).** Les bactéries lactiques. Uriage, Lorica, France, vol. 1. Pp. 1-286.
- **DEEGAN L. H., COTTER P. D., et HILL C. (2006).** Bacteriocins: biological tools for bio-preservation and shelf-life extension. *Int Dairy J.*16: 1058-1071.
- **DRIDER D. et PREVOST H. (2009).***Bactéries lactiques, Physiologie, Métabolisme, Génomique et Applications industrielles*, Economica .,Paris .p1-2 .
- **FONSECA F. et CORRIEU G. (2001).** *Cryoprotection and freezing influence on acidification activity of thermophilic lactic acid bacteria. Relationships between biologic and thermodynamic properties.* Thèse de doctorat : Institut national agronomique Paris-Grignon, Paris (France).
- **FULLER R.(1998).** Probiotics in man and animals.*J.Appl.Microbiol.*66:365-378.
- **GUARNER F., KHAN A.G., GARISCH J., ELIAKIM R., GANGL A., THOMSON A., KRABSHUIS J. et LE MAIR T. (2008).** Recommendation que: Probiotiques et Prébiotiques. WGO Practice Guidelines. 3.
- **HANS J.B., DONALD B.E.N. et RICHARD G.J. (1995).** Adaptations to environmental stresses. *Plant. Cell.*, 7, 1099-1111.

- **HAUSMAN D.S. , CAMBRON R.T. et SAKR A. (2005).** Application of on-line Raman spectroscopy for characterizing relationships between drug hydration state and tablet physical stability. *Int. J. Pharm.*, **299**, 19-33.
- **HENG N. C. K., WESCOMBE P. A., BURTON J. P., JACK R. W., et TAGG J. R. (2007)** .The Diversity of Bacteriocins in Gram-Positive Bacteria. In: Riley, M. A., and Chavan, M. A. (Eds). *Bacteriocins: Ecology and Evolution*. Springer Verlag. Berlin Germany. pp 45-92.
- **HEYJ.M. et MACFARLANE D.R. (1998)** .Crystallisation of ice in aqueous solutions of Glycerol and dimethy sulfoxide 2: ice crystal growth kinetics . *Cryobiology*. 37,199-130.
- **HÖLTZEL A., GÄNZLE M. G., NICHOLSON G. J., HAMMES W. P., et JUNG, G. (2000).** The First Low Molecular Weight Antibiotic from Lactic Acid Bacteria: Reutericyclin, a New Tetramic Acid. *Angew Chem Int Ed Engl*.39: 2766-2768.
- **HOLZAPFEL W.H.P ., HABERER J .,SNEL U. SCHILLINGER et J.H.J. HUIS IN'T VELD .(1998).** Overview of gut flora et probiotics. *Int. J.Food Microbiol*.41:85-101.
- **KETS E.P.W.,CALINSKI E.A., WIT M.,DE BONT J.A.M. et HEIPIEPER H.J. (1996).** Mannitol: a novel bacterial compatible solute in *Pseudomonas putida* S12. *J. Bacteriol.*, 178, 6665-6670.
- **KLAENHAMMER T. R. (1988)** Bacteriocins of lactic acid bacteria. *Biochimie*.70: 337-349.
- **KLAENHAMMER T. R. (1993)** Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol Rev*.12: 39-85.
- **KLEIN G., PACK A., BONAPARTE C., AND REUTER G. (1998)** .Taxonomy et physiology of probiotic lactic acid bacteria. *Int J Food Microbiol*.41: 103-125.
- **LAI M.C., SOWERS K.R.,ROBERTSON D.E.,ROBERTS M.F. et GUNSALUS R.P. (1991).** Distribution of compatible solutes in the halophilic methanogenic archaeobacteria . *J. Bacteriol.*, 173, 5352-5358.
- **LAMOUREUX L. (2000).** Exploitation de l'activité β -galactosidase de cultures de bifidobactéries en vue d'enrichir des produits laitiers en galacto-oligosaccharides. National Library of Canada. 23-47.

- **LANGELLA P., NOUAÏLLE S., COMMISSAIRE J., BOLOTINE A., GRUSS A. et LE LOIR Y. (2001).** Characterization of host factors affecting heterologous protein secretion in *Lactococcus lactis*. *Lait* 81, 19-28.
- **LAVERMICOCCA P., VALERIO F., EVIDENTE A., LAZZARONI S., CORSETTI A., AND GOBBETTI M. (2000)** .Purification and characterization of novel antifungal compounds from the sourdough *Lactobacillus plantarum* strain 21B. *Appl Environ Microbiol.*66: 4084-4090.
- **LEJARD F., BOYAVAL P. , DE ROISSART H. et MARUEJOULS R. (1994).** Production de ferments concentrés pour ensemencement direct. In "Bactéries lactiques". Lorica, Uriage, 539-553.
- **LESLIE S.B., LIGHTHART I.B., CROWE J.H. et CROWE L.M. (1995).** Trehalose et sucrose protect both membranes and proteins in intact bacteria during drying. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61, 3592-3597.
- **MÄYRÄ-MÄKINEN A. et BIGRET. (1998).** Industrial use and production of lactic acid bacteria. In Salminen, S. et Von Wright, A. (ed.). *Lactic acid bacteria: microbiology et functional aspects*. Marcel Dekker, Inc., New York, 73-102
- **MÄYRÄ-MÄKINEN A. et BIGRET. (1998).** Industrial use and production of lactic acid bacteria. In Salminen, S. et Von Wright, A. (ed.). *Lactic acid bacteria: microbiology et functional aspects*. Marcel Dekker, Inc., New York, 73-102.
- **MERYMAN H.T.(1974).** Freezing injury and its prevention in living oells biophys bioong .,3,341-363.
- **MORENCY H., MOTA-MEIRA M., LAPOINTE G., LACROIX C., et LAVOIE M. C. (2001)** .Comparison of the activity spectra against pathogens of bacterial strains producing a mutacin or a lantibiotic. *Can J Microbiol.*47: 322-331.
- **NINANE V., MUKANDROY A., RETBERBEN G. (2009).** Probiotique.biotechnologies , agronomie ,société et environnement .
- **PAUL ROSS R., MORGAN S. et HILL C. (2002).** Preservation et Fermentation: present et future. *Int. J. Food. Microbiol.* 79: 3-16.
- **PEGG D.E. (2002).** The history and principles of cryopreservation. *Semin. Reprod. Med.*, 20, 513.
- **PEGG et DIAPER.P.(1988).**On the micanism of injury to slowly frozen Erythrocytes.*Biophys.* 54,471-488.

- **ROBERTSON A., TIRADO C., LOBSTEIN T., JERMINI M., KNAI, C., JENSEN J. H., FERRO-LUZZI A., et JAMES W. P. (2004)** .Food and health in Europe: a new basis for action. WHO Reg Publ Eur Ser: i-xvi, 1-385, back cover.
- **RODRIGUEZ J. M., MARTINEZ M. I., HORN N. et DODD H. M. (2003).** Heterologous production of bacteriocins by lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology* 80, 101-116.
- **ROUSSEAU V., (2004)** .Evaluation d'oligosaccharides a effet prébiotiques Vis-à-vis de la microflore vaginale. Institut national des sciences appliquées de Toulouse cedex 4 :pp42-54.
- **RUAS-MADIEDO P., HUGENHOLTZ J. et ZOON P. (2002).** An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *International*
- **SCHUCK P., BOUHALLABA S., DURUPTB D.,VAREILLEB P., HUMBERTB J.P. et MARIN M. (2004).** Séchage des lactosérums et dérivés : rôle du lactose et de la dynamique de l'eau. *Lait.*, **84**, 243–268.
- **SHALAEV E.Y., JOHNSON-ELTON T.D., CHANG L. et PIKAL MJ. (2002).** Thermophysical properties of pharmaceutically compatible buffers at sub-zero temperatures: implications for freeze-drying. *Pharm. Res.*, **19**, 195-201.
- **SIMATOS D., BLOND G.,LE MESTE M. et MORICE M. (1994).** Conservation des bactéries lactiques par congélation et lyophilisation *in* "Bactéries Lactiques", II. . Pages 555–573 . Lorica, Uriage, France.
- **SIMATOS D., BLOND G.,LE MESTE M. et MORICE M. (1994).** Conservation des bactéries lactiques par congélation et lyophilisation. In "Bactéries Lactiques", . II. Pages 555–573 Lorica, Uriage, France..
- **SPINLER H.(1995),** Technologies de Transformation des produits *agroalimentaires*, Ed. Techniques Ingénieur.
- **STILES M. E. (1996)** Biopreservation by lactic acid bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*.70: 331-345.
- **STREIT F. (2008).** influence des conditions de recolte et de concentration sur l'état physiologique et la cryotolerance de *lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* cfl1.Thèse pour obtenir le grade de docteur. L'institut des sciences et industries du vivant et de l'environnement (agro paris tech). Spécialité : génie microbiologique.226p.

- **TAMIME A. Y. et ROBINSON R. K. (1999).** Preservation and production of starter cultures. In Tamime, A. Y. and Robinson, R. K. (ed.). *Yoghurt: Science and Technology*. Woodhead publishing limited, Cambridge, England, 486-514.
- **TAMIME A. Y. et ROBINSON R. K. (1999).** Preservation and production of starter cultures. In Tamime, A. Y. and Robinson, R. K. (ed.). *Yoghurt: Science and Technology*. Woodhead publishing limited, Cambridge, England, 486-514.
- **TANG X. et PIKAL MJ. (2004).** Design of freeze-drying processes for pharmaceuticals: practical advice, *Pharm. Res.* **21**, 191-200.
- **VANDAMME P., POT B., GILLIS M., DEVOS P., KERSTERS K. et SWINGS J. (1996).** Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. *Microbiol. Rev.* **60**: 407.

Références électroniques

(<http://www.oocities.com/cheezyfr/photos/Leuconostoc.jpg>).

(http://www.institut-rosell-lallemand.com/uploads/images/souches/lactobacillus-R52_big.jpg).

(http://www.pressebio.fr/wp-content/uploads/2012/03/jpg_files)

(www.activia.co.id/img3/bottles.jpg).

(<http://www.sante-globale.fr/wp-content/uploads/2013/07/cercle-probiotique.png>.)

Résumé : (Etude bibliographique sur les méthodes utilisées pour la conservation des souches lactiques)

Les bactéries lactiques sont des microorganismes qui procèdent la capacité de la fermentation des sucres en acides lactiques .Elles se caractérisent par la sécrétion des peptides antimicrobien appelés "bactériocines". Ces bactéries sont utilisées pour la conservation et l'amélioration de la qualité nutritionnelle des aliments. Elles sont généralement conservées par deux méthodes : **la congélation , et la lyophilisation** cette dernière est la plus viable.

Dans ce contexte, notre projet comporte deux parties principales, la première est une étude bibliographique sur ces bactéries .La deuxième illustre les différentes méthodes utilisées pour leur conservation afin d'avoir une sécurité sanitaire du consommateur

Mots clés : Bactéries lactiques, conservation, bactériocines, lyophilisation, cryoprotection

Abstract :(Study bibliographic about the methods used for conservation of lactic bacteria).

The lactic bacteria are microorganism capable of fermentation the sugar to lactic acid, and secretion of bibetidat anti-bacterial (Bactériocin).This bacteria are used for conservation and amelioration of food quality.

generally this bacteria,is kept in two ways by two methods: congelation, Lyophilisation.The last one is the most effective.

Our project contains two main axes:Firstly lactic bacteria recherch ,secondly knowledge of methods of conservation of this bqcteria for consumer safety.

Words key: lactic bacteria, conservation, bacteriocin , lyophilisation, congelation.

المخلص : (دراسة نظرية حول الطرق المستخدمة لحفظ بكتيريا الحليب)

تعتبر بكتيريا الحليب من الاحياء الدقيقة التي لها القدرة على تخمير السكريات الى احماض لبنية (اللاكتيك) وتعمل على افراز

بيبتيدات مضادة للبكتيريا (Bactériocine) من اجل حفظ وتحسين نوعية الاغذية .

تحفظ هذه البكتيريا عموما بطريقتين ,Lyophilisation Congélation, وهذه الاخيرة هي الاكثر فاعلية.

في هذا السياق مشروعنا هذا يتناول محوران رئيسيان والمتمثلان في معرفة سلالات بكتيريا الحليب وطرق حفظها وذلك لأجل سلامة المستهلك.

الكلمات المفتاحية: بكتيريا الحليب , حفظ , Bactériocine , Lyophilisation , Congélation .