

Ministère de l'Enseignement Supérieur

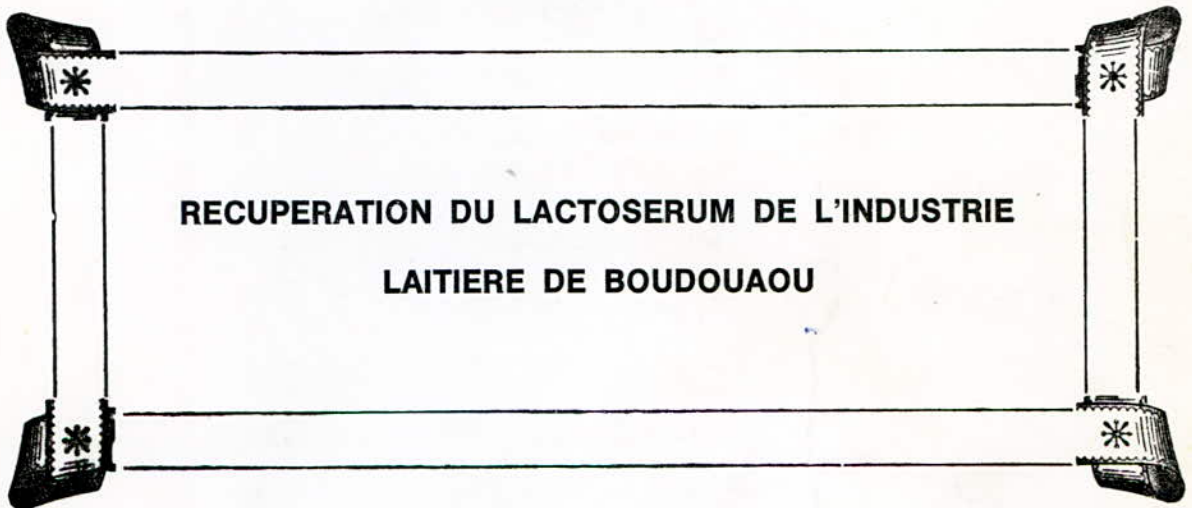
المركز الوطني للتعدد التقنيات
BIBLIOTHEQUE — المكتبة
Ecole Nationale Polytechnique

ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE

DEPARTEMENT DE GENIE DE L'ENVIRONNEMENT

PROJET DE FIN D'ETUDES

THEME



RECUPERATION DU LACTOSERUM DE L'INDUSTRIE
LAIETIERE DE BOUDOUAOU

Proposé par :
Mme M. DJAMILA

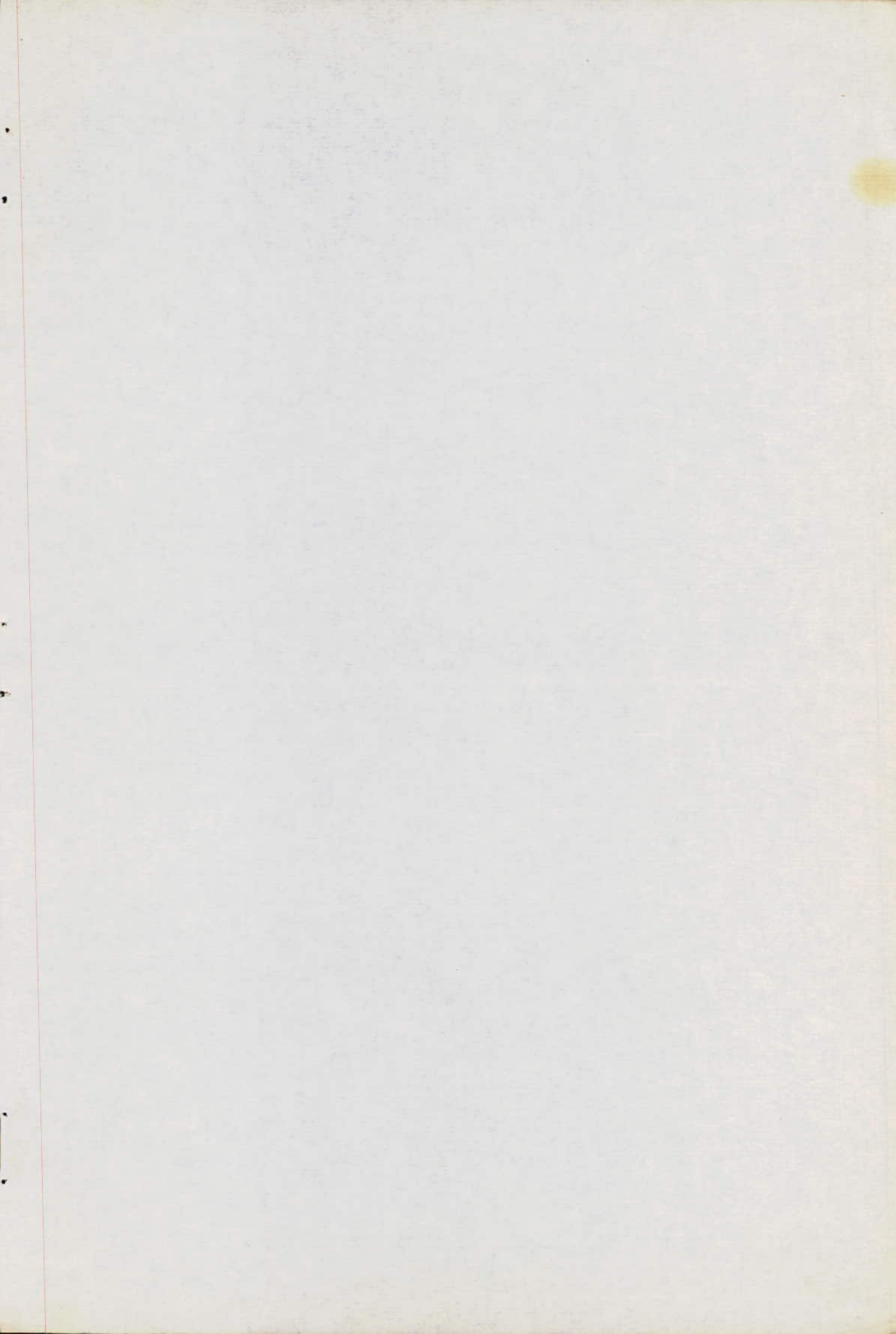
Etudié par :
MARCOS WABI

Dirigé par :
Mme M. DJAMILA

JURY :

Mr M. NABIL	Président
Mme M. DJAMILA	Promotrice
Mme ABDI	} Examineurs
Mme MATEVA	
Mlle ZOUGLACHE	

PROMOTION : JUIN 1988



Ministère de l'Enseignement Supérieur

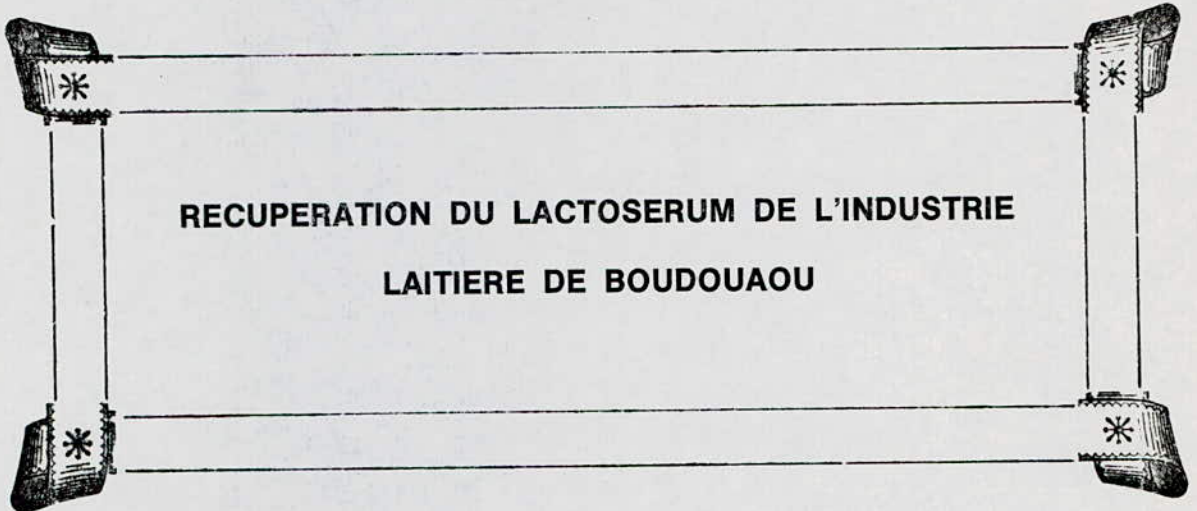
المدرسة الوطنية للتكنولوجيا
BIBLIOTHEQUE — المكتبة
Ecole Nationale Polytechnique

ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE

DEPARTEMENT DE GENIE DE L'ENVIRONNEMENT

PROJET DE FIN D'ETUDES

THEME



Proposé par :
Mme M. DJAMILA

Etudié par :
MARCOS WABI

Dirigé par :
Mme M. DJAMILA

JURY :

Mr M. NABIL	Président
Mme M. DJAMILA	Promotrice
Mme ABDI	} Examineurs
Mme MATEVA	
Mlle ZOUGLACHE	

PROMOTION : JUIN 1988

** DEDICASES **

** A la mémoire de mon père

A mes grand- mères

A ma Mère

A mes frères et soeurs

A ma famille

A tous les Amis.

REMERCIEMENTS

Le ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique du BENIN nous a sélectionné pour la formation en génie de l'Environnement en Algérie et nous a accordé une bourse d'études sous laquelle ce travail n'aurait pu se faire : nous lui exprimons notre profonde gratitude.

La présentation de ce projet de fin d'études nous donne également l'occasion d'exprimer notre respectueuse reconnaissance à Madame M. JAMILA, Docteur de l'université et enseignante au département de génie de l'environnement pour avoir bien voulu nous encadrer et nous apporter conseils, orientation et appuis constants tout au long de notre travail.

Nous remercions très sincèrement Mr M. NABIL pour sa bienveillance permanente. Nous sommes très sensible ^{à l'honneur} qu'il nous fait en acceptant de présider le jury de ce projet.

Nous remercions également à mesdames ABDI et MATEIVA et à Mademoiselle ZOUGHLACHE qui ont bien voulu juger ce travail.

Nous remercions vivement le chef de département du génie de l'environnement et tout le corps enseignant de l'Ecole nationale polytechnique d'Alger.

Nous tenons également à exprimer notre reconnaissance à Monsieur NOUAR et MAHFOUD du laboratoire de génie de l'environnement pour leur aide appréciable.

Que Melle Fenniche Leila et Dahyme qui ont assuré la frappe de ce projet, veuillez croire à notre profonde reconnaissance.

Enfin, nous saluons tous les amis de la promotion pour leur soutien moral et leur concours précieux.

DEPARTEMENT : GENIE DE L'ENVIRONNEMENT

PROMOTEUR : Mme M. DJAMILA

ELEVÉ INGENIEUR : MARCOS WABI

أحد صناعة الجبن تعاني بشكل الدوخ الناتج عن "الأختز سيروم" الذي يعتبر مادة غير ثابتة .

في هذا النطاق يندرج علينا حيث يستهدف تحويل "الأختز سيروم" (مصل الحليب) إلى حمض الحليب الذي يعتبر مادة ثابتة غير ضارة ويمكن استعمالها في صناعة الحليب المشتق أو لمادة أولية لتوفير البروتين للإنسان والحيوان .

SUBJET : RECUPERATION DU LACTOSERUM DE L'INDUSTRIE LAITIERE DE BOUDDOUAOU

RESUME : Notre objectif est de transformer le lactoserum, élément polluant en: acide lactique qui est un produit stable, non toxique, ayant plusieurs débouchées et en biomasse pouvant servir de source de protéines à l'homme et aux animaux.

subject :

ABSTRACT : Our objective is to recover Lactoserum which is an useless material by bacteria fermentation in Lactic acid. The lactose in whey is fermented in Lactic acid which is a stable and non toxic product. The product contains bacteria protein that when separated from sodium lactate, have a potential as a protein source for humans and animals.

SOMMAIRE

Introduction 1

Premiere partie: Etude de bibliographique

I - Etude du Lactosérum 3

1° - Définition et origine. 3

2° - Composition chimique du Lactosérum. 3

3° - Importance biologique des différents constituants du Lactosérum. 4

3.1. Le Lactose. 4

3.2. Les protéines. 6

3.3. Les sels minéraux. 6

3.4. Les vitamines. 8

4° - Effet du lactosérum sur les cours d'eau. 10

II - Conséquences du rejet du Lactosérum dans les cours d'eau. 11

1° - Le sérum agent polluant. 11

2° - Pollution atmosphérique. 11

III - Valorisation du Lactosérum: une nécessité. 12

1° - L'épuration. 12

2° - Récupération. 12

IV. Fermentation lactique

14

1.3.	Caractères structuraux des deux genres.	15
1.4.	Nutrition.	15
1.5.	Exigences en acides aminés.	15
1.6.	La source de carbone et d'énergie.	15
1.7.	Facteurs de croissance.	16
1.8.	Éléments minéraux.	18
2.	Fermentation discontinue.	19
2.1.	Les facteurs influençant la fermentation.	21
2.1.1.	pasteurisation.	21
2.1.2.	influence de l'ensemencement.	21
2.1.3.	l'agitation.	21
2.1.4.	effet du pH et de la température.	22
2.1.5.	inhibition par le lactate.	22

Deuxième partie: Méthodes et matériels

Matériels

24

1.	Matériels biologiques.	24
2.	Milieu de culture.	24
3.	Appareillage de fermentation.	24

Méthodes:

1. Réactivation des souches bactériennes	24
2. Etude nutritionnelle.	25
3. Incubation.	29
4. Titrage.	29
5. Méthode d'analyse.	29
5.1. Le prélèvement.	29
5.2. Détermination de la matière sèche.	30
5.3. Détermination des cendres.	30
5.4. Dosage du lactose.	30
5.5. Dosage de l'azote total.	30
5.6. Dosage du Ca^{++} , Na^+ , K^+ .	31
5.8. Dosage de la matière grasse.	31
5.9. Détermination de la DCO.	31
5.11. Dosage de nitrate.	32
5.12. Détermination de la DBO_5 .	32
5.13. Etude de la croissance.	32

Troisième partie: Résultats et commentaires

I. Analyse physico-chimiques du lactosérum de l'industrie de la laiterie de BOUDOUAOU.	33
--	----

1. Caractéristique	33
1.1. La température.	33
1.2. Le pH.	33
1.3. La DCO.	33
2. Composition chimique.	33
2.1. Le Lactose.	33
2.2. Les matières minérales.	35
2.3. Les chlorures.	35

II - Essais de fermentation dans un milieu synthétique. 36

1. Essais de fermentation dans un milieu synthétique ne contenant pas de suppléments minéraux.	41
2. Etude nutritionnelle.	
2.1. Préculture.	41
2.2. Etude nutritionnelle.	41
3. Fermentation sur milieu synthétique enrichi.	47

III - Fermentation sur lactosérum enrichi 54

IV - Modélisation de la fermentation discontinue. 62.

Recommandation 66
Conclusion generale 67
References bibliogra-
phiques 69

Introduction

L'industrie fromagère connaît d'année en année en Algérie une activité florissante. Cet essor conduit à la transformation d'une partie de plus en plus importante du lait en un produit à haute valeur ajoutée : le fromage et en un sous-produit semblant à première vue encombrant : le lactosérum.

Le lactosérum est constitué d'une petite quantité de protéine ayant une grande valeur nutritive, facilement récupérable (en particulier par ultrafiltration) et aisément valorisable, une quantité non négligeable de sels minéraux, des vitamines et environ 50 g/l de lactose. De part sa composition, le lactosérum est donc très fermentescible, d'où son rejet dans l'environnement poserait un véritable problème écologique.

En tenant compte des renseignements fournis, l'industrie, laitière de Boudouaou produit 8100.000 l par an dont une faible partie est utilisée comme additif dans le lait fermenté appelé localement "petit lait". Il convient cependant de noter que : dans les pays développés ce sous-produit est soumis à plusieurs possibilités de révalorisation dont les suivantes :

- La transformation du lactosérum en poudre par concentration ou déshydratation.
- L'utilisation du lactose provenant du lactosérum pour l'alimentation humaine et animale.

Nous noterons aussi que différents essais de dépollution du lactosérum ont déjà été tentés. Nous citerons en particulier :

Le procédé Membrane anaérobie Reactor System (MARS) mis au point par la société DORR-OLIVER qui permet d'épurer plus de 95 % de la DBO_5 à des charges volumiques d'environ 16 kg de D.C.O / m^3 . Ce procédé conduit à la production de 0,3 m^3 de méthane par kg de D.C.O éliminée, d'un minimum de boues qui sont recyclées dans le réacteur et d'un effluent bien clarifié (20)

Une autre voie de dépollution et de valorisation du lactosérum de protéine fait son apparition : la fermentation lactique. Cette voie à l'avantage de conduire à deux produits grande importance à l'industrie laitière

Il s'agit d'une part des ferments lactiques qui sont utilisés en masse par l'industrie laitière et d'autre part de l'acide lactique.

Contrairement au lactose dont le prix est très bas et les débouchés peu nombreux, l'acide lactique, de pureté raisonnable se vend à un prix intéressant et à déjà, malgré ce prix relativement élevée de nombreux débouchés.

Citons entre autres :

- Industrie pharmaceutique (acide lactique officinal)
- Industrie alimentaire (agent de sapidité, agent antibactérien, beurre Nizo).
- Industrie du cuir (teinture, dégraisage, reverdissage).

A ces applications actuelles, on peut ajouter les applications potentielles de l'acide lactique qui pourraient se développer si l'on pouvait abaisser son coût de production de manière sensible et dont on trouve ci-dessous quelques exemples

- Fabrication de polymères biodégradables et biocompatibles (95 % d'acide lactique + 5 % de coprolactone) ayant des applications en chirurgie (Sutures biodegradables), en pharmacie (encapsulation retard), et en agriculture.

(libération contrôlée de pesticides...)...

- Source d'azote non protéique et non toxique en alimentation animale (lactate d'ammonium).
- Dans l'hypothèse d'une montée de prix des produits pétroliers, accès à des intermédiaires de Synthèse de la famille acrylique à partir de sources renouvelables.

La voie fermentative reste alors très compétitive par rapport à la synthèse totale à partir des dérivés extraits du pétrole (avec comme intermédiaire : le lactonitrile) (20)

Le souci de récupérer ce produit noble qui est le lactosérum nous a amené à entreprendre un travail dont le but est :

- de faire en premier lieu une étude bibliographique afin de mieux cerner l'importance du sujet et en second lieu une étude expérimentale nous permettant :
 - de faire une analyse chimique du lactosérum afin de mieux saisir sa composition et les problèmes posés par son rejet dans l'environnement.
 - de faire une étude nutritionnelle afin de connaître le milieu de culture présentant les conditions optimales pour la croissance de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*.
 - de faire la fermentation sur milieu synthétique simulant le lactosérum.
 - de suivre la croissance des bactéries et leur production en acide lactique sur lactosérum non déprotéiné et enrichi.
- de suivre l'évolution des ferments lactiques et de l'acide lactique sur lactosérum ultrafiltré et enrichi.

ETUDE

BIBLIOGRAPHIQUE

I Etude du lactoserum

1°) Définition et origine

Le lactoserum est la fraction aqueuse qui se sépare des caillés au cours des fabrications conventionnelles de fromage au de caseine. Il représente environ 85 à 90 % du volume du lait employé pour faire du fromage affiné et il retient environ 5 % des éléments nutritifs du lait. Ceux-ci comptent parmi les meilleurs que le lait puisse offrir et comprennent des protéines solubles, du lactose, des sels minéraux et des vitamines.

Le lactoserum contient en outre des quantités variables d'acide lactique et d'azote insoluble.

Le lactoserum provenant de la fabrication des fromages affinés est doux (PH 5,9 - 6,3) tandis que celui qui provient de la fabrication des fromages frais est acide (PH normalement voisin de 4,4 - 4,6). Le lactoserum acide contient une plus grande quantité d'acide lactique, de calcium, de phosphore et de lactose (49)

Il faudrait noter, qu'actuellement nous devons considérer un troisième cas de lactoserum, celui des perméats provenant de l'ultrafiltration du lait écrémé.

C'est alors un serum déprotéiné (35).

2°) Composition chimique du lactoserum

La composition chimique du lactoserum n'est pas constante. Elle varie en fonction de plusieurs facteurs :

- Les variations de la composition du lait se repercutent sur celle du lactoserum.

- Pour le lait de vache lui-même des variations sensibles peuvent être constatées dans des laits individuels, variations qui dépendent essentiellement de la race, de l'individu, de la période de lactation (32)

Cette composition est aussi directement influencée par la technologie appliquée à la coagulation de la caseine et du PH auquel a lieu cette transformation.

D'où une variation de la teneur en protéine et en minéraux entre les serums, de fromage à pâte pressée et les serums des fromages à caillé acide comme le camembert ou les serums de caseineries (35).

Un travail dû à J. Collet C. Février 32 donné, pour les lactoserums provenant de différentes fabrications.

- des fromages qui ont été classés en quatre groupes.

Les compositions sont indiquées dans le tableau (I)

L'examen de ce tableau montre qu'il existe d'importantes différences de composition des serums de différents types de fabrication de fromages et que ces derniers sont composés essentiellement de :

- lactose d'une teneur variante de 45 à 52,7 g/l
- matières azotées d'une teneur variante de 0,868 à 1,251 g/l
- sels minéraux.

Teneur en phosphate variant de 0,412 à 0,649 g/l

Teneur en calcium variant de 0,412 à 1,251 g/l

Teneur en sodium variant 0,505 à 0,702 g/l

Teneur en chlorure variant 2,092 à 2,712 g/l

Importance biologique des différents constituants du lactosérum

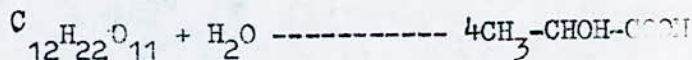
31 Le lactose

Le glucide est le principal constituant en poids de l'extract sec du lait, en conséquence il est de loin le plus important composant de l'extract sec du lactosérum. Il est difficile à hydrolyser par voie chimique alors que cette hydrolyse est très rapide par une enzyme la B galactosidase. Sous l'action de cette diastase, la molécule de lactose est élevée en glucose et galactose



Cette réaction est actuellement utilisée pour augmenter le pouvoir sucrant du lactose.

Sous l'action des ferments lactiques, le lactose est transformé en acide lactique selon la réaction suivante :



Cette propriété est très importante sur le plan technologique.

5
-00000- T A B L E A U ~~01~~ -00000-

g/l CONSTITUANT	GROUPE I	GROUPE II	GROUPE III	GROUPE IV
MATIERE SECHE	70,84	70,49	65,76	75,97
LIPIDE	5,06	3,38	0,85	1,80
MATIERES SECHES DELIPIDEES	65,78	67,11	64,91	74,17
LACTOSE	51,81	50,84	45,25	52,75
AZOTE TOATL	1,448	1,454	1,223	1,564
AZOTE NON PROTEIQUE	0,868	0,414	0,536	0,568
AZOTE UREIQUE	0,141	0,095	0,070	0,075
ACIDE LACTIQUE	0,322	2,226	7,555	5,348
ACIDE CITRIQUE	1,298	1,095	0,260	0,705
CENDRES	5,252	5,888	7,333	8,332
PHOSPHORE	0,412	0,470	0,649	0,637
CALCIUM	0,412	0,63	1,251	1,104
POTASSIUM	1,455	1,491	1,485	1,951
SODIUM	0,505	0,537	0,528	0,702
CHLORURES	2,195	2,208	2,092	2,712
AZOTE AMMONIACAL	0,041	0,090	0,14	0,135

GROUPE I : Port levegue comité exmental traditionnel

GROUPE II : Port salut, Cheddar, emmental industrielle camembert traditionnel

GROUPE III : Camembert pasteurisé, pates fraiches

GROUPE IV : Carré de l'Est (doux et acide, type type sterene hutim

3.2 Les proteines

Les matières azotées du lactosérum représentent 16 % des matières azotées du lait. Il s'agit de proteines de valeur nutritive très élevée et d'une qualité exceptionnelle.

Elles partagent le privilège avec celle de l'oeuf, de ne présenter aucun déficit en acides aminés ; leur équilibre en ces derniers leur assure une utilisation métabolique tout à fait remarquable pour couvrir les besoins de la croissance (33).

Dans les 16 % des matières azotées du serum, 12 % sont des proteines vrais constituées par 9 % de lactalbumine et 3 % de lactoglobuline.

Les 4 % restant de l'azote non proteique : urée principale les proteines du lactosérum sont des proteines du lait qui ont la plus grande efficacité alimentaire.

En effet 100 g de proteine total du lait renferme 7,75 % de lysine alors que 100 g de proteine du lactosérum en renferme 10,5 %

D'après les travaux du CNRS la teneur en acides aminés essentiels du lactosérum comparée aux proteines totales du lait est comme indiquée dans le tableau des acides aminés montre clairement la grande valeur biologique de ces proteines.

3.3 Les sels minéraux

Toute les matières minerales en solution dans le lait se retrouvent dans le lactosérum. Leur teneur varie de 5 à 10 g/l et sont constituées pour plus de 50 % de chlorure de sodium et de potassium et pour le reste de differents sels de calcium, principalement sous forme de phosphate.

Le tableau III donne les teneurs respectives des principaux sels minéraux (D'après Collet J. et Fevrier C.) (35).

Toutefois cette teneur en quantité importante de sels minéraux présente souvent un handicap pour l'utilisation du lactosérum, en raison de son goût salin ou d'un apport exagéré en sodium et en potassium dans le cas des aliments infantiles et diététiques (36,32)

ACIDES Aminés essentiels	Proteine du Lait	Proteines du Lactoserum
Tryptophane	1.216	1.378
Lysine	8.81	10.90
Methionine	3.070	1.945
Leucine	0.566	1.351
Cysteine	9.833	7.090
Isoleucine	4.8	4.054
Phenylalanine	5.183	3.476
Valine	5.550	5.545
Threonine	4.70	5.030

Tableau II Acides aminés en gramme pour
100 g de proteine du Lactoserum

3.4 Les vitamines

Le lactoserum constitue une excellente source de vitamines hydrosolubles, il renferme la majorité des vitamines du groupe "B" stimulant la croissance des Lactobacilles. La plupart de ces vitamines sont à un taux élevé par rapport aux besoins nutritionnels.

La teneur moyenne en vitamines d'après VIELNAUD est donné par le tableau (IV) (32).

Principaux sels minéraux	teneur en g/l
phosphore	0.4 - 0.6
Calcium	0.5 - 1.3
Potassium	1.5 - 2.0
Sodium	0.5 - 0.7
chlora	2.1 - 2.7

Tableau III Principaux sels minéraux du Lactosérum et leurs teneurs respectives (Collet. J.)

Vitamines	teneur moyenne en mg pour 1000 g de produits
Thiamine B ₁	4
Riboflavine B ₂	43
pyridoxine riboflavine B ₆	5.3
Acide nicotinique B ₃	12.5
cyanocobalamine B ₁₂	0.159

Tableau IV : Teneurs moyennes du Lactosérum en vitamine d'après VRI GNAUD

3°) Effet du lactoserum sur les cours d'eau

La minéralisation du lactoserum pourrait conduire à l'enrichissement des cours d'eau en phosphate et en azote. Ce qui pourrait accentuer dans les eaux superficielles des modifications qualitatives et quantitatives très importantes touchant en premier lieu les peuplements végétaux (algues et macrophytes) et se répercutant également sur les peuplements animaux (16).

Il en résulterait une perturbation du régime hydraulique, une sédimentation et un envasement accélérés entraînant une modification des caractéristiques physico-chimiques de l'eau puis un changement des équilibres biologiques des milieux aquatiques. (I).

Il faut aussi noter que : en raison de son action corrosive due à sa fermentation rapide, le rejet du lactoserum dans les égouts municipaux n'est pas souhaitable (49).

II Conséquence du rejet du lactoserum dans les cours d'eau

1°) Le serum agent polluant

Le lactoserum en tant que tel n'est pas un corps polluant, mais quand il est ~~déversé~~ dans une rivière, il engendre des effets polluants par consommation de l'oxygène de l'eau.

Les bactéries et autres microorganismes vivant dans l'eau attaquent certains constituant du lactoserum (en particulier la lactose) mais pour cela il est nécessaire de fournir une certaine quantité d'oxygène pris à l'eau, ^{ce qui} sera manquant pour les poissons et les plantes à ~~qualité~~ qui sont de gros consommateurs obligatoires d'oxygène. Si celui-ci vient à disparaître, ils mourront d'asphyxie.

La gravité de la pollution due au lactoserum tient au fait qu'il a une très forte DBO. La mesure de la DBO₅ varie pour un litre de lactoserum entre 30.000 à 40.000 mg d'oxygène, Elle peut même atteindre 60.000 mg d'oxygène.

Si l'on considère le coefficient d'Inhoff qui traduit la charge polluante apportée par habitant et par jour, soit une DBO₅ de x 54000 mg, on peut dire que chaque litre de serum correspond potentiellement à la pollution journalière apportée par 0,6 à 0,7 habitants par jour (45).

2° Pollution atmosphérique

Un manque d'oxygène total est marqué par l'apparition de fermentation anaérobies des constituants du lactoserum.

C'est un stade qui se caractérise par l'apparition de fermentations putride avec dégagement d'hydrogène sulfuré et d'ammoniac (42).

III La valorisation du lactoserum : une nécessité

Le problème posé par le lactoserum est l'un des plus urgents à résoudre parmi tous ceux qui sont posés actuellement dans le domaine de la technologie et de la production laitière.

III 1. L'épuration

On peut atteindre trois niveaux d'épuration dans des stations spécialement conçues à cet effet. Il s'agit de filtrer et décanter le lactoserum en produisant des boues qui sont consommées par des bacteries puis par d'autres microorganismes et enfin laissés à l'air libre puis au soleil.

L'effluent est rejeté. Dans le premier stade la DBO diminue de 40 % (47)

Si l'interêt de telles stations est indeniable, elles présentent l'inconvenient de ne pas valoriser la matière noble qui est le lactoserum.

III 2 Récupération

La consideration du lactoserum comme sous-produit, cache ses réelles possibilités à rentrer dans un cycle normal de production, c'est à dire viable que diététique et hygiénique comme l'on montré plusieurs études. Toutefois, le rejet du lactoserum constitue, de ce fait un manque à gagner et sa récupération devient une nécessité imperieuse d'un triple point de vue, sachant qu'elle permet :

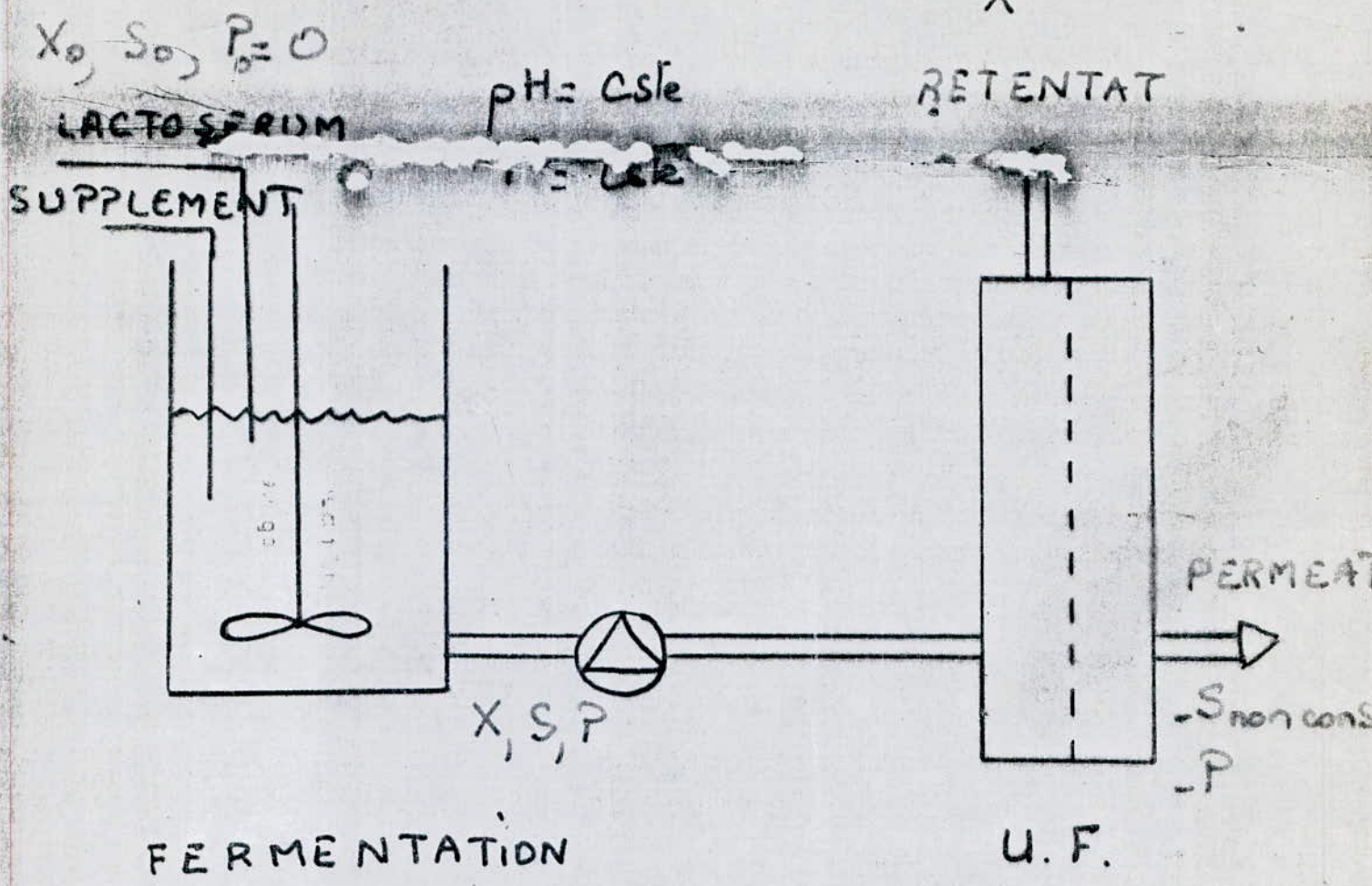
- de lutter contre la pollution
- l'obtention des produits de qualités
- de stimuler l'activité des fromageries par la réalisation de nouveaux revenus dûs au débouchés du lactoserum.

Le souci de récupérer le lactoserum nous amène à proposer : un procédé de traitement qui consiste à constituer un appareillage d'un fermenteur et d'un ultrafiltre. Le tout étant relié par un système de régulation.

Ce système permet après métabolisme du lactose, de faire passer le lactose et les sels minéraux se trouvant dans le milieu et de retenir les microorganismes et les proteines du milieu fig (5).

Cependant il convient de noter qu'au cours de ce travail, nous allons uniquement nous occuper de la fermentation.

PROCÉDÉS



- ① - Production de bacteries lactiques
- ② - Production de levures lactiques
- ③ - Production d'acides organiques
(ex: acide citrique, acide lactique)
- ④ - Production d'alcools
(ex: éthanol)

S: Substrat ; P: Produit ; X: biomasse

FERMENTATIONS

LACTIQUES

III 3 Fermentation lactique

Notre objectif est de faire une transformation biologique du lactoserum en acide lactique.

Nous avons choisi pour ce travail les microorganismes tels que : Lactobacillus bulgaricus,

Streptococcus thermophilus

Ce choix a été fait en raison de l'effet synergique que ces deux espèces exercent l'une sur l'autre.

Le Lactobacillus bulgaricus est stimulé par l'acide formique et l'acide pyruvique synthétisés par Streptococcus thermophilus, celui-ci est stimulé par certains acides aminés et peptides libérés par Lactobacillus bulgaricus ; donc Lactobacillus bulgaricus et Streptococcus thermophilus cultivés en association représentent, dans de nombreux cas, un bon exemple de métabolisme intégré où chaque espèce tire bénéfice de la culture mixte. La production d'acide de la culture mixte est beaucoup plus active que celle des cultures pures. Le Lactobacillus exerce un effet stimulant marqué sur le développement et la production d'acide, de Streptococcus thermophilus, effet stimulant qui résulte vraisemblablement de l'action protéolytique du Lactobacille. L'addition au fait de certains mélanges d'acides aminés permettrait d'obtenir un effet stimulant comparable à celui de Lactobacillus bulgaricus sur Streptococcus thermophilus. Streptococcus thermophilus possède des peptides hydrolases intracellulaires qui lui permettent d'utiliser des peptides exogènes comme source générale d'acide aminés ou comme source préférentielle d'histidine.

Il convient de noter que : Lactobacillus bulgaricus et Streptococcus sont d'abord producteur d'acide lactique (11, 17, 37)

III Les bacteries lactiques

311 Classification :

Les bacteries lactiques appartiennent à la classe des eubacteries unicellulaire et à la famille des lactobacterieaceae 20;.

Dans cette famille, notre interet se porte plus spécialement sur le genre Streptococcus et sur le genre Lactobacille (20).

Habitat

Les bacteries lactiques peuvent être isolées de divers milieux naturels végétaux et animaux. Elles peuvent être retrouvées en association avec d'autres microorganismes tels que les levures, dans les produits de fermentation, tel que les laits fermentés, viandes fermentées, fruits et légumes fermentés (28).

33 CARACTERES STRUCTURAUX DES DEUX GENRES.

Les bacteries lactiques sont définies par une combinaison de caractères microbiologiques et biochimiques. Elles sont gram positives, non sporulées non ramifiées, ne formant pas d'amas, immobiles et asciliées,

Elles ne possèdent pas de catalase, ni de cytochrome oxydase. Elles sont anaérobies facultatives ou microaérophiles les bacteries du genre Streptococcus sont homofermentatives et se présentent sans formes de coques se rangeant en chainettes.

Les bacteries du genre Lactobacillus peuvent être selon les espèces Hétérofermentatives ou homofermentatives et se présentent sous forme de batonnets associés en chainettes. (20).

34 Nutrition

Les bacteries lactiques ont des exigences nutritionnelles très complexes, en particulier en ce qui concerne les sources d'azote, les facteurs de croissance, etc

341 EXIGENCES EN ACIDES AMINES

Les protéines constitutives des bacteries sont des composés à haut poids moléculaires formés d'acides aminés liés entre eux par des liaisons peptidiques. Les bacteries lactiques sont en principe incapables d'effectuer la synthèse de ces acides aminés et doivent par conséquent faire appel à des sources exogènes pour assurer leur métabolisme.

Les Streptococcus thermophilus ont besoin d'acide glutamique, histidine,

cystéine, méthionine, valine, leucine et tryptophane ou tyrosine ou peptides.

Les Lactobacilles ont des exigences très variables parmi lesquelles il faut citer: la serine et la thréonine chez *Lactobacillus bulgaricus*.

Il convient de noter que les *Lactobacillus* possèdent des protéinases alors que les *Streptococcus thermophilus* n'en possèdent pas. (30)

3.4.2. La source de carbone et d'énergie

La source primaire d'énergie pour la croissance et la production de métabolites est la fermentation des sucres. Les bactéries lactiques homofermentatives produisent exclusivement de l'acide lactique selon les processus suivants:

- Pour les *Lactobacillus*: lactose -----> donne 4 acides lactiques.
- Pour *Streptococcus thermophilus*: lactose -----> donne 2 acides lactiques + galactose.

En effet, les *Lactobacillus* thermophiles sont capables d'utiliser indépendamment comme source primaire d'énergie le lactose et ses produits d'hydrolyse, le glucose et le galactose, tandis que les *Streptocoques* thermophiles préfèrent les diholosides (lactose ou saccharose) mais n'utilisent après hydrolyse que le glucose. (20)

Il convient de noter que : si le lactose est limitant, le *Streptococcus thermophilus* peut métaboliser le galactose par voie de LELOIR. (30)

3.4.3. Facteurs de croissance

Les bactéries lactiques exigent invariablement des

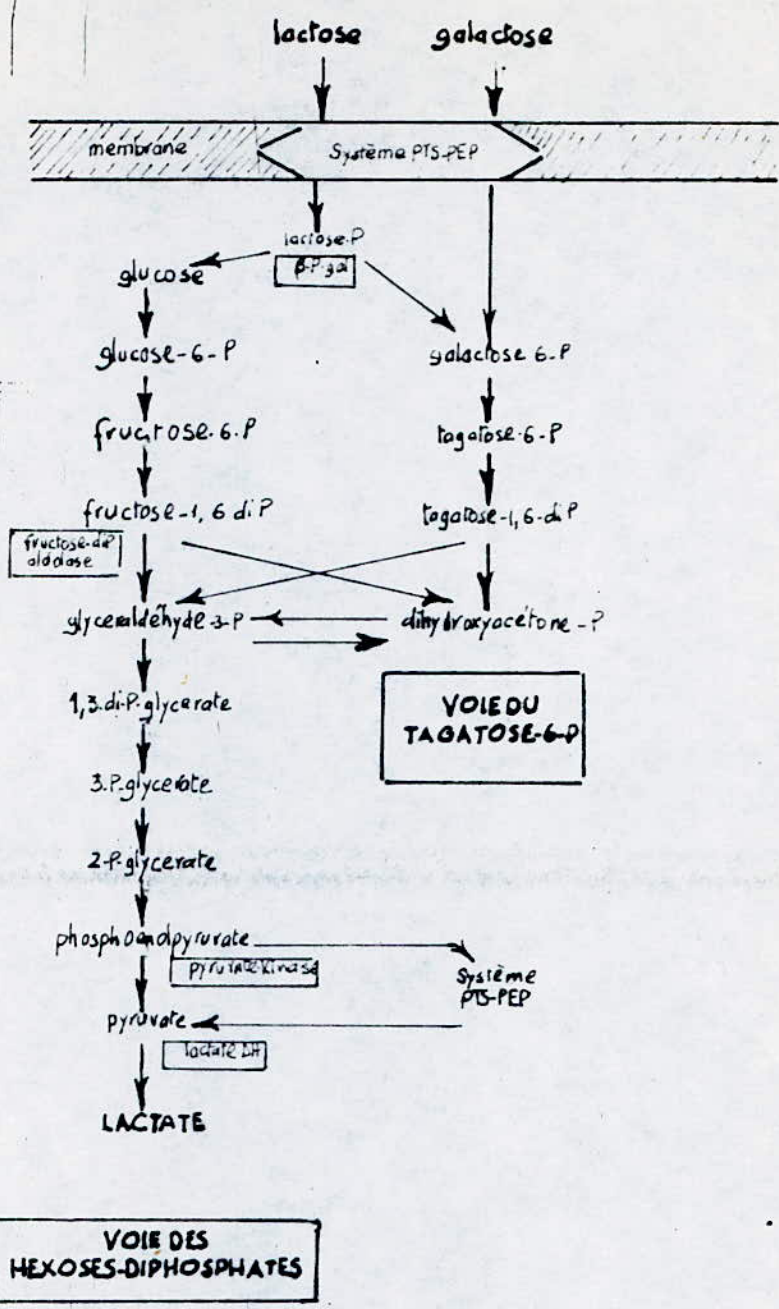


Figure 6 : Métabolisme homofermentaire du lactose et du galactose chez les bactéries lactiques (37)

vitamines du groupe B. Par exemple, le *Lactobacille helveticus* exige de la riboflavine B et du pridoxal D .

3.4.4. Elements mineraux

Il est necessaire de rajouter dans le milieu de culture les elements mineraux tels que :

- _Les phosphates necessaires au transfert d'energie(ATP)
 - _Les sulfates servant à la synthese des amino-acides soufres
 - _Na,K,Ca interviennent en particulier dans la force ionique.
- Oligo-éléments: Mg, Mn; ils sont en particulier des cofacteurs dans les transferts d'électrons.

||| FERMENTATION

DISCONTINUE

0

IV. Fermentation en discontinu

Lorsque le milieu nutritif, que l'on supposera non limitant, sauf pour un seul nutriment en fin de fermentation (sucre), est inoculé par des bactéries, on observe tout d'abord une période de latence dont la durée est difficile à prévoir exactement. Pendant cette période, on observe pas de croissance nette et les bactéries s'adaptent au nouveau milieu. Cette adaptation est d'autant plus difficile que le nouveau milieu est différent de l'ancien et que les bactéries sont plus âgées. La reprise de croissance des bactéries en phase exponentielle, repiquées dans le même milieu, peut être très rapide. (20)

Après la phase de latence, on observe, lorsque la nourriture mise à la disposition des microorganismes est surabondante, leur pullulation. Cette pullulation n'est limitée que par l'intervalle de temps nécessaire à la reproduction de la cellule, autrement dit par le temps de génération. Nous avons donc là l'équivalent d'un phénomène autocatalytique et le taux d'augmentation de la population microbienne est proportionnelle à la population présente soit:

$$dN/dt = k \cdot N \quad (1)$$

$k(h)$: taux de croissance.

N : biomasse

Pendant la phase exponentielle, $k = k_{\max}$ = constante, ce qui permet d'obtenir la loi de croissance intégrée:

$$N = N_0 \cdot e^{k_{\max}(t-t_0)} \quad (2)$$

Cela permet de définir un temps de doublement:

$$t_d = \ln 2 / k_{\max} \quad (3)$$

Un exemple de cinétique de croissance est donné sur la figure 3

Lorsque l'un des substrats de concentration S devient limitant, MONOD (1942) a montré que la constante spécifique de croissance peut se mettre sous la forme:

$$k = k \cdot \frac{S}{S+K}$$

où: K est la constante de saturation du substrat qui est égale à la concentration de S pour laquelle $k = k / 2$.

Après la phase de croissance exponentielle qui correspond à la plus grande vitesse de développement, les bactéries dans le milieu, on observe une diminution de la vitesse de croissance (phase de ralentissement, puis de maintien) puis une décroissance de la densité cellulaire due à la lyse.

En ce qui concerne la production d'acide lactique par des bactéries thermophiles, LUEDERKING et PIRET ont montré que la vitesse instantanée d'apparition du métabolite peut se mettre sous la forme de:

$$dP/dt = \alpha dN/dt + \beta N \quad (5)$$

où P est la concentration en acide lactique ;

N la biomasse;

et des paramètres qui, pour des bactéries, un milieu et une température donnés ne dépendent que du pH (fig. 4)

Il convient de noter qu'au cours de l'opération l'attention doit être fixée sur trois points:

- La disparition de nutriment;
- La formation du produit;
- La croissance des bactéries.

La figure 4 nous permet de choisir un pH compris entre 5,4 et 6,0; cependant, plusieurs travaux effectués ont

streptocoques



Lactobacilles



figure 2

Cinétique de croissance bactérienne

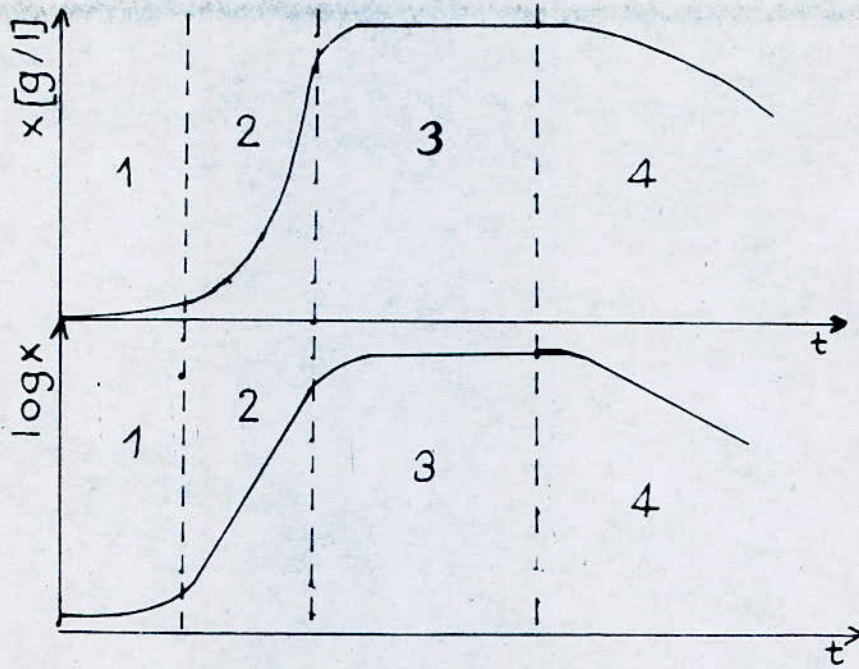


figure 3

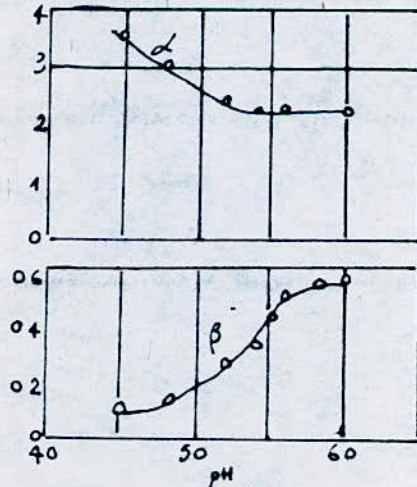


figure 4

The effect of pH on the coefficient α and β in the equation $(1/N)(dP/dt) = \alpha k + \beta$

trouvé que le pH maximal est égale à 5,5. (4,45,29)

Nous noterons aussi que la production d'acide lactique est estimée par la quantité de NaOH ajoutée dans le milieu pour maintenir le pH constant.

4.I. Les facteurs influençants la fermentation

4.I.I. Pasteurisation

Pour la pasteurisation on choisit une température comprise entre 70°C et 100°C pour une période comprise entre 30 mn et 5 heures. Il faut noter que : pour éviter la précipitation des sels minéraux, il est souhaitable qu'il soient stérilisés séparément puis additinnés au milieu tout juste avant l'inoculation.

Les électrodes du pHmètre sont stérilisés par leur immersion dans une solution d'ammonium diluée puis rincés à l'eau distillée avant de les plonger dans un fermenteur. (27,29)

4.I.2. L'influence de l'ensemencement

Dans un milieu de culture, la vitesse de disparition des substances solubles est liée à la quantité de cellules présentes.

Il est habituellement pratique, de commencer une fermentation avec 10% de microorganismes. La quantité de microorganismes à utiliser pour l'innoculation est comprise entre 2 et 15%, mais la plus petite quantité qu'il faut ajouter pour avoir une bonne croissance s'élève à 10%. (26,27)

4.I.3. L'agitation

Elle joue un grand rôle dans le milieu de culture, elle permet d'assurer l'uniformité de la suspension microbienne.

(13 , 40)

422. Les effets du pH et de la température

L'examen des effets du pH et de la température sur la croissance de chaque espèce de microorganismes dans le milieu de culture nous permet de remarquer que le taux de croissance est une fonction du pH et de la température.

En linéarisant la fonction $k = f(T, \text{pH})$ dans un intervalle de température compris entre (37°C et 44°C) et du pH variant entre 5,5 et 6,5, le taux de croissance k peut s'écrire sous la forme suivante:

$$k(T, \text{pH}) = k_0 + k/\delta T \cdot (T - T_r) + k/\delta \text{pH} \cdot (\text{pH} - \text{pH}_r)$$

T_r et pH_r sont la température et le pH de référence.

Soient pour *Lactobacillus bulgaricus*:

$$k/\delta T = 29,7 \cdot 10^{-4} \text{ mn}^{-1} \text{ et } k/\delta \text{pH} = -115 \cdot 10^{-4} \text{ mn}^{-1}$$

et pour *Streptococcus thermophilus*:

$$k/\delta T = -15,9 \cdot 10^{-4} \text{ mn}^{-1} \text{ et } k/\delta \text{pH} = 92 \cdot 10^{-4} \text{ mn}^{-1}$$

avec une variation de température comprise entre ~~30,8~~ et celle du pH entre 0,5 à une unité. Cette relation nous permet de voir que les meilleures conditions de croissance sont obtenues avec une température au tour de 42°C et un pH autour de 5,5.

4.3. Inhibition par le lactate

Il marque le déclin dans la formation de l'acide lactique. Elle pourrait être due à l'accumulation de lactates dissous. Pour décrire ce phénomène; l'expression du taux de croissance est donnée par l'équation suivante:

$$k = k_m \cdot K_L / (K_L + L)$$

k_m : est le taux croissance maximum;

L : est la concentration en lactate en mole/l;

K_L : est le coefficient d'inhibition par le lactate.

Cette equation peut être simplifiée en considérant

3 cas :

- $L \ll K_L$: debut de la fermentation ; nous avons :

$$k = k_m \cdot K_L / (K_L + L) \quad k_m$$

- $L \approx K_L$: k_m étant connu, nous pouvons estimer K_L par la valeur de L au point où la pente de $\text{Log}(dL/dt) = k_m/4,6$

$L \gg k_m$ nous avons $K = K_m \cdot (K_L/L)$

Experimentalement, l'inhibition de Streptococcus par le lactate est observée à partir de 30 mmole/l à 37°c et autour de 100 mmole/l à 30,5°c.

Lorsque la croissance de Lactobacillus bulgaricus se fait rapidement, la température n'a apparemment pas d'effet sur l'inhibition par le lactate et l'inhibition commence autour de 20 mmole. Pour avoir une fermentation complète, il faut que la concentration initiale de lactose dans le milieu varie de 0 à 7%.

MATERIELS

ET

METHODES

MATERIELS ET METHODES

I Materiels

1°) Materiels biologiques

Les souches utilisées durant ce travail sont :

Lactobacilus bulgaricus et Streptococcus thermophilus.

Elles proviennent de l'ORLAC et du Yaourt.

2°) Milieu de culture

Les milieux de culture utilisés au cours de cette experimentation sont :

Un milieu synthétique composé de 5 % de lactose 1 % de peptone, 1 % de tween 80, 20 % de jus de tomate et des sels minéraux.

- Un milieu de culture à base de lactoserum prélevé au niveau de l'unité de l'ORLAC à Boudouaou

3°) Appareillage de fermentation

Il est constitué d'une cellule de 100 ml, d'un bain thermostaté, d'un agitateur, d'un pH mètre et d'une burette graduée fig 8.

Méthodes

1°) Réactivation des souches microbiennes

Pour cette operation, nous avons utilisé du lait écrémé en poudre (Lahda) qui nous a permis de préparer des solutions de lait à une concentration de 10 %. Nous soulignerons que pour limiter les variations imputables à la qualité du lait, nous avons utilisé un même lot de poudre de lait conservé au refrigerator en boites métalliques à 4°C; cette précaution nous permet d'éviter des variations notables.

-La solution de lait était répartie à raison de 10 ml dans des tubes Pasteur puis stérilisés à une temperature comprise entre 70°C et 100°C dans un intervalle de temps de 30 mn à 5 heures.

Nous avons après refroidissement, transféré 1 ml de culture dans 10 ml de lait reconstitué puis incubé durant 13 heures à 42°C. Nous avonsensemencés trois autres tubes à partir des tubes incubés ; puis 10 autres à partir des nouvelles incubées mais à raison de 0,5 ml dans 10 ml

de lait reconstitué.

Ces 10 derniers tubes après incubation sont refroidis et congelés pour une utilisation plus tard (fig 7)

4°) Etude nutritionnelle

Il consiste à préparer plusieurs milieux différents dans lesquels nous faisons des ensemencements afin de pouvoir connaître le milieu le plus favorable à la production de l'acide lactique.

Dans notre cas, nous avons préparé sept milieux de culture dans des tubes pasteurs. Chaque milieu a été préparé deux fois.

- La préparation a été faite de la manière suivante :
- Une solution mère de 200 ml contenant : 20 g de lactose et 2g de peptone (A).
- Une solution B de 100 ml contenant 10 g de KH_2PO_4 et 10 g de K_2HPO_4 et 10g de K_2HPO_4
- Une solution C de 100 ml contenant 4 g de MgSO_4 , 0,2 g de NaCl, 0,2 g de FeSO_4 et 0,2 g de MnSO_4
- Une solution D de jus de tomate filtré.
- Du tween 80 à 1 % (E).
- Les différents milieux de cultures ont été constitués selon le tableau (5).

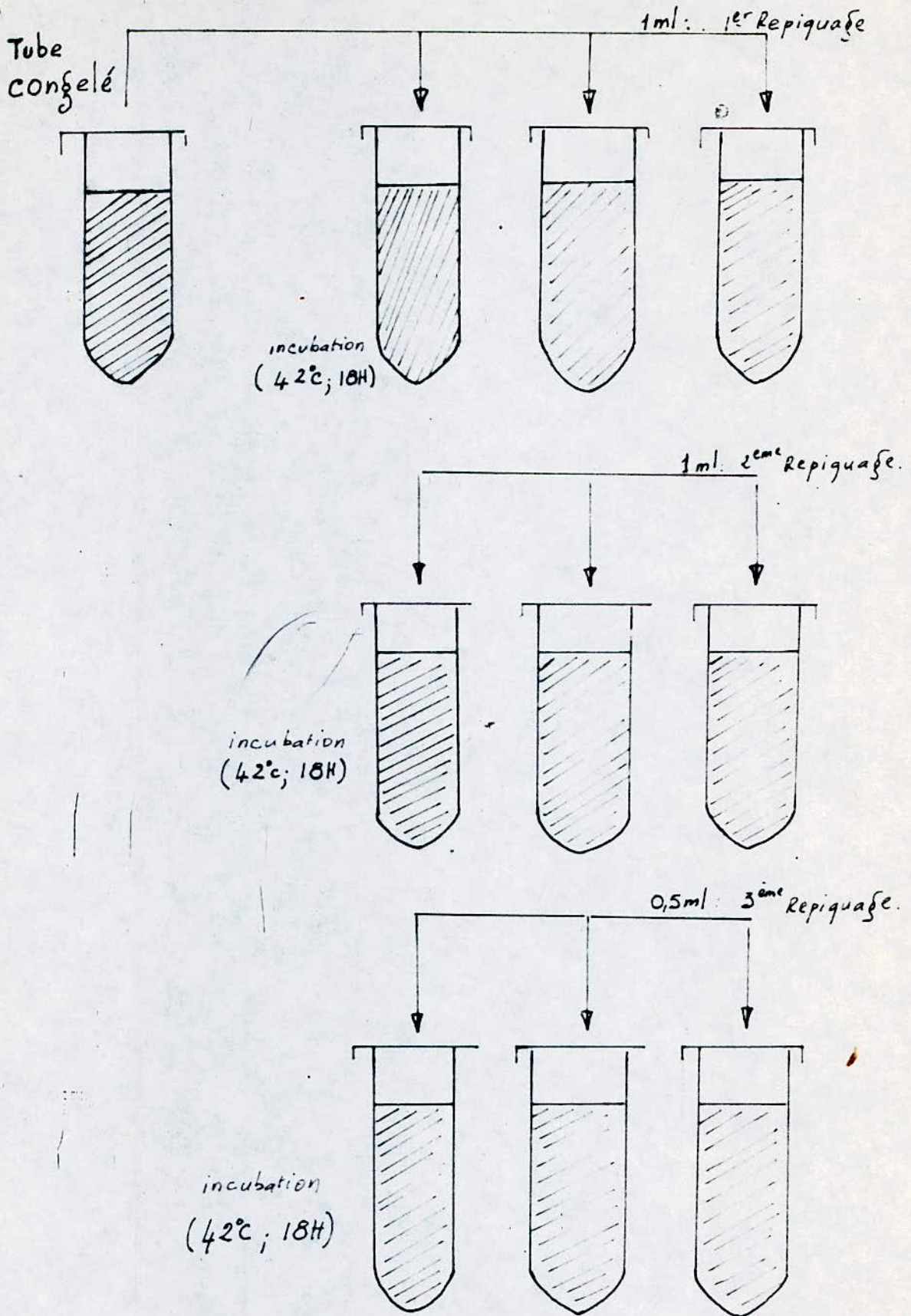
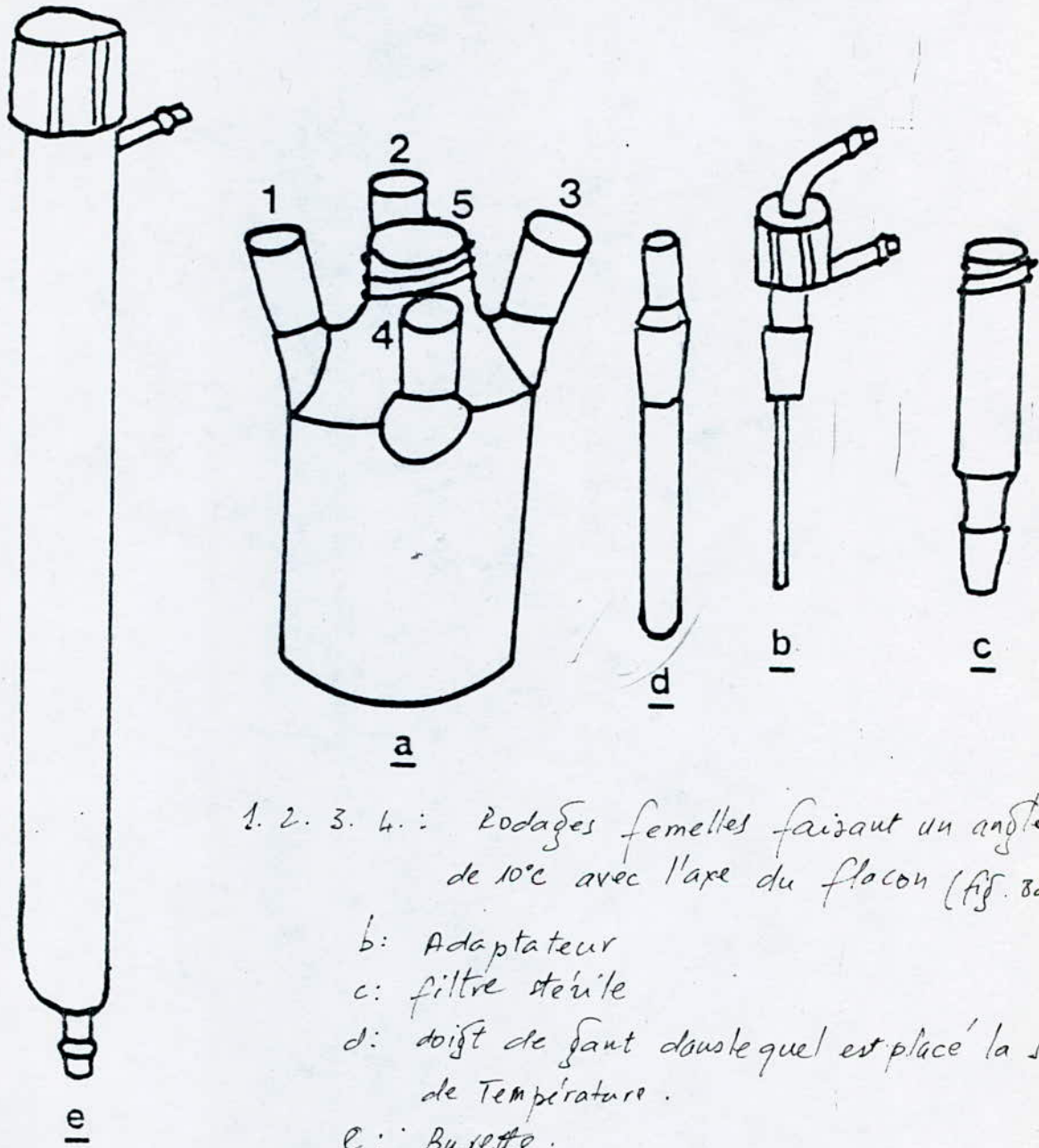


Figure 7: Réactivation des Bactéries

Fig 8



1. 2. 3. 4.: Rodages femelles faisant un angle de 10° avec l'axe du flacon (fig. 8a)

b: Adaptateur

c: filtre stérile

d: doigt de gant dans lequel est placé la sonde de température.

e: Burette.

fig. 8 : Minifermenteur de 150 ml conçu et réalisé au laboratoire

Tuba n°	I	I'	II	II'	III	III'	IV	IV'	V	V'	VI	VI'	VII	VII'
A (ml)	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
B (ml)	0	0	0	0	0	0	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
C (ml)							0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
D (ml)			2,0	2,0	2	2					2	2	2	2
E (ml)									0,1	0,1	0,1	0,1		
H ₂ O (ml) distillée	5	5	4,9	4,9	3	3	4,9	4,9	4,8	4,8	2,8	2,8	3	3

Tableau 5: Composition des différents milieux de culture

Ces milieux de culture, une fois préparée ont été stérilisés à 100°C pour 30 mn; après refroidissement, nous avons procédé à leur ensemencement à raison de 0,1 ml dans chaque tube.

4°) INCUBATION

Les tubes de lait ensemencés sont soigneusement mis à l'étuve réglée à 42 °C.

Au terme de la période d'incubation les tubes sont placés dans le congélateur jusqu'au titrage.

/ TITRAGE

La mesure de l'acidité a été effectuée sur chacune des tubes contenant 10 ml de milieu de culture.

L'opération consiste à relever le pH de son point initial jusqu'à pH = 8. Nous avons effectué le titrage à l'aide de la soude décimale. L'acidité sera exprimée en degré DORNIC (°D). Dans les conditions du titrage, nous allons considérer qu'un ml de soude 0,1 N correspond à 10 °D (1g d'acide lactique par litre de lait).

Il convient de noter que : tout au long de notre travail nous avons utilisé pour le titrage de NaOH : 0,1 N, NaOH 2N et HCl 2N.

METHODES D'ANALYSES.

1°) Le prélèvement

Le prélèvement est fait dans les bouteilles en verre de 500 ml bien lavées et stérilisées à l'étuve à 170°C.

- Avant le prélèvement les bouteilles ont été rincées une fois par le lactosérum à prélever.

Il convient de souligner que les échantillons ont été transportés du milieu de prélèvement au laboratoire dans une glacière à une température de 4°C.

Nous noterons que la mesure des paramètres tels que la température et le pH ont été faite sur place.

2°) Détermination de la matière sèche

- La matière sèche du lactoserum est le produit résultant de la dessiccation du lactoserum. Cette dessiccation est obtenue par évaporation à l'étuve à une température de $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ (10).

Détermination des cendres.

Cette détermination se fait, à partir de l'incinération de la matière sèche à une température de 530°C (10).

DOSAGE DE LACTOSE

Pour ce dosage, nous avons utilisé la méthode de Bertrand. Le principe repose sur la défécation du lactoserum par l'hexacyanoferrate de potassium et l'acétate de zinc, le lactose contenu dans la prise d'essai de solution à doser réduit partiellement un volume de liqueur cupro-alcaline

L'oxyde cuivreux ainsi formé est dosé par une solution ferrique. Le sulfate ferreux est dosé par le permanganate de potassium (II).

Dosage de l'azote total

L'azote total a été déterminé par la méthode de Kjeldahl.

Par chauffage avec de l'acide sulfurique concentré et en présence de catalyseurs, l'azote organique est minéralisé quantitativement à l'état de sulfate d'ammonium. Après minéralisation, l'azote organique déplacé par une solution de soude est entraîné par un courant de vapeur d'eau puis dosé par volumétrie ou colorimétrie (3).

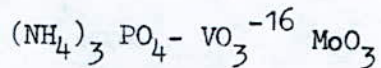
Dosage du Ca^{2+} , Na^+ , K^+

Ces éléments ont été dosés par photométrie de flamme dont le principe est basé sur le fait que : si l'on fournit de l'énergie à un atome, un ou plusieurs électrons peuvent passer à un niveau plus élevé. Ces électrons existés tendant à revenir à l'état fondamental emettent leur surplus d'énergie sous forme de radiation caractéristique à chaque type d'atomes (6).

DOSAGE DES PHOSPHATES

Il s'agit d'un dosage colorimétrique.

Le principe est basé sur le fait qu'en présence d'une solution acide molybdate et de valadate d'ammonium, les orthophosphates conduisent à la formation d'un complexe jaune intense, le complexe phosphovanado-molybdique



On opère en milieu nitrique 0,5 à 0,9 N au chlorhydrique ou sulfurique de même normalité. La coloration se développe alors rapidement. (Le réactif de Misson, ou réactif nitrovanadomolybdique, est prêt à l'emploi. Il est réalisé par mélange d'une solution de molybdate d'ammonium et d'une solution nitrique de Vanadate d'ammonium. La colorimétrie est réalisée à 460 nm (38).

Dosage de la matière grasse

La matière grasse est extraite en milieu ammoniacal et à l'aide d'éthanol par un mélange d'oxyde diéthylique et d'ether de pétrole. Les phases éthero-alcoliques sont ensuite deshydratées puis évaporées à sec. Le résidu pesé représente la matière grasse de la prise d'essai de lait.

Pour mieux extraire la matière grasse on dénature les protéines, à l'aide de l'éthanol. L'hydroxyde d'ammonium solubilise les protéines ainsi dénaturées.

L'extraction se fait par simple contact en ampoule à décanter et elle est répétée une seconde fois (38).

Détermination de la DCO

Le principe consiste à mesurer l'oxygène emprunté à un oxydant pour porter les composant de l'effluent à leur valence (normale). Lors de l'oxydation, le problème sera d'utiliser un oxydant assez énergique pour rompre certaines structures carbonées très très résistantes et qui, cependant, ne fasse pas dépasser aux halogènes le stade halogénure.

On utilise comme oxydant le bichromate de potassium L'oxydation par le bichromate 0,25 N s'effectue à 140-150°C en présence d'acide sulfurique concentré pendant deux heures. L'excès de bichromate est ensuite titré par le sulfate ferreux ammoniacal, en présence de ferronine comme indicateur coloré (6).

Dosage du Chlore

Les ions chlorures sont précipités à l'état de chlorure d'argent par une solution titrée de nitrate d'argent. L'indicateur de fin de réaction est le chromate de potassium, qui en présence d'un excès d'ions Ag⁺, forme un précipité rouge de chromate d'argent. Il faut noter qu'une défécation préalable des matières organiques a été faite (38).

Dosage de nitrate

Il s'agit d'un dosage colorimétrique. C'est une transformation des nitrates en dérivés nitrophenol-Sulfonique au moyen d'acide sulfophénique. La coloration est jaune. La lecture est faite à 440 nm.

Détermination de la DBO₅

Un effluent abandonné à lui-même en flacon fermé consommé rapidement l'oxygène dissous qu'il peut éventuellement contenir. Pour mesurer sa DBO il faut donc mettre à sa disposition un supplément d'oxygène. Dans les méthodes de dilution l'oxygène est apportée par une eau saturée de ce gaz, et naturellement dépourvue de demandé propre. On dilue l'échantillon dans le volume nécessaire, en prenant la précaution de conserver un taux résiduel d'oxygène suffisant (6).

Etude de la croissance

Une suspension de bactérie se comporte comme une suspension collaïdale absorbant et diffusant la lumière. La densité optique de culture directement proportionnelle à la concentration cellulaire à une lumière monochromatique de longueur d'onde 500 nm.

L'évolution de la croissance est suivie par l'appareil Spectrophotométrique

RESULTS

ET

DISCUSSIONS

Analyse physico-chimique du lactoserum

La larterie de Boudouaou.

I Caractéristique

Le tableau (6) nous donne les caractéristiques du lactoserum.

1°) La température : la température de rejet est voisine de 35°C. Si cette température de rejet est acceptable ; elle demeure une température favorable à la croissance des bactéries lactiques et des levures. A cette température la fermentation de lactoserum se fait de manière très rapide.

C'est d'ailleurs pour cette raison, que son rejet dans les égouts est interdit.

2°) le pH : le pH = 4,4 est la valeur du pH du lactoserum se trouvant dans le bassin de stockage, en attendant le rejet ; Cette valeur montre que la dégradation du lactoserum a commencé avant le rejet du lactoserum. Juste à la sortie de la fabrique, le pH = 6,3 des deux autres prélèvements, prouve que le lactoserum produit par l'industrie laitière de Boudouaou est un lactoserum doux.

Les matières sèches nous obtenons une matière sèche MS = 60 g/l.

Ce paramètre nous permet de constater que la teneur en MS du lactoserum est faible : c'est d'ailleurs le paramètre qui a été la première difficulté pour sa valorisation.

La DCO

L'élévation de la valeur de la DCO nous renseigne sur les effets néfastes du rejet du lactoserum dans l'environnement. Cette DCO nous montre que le lactoserum est un handicap sérieux pour l'industrie fromagère et que le problème posé par ce sous produit doit être le plus urgent à résoudre.

II Composition chimique : L'utilisation du lactoserum comme milieu de fermentation pour la production de l'acide lactique nécessite au préalable une étude chimique détaillée. La connaissance de la composition du lactoserum est très importante afin, de pouvoir procéder à son enrichissement et mettre au point un milieu de culture adéquat pour la croissance des *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* et leur production en acide lactique. Les résultats de cette analyse se trouve dans le tableau 7.

Le lactose : D'après les résultats des analyses, nous obtenons une teneur en lactose de 45,6 g/l, ce qui montre que le lactose est le constituant le plus important du lactoserum.

Prélèvement	température (°C)	pH	M.S (g/l)	DCO mg/l d'O ₂
I	36	4,4	59	—
II	39	6,3	58,5	72.000
III	35	6,25	60	70.000

Tableau 6: caractéristique du lactosérum de l'industrie laitière de Boudouaou.

Sels minéraux	[] en g/l
K ⁺	1.54
Na ⁺	0,69
Chlorure	2.13
Nitrate	0.93
PO ₄ ³⁻	
Protéine	
Matière grasse	

Tableau 7: Composition chimique du lactosérum de l'industrie laitière de Boudouaou

Les matières minérale du lactosérum

La teneur en matières minérale du lactosérum de l'industrie laitière de Boudouaou est de 8,04 g/l. Cependant elle demeure insuffisante pour couvrir les besoins en matières minérales des ferments lactiques.

Les chlorures

La teneur en chlorure de notre échantillon est de l'ordre de 2,13 g/l. Elle est légèrement supérieure à celle d'un lait normal. (1,65g/l). A cette concentration les chlorures n'ont aucun effet néfaste sur la croissance des bactéries lactiques.

Conclusion :

A la lumière de ces résultats il en ressort que le lactosérum a l'état brut est favorable à la culture des bactéries lactiques avec toutefois un enrichissement en certains éléments dont il est déficient comparativement au milieu synthétique préconisé comme meilleur milieu de culture.

FERMENTATION SUR
MILIEU SYNTHETIQUE

Essais de fermentation dans un milieu synthétique ne contenant pas de suppléments minéraux en réacteur de 100 ml.

Cet essai a été réalisé dans un milieu synthétique, simulant le lactosérum déminéralisé, déprotéiné et enrichi; Ce milieu est constitué de 5 % de lactose, 1 % de peptones, 1 % de tween. La peptone, comme supplément azoté à l'avantage de satisfaire à peu près tous les besoins nutritionnels des bactéries lactiques en source d'acides aminées.

Nous noterons que : cette expérience a été réalisée dans le but d'obtenir à la fin de la fermentation, un milieu pas trop chargé, ce qui pourrait permettre une extraction sans difficulté des lactates.

L'inoculation a été faite à l'aide des souches ramenées de l'ORLAC et conservées au congélateur.

La fermentation s'est déroulée à une température constante $T^{\circ} = 42^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ et à un pH constant $\text{pH} = 5,4 \pm 0,1$

Le tableau 8 nous donne les résultats de cette fermentation.

Nous voyons qu'après 27 h de fermentation, nous avons atteint une concentration finale d'acide lactique de 2,32 g/l, ce qui représente après correction pour dilution, un rendement très faible de 6 %

Nous pensons que ces mauvaises performances sont probablement dues aux raisons suivantes :

- La vieillesse des souches,
- La pauvreté du milieu en sels minéraux;
- La contamination du milieu par les bactériophages.
- Le manque de vitamine B

Une interprétation des figures 9 et 10 donnant les cinétiques de croissance et de production nous a permis de remarquer que :

La croissance des bactéries a commencé après un temps de latence sensiblement long (3 heures à peu près), ce qui pourrait être dû à la vieillesse des cellules comme nous l'avons souligné plus haut.

L'allure des courbes obtenues étant conforme avec celle des courbes théoriques, nous pouvons écarter l'hypothèse d'une contamination.

Temps (mn)	60	120	300	360	420	480	1380	1440
PH	5.4	5.4	4.2	5	5.1	5.4	3.6	5.4
NaOH 2N (ml)	0		0.23	0.28	0.34	0.37	1.23	1.29
DO			0.224	0.584	0.834		0.922	0.840
$[C_5H_8O_5]$ g/l			0.414	0.504	0.612	0.666	2.214	2.322

Tableau 8 Evolution de la croissance et de la production en acide lactique dans milieu synthétique non enrichi

	rdmoin Peptone + Lactose	Peptone + lac- tose + tween 80	Peptone + lac- tose + sels	Peptone + lac- tose + sels + tween 80	Peptone + lac- tose + jus de tomate	Lactose + Pepto- ne + jus tomate + tween 80	Lactose + pep- tone + jus tomate + tween 80 + sels
tube No	1	2	3	4	5	6	7
PH	4.3	4.3	5.4	4.6	4.2	4.3	4.2
NaOH 1N (ml)	1.5	1.75	2.2	3.1	5.35	4.8	6.08

Tableau 9 Etude nutritionnelle sur différents milieux de culture

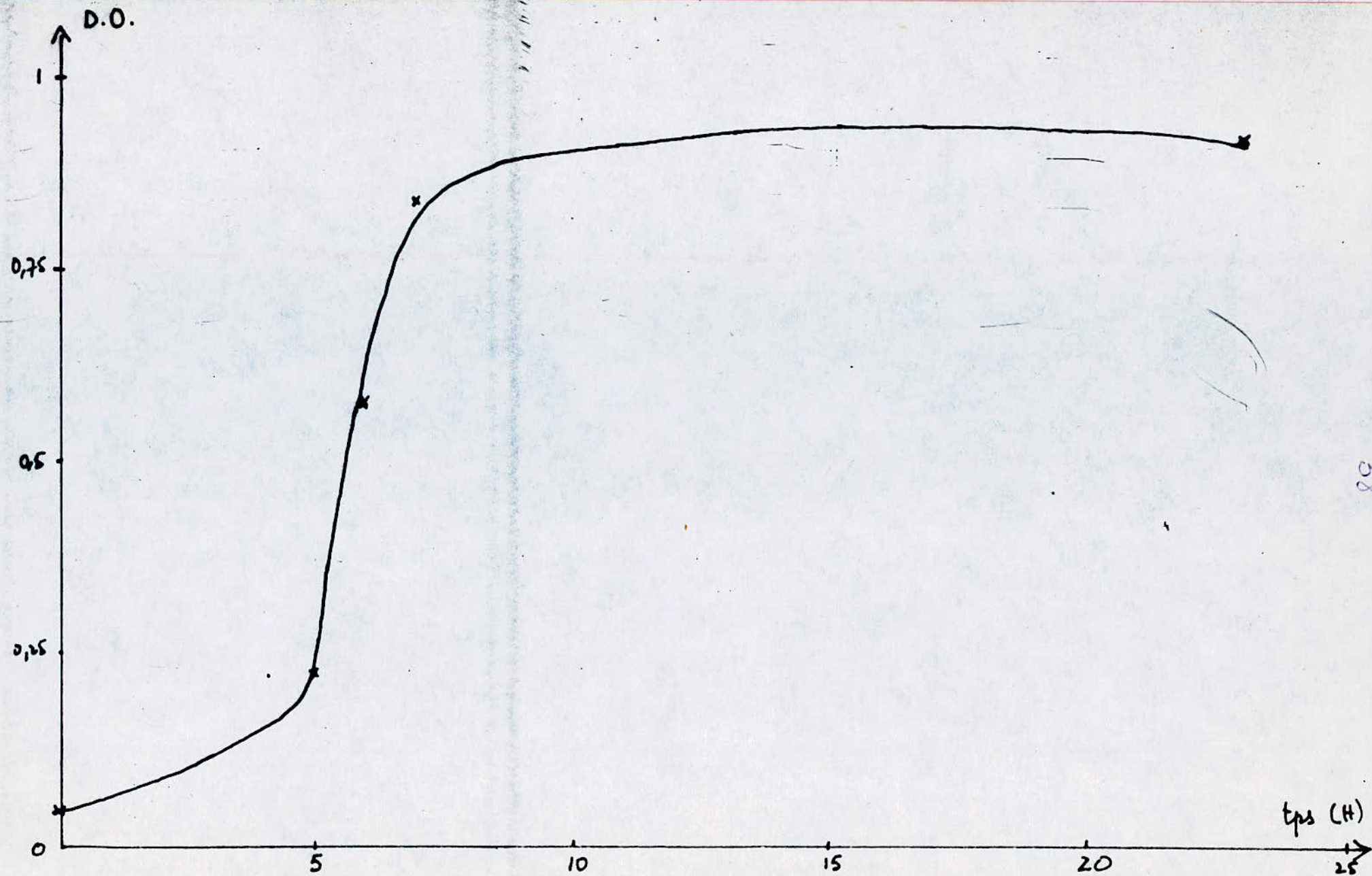


Figure 9 : Croissance de *S. thermophilus* et *L. bulgaricus* sur milieu synthétique non enrichi.

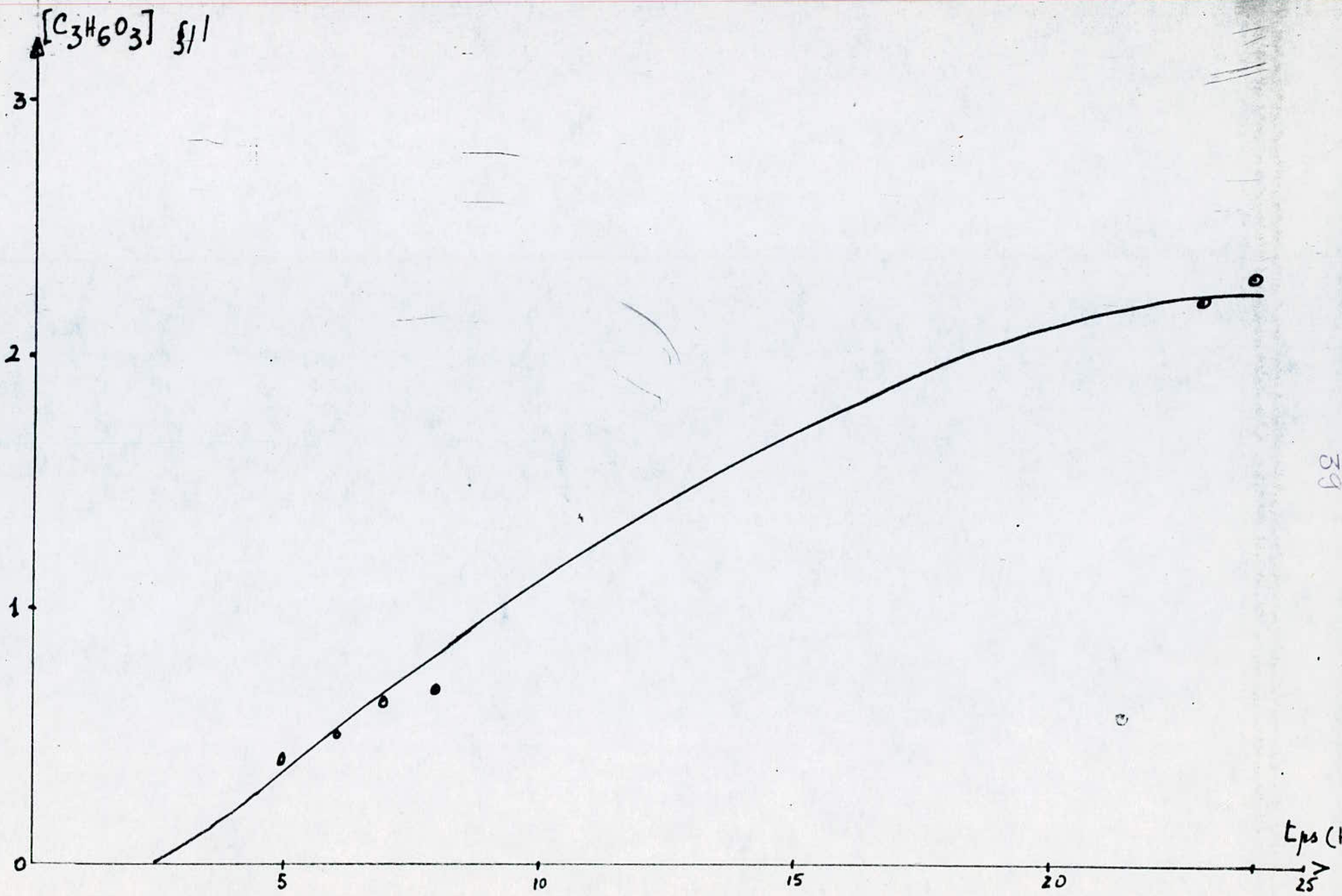


Figure: 10. - Production de l'Acide lactique sur milieu synthétique non enrichi.

39

Cette expérience nous a permis de constater que l'absence ou la quasi-absence des sels minéraux pourrait être une entrave pour la croissance des ferments lactiques et leur production en acide lactique. Le souci de remédier à cette insuffisance du milieu nous a amené à faire une étude nutritionnelle.

ETUDE NUTRITIONNELLE.

1°) Préculture :

Le temps de latence assez long observé nous a obligé à faire une préculture (voir méthodes et matériels) afin de pouvoir obtenir des cellules jeunes et réactivées.

2°) Etude nutritionnelle.

Cette étude a été faite en tubes de 10 ml sur sept milieux de culture différents, l'incubation a été faite à $42^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau 8.

~~3°) Le pH~~

- En comparant les milieux I et II, nous constatons que la quantité d'acide lactique produite dans le tube II est supérieure à celle du tube I. Or le milieu II est composé du milieu I plus le tween 80. Donc, on peut conclure que le tween 80 a un effet stimulant sur la production d'acide chez les bactéries lactiques.

- La comparaison des milieux I et III nous permet d'affirmer que les sels minéraux sont nécessaires pour une bonne production d'acide par les ferments lactiques.

- La présence de tween 80 plus des sels minéraux dans le milieu IV donne les meilleurs résultats que chacun d'eux séparément.

En observant les quantités d'acides produites dans les milieux I et V, nous constatons que l'ajout des jus de tomate filtrés a un effet stimulant sur les bactéries lactiques.

Ce phénomène pourrait être expliqué par la présence dans le jus de tomate de sels minéraux et d'autres éléments qui ont un effet activateur sur la production d'acide chez les ¹Lactobacilles et les Streptocoques.

En observant les résultats obtenus dans le milieu VI, nous constatons qu'il y a une très faible production d'acide; Ceci peut être dû à l'un des éléments suivants :

- une inhibition des bactéries par l'un des suppléments nutritifs.
- un mauvais ensemencement
- Une contamination du milieu par des bactériophages.

- Le milieu VII a donné les meilleures performances lors de cette étude nutritionnelle.

Nous adapterons donc, pour la suite de ce travail, le milieu VII dont la composition est la suivante LACTOSE : 5 %, PEPTONES, TWEEN 80 1%, Jus de tomate, sels minéraux

SELS MINÉRAUX :

Une fois le milieu nutritionnel optimisé, nous passons à l'étude de la fermentation lactique en bioreacteur de 100 ml.

Fermentation sur le milieu de culture synthétique enrichi :

Le milieu 7, nous a permis, de relancer une autre fermentation l'inoculation a été faite à l'aide des cellules jeunes obtenues par réactivation des souches microbiennes les résultats de cette expérience sont, regroupés dans le tableau 10.

Après correction pour dilution, nous obtenons un rendement de 12 %. Si ce rendement est meilleur que celui de la première expérience, il demeure encore faible.

Une analyse attentive du tableau 10 nous permet d'affirmer, que la valeur très basse du pH (3,8) après une durée de 23 h 20 pourrait être fatale à nos micro-organisme et serait probablement la seule cause du faible rendement obtenu.

Cependant les fig 11 et 12 nous permettent de constater qu'il n' y a pas eu de temps de latence et que la fermentation a démarré immédiatement après l'ensemencement. Nous remarquons aussi que la fermentation est interrompue en phase de croissance en poursuivant notre analyse, et en faisant une interprétation de la fig 13 :

En $DO = f(t)$, nous constatons que l'arrêt de la fermentation s'est fait en pleine phase exponentielle : ce qui nous permet d'affirmer qu'une contamination du milieu est très probable où une limitation nutritionnelle en facteurs de croissances. Nous avons constaté une amélioration par rapport à l'expérience précédente mais ce rendement demeure toujours faible ; nous avons alors décidé de faire une nouvelle experimentation sur le milieu

TABLEAU 10: Evolution de la croissance et de la production en acide lactique sur milieu synthétique enrichi

temps (heure)	0	3,95	5,66	7	23,33	27
pH	5,4	5	5,1	5,2	3,8	4,9
DO ($\frac{1}{40}$)	0,002	0,045	0,053	0,058	0,138	0,162
V_{NaOH} (ml)	0	2,85	3,35	5,65	45,6	52,1
$[C_3H_6O_3]$ (g/l)	0	0,2565	0,3015	0,5085	4,1040	4,6830

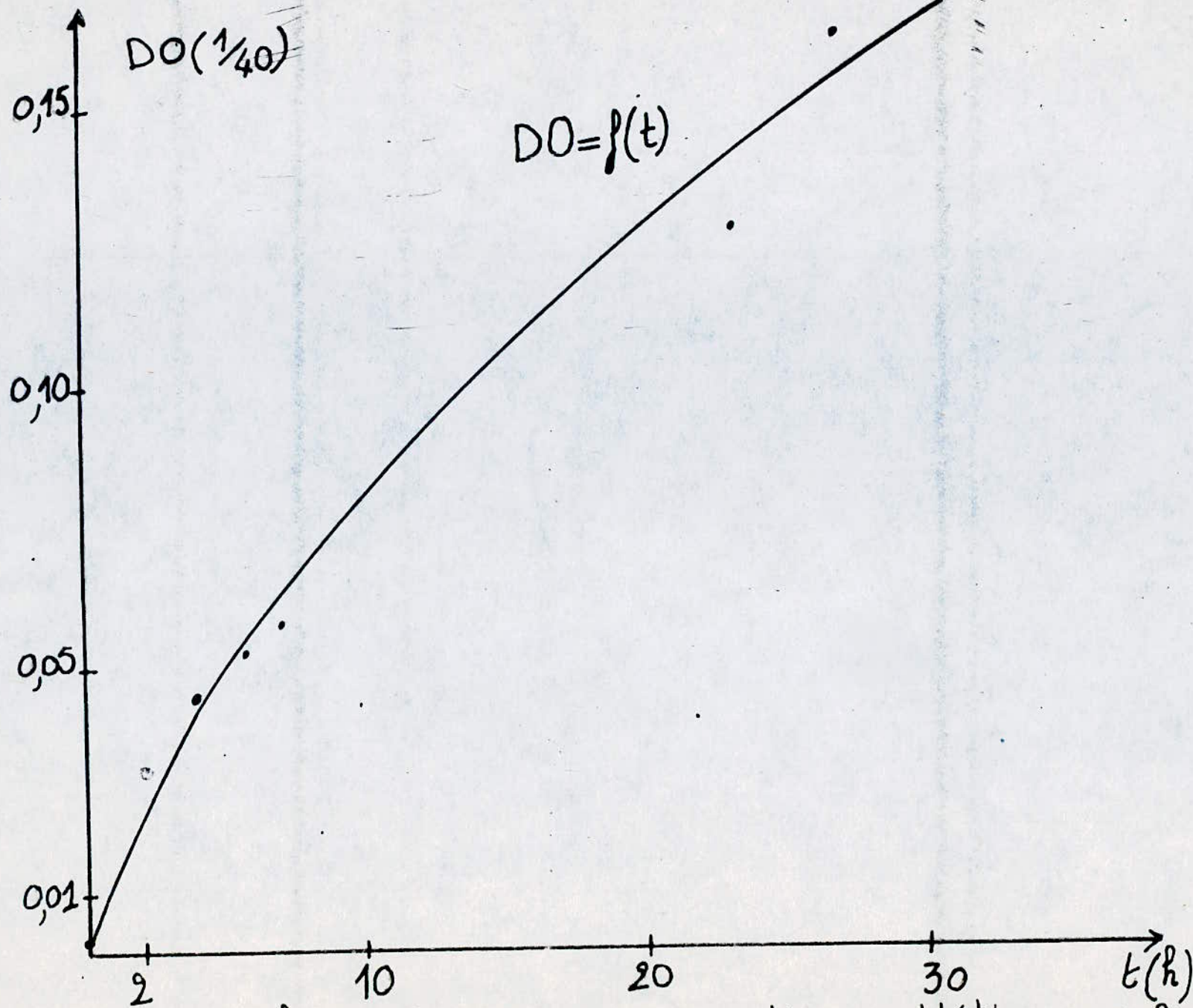


fig 11: Croissance sur milieu synthétique enrichi

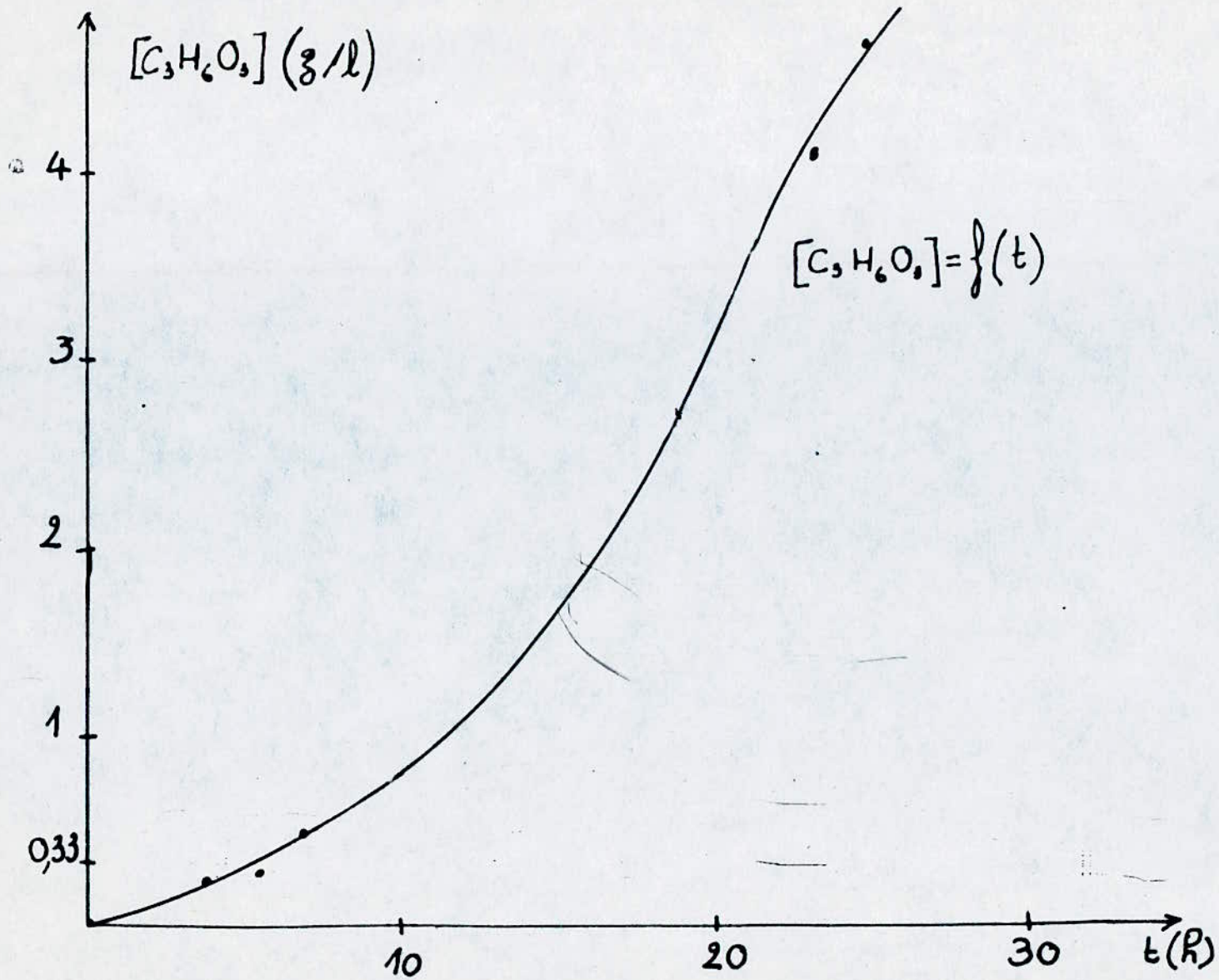
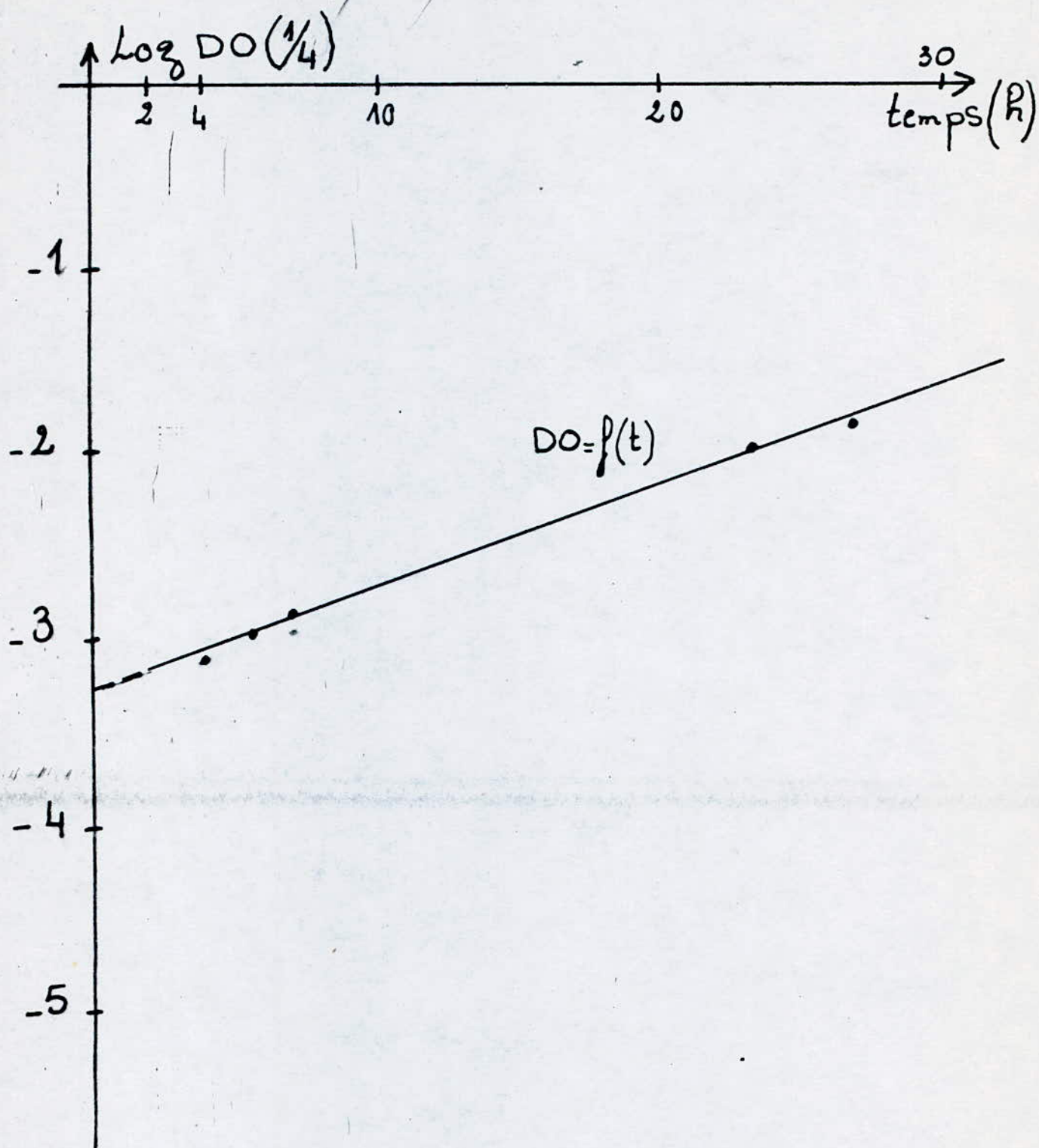


Fig: 12.- Production de l'acide lactique en milieu synthétique enrichi

fig 13: Evolution de la croissance sur milieu synthétique enrichi



VII toute en tenant compte des observations faites sur la baisse du pH et une éventuelle contamination du milieu de culture.

Nouvelle Fermentation sur milieu de culture VII

Il convient de noter que la température de fermentation est égale à $42^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ et que le pH est toujours : $\text{pH} = 5,4 \pm 1$ après 46 h de temps de fermentation, nous obtenons les résultats consignés dans le tableau 11.

La figure 14 nous permet de confirmer que la fermentation a démarré sans temps de latence ; la figure 15 nous montre que la phase expérimentielle a commencée aussitôt après l'ensemencement. Cette courbe nous permet de connaître le taux de croissance $K_{\text{max}} = 0,156 \text{ h}^{-1}$ et le temps de génération $t = 4,49 \text{ h}$.

Nous constatons une nette amélioration dans la production de l'acide lactique par rapport aux résultats précédents (fig 17). La figure 18 nous permet d'affirmer que la vitesse maximale d'acidification $V_{\text{max}} = 1,53 \text{ g l}^{-1} \text{ h}^{-1}$ est atteinte au bout de deux heures.

Il faudrait noter que cette vitesse demeure encore faible en la comparant à plusieurs études qui ont été faites. Ce qui pourrait être dû au manque de vitamine B qui est un stimulant pour les ferments lactiques dans le milieu de culture.

Il convient de noter qu'après une fermentations qui a duré 46 heures, nous avons obtenu, un rendement de 75 %.

Une comparaison des résultats obtenus avec ceux du travail de R.J.S WABY, M.Agr. SC.B.SC 27 nous permet de constater que les temps de fermentation sont pratiquement les mêmes.

En ce qui concerne les rendement, nous avons trouvé un rendement (75 %) légèrement inférieur à leur rendement (83 %) cette différence observée pourrait être dû au manque de vitamine B. et d'extrait de levure dans notre milieu de culture.

Si les résultats obtenus semblent être acceptables, à savoir une vitesse de production de l'acide lactique $V_{\text{max}} = 1,53 \text{ g l}^{-1} \text{ h}^{-1}$, quantité d'acide produite après 46 h de fermentation 32,8 g / l soit un rendement de 75% nous noterons que le temps de fermentation est encore trop long ; cette lenteur dans le métabolisme du lactose pourrait être due à l'absence de vitamine B, et d'extrait de levure dont le rôle ^{est} de stimuler les ferments lactiques dans le milieu.

TABLEAU 11 : Evolution de La croissance et de la production en acide lactique sur milieu synthétique enrichi

Temps (Heure)	DO ($\frac{1}{40}$)	Vsoudé (ml)	V _T (ml) cellule	Prélevement (ml)	Vrestant (ml)	Quantité de lactose (g)	Quantité de lactose Prélevé (g)	Quantité de HL en (S/P)	pH
0	0,004		100	2	98	4,90	0,100		5,4
1,50	0,057		100	4,8	95,2	4,73	0,272		5,2
2	0,061	0,21	100,21	5,8	94,41	4,68	0,32	0,400	5,1
3,58	0,071	0,71	100,71	7,8	92,90	4,58	0,42	1,366	4,8
4,28	0,084	0,84	100,84	10,8	89,20	4,43	0,58	1,695	5,1
5,58	0,112	1,15	101,15	13,8	87,35	4,28	0,72	2,370	4,9
6,83	0,124	1,42	101,42	16,8	84,62	4,13	0,87	3,021	5,0
9,50	0,142	3,22	103,22	17,8	85,42	4,02	0,98	6,785	4,9
13,25	0,155	5,17	105,17	20	85,17	3,91	1,09	10,926	4,5
24,66	0,206	10,34	110,37	23,1	87,27	3,84	1,16	21,327	4,6
24,66	0,206	10,34	110,37	23,1	87,27	3,84	1,16	21,327	4,6
30,33	0,223	13,74	113,75	24,8	88,94	3,80	1,20	27,808	5,1
33,83	0,223	14,47	114,47	26,8	87,67	3,71	1,29	30,181	5,2
46	0,242	16,20	116,20	28	88,20	3,70	1,30	32,796	4,9

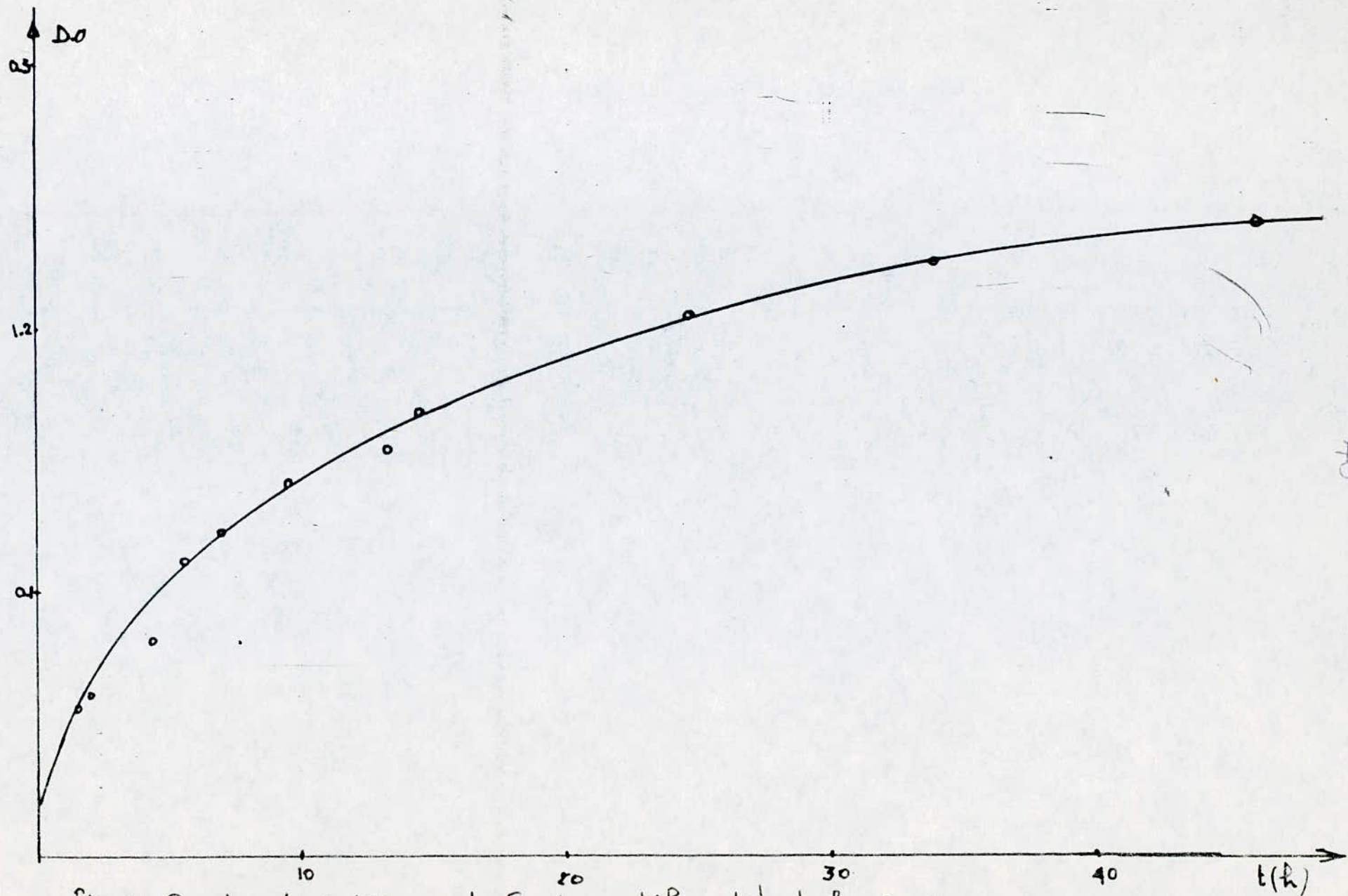


Fig: 14.- Courba de croissanca da *S. thermophilus* at *L. bulgaricus* sur milieu synthetique

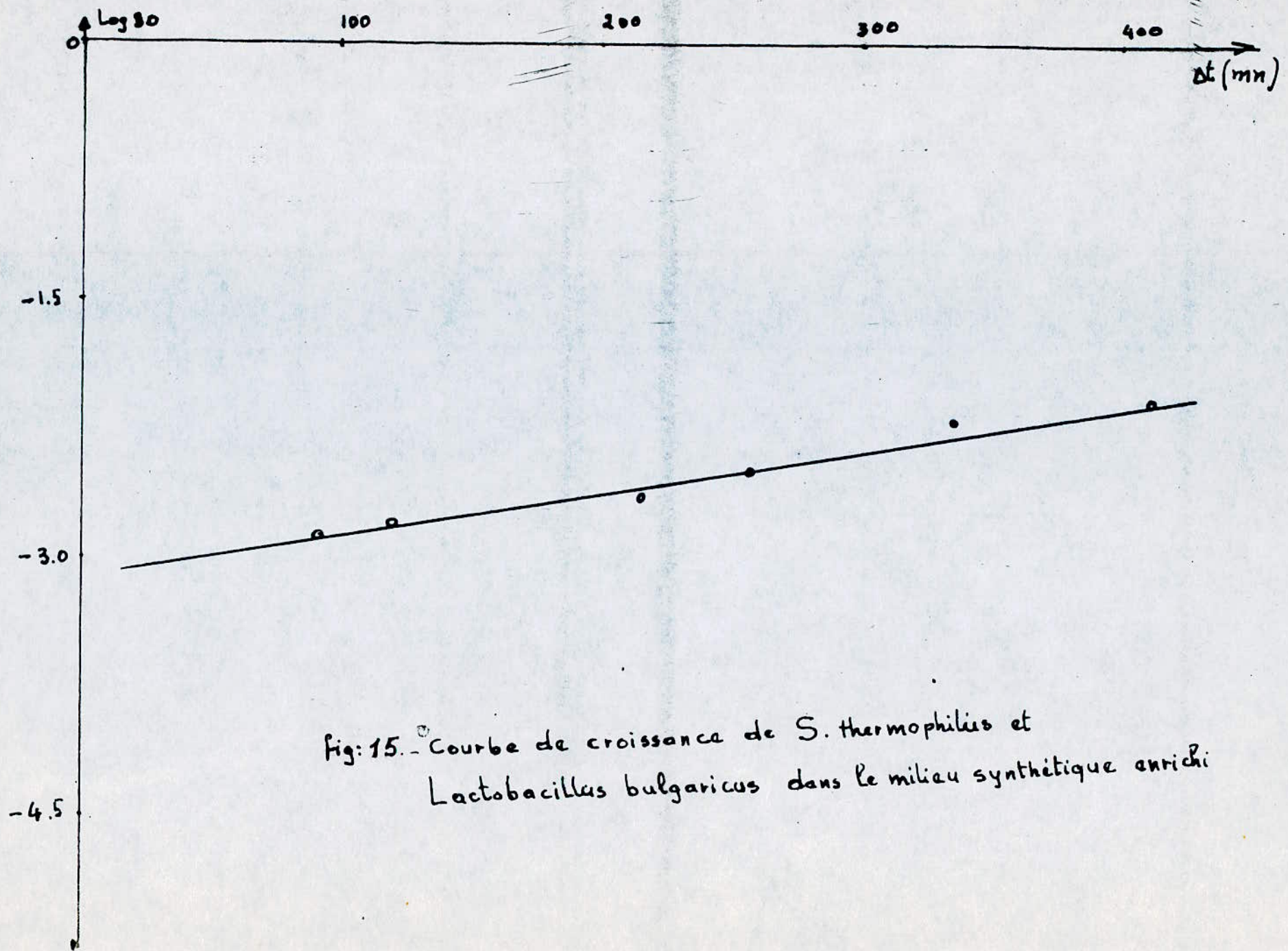


Fig: 15. - Courbe de croissance de *S. thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* dans le milieu synthétique enrichi

50

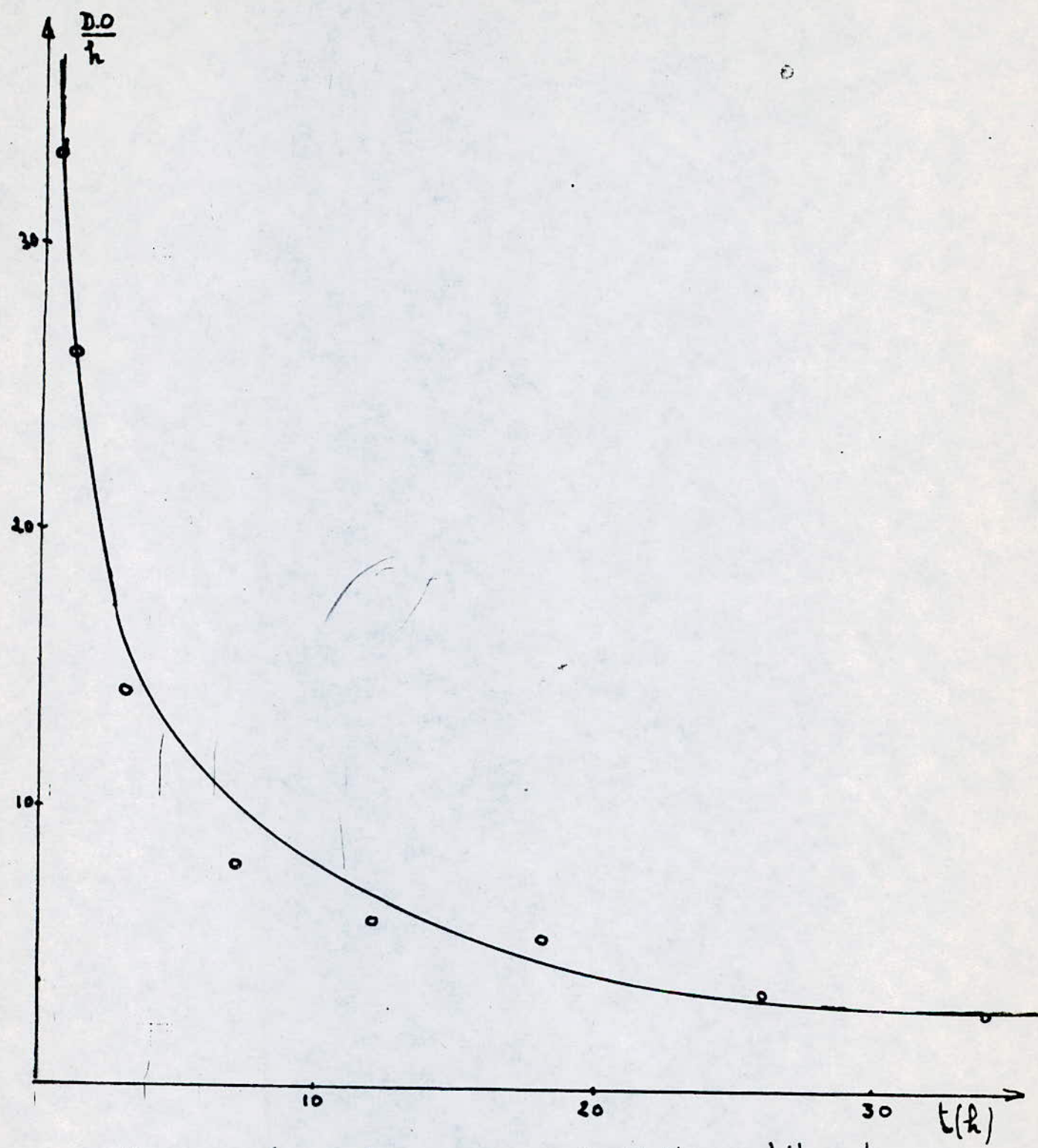


fig:16.- Vitesse de croissance de *S. thermophilus* et *L. bulgaricus* sur milieu synthétique enrichi

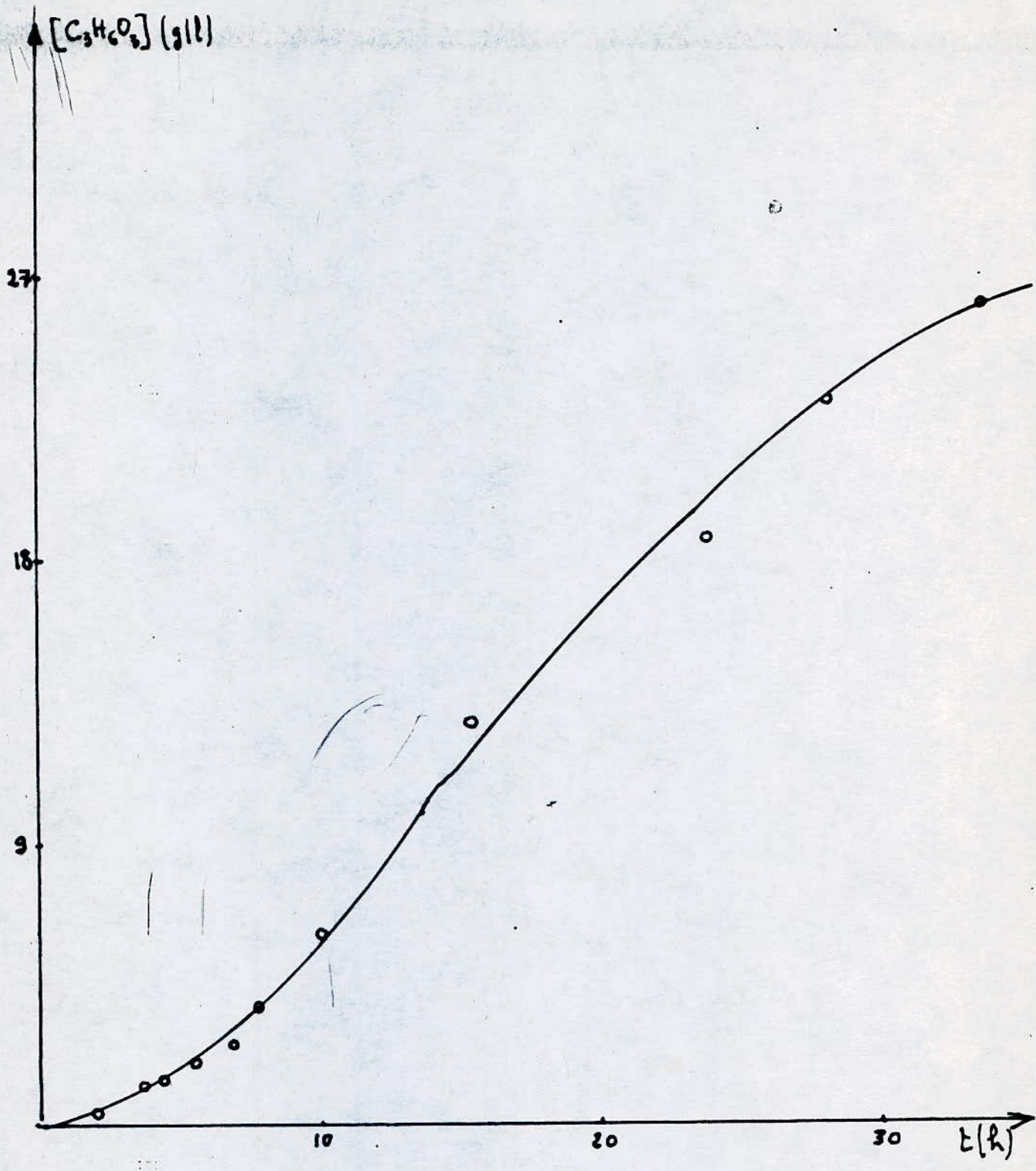


Fig: 15- Production de l'acide lactique en milieu synthétique enrichi

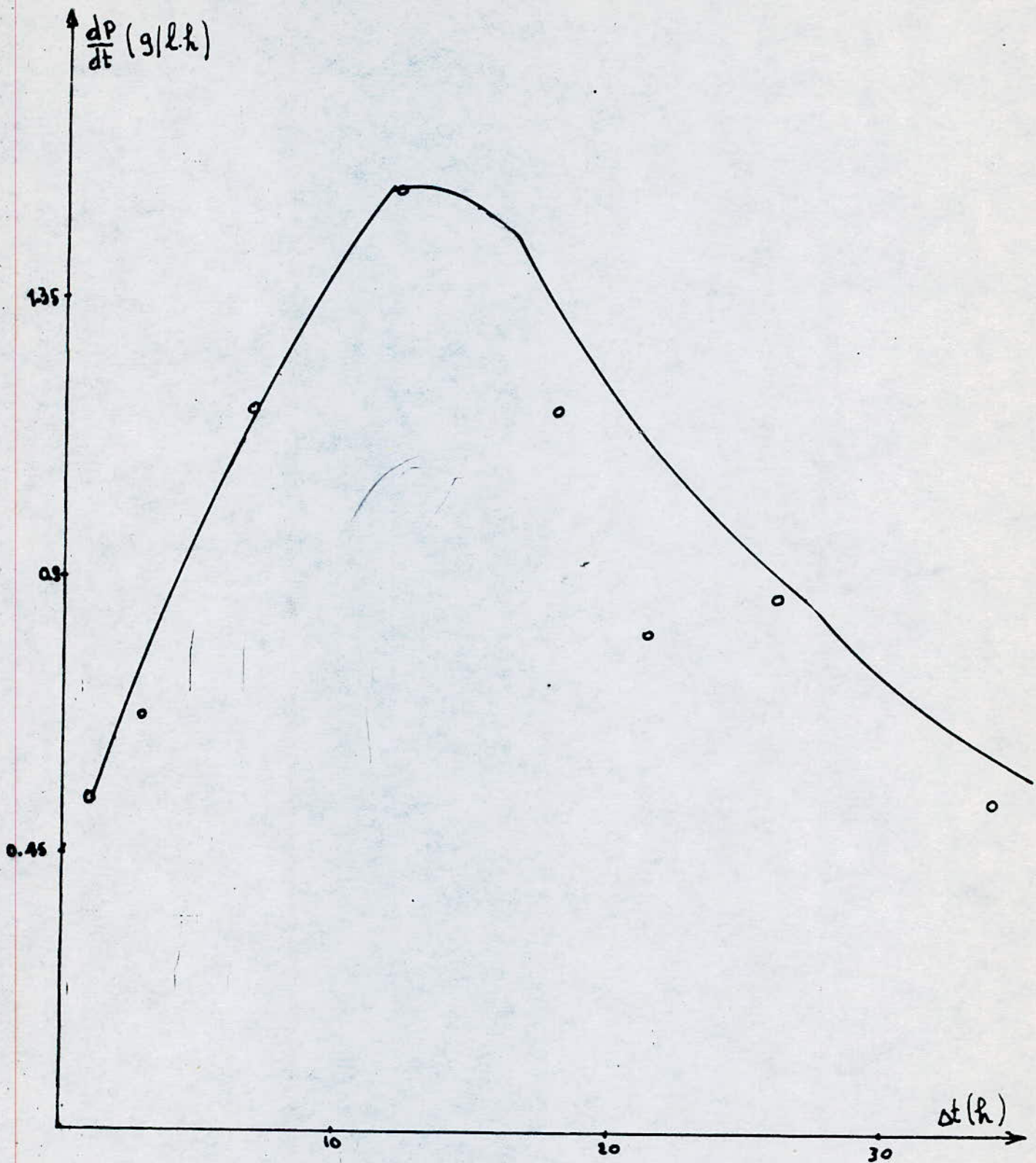


Fig: 18. - Vitesse de production de l'acide Lactique sur milieu synthétique enrichi

FERMENTATION
SUR LACTOSERUM

FERMENTATION SUR LACTOSERUM ENRICHI

* Lactoserum non déprotéiné

- Le milieu de culture est composé de 20 ml de jus de tomate filtré, 80 ml de lactoserum, 1 g de peptone, 0,2 ml de C et 0,02 ml de D.

Nous avons remarqué au cours de cette expérience que la cinétique de la fermentation s'est déroulée sur un intervalle de temps de 15 heures.

Les résultats du tableau XII nous permettent de remarquer que nous avons une amélioration nette^{de} tous les paramètres entrant dans cette fermentation.

En effet nous remarquons que le taux de croissance K max devient assez grand ($K \text{ max} = 0,69 \text{ h}^{-1}$) ; ce qui nous donne un temps de génération 1 heure. Soit un temps de génération 4,5 fois inférieur à celui de l'expérimentation précédente fig 19.

Nous pouvons aussi confirmer ces résultats par le fait que la production de l'acide a été plus rapide et plus importante (fig 20,21) Nous atteignons une vitesse maximale V max de production de $4,72 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ en 8 h 48 mn ; soit une vitesse 3,08 fois supérieure à celle de l'expérimentation précédente en une durée qui est 1,25 fois inférieure à la précédente. Nous obtenons après 15 heures de fermentation, une production en acide lactique de 35 g/l, soit après une correction pour dilution, un rendement de transformation en acide lactique de 92%. Cette amélioration sensible des résultats par rapport à notre milieu synthétique serait due à la présence des vitamines B dans le lactoserum.

Etant donné que la vitamine B, d'après plusieurs études est un stimulant pour les bactéries lactiques en particulier pour les Lactobacilles. Une comparaison de ces résultats aux travaux.

de R. J.BS WABY, M, Agr. Sc.B.Sc, (XXVII)

nous permet d'affirmer que nous avons obtenu des résultats satisfaisant du point de vue durée de travail et du point de vue rendement.

temps (h)	1	2	4	5,5	6,5	8,33	13	15	10
$\frac{dN}{dt} \left(\frac{DO}{h}\right)$		$23 \cdot 10^{-3}$	$15,1 \cdot 10^{-3}$	$11 \cdot 10^{-3}$	$9,3 \cdot 10^{-3}$	$6,8 \cdot 10^{-3}$	$2,4 \cdot 10^{-3}$	$2,5 \cdot 10^{-3}$	$4,7 \cdot 10^{-3}$
$\frac{dP}{dt} (g \cdot l^{-1} \cdot h^{-1})$	0,28	0,72	1,44	2,592	3,6	4,68	1,59	0,80	

Tableau 14 : vitesse de croissance et vitesse de production de *S. thermophilus* et *L. bulgaricus* sur lactosérum non déprotéiné.

temps (h)	0	1	2	3	4,83	6	6,33	6,44	7,2	12,35	15
pH			5,0	5,1	4,5	5	4,8	5,1	5,0	4,4	5,2
DO	0,092	0,129	0,177	0,152	0,189	0,210	0,227	0,243		0,265	0,288
NaOH 2N (ml)			0,65	1,05	2,80	4,05	5,13	5,95	7,15	15,9	19,42
$[C_3H_6O_3]$ g/l			1,170	1,890	5,040	7,290	9,234	10,710	12,870	28,620	34,956

Tableau 13: Cinétique de croissance et de production sur lactosérum non déprotéiné.

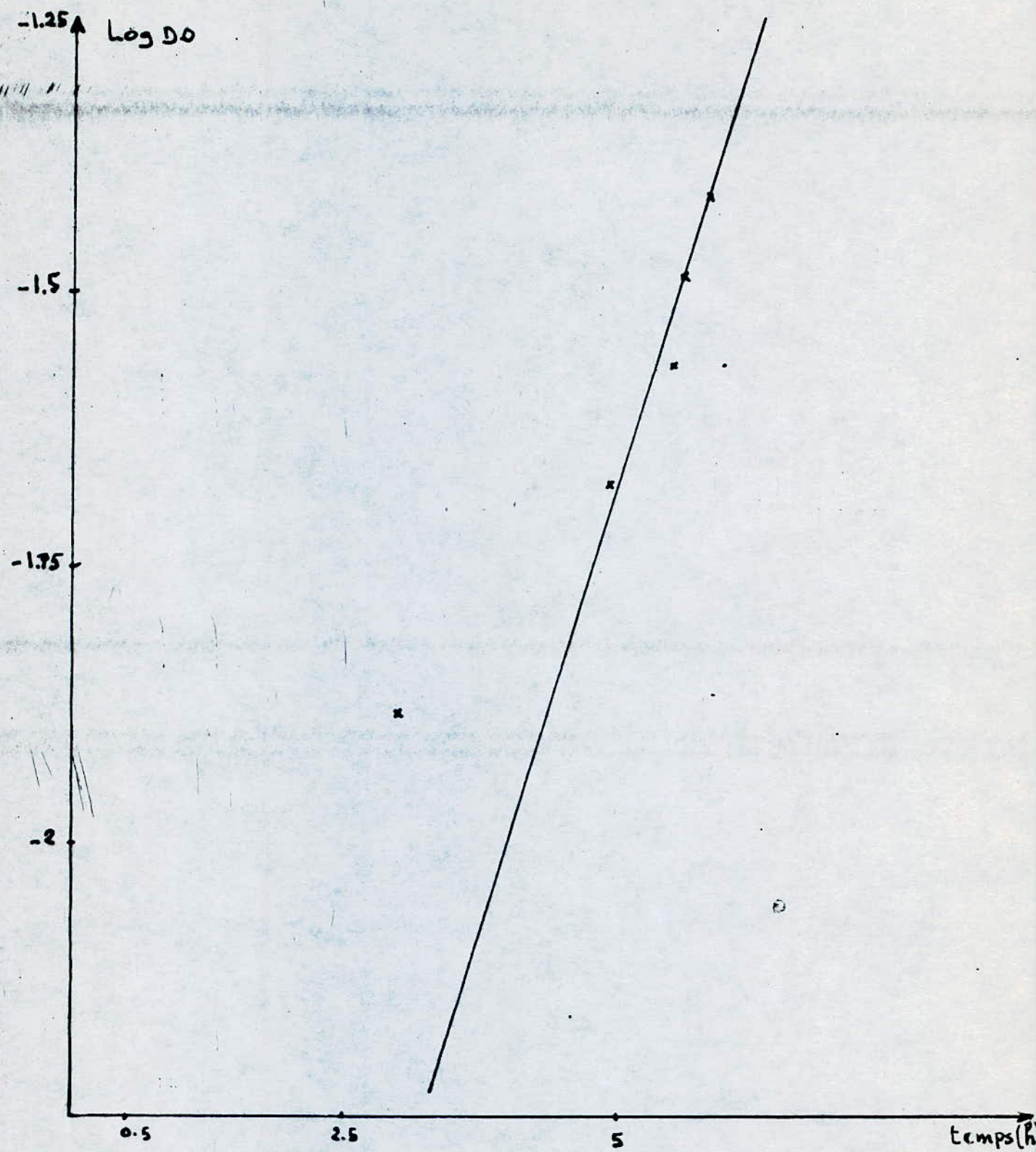


fig:19 Courbe de croissance de *S. thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* dans le lactoserum non déprotéiné

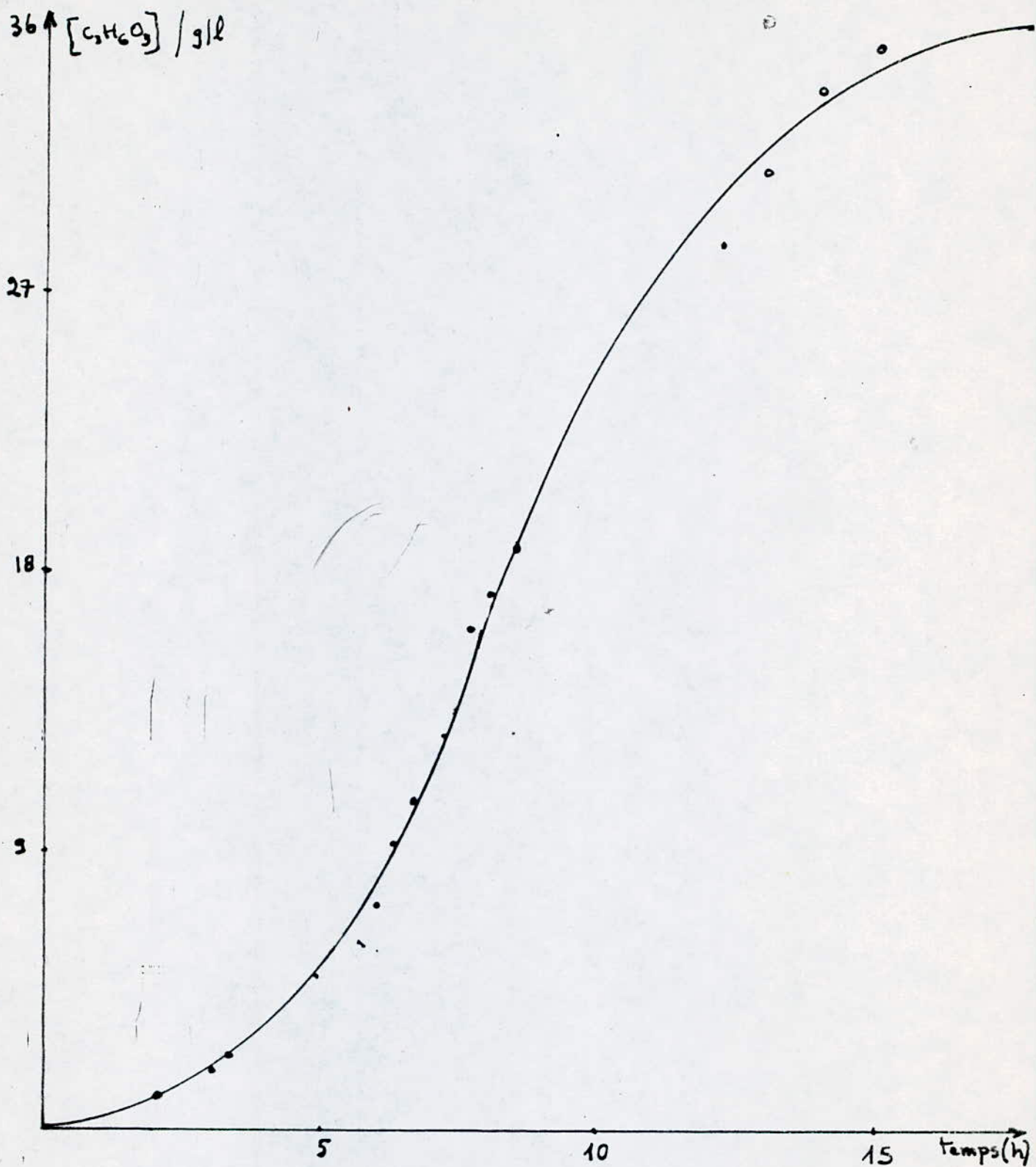


Fig: 20 Production de l'acide lactique dans le lactoserum non déprotéiné

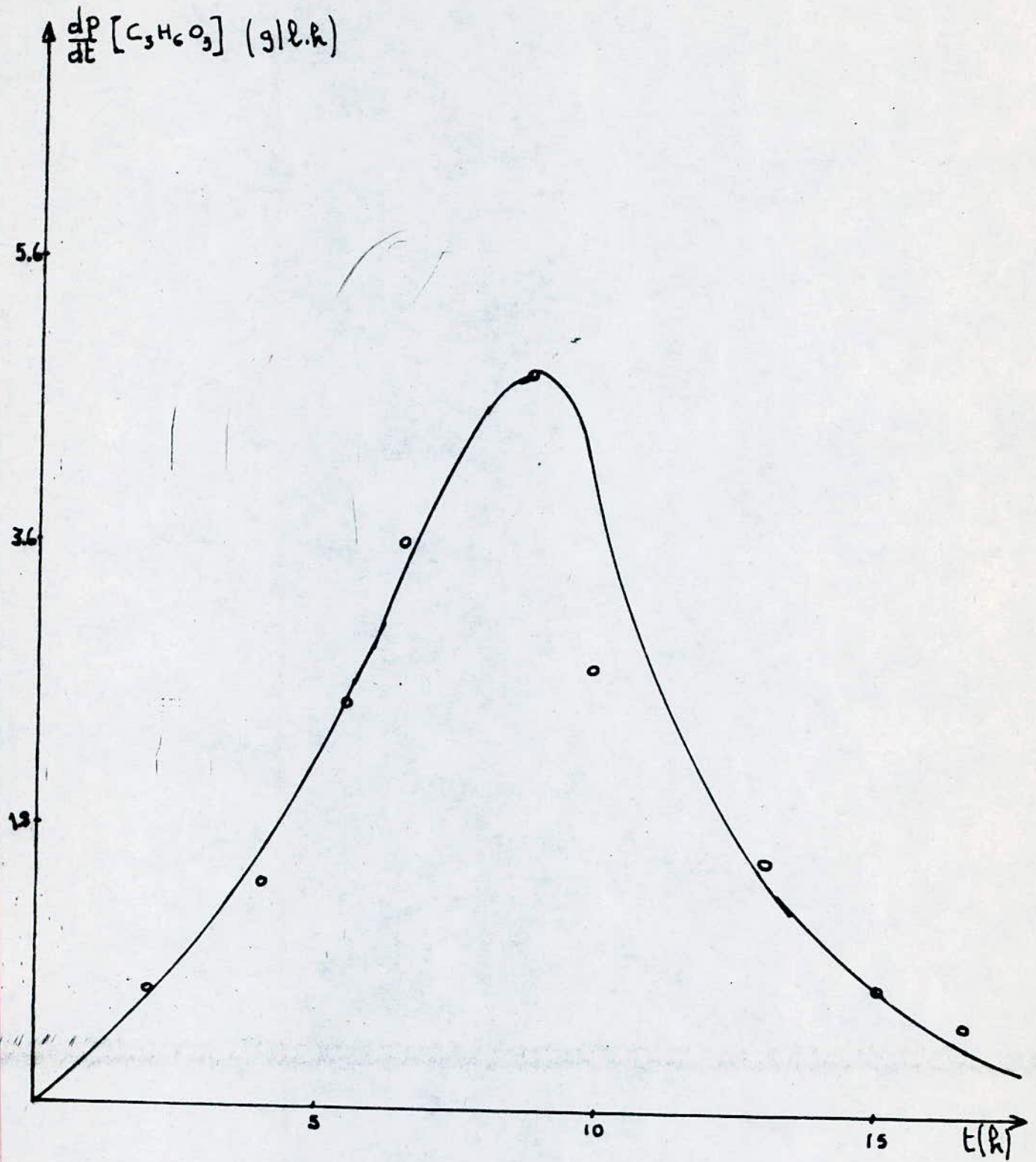


Fig: 21 Vitesse de productivité de l'acide lactique dans Lactoserum non déprotéiné

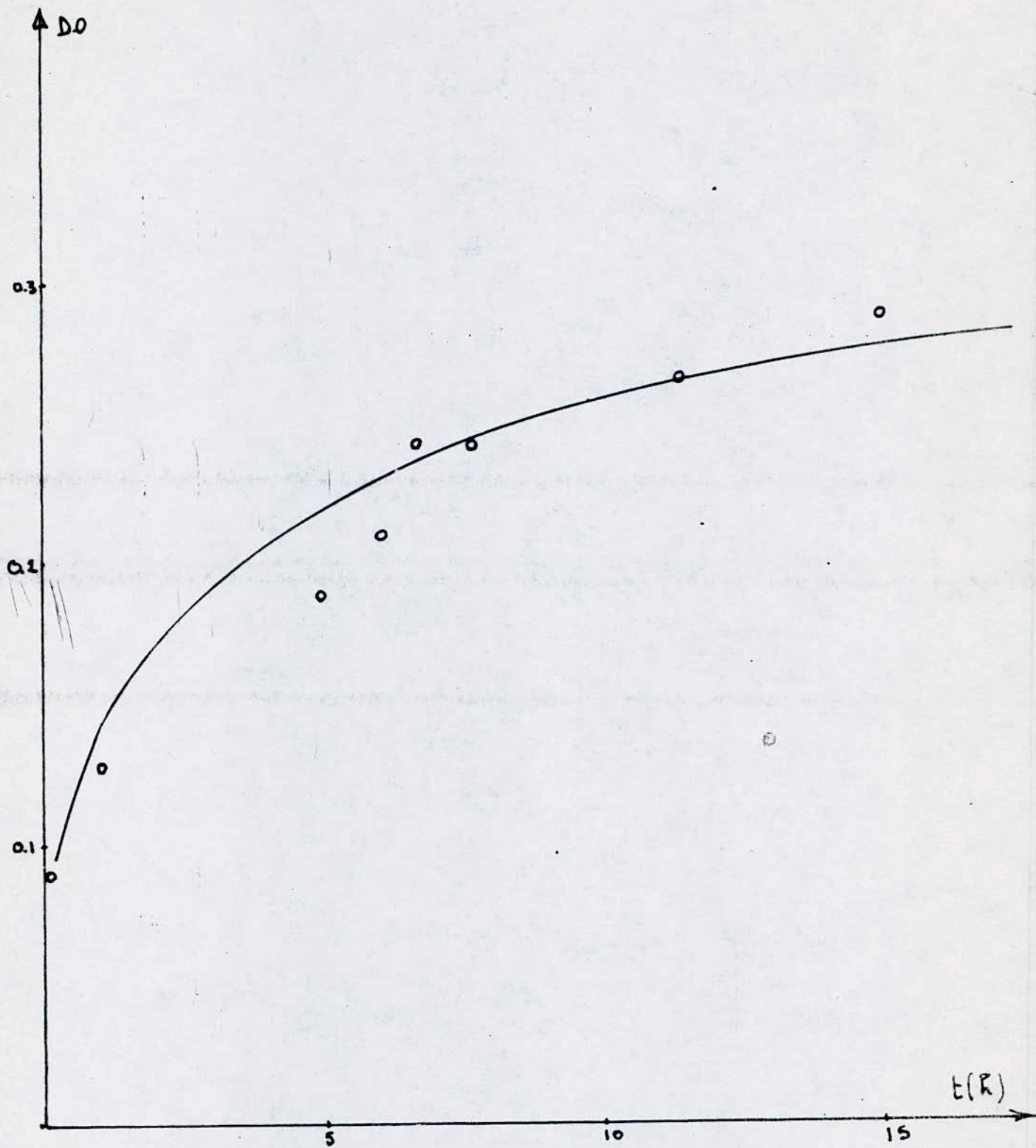


Fig: 22 Croissance de *L. bulgaricus* et *S. thermophilus*
dans Lactoserum non déprotéiné

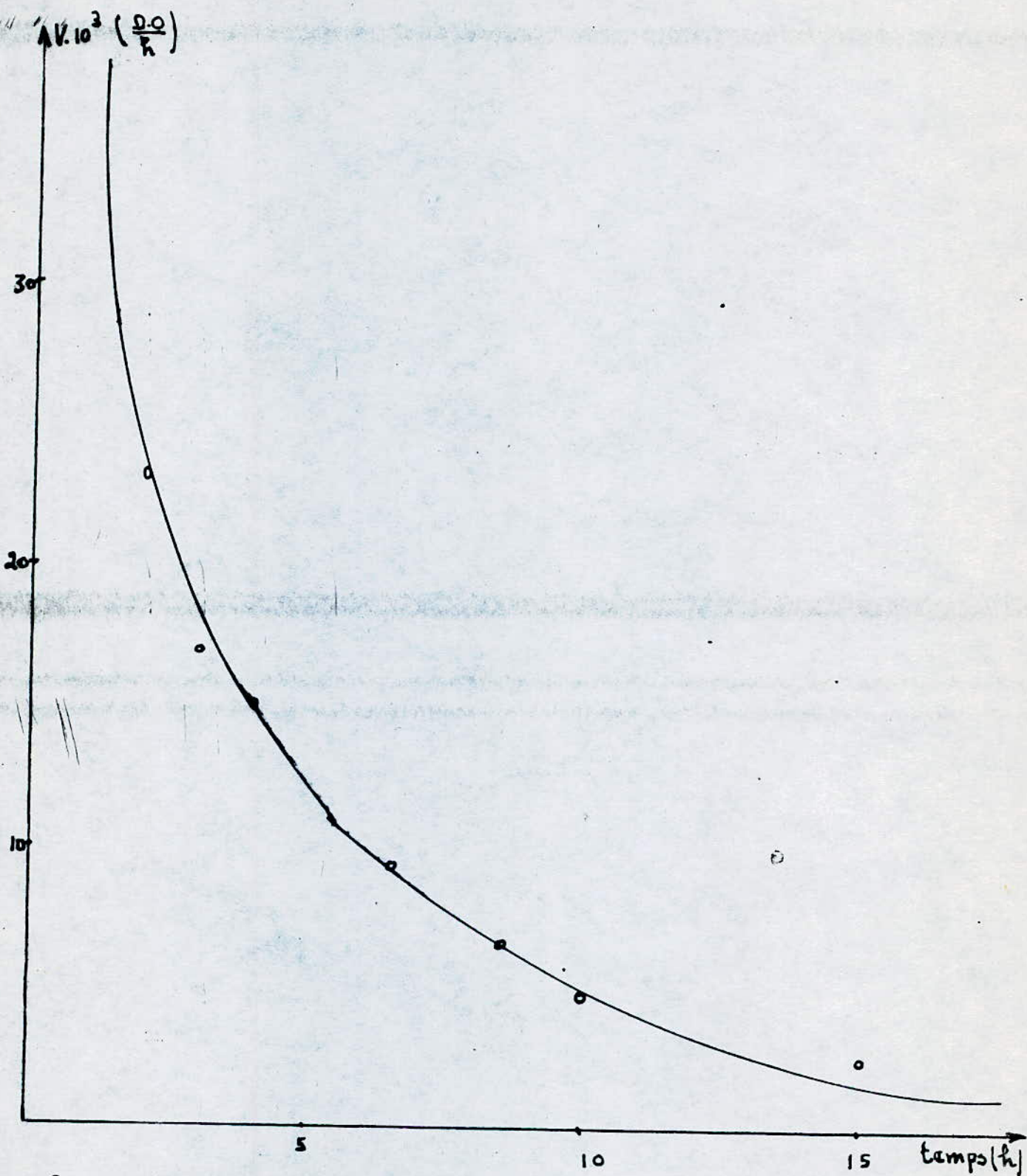


Fig: 23 vitesse de croissance de *S. thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* dans lactoserum non déprotéiné

Cependant en comparant nos résultats a ceux de C.A

C.A. REDOY. H.E/ HENDERSON. ET M.D.ERDMAN

(4, 1976) Nous remarquons que leur durée de fermentation est comprise entre 13 h et 16 h alors que cette durée est de 15 h pour nous, ce qui peut être satisfaisant.

En ce qui concerne le rendement, ils ont obtenu un rendement compris entre 95 et 98 % tandis que nous avons obtenu un rendement de 92 %. Cette difference pourrait être due au manque d'extrait de levure dans notre milieu de culture. Les résultats obtenus s'ils ne sont pas meilleurs demeurent satisfaisant a savoir : une vitesse de production maximale $v_{max} = 4,71 \text{gl}^{-1} \text{h}^{-1}$ une production en acide lactique de 35 g/l, un rendement de 92 % et un temps de fermentation de 15 heures.

MODELISATION

52

MODELISATION DE LA FERMENTATION DISCONTINUE

Dans ce chapitre, nous avons pour but de vérifier, si nos résultats expérimentaux vérifient le modèle préconisé par LUEDEKING et PIRET Pour les bactéries lactiques :

$$\frac{dp}{dt} = \alpha \frac{dn}{dt} + B N \quad (1)$$

où :

P = Concentration d'acide lactique (g/l)

N = Concentration en biomasse (g/l)

t = temps (h)

α et B = paramètres constants ne dépendants que du pH et de la température

Or on sait que :

$$\frac{dn}{dt} = K N$$

de (1) et (2) nous déduisons que :

$$\frac{dp}{N dt} = \alpha K + B \quad (3)$$

Cette equation montre que la productivité spécifique $\frac{dp}{N dt}$ est une fonction lineaire du taux de croissance K.

α représente la pente de la droite tandis que B est l'ordonnée à l'origine.

Nous avons donc commencé par représenter $K = \frac{dn}{dt}$ en fonction du temps fig 24.

Nous avons ensuite représenté $\frac{dp}{N dt}$ en fonction de K (fig 25).

Cette courbe, loin de nous donner une droite, est une courbe décroissant exponentiellement .

Ce dés accord avec la théorie pourrait être dû a 2 raisons.

- le fait que nous n'avons pas pu voir de points au début de notre fermentation, cette loi étant généralement vérifiée dans un intervalle de temps de 1 à 5 H.

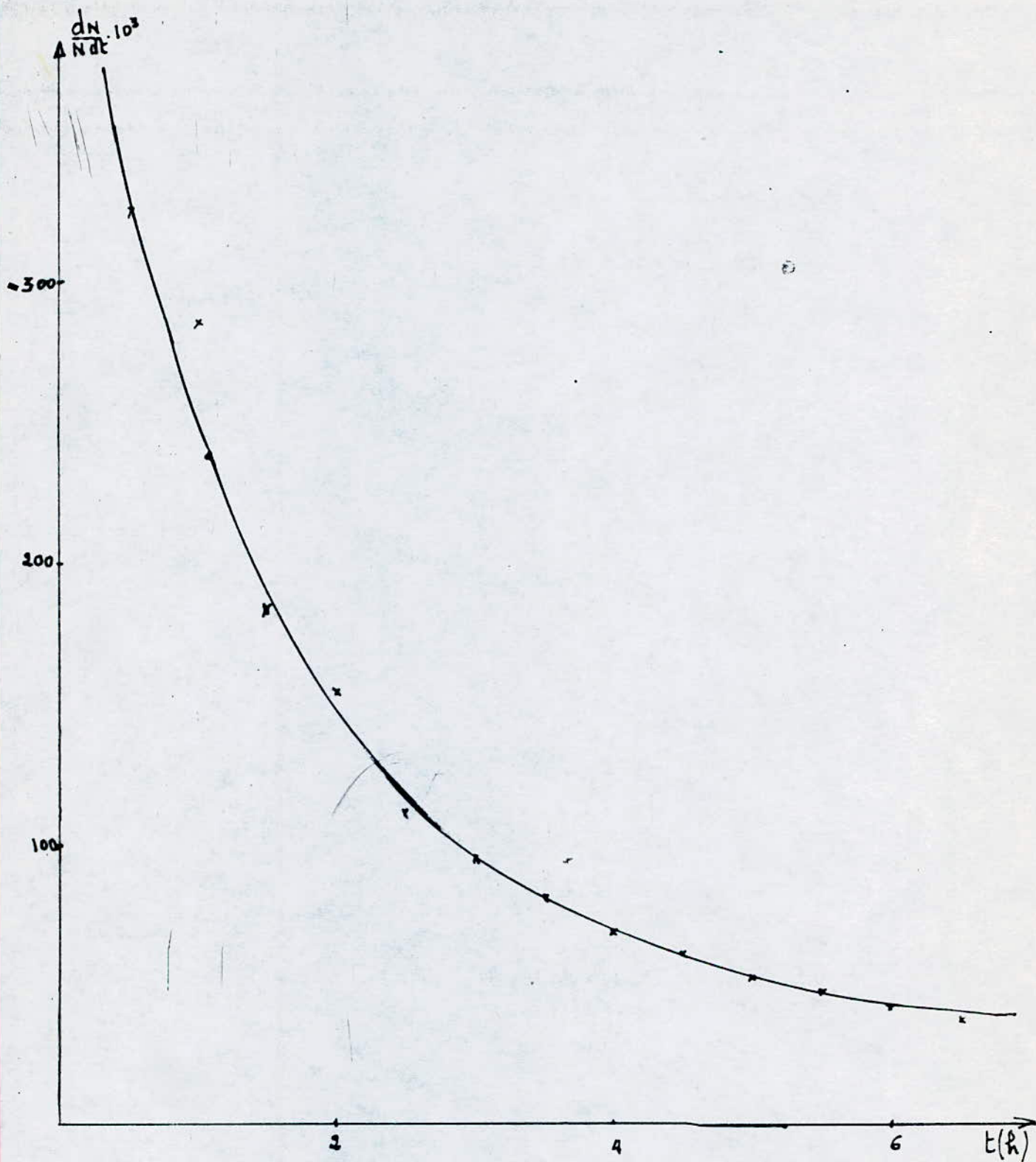


Fig: 24.- taux de croissance en fonction du temps dans le Lactosérum non déprotéiné

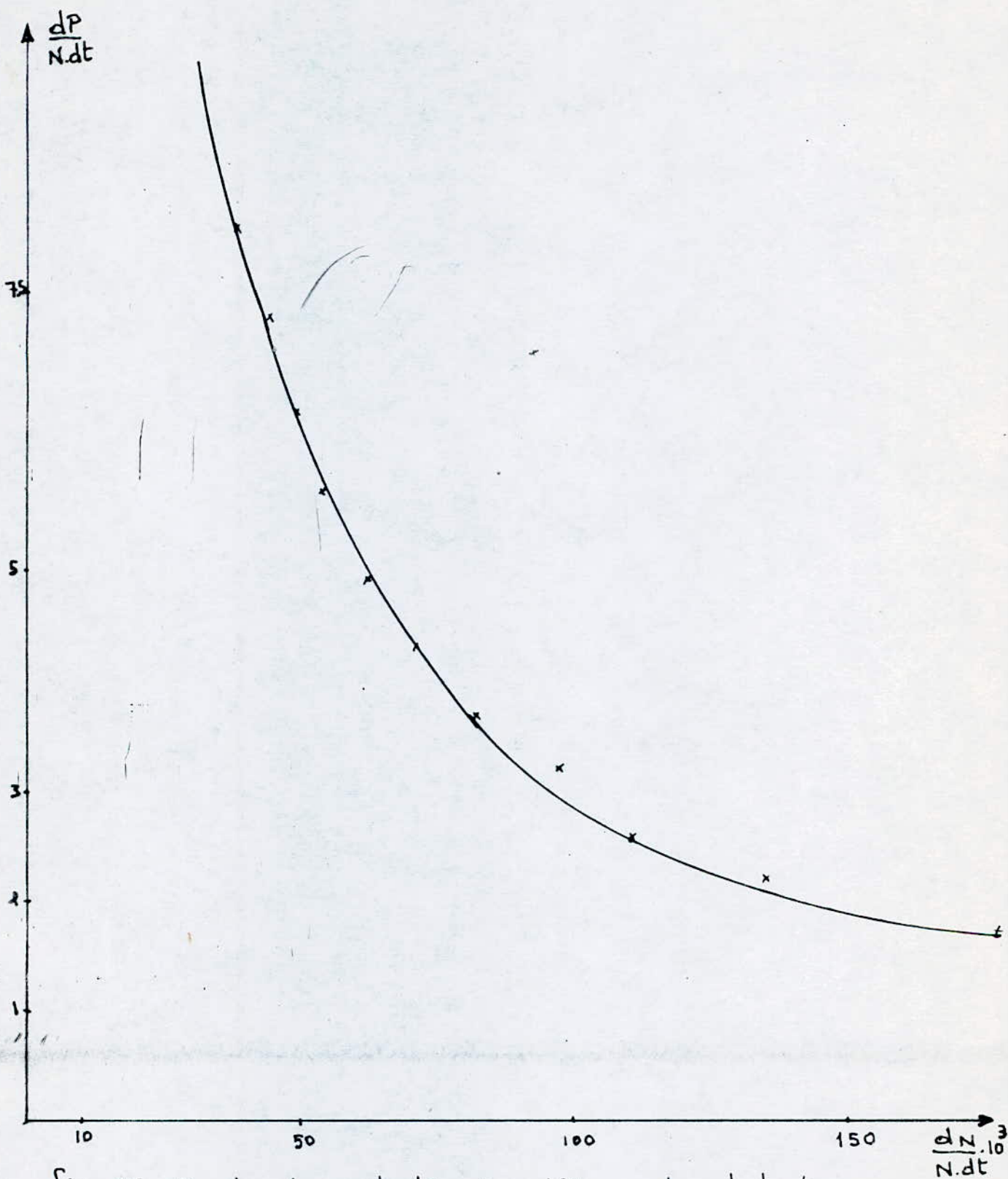


Fig: 25.- Courbe de production spécifique dans le lactoserum non déprotéiné

2) Une autre raison pourrait être due au fait que nous avons travaillé sur une culture mixte.

En effet plusieurs auteurs ayant travaillé sur le modèle de LUE DERKING et Paret n'ont traité que du cas des cultures pures.

RECOMMANDATIONS
ET CONCLUSIONS

RECOMMANDATIONS

Nous avons constaté au cours de ce travail que les cellules bactériennes de l'ORLAC offrent de faibles possibilités de manipulation dans elles sont particulièrement inaptées pour les recherches. Cette constatation nous a amené à proposer pour les années à venir un travail de recherches sur les ferments lactique locaux, certes, un travail de longue haleine mais présentant des interets immenses dont les plus immédiats sont la production de ferments lactiques locaux et l'amélioration des qualités de fromage.

- Nous avons remarqué qu'une acidification trop poussée peut provoquer un ralentissement ou un arrêt de la croissance des cellules. Pour pallier à ce genre de problèmes, nous estimons qu'il serait mieux de réajuster le pH dès que sa valeur atteint : pH = 5

- Il convient de noter aussi que ; la stérilisation du milieu est un paramètre très important très . en effet une stérilisation mal faite ou trop poussée peut avoir un effet néfaste sur les résultats de la fermentation.

- Nous avons aussi remarqué qu'un long séjour des microorganisme dans le congélateur pour conservation leur faisait perdre leur caractère de production d'acide lactique .

Conclusion générale

L'interet de plus en plus grand présenté par la fermentation lactique aussi bien dans le domaine strictement laitier que dans le secteur alimentaire au sens large, suffit amplement à Justifier notre travail.

Pour pouvoir mener à bien une étude lactique, nous avons d'abord fait une étude nutritionnelle afin de rechercher le milieu, le mieux adapté à ce genre de culture.

- Nous avons alors fait de fermentation sur milieu synthétique simulant un lactoserum déproteiné enrichi en éléments nutritifs.

- Une fermentation sur lactoserum non déproteiné.

- Nous avons montré qu'il est possible de réaliser par fermentation, la transformation de lactose en acide lactique avec une vitesse d'acidification assez bonne et un bon rendement.

Et ceci nous a été possible grâce aux éléments suivants.

- L'utilisation d'un mélange de Streptococcus thermophilus et de Lactobacillus bulgaricus à temperature de $42 \pm 0,5 \text{ } ^\circ\text{C}$ et un pH de $5,4 \pm 0,1$

- L'utilisation d'un mélange judicieux de sources d'azotes et de facteurs de croissance.

- La protection du milieu contre les contamination bacteriophagiques.

Ce travail montre bien que le temps n'est plus où l'on considerait le lactoserum comme sous-produit^{et} qu'une technologie de transformation peut^{l'}amener à l'etat de produits presentant un grand interet sur le plan nutritionnel, sur le plan des propriétés fonctionnelles et sur celui de la valeur économique.

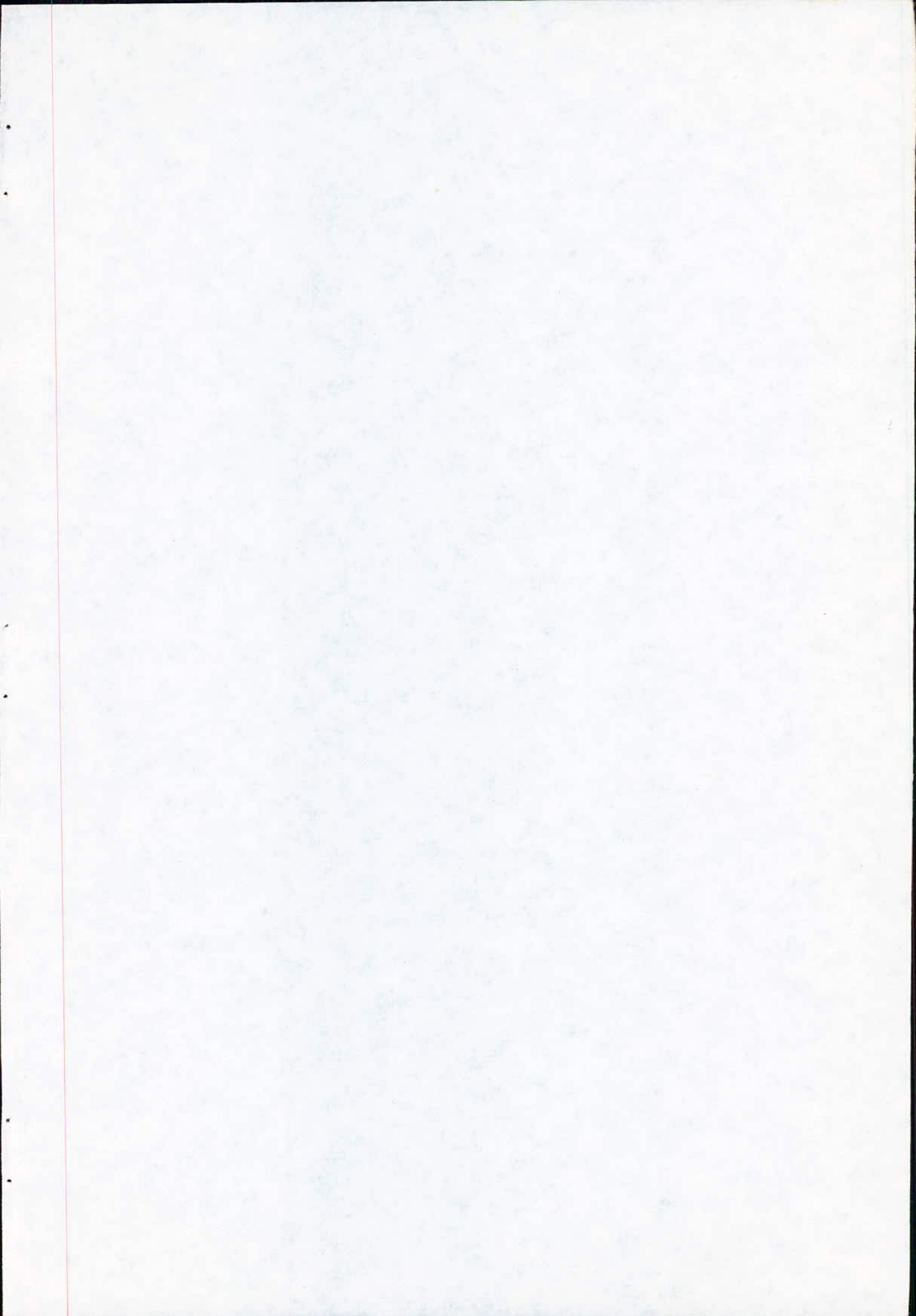
En effet, nous avons un procédé simple et économique. Et nous permet de résoudre le problème criant de la pollution provoquée par le lactoserum. Le lactoserum est transformé d'une part en bacteries lactiques qui sont utilisés en masse par les industries laitières ou bien en tant que source de proteines pour l'alimentation humaine et animale et d'autre part en acide lactique qui a un grand nombre d'utilisation

- La valorisation du lactoserum par la production d'acide lactique permettrait une intergration de l'industrie laitiere à d'autres industries pharmaceutiques et chimiques en constituant un ensemble coherent permettant de réduire la dépendance économique de l'Algerie.

- Compte tenu de toutes ses considerations, nous n'aimerons pas que ce travail soit considéré comme terminé.

En effet il serait bon de mener aussi des expériences sur lactoserum *ultra* filtré et de faire une comparaison des résultats.

- Nous espérons aussi que cette étude sera poursuivie en vue de la confirmation ou d'une amélioration des résultats obtenus et surtout de l'opportunité économique de l'opération.



- I 1 JACQUES ARRIGNON (1979)
AMENAGEMENT ECOLOGIQUE PISCOLE DES EAUX
DOUCES
3^e Edition GAUTHIER VILLARS
Page 192
- II 2 INFORMATION - CHIMIE (REVUE) Mars 1978
Page 105-108
- III 3 JEAN RODIER (decembre 1984)
ANALYSE DE L'EAU - EAUX NATURELLES
- EAUX RESIDUAIRES
- EAUX DE MER
7^o Edition DUNOS
- IV 4 C.A REDDY H.E HENDERSON AND M.D ERDMAN
17 Juin 1976
BACTERIAL FERMENTATION OF CHEESE WHEY
FOR PRODUCTION OF A RUMINANT Feed
SUPPLEMENT RICH IN CRUDE PROTEIN
Page (769-774)
- V 5 B. ATKINSON ET F. MAVI TUNA (1985)
BIOCHEMICAL ENGINEERING AND
BIOTECHNOLOGY HAND BOOK
- VI 6 MONIQUE TARDAT HENRY (decembre 1986)
CHIMIE des EAUX
Edition GRIFFON L'ARGILE
- VII 7 J.TAYEB C. BOUILLANE AND MJ.
COMPUTERIZED Control of GROUGH WITH TEMPERATURE
IN A MIXED CULTURE OF LACTIC ACID BACTERIA.
Page 461-470

VII 8 THESE D'INGENIEUR (département de Technologie des industries agro-alimentaires et de nutrition humaine INA).(Juin 1980)
cônstitution d'une collection de souches de ferments lactiques isolées localement.

ETUDE de leur Aptitudes technologiques.

IX 9 D. HERBERT R. EL SXORTH AND R.C TELLING (1956).

THE CONTINUOUS CULTURE OF BACTERIA.

A theoretical and experimental study.

Page 601-622.

X 10 CENTRE régionale de documentation pédagogique de l'academie de DIJEN

CNDP CROP DIJON (1982).

centrales du lait et des produits laitiers

(Bacteries lactiques)

Page 10-22

XI II A. MEYER. J. DEIANA (Septembre 1984)

cours de microbiologie générale

Edition DOLN (sous la direction de M. LECLERE.

XII SIDI BANOUNE (1986-1987).

XII 12 SIDI BANOUNE (1986-1987)

Croissance des bacteries lactiques sur lactoserum.

Thèse d'ingénieur (département de technologie alimentaire à A

Page 4-5.

XIII 13 DEBBOUZE AMAR) 1975-1976

Culture discontinue de sacharomyces

sur lactoserum (Influence de la source azotée

Thèse d'Ingénieur INA

XIV 14 J.P ACCOLAS et J. AUCLAIR.

station centrale de recherche laitieres et de technologie des produits ANIMAUX

INRA (1970)

Détermination de l'activité Acidifiante des suspensions concentrées congelées de Bacteries.

page 608.623.

XV 15 F. MEINCH H. STOOFF H. KOHL SCHUTTER. (1977).

Eaux résiduaires industrielles
édition MASSON Paris

Page 26-58-59-730
742-770

XVI FRANCOIS RAMADE (Février 1982)

Element d'Ecologie (Ecologie Appliquée)
Edition MC.GRAW-HILL

Page 227-244

XVII J.P. LARPENT et Larpent Gourgaud

Element de Microbiologie

Page 355-356
382-383

XVIII Thèse d'Ingénieur Agronomè e INA

EL. HARRACH Alger.

Essai de Fabrication d'une boisson à partir du lactoserum.

- 72
- XIX GHALEM SELSELET - ATTOU (22 Juin 1973)
Etude de la croissance aérobie. anaérobie de
SACCHARMYCES fragilis.
Effet des vitamines B.12 et Acide folique
(thèse de Doctorat de 3e cycle Faculté des sciences de l'université
de paris)
- XX DJAMILA BELHOCINE université de RENNES septembre 1984) DEA.
Etude d'un procédé à membrane en vue de l'épuration Biologique
d'un effluent ; Application à l'épuration et la valorisation du
lactoserum.
- XXI Revue de l'Institut Pasteur de Lyon (1971) N° 2
Revue Hygiène Industrie N° 607
Science Technique (Juillet-Août *ç_*)
Page 29-33
- XXII W.E. SANDINE ML . SPECK AND.L. W AURAND
Identification of constituent Amino-Acide in
A Peptide Stimulatory for lactic Acid Bacteria
Page 1532 - 1540
- XXIII PHD. DSC. AND RICHARD J. HICKY PHD (1954)
Industriel fermentation
édité by LELAND A. UNDERKOFLEER
Page 91-408
- XXIV SAMUEL CATE SCD- CECEL GORDON PHD (1940)
Industrial Microbiology
Page 267
- XXV Revue Industrie Alimentaire et Agricole.
(11 Nombre 1976)
Page 1338-1341

XXVII RJ. SWABY MAGR SC BSC

the Journal of the Australian of Agricultural science
production of LACTIC ACID

Page (179-187)

XXVIII Journal of Dairy RESEACH N°4 volume 51

(Novembre 1981)

Page 591-594

XXIX ROBERT luc DERKING AND EDGAR L.PIET (1959)

A Kinetic stude of the lactie Acid Fermentation
Batch process at controlled pH

Page 393 - 412

XXX RK.FINN H.D HALVORSON - AND EDGAR

L. Piret (University of minesota minnpolis)

Lactic Acid fermentation rate effect of continusly controled
pH

Page 1857-1985)

XXXI NICOLAS C.MAJOR. AND ALAN T.BULL (1985)

(Biological laboratory, university of Kent
CENTERBURY) CT₂ 7NJ UK.

Lactic acid productivity of a continous culture
of lactobacillus delberckii

XXXII Melle SAADAoui LEILA (1980-1981)

Thèse DES en biologie institut des sciences biologiques

Université de constantine

Le lactoserum algerien aspect compositionel

XXXIII ROUABAH ABDELKADER (1980-1982)

Lactoserum aspect technologique (Dosage des acides aminés)
Mémoire pour diplome d'ingénieur en idustrie alimantaire

(Constitut de science biologique)

Page 73-86)

XXXIV REVUE APRIA (Jeudi 17 Venredi 18 Nov 1977)

Les lactoserum DGRST Colloque page 73-86

XXXV Le lactoserum : l'évolution permicieuse des échange de
poudre Février (1979)

XXXVI Revue francaise Avril 1982

Page 33

XXXVII Francois M.LUQUET. YVETTE BONJEANLINCZOWKI 1986

Lait et produit laitieres, qualité énergie et table de composition

Page 392-402 Tome 3

(Société scientifique d'Hygiène alimentaire édition tee-DOC

PARIS 1986.

XXXVIII CL.AUDIGIE J. FIGAREILA F. ZOUSZAIN (1984)

Manipulation d'Analyse Biochimique

édition DOIN.

XXXIX DEGREMONT (1978)

MEMENTO TECHNIQUE DE L'EAU

XXXX P. SIMON et R. MENNIER (1970)

Microbiologie industrielle et génie chimique

édition.

Page 422-424

XXXXI GRAHAM F. ANDERWS.

Paramèter Estimation from Batch culture DATAR

(Département of chimal EN GINEERING

State university of New-york at Buffalo

New york 14260.

Page 824 -825)

75
XXXXII P. PESSON (1980)

La pollution des eaux continentales

Incidence sur les biocinoses aquatiques

XXXXIII DAVID W. MARTIN JR. Peter A. MAYES-Victor

W. RODWELL

Procès de biochimie

édition ESKA.

XXXXIV D. PELRANSCIENCE L. LAPIED (23/10/83)

Qualité bactériologique du lait et des produits laitiers.

Analyses et test

XXXXV J.D. BECHAC, P. BOUTIN- B. MERCIER P. NUER (1984)

TRAITEMENT DES EAUX USEES

EDITION EYROLLES

XXXXVI KACEDIER (1976)

Traitement des sérums de fromagerie

Page 3,5,8) INA

XXXXVII REVUE APRIA N° 21 (1973)

traitement - utilisation (page 41,46)

XXXXIIX REVUE APRIA N° 21 (1980)

Utilisation des lactosérum en alimentation humaine et animal

XXXXIX REVUE LAITIÈRE FRANCOISE

Utilisation du lactosérum et produits

à base de lactosérum

science et techniques.

76

I DJAMILA BELHOCINE (22 Juin 1987)

Etude de la valorisation du lactoserum par fermentation lactique

These de Doctorat d'Université

Universited RENNES

II BRETAGNE Biotechnologies Alimentaire

- Rapport d'activité du laboratoire

L.P.S.A de l'EN.S.C.R. Pour la periode du 24.02 au 1/09/1986

Valorisation par voie fermentative du lactose contenu dans le
lactoserum.

III Michel MURAT (1981)

Valorisation des déchets et des sous-produits

page (146 : 148)

Edition Masson

IV AFNOR NET 90 : 012 (1975)

