

# Aptitudes fermentaires et viabilité de *Bifidobacterium sp.* associées à des cultures starters sur milieu lait

Keddari Soumia\* & Riazi Ali

Laboratoire des microorganismes bénéfiques, des aliments fonctionnels et de la Santé (LMBAFS),  
Département des Sciences alimentaires, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem, Algérie.

## Info. Article

### Historique de l'article

Reçu le 2/4/2020

Révisé le 11/11/2021

Accepté le 14/11/2021

### Mots-clés:

Fermentation-Lait-*Bifidobacterium*  
- *Sc.thermophilus* - *Lb.bulgaricus*

### Keywords :

Fermentation-Milk-*Bifidobacterium*  
*Sc.thermophilus*-*Lb.bulgaricus*

## RESUME

Ce travail est une exploration des aptitudes fermentaires de quatre souches de bifidobactéries (BLE, Bbv1, Bbv2 et BLR) en monocultures ou en cultures associées avec *Streptococcus thermophilus* et/ou *Lactobacillus bulgaricus* dans du lait écrémé reconstitué à 10% (P/V). Les différentes fermentations des laits réalisées impliquaient une seule souche bifide à la fois en coculture avec, soit l'une ou l'autre des deux bactéries lactiques classiques, soit les deux ensembles. Les aptitudes fermentaires des souches de bifidobactéries ont été évaluées par leur cinétique de croissance et d'acidification du lait jusqu'à la coagulation. La viabilité post-fermentaire des quatre souches bifides a été mesurée après 4 semaines d'entreposage du yaourt à 4°C. Les résultats montrent qu'en monoculture, les quatre souches bifides ne se développent pas bien sur milieu lait qu'elles ne coagulent pas avant 24 h de fermentation. En revanche, leur culture associée à *Sc.thermophilus* et/ou *Lb.bulgaricus* améliore significativement leurs aptitudes fermentaires permettant la formation d'un caillé au bout de 4 à 6 h seulement. La viabilité des souches bifides s'est altérée de presque 30% après 28 jours d'entreposage du lait fermenté à 4°C.

### Abstract

This study is an exploration of the fermentative activities of four strains of bifidobacteria (BLE, Bbv1, Bbv2 et BLR) in monocultures or in associated cultures with *Streptococcus thermophilus* and/or *Lactobacillus bulgaricus* in reconstituted skimmed milk at 10% (W/V). The various milk fermentations used only one bifid strain at a time in coculture with, one or the other of the two classical lactic bacteria, or both together. The fermentative properties of the bifidobacteria strains were assessed by measuring their growth and milk acidification kinetics until coagulation. The post-fermentation viability of the four bifid strains was evaluated after 4 weeks of yogurt storage at 4°C. The results show that in monoculture, the four bifid strains can not grow well on milk medium that they do not coagulate before 24 h of fermentation. On the other hand, their culture associated with *Sc.thermophilus* and/or *Lb.bulgaricus* significantly improves their fermentative abilities allowing the formation of a curd after only 4 to 6 hours. The viability of bifid strains decreased by almost 30% after 28 days of storage of fermented milk at 4°C.

### \*Auteur Correspondant :

Département des sciences alimentaires  
PB 300, Mostaganem, Algérie  
Email: soumia.keddari@univ-mosta.dz

## 1. INTRODUCTION

Bien que l'impact positif des bactéries lactiques du yaourt sur la santé humaine a été scientifiquement démontré [1], un débat se poursuit encore pour se prononcer sur le caractère probiotique ou non de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*. Un des caractères d'acquisition du statut probiotique par un microorganisme donné est son pouvoir de survie dans le tractus gastro-intestinal humain. Selon les conclusions de Delcampo et al. [2], les ferments du yaourt ne peuvent pas être retrouvés vivants dans les échantillons fécaux après ingestion. En revanche, les bifidobactéries qui représentent 80% du microbiote intestinal du nouveau né et 10% de celui de l'adulte sont connus pour leurs effets bénéfiques et probiotiques sur la santé humaine ; à savoir l'effet

antagoniste contre différents pathogènes (ex: *E-coli* sp, *Salmonella* sp.), élimination du cholestérol, diminution du risque de cancer, contribution au maintien de l'équilibre de la flore intestinale et leur capacité de survie dans le tube digestif [3].

Présentement, les probiotiques sont principalement véhiculés par les produits laitiers tels que les laits fermentés et les fromages [4]. L'incorporation des bifidobactéries dans l'industrie laitière a beaucoup d'avantages nutritionnels et technologiques tels que le goût aigre-doux et moins amer qu'avec les autres cultures; la limitation de l'acidification du lait pendant le stockage. Le lait est un milieu défavorable pour la croissance des bifidobactéries en raison de sa faible activité protéolytique et sa forte sensibilité à l'oxygène et à l'acidité. Ce genre est rarement utilisé seul sur milieu lait et il est souvent associé aux bactéries lactiques classiques telles que *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* qui permettent d'améliorer la croissance des bifidobactéries [5].

## 2. METHODOLOGIE DE RECHERCHE

### 2.1. Souches bactériennes

Les trois souches bifides expérimentales codées BLE, Bbv1, Bbv2 isolées à partir de selles de bébés sains allaités exclusivement au sein, proviennent de la collection de notre laboratoire. La souche de référence BLR (*Bifidobacterium longum*) nous a aimablement été fournie par l'université de Milan (institute of agrarian and technical Microbiology, Italie). Les souches lactiques, *Streptococcus thermophilus* TA040 et *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* Lb340, sont commercialisées sous forme lyophilisée pure par les laboratoires Rhône Poulenc (Rhodia, France).

### 2.2. Milieux de culture

Le milieu MRS bouillon pH 6,5, modifié par addition de 5g/l de lactose et supplémenté de 0,05% (P/V) chlorhydrate de cystéine, est utilisé pour la culture des bifidobactéries. Ce milieu solidifié par l'addition d'agar-agar à raison de 20g/L et qui sert pour leur dénombrement. Le milieu MRS acidifié à 5,5 et le milieu M17 sont utilisés pour dénombrer les lactobacillus et les streptocoques, respectivement, permettant leur distinction en coculture. En présence des ferments lactiques en culture mixte, les bifidobactéries sont dénombrées sur milieu MRS-C, contenant la dicloxacilline à une concentration de 2µg/ml [6]. La dilution simple a été utilisée pour l'obtention des différentes dilutions décimales. Le milieu lait est du lait écémé reconstitué (10% P/V) et stérilisé par tyndallisation [1].

### 2.3. Les expériences de croissance sur milieu lait

#### 2.3.1. Préparation des inoculas

Des cultures jeunes de 24 h sont utilisées pour inoculer le lait, soit pour la culture mixte, soit pour la culture pure. Les souches sont repiquées dans du MRS et l'incubation est effectuée à 37°C pour l'ensemble des souches en anaérobiose dans des jarres munies d'un anaéroculte. Ces précultures subissent des lavages et un ajustement à la concentration déterminée ( $1 \cdot 10^7$  ufc/ml) pendant toute l'étude. Elles ont été utilisées comme inoculum par la suite [7].

#### 2.3.2. Préparation des cultures

##### 2.3.2.1. La culture pure bifide

La culture pure, est une monoculture de l'une des quatre souches bifides (Bbv1, Bbv2, BLE, BLR). Cette culture est réalisée en inoculant le lait dans les flacons de 250 ml avec une concentration finale de 5% d'inoculum préalablement préparé. Après homogénéisation, le lait est réparti dans des tubes à raison de 10 ml/tube et incubés à 37°C jusqu'à la coagulation.

##### 2.3.2.2. La culture mixte

Diverses combinaisons ont été faites pour réaliser cette manipulation :

##### 2.3.2.2.1. La culture mixte entre souches bifides et l'une des bactéries lactiques (*Lb. bulgaricus* ou *Sc. thermophilus*)

La concentration finale dans le lait est de 3% et dont le rapport entre les bifidobactéries et les Streptocoques est égal à 1. Les échantillons sont incubés à 37°C [8]. Les mêmes conditions sont respectées pour effectuer la culture mixte entre les lactobacilles et les bifidobactéries.

##### 2.3.2.2.2. La culture mixte des trois souches bactériennes

La fermentation du lait a été obtenue par les trois espèces, souche bifide avec les deux ferments lactiques (*Lb. bulgaricus* et *Sc. thermophilus*). Chaque souche est inoculée dans le lait écrémé stérile à une concentration de 1% dont la concentration finale de l'inoculum dans le lait est de 3%. L'incubation est réalisée à 37°C.

### 2.4. Paramètres mesurés au cours de la fermentation

La cinétique de croissance et le pouvoir de synthèse d'acides organiques des différentes souches ont été évalués, respectivement par le comptage direct des colonies (exprimé en log ufc/ml) sur des milieux sélectifs gélosés cités précédemment, et par la mesure du pH sur des échantillons prélevés à des intervalles de 2 h jusqu'au point de coagulation du lait. Un échantillon de 1mL est utilisé pour préparer une dilution adéquate, permettant la détermination de la quantité de biomasse bactérienne.

## 2.5. Evaluation de la viabilité et de l'activité acidifiante post-fermentaire des souches

La viabilité et l'activité acidifiante (pH) post fermentaire des souches ont été mesurées au point de coagulation du lait ( $J_0$ ) et après 28 jours d'entreposage du yaourt à 4°C. Le taux de survie est calculé comme suit [9]:  $[\log(\text{ufc/g}) \text{ final} / \log(\text{ufc/g}) \text{ initial}] \times 100$ .

## 2.6. Validation statistique des résultats

Toutes les mesures sont répétées 3 fois et exprimées sous forme de moyenne  $\pm$  écart type. La comparaison des moyennes est effectuée par le test de Student au seuil de  $p < 0,05$ .

## 3. RESULTATS ET DISCUSSION

### 3.1. Evolution de la biomasse bifide au cours de la fermentation

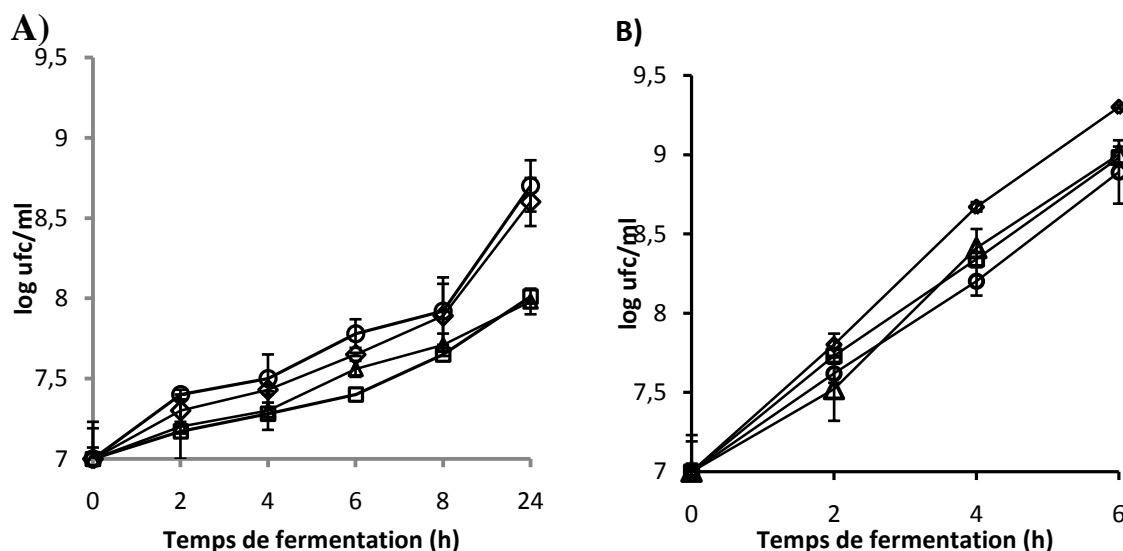
#### 3.1.1. En monoculture

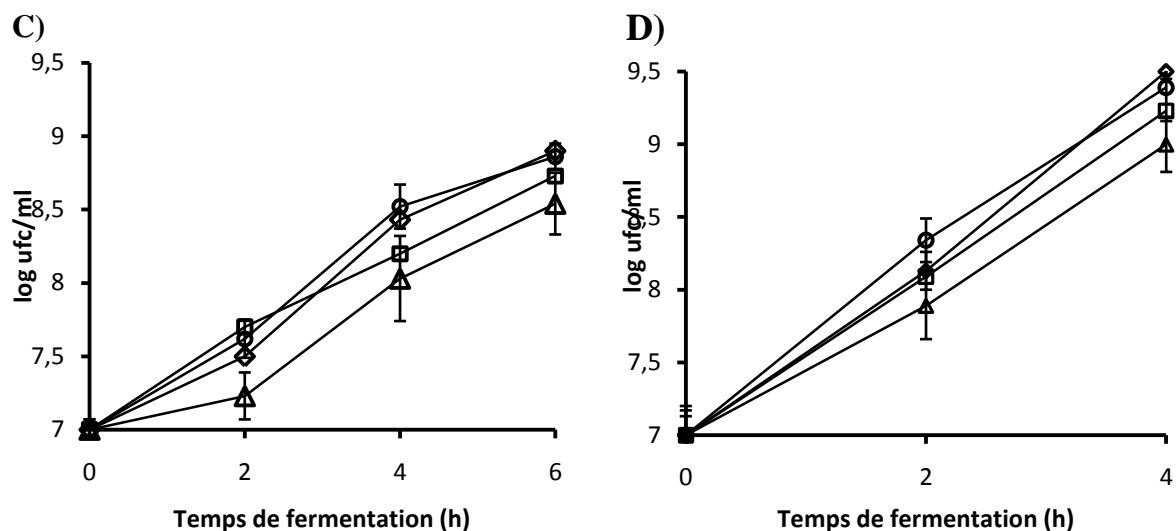
L'évolution de la biomasse produite ( $\log \text{ ufc/ml}$ ) au cours de la fermentation est illustrée par la figure 1A. Les quatre souches, Bbv1, Bbv2, BLE, BLR se développent lentement sur milieu lait. Ceci a été observé à travers le faible taux de croissance affiché par les bifidobactéries après 6 heures de fermentation où la biomasse atteint respectivement 7.41 ; 7.56 ; 7.78 et 7.65  $\log \text{ ufc/ml}$  pour les souches Bbv1, Bbv2, BLE et BLR. Par ailleurs, les quatre souches n'arrivent à former un caillé consistant qu'après 24 h de fermentation générant une biomasse maximale moyenne de 8.3  $\log \text{ ufc/ml}$ . Un comportement analogue sur le lait de soja a été observé par Chou et Hou [10] qui avaient enregistré une faible biomasse après 24 h de fermentation. Le faible pouvoir de croissance sur milieu lait est justifié d'une part, soit par l'absence de facteurs bifidogènes spécifiques comme ceux présent dans le lait maternel, soit par leurs besoins en facteurs de croissance ; et d'autre part, par l'absence d'activité protéolytique chez certaines souches [11 ; 12]. En plus, Copa et al. [13] attribuent cette faible croissance à l'absence de lactoferrine, protéine majeure du lait humain (1.3-2.8 g/l) et qui se trouve à l'état de trace dans le lait de vache. En effet, la nature du lait joue un rôle prépondérant dans l'amélioration de la croissance des bifidobactéries dans ce milieu. Cette remarque a été suggérée par les résultats d'Abutarabush et al. [12] qui rapportent que des souches de *B. longum* et *B. breve* deviennent protéolytiques après 3 heures de culture sur le lait de chamelle.

#### 3.1.2. En culture mixte

##### 3.1.2.1. En présence de *Sc. thermophilus* ou *Lb. bulgaricus*

La fiabilité de la culture associée a été confirmée dans le présent travail où les cultures réalisées avec les différentes souches bifides (Bbv1, Bbv2, BLE, BLR,) en culture mixte avec *Sc. thermophilus* d'une part et *Lb. bulgaricus* d'autre part, ont révélé un meilleur développement sur le plan de biomasse bifide produite. Ainsi, le temps de fermentation a été remarquablement réduit, il passe de 24 h en culture bifide pure à 6 h en culture mixte dans les deux types de fermentation (i.e. les bifidobactéries avec *Sc. thermophilus* et bifidobactéries avec *Lb. bulgaricus*) (fig.1B et fig. 1C). En outre, il a été constaté que les biomasses produites au bout de 6 h par les bifidobactéries en coculture avec le premier ferment lactique (*Sc. thermophilus*) étaient plus au moins importantes ( $p < 0.05$ ) en comparaison avec leur culture en présence du deuxième ferment (*Lb. bulgaricus*). Cette biomasse atteint en moyenne 9,02 et 8,75  $\log \text{ ufc/ml}$  dans les co-cultures avec les Streptocoques et Lactobacilles, respectivement, dans un rapport cellulaire de 1 :1 (bifides : ferment lactique).





**Figure 1 :** Cinétique de croissance (log ufc/ml) des souches BLE(◇), Bbv1 (□), Bbv2 (△), BLR (○), (A) en monoculture, (B) en culture mixte avec *Sc. thermophilus*, (C) en culture mixte avec *Lb. Bulgaricus*, (D) en coculture avec *Sc. thermophilus* et *Lb. bulgaricus* sur milieu lait écrémé. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations  $\pm$  SD (n=3).

Ces résultats montrent que les cultures mixtes s'avèrent nettement plus actives que les souches utilisées en culture pure ( $p < 0,05$ ). En effet, les cultures mixtes améliorent la croissance des bifidobactéries de plus de 60%. Cette amélioration est obtenue par l'utilisation soit des Lactobacilles soit des Streptocoques. Par ailleurs, les cultures mixtes apparaissent plus économiques que les cultures pures, puisque avec seulement 3% d'inoculum en culture mixte, il est possible d'arrêter la fermentation après une durée de 6 h en obtenant une biomasse maximale de 9 log ufc/ml. Alors que l'utilisation de 5% d'inoculum en culture pure ne permet pas d'atteindre une biomasse de 8,5 log ufc/ml après 24 h de fermentation. L'introduction d'une coculture entre *Sc. thermophilus* et bifidobactéries permet aux souches bifides de tolérer les effets toxiques de l'oxygène, tout en améliorant leur taux de croissance [6]. Par ailleurs, les souches de *Lb. bulgaricus* améliorent également la croissance des bifidobactéries par leur activité protéolytique qui induit une augmentation de l'utilisation de certains acides aminés comme la valine, glycine et histidine [14].

### 3.1.2.2. La culture des souches bifides en présence des ferments lactiques

La combinaison des 3 types de bactéries (bifidobactéries, *Sc. thermophilus* et *Lb. bulgaricus*) avec un inoculum de 1% pour chaque souche montre une viabilité exceptionnelle en comparaison avec les cultures bifides pures vis-à-vis du temps de fermentation et de la biomasse produite ( $p < 0,05$ ). En effet, 4 heures de fermentation seulement ont été suffisantes pour l'obtention d'un caillé ferme. La culture des bifidobactéries avec les ferments lactiques permet d'améliorer et d'augmenter la biomasse produite de 74.5% en réduisant le temps de fermentation. Ceci a été observé chez les quatre souches de bifidobactéries qui poussent très bien sur le lait écrémé et présentent en moyenne une biomasse qui varie entre 9 et 9,5 log ufc/ml (fig.1D). Le rôle des bactéries lactiques dans l'amélioration de la croissance des bifidobactéries dans le lait a été démontré par de nombreux auteurs et notamment par Samona et al. [8], chez des souches de *B. longum* et *B. bifidum* mise en culture avec les ferments du yaourt. Selon les sources concordantes, les starters améliorent les conditions de croissance des bifidobactéries par la production des substances favorables à la croissance des probiotiques ou par la réduction de la pression d'oxygène [11].

## 3.2. Evolution de l'acidité du lait au cours de la fermentation

### 3.2.1. En culture pure

Les résultats reportés sur la figure 2A indiquent que le milieu lait est acidifié très lentement par les souches bifides. L'activité de synthèse d'acides organiques par les 4 souches bifides est faible au point qu'après 24 h de culture, le pH du lait ne descend pas en dessous de 5.38. Ceci est imputable à la voie de dégradation des sucres « bifide-shunt » spécifique aux bifidobactéries qui aboutit à la formation de deux molécules d'acide lactique et trois molécules d'acide acétique, nos résultats sont effectivement en accord avec ceux cités par de nombreux auteurs [6,8].

### 3.2.2. En culture mixte

L'utilisation des bactéries lactiques (productrices de quatre molécules d'acide lactique) telles que *Sc. thermophilus* et *Lb. bulgaricus* en culture mixte avec les bifidobactéries permet de stimuler le pouvoir acidifiant de ces dernières sur milieu lait [9]. L'acidification des laits ensemencés par *Sc. thermophilus* et les quatre

souches bifides a été plus au moins faible par rapport à la culture mixte de bifidobactéries avec *Lb. bulgaricus* où le pH des laits fermentés est compris entre 4,94 et 4,84 (fig. 2B ; fig. 2C). En se référant à plusieurs travaux qui confirment que les Lactobacillus sont plus acidifiants que les Streptococcus [7,15]. La combinaison des 3 types de bactéries (bifidobactéries, *Sc. thermophilus* et *Lb. bulgaricus*) avec un inoculum de 1% pour chaque souche montre un effet hautement significatif ( $p < 0.05$ ) en comparant avec le rendement des cultures pures vis-à-vis du temps de fermentation et de la biomasse produite ainsi que les acides organiques produits. En effet, 4 heures de fermentation seulement ont été suffisantes pour l'arrêt de la fermentation permettant d'avoir un coagulum consistant (fig.2D). Les bifidobactéries acidifient mieux le lait en présence des deux bactéries lactiques classiques, moins en coculture avec l'une ou l'autre bactérie lactique et très lentement en culture pure ( $p < 0,05$ ).

### 3.3. Résultats de la post -acidification et de la survie des souches de bifidobactéries dans le lait fermenté entreposé à 4°C

#### 3.3.1. En culture pure

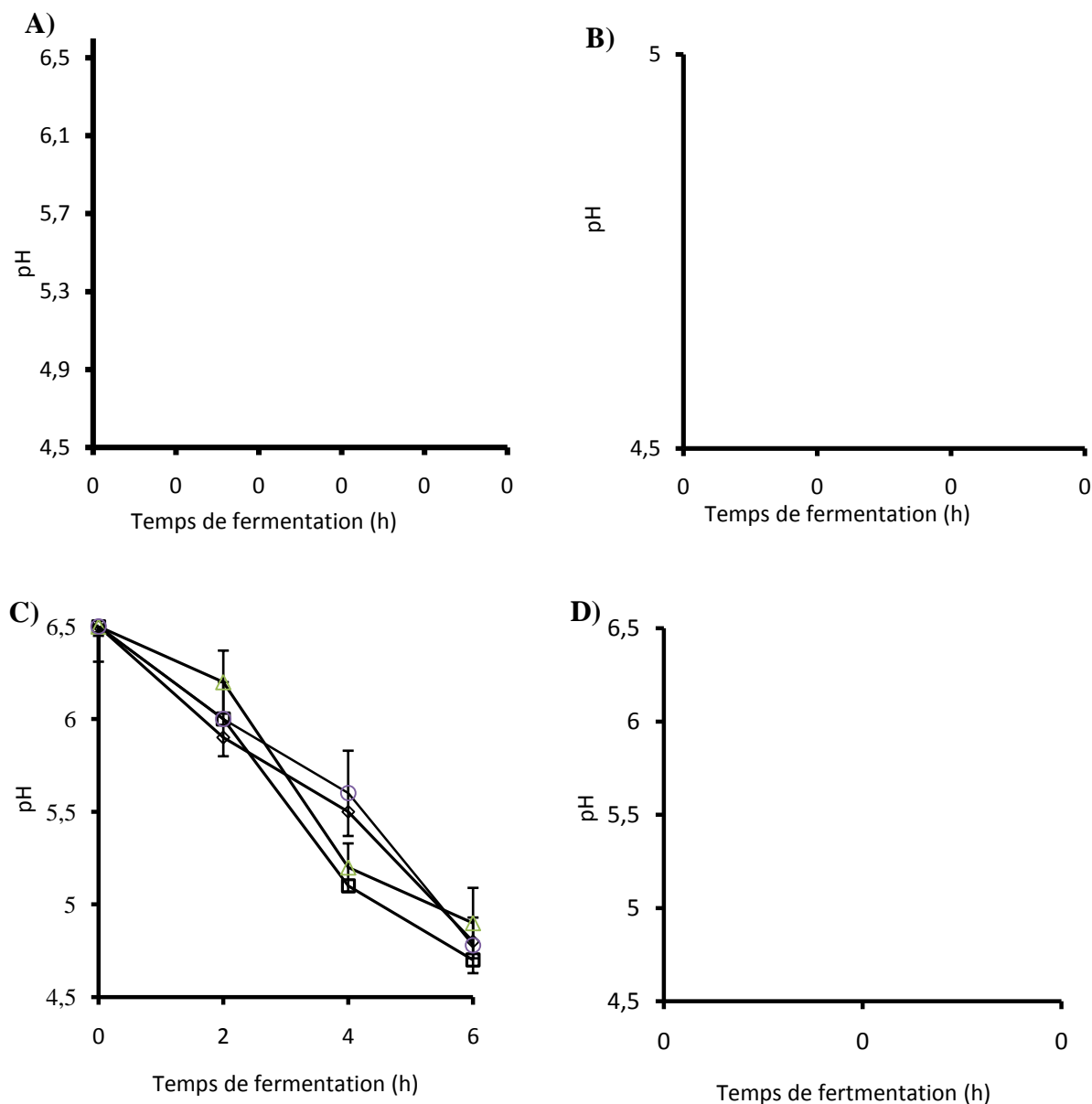
En culture pure, les bifidobactéries poursuivent leur acidification pendant la conservation à 4°C, étant donné la diminution du pH observée après un entreposage de 28 jours. En effet, les souches BLE et Bbv2 conservées à un pH initial de 5,38 et 5,86 respectivement provoquent une acidification importante du lait fermenté après 28 jours au cours desquels ces pH chutent à 4,74 (BLE) et 4,78 (Bbv2). Par contre, les deux autres souches (BLR et Bbv1) ont une acidification médiocre pendant la conservation à 4°C, leur pH initial (5,44 pour BLR et 5,62 pour Bbv1) converge vers la valeur 5.

Les souches de bifidobactéries ont connu une perte moyenne de 1.5 log ufc/ml du nombre initial après 28 jours d'entreposage à 4°C. Les résultats obtenus et présentés par le tableau 1 montrent que le taux de survie le plus élevé est enregistré par la souche Bbv1 (85.48%) et le plus faible est affiché par la souche BLE (77.22%). La viabilité et la stabilité des bifidobactéries sont en étroite relation avec le pH des laits fermentés. En effet, il est bien connu en industrie laitière qu'une exposition prolongée à l'acide, surtout à un pH inférieur à 5.0 diminue l'activité des cellules bifides. D'après nos résultats, il semblerait que nos souches de bifidobactéries sont résistantes à la conservation à basse température et pendant une longue durée. Selon Martin et Chou [16], une perte de 5 log ufc/ml du nombre initial rend la souche sensible à la conservation. Par ailleurs, la diminution du pH au cours de la conservation est un phénomène connu chez les bifidobactéries [17].

#### 3.3.2. En culture mixte

Le pH des cocultures (bifidobactéries + *Sc. thermophilus*, bifidobactéries+ *Lb. bulgaricus*) connaît une régression notable après une durée de conservation de 28 jours à 4°C. L'ampleur de cette diminution représente 0,4 à 0,8 unité de pH. Ce phénomène de post acidification est répandu chez les bactéries lactiques [18]. La décroissance du pH des cocultures entre les souches de bifidobactéries et *Lb. bulgaricus* est plus importante que celui des cocultures bifidobactéries et *Sc. thermophilus*. Cette diminution de pH est respectivement de 0.38 et 0,52 unité de pH quand la souche BLE est cocultivée avec *Sc. thermophilus* et *Lb. bulgaricus*. D'après Dave et Shah [19], *Lb. bulgaricus* produit une grande quantité de D-lactate au cours de l'entreposage à basse température et ceci peut être nuisible aux probiotiques. L'influence du D-lactate sur les bifidobactéries varie d'une souche à l'autre. Les mêmes auteurs, proposent l'abandon des cultures mixtes associant *Lb. bulgaricus* afin de mettre fin aux problèmes de post-acidification et s'orienter vers l'utilisation du complexe ABT (*L.acidophilus*, bifidobactéries, *Sc. thermophilus*). Les résultats élucidés par le tableau 1, montrent que la perte de biomasse bifide est plus importante en présence des lactobacilles comparativement à la perte enregistrée par les mêmes souches cultivées en présence des Streptocoques. Cette sensibilité est probablement due au pH bas et à l'acidité des laits fermentés. Klaver et al. [16], constatent le même effet de sensibilité au stockage à basse température, puisque seulement 3 souches sur 17 étudiées, gardent leur viabilité au cours de la conservation par le froid.

Les laits fermentés en présence des straters et les souches bifides qui ont été conservés à un pH moyen de 5.0 présentent des taux de survie assez élevés, allant de 83,77% à 86,28%. Ceci constitue un argument en faveur du rôle positif des cultures mixtes dans le maintien de la viabilité des souches de bifidobactéries [20]. Selon les résultats rapportés par les recherches de Samona et al. [8], il semblerait que les yaourts contenant les bifidobactéries et les ferments lactiques ont une durée de vie plus longue. Cet avantage technologique est dû aux bifidobactéries et leur action inhibitrice par l'acide acétique vis-à-vis des Lactobacilles et/ou des Streptocoques pendant le stockage. Il est recommandé dans les laits fermentés à base de probiotique d'arrêter la fermentation à pH 5,0 afin de garder un nombre élevé viable de ces microorganismes lors de la consommation. Un probiotique n'exerce un effet bénéfique sur la santé qu'en présence d'un taux de biomasse de  $10^5$  ufc/g de lait fermenté au minimum lors de la consommation. Dans notre étude, tous les laits fermentés renferment un nombre viable (au moins  $10^6$  ufc/g) après 28 jours de conservation. Des résultats similaires sont rapportés par les travaux de Ziar et Raizi [5], où toutes les souches bifides testées ont montré une meilleure viabilité après 4 semaines d'entreposage à 4°C, avec des quantités de biomasse de plus de 6 log UFC/mL en supplémentant le lait avec 5% du miel monofloral et plus de 7,2 log UFC/mL avec le miel polyfloral [5].



**Figure 2 :** Cinétique d’acidification des souches BLE(◇), Bbv1 (□), Bbv2 (Δ), BLR (○), (A) en monoculture, (B) en culture mixte avec *Sc. thermophilus*, (C) en culture mixte avec *Lb. Bulgaricus*, (D) en coculture avec *Sc. thermophilus* et *Lb. bulgaricus* sur milieu lait écrémé. Les valeurs représentent la moyenne de 3 déterminations ± SD (n=3).

Tableau 1 : Survie des souches de bifidobactéries en monoculture et en culture mixte dans les laits fermentés entreposés à 4°C

SOUCHES	MONOCULTURE						CULTURE MIXTE					
	En absence des starters			En présence de <i>Sc. thermophilus</i>			En présence de <i>Lb. bulgaricus</i>			En présence des starters		
	J <sub>0</sub> <sup>a</sup>	J <sub>28</sub> <sup>b</sup>	% de survie	J <sub>0</sub> <sup>a</sup>	J <sub>28</sub> <sup>b</sup>	% de survie	J <sub>0</sub> <sup>a</sup>	J <sub>28</sub> <sup>b</sup>	% de survie	J <sub>0</sub> <sup>a</sup>	J <sub>28</sub> <sup>b</sup>	% de survie
BLE	8,60	6,64	77,22	9,30	7,04	75,76	8,90	6,02	70,35	9,50	8,19	86,28
Bbv1	8,01	6,84	85,48	8,98	6,97	77,69	8,73	6,52	74,75	9,23	8,02	86,92
Bbv2	7,98	6,25	78,35	9,00	6,87	76,37	8,54	6,47	75,80	9,00	7,53	83,77
BLR	8,70	6,12	85,15	8,83	6,91	78,36	8,86	6,42	72,56	9,39	7,93	84,54

<sup>a</sup> Nombre initial des souches (log ufc/ml) au 1<sup>er</sup> jour de conservation.

<sup>b</sup> Nombre final des souches (log ufc/ml) au 28<sup>e</sup> jour de conservation.

#### 4. CONCLUSION

A l'issue de ce travail, les souches bifides isolées BLE, Bbv1, Bbv2 et la souche de référence BLR ont été testées pour leur pouvoir de croissance et d'acidification sur milieu lait. Les 4 souches ont montré une croissance et une acidification médiocres sur milieu lait. Ces faibles aptitudes de croissance et d'acidification des souches ont été nettement améliorées par la présence des ferments lactiques. Les starters améliorent les conditions de croissance bifide par la production des substances favorables à la croissance des probiotiques ou par la réduction de la pression d'oxygène, bénéfique pour des bactéries anaérobies strictes comme les bifidobactéries.

#### REFERENCES

- [1] Lobo R.E., Gómez M.I., de Valdeza F., Torino M.I., 2019. Physico chemical and antioxidant properties of a gastroprotective exopolysaccharide produced by *Streptococcus thermophilus* CRL1190. *Food Hydrocolloids*, 96: 625-623.
- [2] Delcampo R., Bravo D., Canton R., Ruiz-Garbajosa P., Garcia-Albiach R., Montesi-Libois A., Yuste F.G.A., Baquero F. Scarc evidence of yogurt lactic acid bacteria in human feces after daily yogurt consumption by healthy volunteers. *Applied Environment Microbiology*. 71:547-549.
- [3] Mituniewicz-Malek A., Ziarno M., Dmytrów I. & Balejko J., 2017. Effect of the addition of Bifidobacterium monocultures on the physical, chemical, and sensory characteristics of fermented goat milk. *Journal Dairy Science*, 100:6972–6979.
- [4] Hafeez Z., Cakir-Kiefer C. Lecomte X., Miclo L. & Dary-Mourot A., 2018. The X-prolyl dipeptidyl-peptidase PepX of *Streptococcus thermophilus* initially described as intracellular is also responsible for peptidase extracellular activity. *Journal Dairy Science*, 102:113–123.
- [5] Ziar H. & Riazi A. 2010. Croissance et viabilité des Bifidobactéries dans le lait écrémé additionné de miel d'abeille. *Nature & Technologie* 2 : 17-24.
- [6] Tamime A. Y., Marshall V. M. E., & ROBINSON R. K., 1995. Microbiological and technological aspects of milks fermented by bifidobacteria. *Journal Dairy Research*. 62: 151-187.
- [7] Hermier J., Lenoir J. & Weber F., 1992. Les groupes microbiens d'intérêt laitier. *Editions Lavoisier, collection technique et Documentation*. Paris, 568 pages, p. 47-49.
- [8] Samona A., Robinson R. K. & Marakis S., 1996. Acid production by bifidobacteria and yoghurt bacteria during fermentation and storage of milk. *Food Microbiology*, 13: 275-280.
- [9] Martin J. H., & Chou K. M., 1992. Selection of bifidobacteria for use as dietary adjuncts in cultured dairy foods: Tolerance to pH of yogurt. *Cultured Dairy Products Journal*, 27(4): 21-26.
- [10] Chou C.C. & Hou J.W., 2000. Growth of bifidobacteria in soy milk and their survival in the fermented soy milk drink during storage. *International journal of Food Microbiology*, 56: 113-121.
- [11] Ishibashi N. & Yamazaki S., 2001. Probiotic and safety. *American Journal of Clinical Nutrition*, Suppl.73: 465- 470.
- [12] Abu-tarabush H. M., Al-dagal M.M. & Royli m. A., 1998. Growth, viability, and probiotic activity of bifidobacteria in whole camel milk. *Journal of Dairy Science*, 84: 759-568.
- [13] Coppa G.V., Zampini T., Galezzi T. & Gabrielli O., 2005. Prebiotics in milk: a review. *Digestive and Liver disease* 38 suppl. 2: 291-294.
- [14] Misra A. K. & Kulia R. K., 1995. Antimicrobial substances from *Bifidobacterium bifidum*. *Indian Journal Science*. 48: 612-614.
- [15] Solval K.M., Chouljenko A., Chotiko A., sathivel S., 2019. Growth kinetics and lactic acid production of *Lactobacillus plantarum* NRRL B-4496, *L.acidophilus* NRRL B-4495 and *L. reutri* B-14171 in media containing egg white hydrolysates. *Journal LWT*, 105: 393-399.
- [16] Klaver F. A. M., Kingma F. & Weerkamp A. H., 1993. Growth and survival of bifidobacteria in milk. *Neth.Milk Dairy Journal*, 47: 151-164.
- [17] Hughes D. B. & Hoover D. G., 1995. Viability and enzymatic activity of bifidobacteria in milk *Journal Dairy science*, 78. 2: 268-276.
- [18] Zourari A., Roger S., Chabanet C. & Desmazeaud M. J., 1991. Caractérisation des bactéries lactiques thermophiles de yaourts artisanaux grecs. Souches de *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*. *Lait*. 71: 445-461.
- [19] Dave R. I. & Shah N. P., 1998. Ingredient supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yogurt. *Journal of Dairy Science*, 81: 2804-2816.
- [20] Tamime A. Y. & Robinson R. K., 1988. Fermented milks and their future trends. Part III. Technological aspects. *Journal Dairy Research* 55: 281-307.