

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*  
**Université A. MIRA - Bejaia**

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département de Microbiologie**  
**Filière : Sciences biologiques**  
**Option : Microbiologie Alimentaire Santé**



Mémoire de Fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme

**MASTER**

*Thème*

**Etude de propriétés technologiques de  
souches de bactéries lactiques originaires  
du l'ben traditionnel**

Présenté par :

**Merrad Assia & Maiza Sarra**

Soutenu le : **16 Juin 2016**

Devant le jury composé de :

Mme. MERZOUK Hafida

MAA

Président

Mme. FARADJI-HAMMA Samia

MCB

Encadreur

M. LADJOUZI RACHID

MAA

Examinateur

**Année universitaire : 2015 / 2016**

## *Remerciements*

*Avant tout nous remercions **le bon Dieu** le tout puissant de nous avoir donné le courage, la force et la patience qui nous a permis de réaliser ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.*

*Nous tenons tout particulièrement à adresser nos remerciements les plus vifs d'abord à notre promotrice M<sup>me</sup> **FARADJI-HAMMA Samia**, qui nous a fait l'honneur de diriger notre mémoire sur un sujet passionnant et nous a bien voulu prendre en charge et nous a guidés tout au long de son élaboration, nous lui sommes très reconnaissants pour ces conseils, sa disponibilité et son sérieux dans le travail.*

*Nos sincères considérations et remerciements sont également exprimés aux membres de jury : M<sup>me</sup> **MERZOUK H.** qui nous a fait l'honneur par sa présence en qualité de présidente de jury, M<sup>r</sup> **LADJOUZI R.** qui a accepté de faire partie de ce jury et d'examiner ce travail et consacré de son temps pour son évaluation.*

*Nous tenons à remercier chaleureusement l'ensemble du personnel travaillant au laboratoire du département microbiologie, qu'il veuille bien recevoir ici l'expression de notre gratitude et de notre profond respect.*

*Nous soulignons notre reconnaissance aux enseignants de la faculté des sciences de la nature et de la vie notamment M<sup>r</sup> **TOUATI** pour son aide, ses précieux conseils et sa disponibilité.*

**ASSIA & SARRA**



## *Dédicaces*

*Tout au début, je tiens à remercier le bon Dieu de m'avoir donné du courage et de patience afin de réaliser ce modeste travail que je dédie à :*

*Mes très chers parents pour leur soutien et leur sacrifice tout au long de mon parcours et qui ont cru en moi, que Dieu leur accorde une longue vie, encore une fois  
Merci !!*

*Mes chers frères KHALED et sa famille, FARES, WALID et ma très chère sœur HAMIDA et sa famille ;*

*Mon très cher mari qui m'a motivé et soutenue tout au long de ce travail ;*

*Ma grande famille, mes oncles, tantes, paternels et maternels, mes cousins et cousines ;*

*Mon beau père et ma belle mère ;*

*Ma belle sœur SAMIRA et mes beaux frères ;*

*Ma chère binôme SARRA ;*

*Ma chère promotrice M<sup>me</sup> FARADJI-HAMMA SAMIA*

*Mes amies et à tous ceux qui me sont chers.*

**ASSIA**



## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail qui est compléter par l'aide de DIEU  
à :*

*Mes espoirs dans la vie, les plus chères personnes que je n'arrive  
pas et je n'arriverai jamais à rendre ce qu'ils m'ont donnés, mes  
parents, Que Dieu tout puissant les garde pour moi.*

*Mes chères sœurs HADJER, MERIEME, MAROIA, DOUA,  
SAFA, ISRA ;*

*Toutes les personnes de ma grande famille MAIZA et  
LETRACHE ;*

*Toutes mes amies sans exception spécialement : HAYET,  
NADIRA, ZINA, HOUDA, HADJER, OUIDADE, HANANE,  
YASMINA, CHAFI3A, FATIMA ;*

*Ma chère binôme ASSIA ;*

*Ma chère promotrice M<sup>me</sup> FARADJI-HAMMA SAMIA ;*

*En fin a toute ma promotion de Master 2 MAS, 2016.*

**SARRA**

**Liste des tableaux dans les annexes**

<b>Tableaux N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Annexe N°</b>
<b>I</b>	les origines des 34 souches de BL des cinq genres	<b>IV</b>
<b>II</b>	Tests de vérification de la pureté des souches utilisées	<b>Page 10</b>
<b>III</b>	Résumé de l'observation microscopique des 34 souches de BL des cinq genres isolées dans le bouillon MRS	<b>IV</b>
<b>IV</b>	Inocula standard de 18h 10 <sup>9</sup> des 34souches de BL des cinq genres	<b>V</b>
<b>V</b>	Evaluation du pH des 34 souches de LB des cinq genres dans le lait au cours du temps	<b>VI</b>
<b>VI</b>	Evaluation du l'acidité de 34 souches des cinq genres dans le lait au cours du temps.	<b>VI</b>
<b>VII</b>	Evaluation du pH des 34 souches de LB des cinq genres dans le bouillon MRS au cours du temps.	<b>VI</b>
<b>VIII</b>	Evaluation du l'acidité de 34 souches des cinq genres dans le bouillon MRS au cours du temps.	<b>VI</b>
<b>X</b>	Dénombrement des 34 souches de BL sur le lait (10 <sup>9</sup> UFC/ml)	<b>VI</b>
<b>XI</b>	Dénombrement des 34 souches de BL sur gélose MRS (10 <sup>9</sup> UFC/ml)	<b>VII</b>
<b>XII</b>	Test de la tolérance à salinité (différent pourcentages de NaCl) des 34souches selon les genres.	<b>VIII</b>
<b>XIV</b>	Activité protéolytique des 34 souches lactiques selon les genres	<b>X</b>

## Liste des figures :

Figure N°	Titre	Page N°
1	Revivification et vérification des souches test	10
2	Standardisation des <i>inocula</i> de LAB	12
3	Etude de l'effet du sel (NaCl) sur la croissance des LAB	14
4	Etude du pouvoir protéolytique	15
5	Etude du pouvoir lipolytique	16
6	Etude du pouvoir texturant	17
7	Etude du pouvoir aromatisant	18
8	Aspect macroscopique de LAB sur gélose et bouillon MRS	19
9	Aspect microscopique des 34 souches de LAB. (A) la forme bâtonnée, (B) la forme cocci (Gx100)	20
10	Résultat négative du test de catalase	21
11	Évolution du pH des souches de LAB de genre <i>Pediococcus</i> ( <i>P</i> ) dans le lait et le bouillon MRS selon le temps	22
12	Évolution d'acidité des souches de LAB de genre <i>Pediococcus</i> ( <i>P</i> ) dans le lait et le bouillon MRS selon le temps	22
13	Évolution du pH des souches de LAB de genre <i>Streptococcus</i> ( <i>St</i> ) dans le lait et le bouillon MRS selon le temps	23
14	Évolution d'acidité des souches de LAB de genre <i>Streptococcus</i> ( <i>St</i> ) dans le lait et le bouillon MRS selon le temps	23
15	Évolution du pH des souches de LAB de genre <i>Leuconostoc</i> ( <i>Ln</i> ) dans le lait et le bouillon MRS selon le temps	24
16	Évolution d'acidité des souches de LAB de genre <i>Leuconostoc</i> ( <i>Ln</i> ) dans le lait et le bouillon MRS selon le temps	25
17	Évolution du pH des souches de LAB de genre <i>Lactococcus</i> ( <i>Lc</i> ) sur le lait et MRS selon le temps	26
18	Évolution d'acidité des souches de LAB de genre <i>Lactococcus</i> ( <i>Lc</i> ) sur le lait et MRS selon le temps	26
19	Évolution du pH des souches de LAB de genre <i>Lactobacillus</i> ( <i>Lb</i> ) sur le lait et MRS selon le temps	28
20	Évolution d'acidité des souches de LAB de genre <i>Lactobacillus</i> ( <i>Lb</i> ) sur le lait et MRS selon le temps	30
21	Suivi de la croissance et pH des 5 souches les plus acidifiantes de chaque genre dans le bouillon MRS	31
22	Suivi de la croissance et pH des 5 souches les plus acidifiantes de chaque genre dans le lait	32
23	Exemple de résultats obtenus pour le pouvoir protéolytique	34
24	Résultat négatif de pouvoir lipolytique. (1) test lipolytique avec MRS+lait, (2) test lipolytique avec MRS+Glycérol	36
25	Pouvoir texturant sur milieux hypersaccarosés	37
26	Pouvoir aromatisant. (1) tube positive de lait, (2) tube positive de bouillon citraté et lactosé	38

### **Noms des genres bactériens**

*Lb.* : *Lactobacillus*

*Lc.* : *Lactococcus*

*Ln.* : *Leuconostoc*

*P.* : *Pseudomonas*

*St.* : *Streptococcus*

### **Unités de mesures**

°C : Degré Celsius

°D : Degré dornic

g: Gramme

h, min, s : Heure, minute, seconde

l, ml, µl : Litre, millilitre, microlitre

mm: millimètre

N : Normalité

UFC : Unité formant colonie

V : Volume

% : Pourcentage

### **Autres abréviations**

LAB : bactéries lactiques

EPS: Exopolysaccharides

MRS: Man, Rosa, Sharpe

pH : Potentiel d'Hydrogène

ssp. : Sous espèce

sp. : Espèce non précisée

T° : Température

VPI et VPII : Vogues-Proskauer

# Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

**Introduction** .....01

## Synthèse bibliographique

I) Généralités sur les bactéries lactiques.....02

I.1) Définition et caractères généraux des bactéries lactiques .....02

I.2) Classification des principaux genres de bactéries lactiques .....03

I.2.1) Le genre *Lactobacillus* .....03

I.2.2) Le genre *Lactococcus* .....03

I.2.3) Le genre *Leuconostoc* .....04

I.2.4) Le genre *Streptococcus* .....04

I.2.5) Le genre *Pediococcus* .....04

II) Propriétés technologiques des bactéries lactiques .....04

II.1) Activité acidifiante (production d'acide lactique) .....05

II.2) Activité protéolytique .....05

II.3) Activité lipolytique .....06

II.4) Pouvoir aromatisant et pouvoir gazeux .....07

II.5) Pouvoir texturant .....07

## Matériel et méthodes

**I) Matériel et méthodes** .....09

I.1) Lieu d'étude .....09

I.2) Objectif de travail .....09

I.3) Origine des souches tests .....	09
I.4) Milieux de culture, appareils et réactifs .....	09
I.5) Revivification et vérification des souches utilisées .....	09
I.6) Préparation de l' <i>inoculum</i> standard des souches de LAB .....	10
I.7) Etude du pouvoir acidifiant des souches de LAB.....	13
I.8) Effet de la salinité (NaCl) sur la croissance des LAB .....	13
I.9) Etude du pouvoir protéolytique .....	14
I.10) Etude du pouvoir lipolytique .....	15
I.11) Etude du pouvoir texturant .....	17
I.12) Etude du pouvoir aromatisant .....	17

## **Résultats et discussion**

<b>II) Résultats et discussion .....</b>	<b>19</b>
II.1) Revivification et confirmation des souches bactériennes.....	19
II.1.1) Examen macroscopique .....	19
II.1.2) Examen microscopique .....	19
II.1.3) Test de catalase .....	20
II.2) Standardisation des inocula de souches de bactéries lactique .....	21
II.3) Étude de quelques aptitudes technologiques des souches lactiques .....	21
II.3.1) Pouvoir acidifiant et la cinétique de croissance .....	21
a) Le pouvoir acidifiant .....	21
b) L'acidité et la cinétique de la croissance .....	28
II.3.2) Effet du NaCl .....	30
II.3.3) Pouvoir protéolytique .....	30
II.3.4) Pouvoir lipolytique .....	33
II.3.5) Pouvoir texturant .....	34
II.3.6) Pouvoir aromatisant .....	34

**Conclusion** .....37

**Références bibliographiques**

**Annexes**

**Résumé**

Le secteur de l'industrie agroalimentaire utilise pour élaborer les aliments fermentés, un certain nombre d'auxiliaires technologiques, parmi lesquels les bactéries lactiques.

Les bactéries lactiques constituent un groupe hétérogène qui rassemble des bactéries capables de produire de l'acide lactique par un métabolisme fermentaire. Ce groupe de bactéries occupent des niches écologiques extrêmement variées et peuvent synthétiser une large gamme de composés, tels que les acides organiques, les peptides, les composés antimicrobiens et aromatiques et les exopolysaccharides. Ces métabolites peuvent contribuer aux caractéristiques organoleptiques, technologiques et nutritionnelles des aliments fermentés (Rigaux, 2008 ; Mozzi *et al.*, 2010).

Les bactéries lactiques sont parmi les plus importants groupes de micro-organismes utilisés dans les fermentations alimentaires. (Hikmate *et al.*, 2012).

L'intérêt des bactéries lactiques dans les aliments fermentés réside principalement dans certaines propriétés technologiques, à savoir, le pouvoir acidifiant qui a une influence importante sur la formation de coagulant et la gélification, ainsi que le pouvoir aromatisant, le pouvoir texturant, l'activité protéolytique et lipolytique qui ont un rôle bien déterminé sur la qualité organoleptique de l'aliment fermenté (Randazzo *et al.*, 2009).

Nous disposons d'un potentiel énorme en matière de bactéries lactiques locaux, mais leurs potentiels technologiques sont jusqu'à présent méconnus. De plus, en Algérie peu de données relatives aux potentiels technologiques des ferments subsistent. Ainsi, nous nous sommes intéressés à prendre en charge ce volet scientifique afin de contribuer à l'apport de renseignement pratique à ce sujet.

Dans ce contexte, l'objectif principal de notre étude est d'étudier certaines activités technologiques de quelques souches lactiques locales.

Pour bien aborder le thème, notre manuscrit est structuré en trois parties. La première partie sera consacrée à une synthèse bibliographique, qui portera sur les connaissances actuelles des bactéries lactiques. La seconde partie présente le matériel et les méthodes mis en œuvre dans le cadre de la réalisation de ce travail, où seront détaillés les procédés d'évaluation des aptitudes technologiques des souches lactiques locales. Les résultats obtenus au cours de cette étude seront ensuite exposés et discutés dans la troisième partie. Finalement, une conclusion générale permettra de récapituler les principaux résultats obtenus.

## I) Généralités sur les bactéries lactiques

### I.1) Définition et caractéristiques généraux des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques ont été définies par Orla-Jensen dans l'année 1919, elles rassemblent plusieurs genres caractérisés par leur aptitude à produire de l'acide lactique suite à la fermentation des glucides (sucre). Ce sont des cocci ou bâtonnets Gram positif, généralement immobile et asporulés. (Axelsson, 2004).

Ce sont des bactéries anaérobies mais aérotolérantes. Elles ont des exigences nutritionnelles complexes : les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels, les acides gras et les glucides fermentescibles (Dellaglio et al., 1994 ; Hogg, 2005).

Les bactéries lactiques utilisées dans les fermentations laitières peuvent être divisées en deux groupes sur la base de leur croissance optimale (Bissonnette et al., 2000). Les bactéries mésophiles avec une température optimum de croissance entre 20°C et 30°C et les thermophiles à partir de 50°C. Alors que la majorité de souches se développent à pH 4,0-4,5 (Jozala et al., 2005). A ces pH, beaucoup de bactéries communes ont leur croissance inhibée. Ces propriétés sont utilisées en agroalimentaire pour transformer la matière et empêcher le développement de la plupart des bactéries d'altération ou pathogènes. Il apparaît donc que les produits fermentés puissent être considérés comme « a faible risque » vis-à-vis des pathogènes courants. Cependant, il n'est pas exclu que des souches particulières d'une espèce de bactérie indésirable puissent se développer. D'autres microorganismes sont également connus pour se développer à pH acide, comme de nombreuses levures et moisissures (Neilsen et al., 2008).

Les bactéries lactiques sont dites :

- ❖ Homofermentaires : l'acide lactique est le seul produit de la fermentation du glucose ;
- ❖ Hétérofermentaires : la fermentation du glucose aboutit à la formation d'acide lactique et d'autres composés : éthanol, CO<sub>2</sub> et autres acides organiques. (Carr et al., 2002).

Les bactéries lactiques sont présentes à l'état libre dans l'environnement ou vivent en association avec un hôte, tel que l'Homme ou l'animal, dans un écosystème bactérien comme le tractus gastro-intestinal ou génital des mammifères. (Klein et al., 1998).

Elles sont ubiquistes et on les trouve dans différentes niches écologiques comme le lait et les produits laitiers, les végétaux, la viande, le poisson, les muqueuses humaines et animales et dans le tractus digestif Douault et Corthier, (2000) et ont été également retrouvées dans le sol, les engrais, et les eaux d'égout (Holzapfel *et al.*, 1995 ; Givry, 2006).

Selon Dasmazeaud, (1992), les espèces du genre *Streptococcus* ; *Lactococcus* et *Leuconostoc* se rencontrent plutôt chez les hommes ainsi que chez les animaux. Dans le domaine laitier. Elles existent en quantité considérable. Les espèces du genre *Lactobacillus* sont encore plus répandues dans la nature ; par exemple : on les trouve chez les végétaux ; on les trouve aussi dans l'intestin des animaux et de l'homme. Elles sont également isolées des cavités naturelles d'organismes (Cavités buccal et cavités vaginales).

## **I.2) Classification des principaux genres de bactéries lactiques**

### **I.2.1) Le genre *Lactobacillus***

*Lactobacillus* est le genre principal de la famille des Lactobacillaceae, il contient de nombreuses espèces qui sont des agents de fermentation lactique intervenant dans de nombreuses industries ou elles sont rencontrées comme contaminants. Il s'agit de bacilles longs et fins (parfois incurvés) souvent groupés en chaînes, immobiles, asporulés, catalase négative, se développent à un optimum de température situé entre 30 et 40°C. Les Lactobacilles ont des exigences nutritionnelles très complexe en acide aminé, en vitamines, en acide gras, en nucléotides, en glucides et en minéraux (Khalid et Marth, 1990 ; Leclerc *et al.*, 1994).

### **I.2.2) Le genre *Lactococcus***

Le genre *Lactococcus* est formé de bactéries à Gram positif dont les cellules, en forme de coques, sont associées par paires ou en chaînettes de longueur variable. Elles sont dépourvues de catalase et ne sont pas capables d'utiliser l'oxygène mais se multiplient en sa présence (anaérobies aérotolérantes). Ces bactéries sont thermosensibles et ne peuvent pas croître en présence de 6,5% de NaCl ou à pH 9,6. Leur température optimale de croissance s'étend de 25 à 35°C, respectivement pour les souches de *Lc. cremoris* et *Lc. lactis*. Les *Lactococcus* sont capables de croître à 10°C mais pas à une température supérieure à 40°C. (Dellaglio *et al.*, 1994).

Le genre *Lactococcus* représente les Streptocoques dits « lactiques », car ils sont associés à de nombreuses fermentations alimentaires et ne possèdent aucun caractère pathogène. Les

produits végétaux constituent leur réservoir principal, mais ils sont largement présents dans le lait et les produits laitiers. (Pilet et *al.*, 2005).

### **I.2.3) Le genre *Leuconostoc***

Ils rassemblent les coques lenticulaires en paires ou en chainettes mésophiles, qui possèdent un caractère hétérofermentaire marqué, avec production d'acide lactique (isomère D), de CO<sub>2</sub> et d'éthanol. Les caractéristiques telles que l'hydrolyse de l'esculine, la formation de dextrane, les conditions de croissances, la capacité à croître à différents pH et température, l'assimilation de citrate et/ou malate permettent la différenciation entre les genres *Leuconostoc* et *Weissella*. (Pilet et *al.*, 1998 ; Ho et *al.*, 2007).

Le développement des *Leuconostoc* entraîne souvent l'apparition d'une viscosité dans le milieu grâce à la production des expolysaccharides. Les *Leuconostoc* principalement *Ln. mesenteroides ssp. cremoris* et *Ln. Lactis* sont utilisés en association avec les Lactocoques dans l'industrie laitière pour produire en plus de l'acide lactique et le CO<sub>2</sub>, des substances aromatiques telles que le diacétyle et l'acétoïne à partir des citrates du lait. (Hassan et Frank, 2001 ; Guirand, 2003 ; Ogier et *al.*, 2008).

### **I.2.4) Le genre *Streptococcus***

La seule espèce de streptocoque qui soit utilisée en technologie alimentaire est *Streptococcus thermophilus*. (Stiles et Holzappel, 1997).

*Streptococcus thermophilus* se différencie par son habitat (lait et produits laitiers) et son caractère non pathogène. La résistance à la température, la capacité de croître à 52°C et le nombre limité des hydrates de carbone permettent de distinguer le *St.thermophilus* de la plupart des autres Streptocoques. (Haddie, 1986 ; Pilet et *al.*, 2005).

### **I.2.5) Le genre *Pediococcus***

Les *Pediococcus* sont des coques homofermentaires dont la particularité est le regroupement en tétrade. Ils sont mésophiles, le plus souvent incapable d'utiliser le lactose, et leur développement nécessite la présence de divers facteurs de croissance. Certaines espèces se distinguent par leur capacité à se développer à des teneurs en sels très élevées, comme *Pediococcus halophilus*, renommé *Tetragenococcus halophilus* et *Tetragenococcus muriaticus* qui tolère jusqu'à 18% de NaCl. (Pilet et *al.*, 2005).

## II) Propriétés technologiques des bactéries lactiques

### II.1) Activité acidifiante (production d'acide lactique)

La quantité d'acide lactique élaborée varie selon le genre, l'espèce bactérienne et les conditions de culture. Dans le lait, *Lb.helveticus* produit 2 à 2,7% d'acide lactique, alors que *Lb.delbrueckii ssp.bulgaricus* et *Lb.delbrueckii ssp. Lactis* ne produisent au maximum que 1,8%. Chez *Sc .thrmophilus*, la quantité d'acide lactique formé atteint, en général, 0,5 à 0,6%. (Dellaglio et al., 1984).

La plupart des micro-organismes du lait sont capables de fermenter le lactose en produisant une acidification qui entraîne la coagulation de la caséine : *Lactococcus lactis*, *Enterococcus faecalis* ; *Lactobacillus*. (Bourgeois et al., 1991).

Le pouvoir acidifiant des bactéries lactiques permet la coagulation du lait (en facilitant l'action de la présure) et l'augmentation de la synérèse du caillé; la participation aux propriétés rhéologiques du produit final; l'inhibition de la croissance des bactéries nuisibles.

(Papamanoli et al., 2003).

La fonction acidifiante constitue la propriété métabolique la plus recherchée des bactéries lactiques utilisées dans les industries alimentaires. Elle se manifeste par la production de l'acide lactique à partir de la fermentation des hydrates de carbone au cours de la croissance bactérienne. (Mäyrä-Mäkinen et Bigret, 2004 ; Monnet et al., 2008).

Les conséquences, d'ordre physico-chimique et microbiologique (Béal et al., 2008) peuvent se résumer comme suit :

- Accumulation d'acide lactique participant à la saveur des aliments fermentés ;
  - Abaissement progressif du pH des milieux de culture et des matrices alimentaires ;
  - Limitation des risques de développement des flores pathogène et d'altération dans les produits finaux ;
  - Déstabilisation des micelles de caséines, coagulation des laits et participation à la synérèse.
- Pour un ferment donné, il s'agit de permettre une vitesse d'acidification élevée et/ou d'atteindre un niveau d'acidité finale prédéfinie. Le niveau d'acidité dépend des spécifications du produit, lesquelles vont conditionner le choix des souches. (Monnet et al., 2008).

### II.2) Activité protéolytique :

Le développement des lactocoques est limité par la disponibilité en acides aminés libres et en peptides assimilables donc par l'aptitude de leurs enzymes protéolytiques (protéases et peptidases) à dégrader les protéines du lait en molécules assimilables. En outre, ces enzymes protéolytiques participent au développement des caractéristiques organoleptiques des produits fermentés.

L'activité protéolytique des bactéries lactiques est faible comparativement aux autres genres bactériens tels que *Bacillus* et *Pseudomonas*. Cependant, elles jouent un rôle capital : d'une part elles stimulent la croissance des bactéries lactiques en leur fournissant les acides aminés dont elles ont besoin et d'autre part, elles interviennent dans l'affinage du fromage, étape au cours de laquelle se développent les caractéristiques organoleptiques du produit. (Law et Kolstad, 1983 ; Gobbetti et Fox, 1996).

Le système protéolytique des bactéries lactiques est composé de protéases associées à la paroi cellulaire, qui catalysent l'hydrolyse de protéines en peptides contenant de 7 à 16 résidus aminés. (Law et Haandrikman, 1997).

Les bactéries lactiques possèdent des protéinases et des peptidases nécessaires à la dégradation des protéines du lait en peptides et acides aminés, Ceux-ci peuvent alors être transformés en alcools et en acides. Cette activité protéolytique intervient de ce fait sur le rendement fromager, la texture et la saveur typique du fromage et par conséquent sur les caractéristiques du produit final. (Buist et *al.*, 1998).

Les bactéries lactiques démontrent des potentialités différentes, liées à leur équipement enzymatique, pour l'utilisation de la fraction azotée. Les lactobacilles présentent généralement une activité protéolytique plus prononcée que les lactocoques. (Donkor et *al.*, 2007 ; Monnet et *al.*, 2008 ; Roudj et *al.*, 2009).

### **II.3) Activité lipolytique**

Les propriétés lipolytiques sont généralement faibles chez les bactéries lactiques, les lactocoques sont considérés comme plus lipolytiques que *Streptococcus thermophilus* et les lactobacilles. Elles peuvent cependant présenter un intérêt pour certaines applications fromagères. (Béal et *al.*, 2008).

D'une manière générale on distingue les estérases qui hydrolysent de façon préférentielle les esters formés avec les acides gras à chaîne courte (C2-C8) et les lipases qui sont actives sur des substrats émulsifiés contenant des acides gras à chaîne longue (>C8), ces enzymes sont impliquées dans l'hydrolyse de mono, di, et triglycérides. (Béal et *al.*, 2008 ; Serhan et *al.*, 2009).

## II.4) Pouvoir aromatisant et pouvoir gazeux

La fermentation lactique ne libère pas uniquement de l'acide lactique mais un mélange de composés « secondaires » carbonylés dont l'acétaldéhyde. L'acétoïne, l'acétone et le diacétyle qui confèrent aux produits laitiers leur arôme typique.

Chez les bactéries, l'acétaldéhyde est généralement converti en éthanol par une déshydrogénase. Cependant, chez certaines bactéries lactiques telles que les bactéries du yaourt, cette enzyme est absente et l'acétaldéhyde qui joue un rôle prépondérant dans l'élaboration de l'arôme du yaourt. Accolas et *al.*, (1980) ; Branger, (1990) s'accumule dans le produit. Diacétyle représente le composé clef de l'arôme du beurre et de crème. (Branger, 1990).

Il est important de signaler que la production de composés aromatiques est fortement influencées par le type de souche, la température et la durée d'incubation et de stockage du lait fermenté.

Les bactéries lactiques sont capables de produire de nombreux composés aromatiques (tels que : l'acétolactate, l'acétaldéhyde, le diacétyle, l'acétoïne et 2,3-butanediol, l'éthanol, l'acétate, le formiate, ...etc.) principalement à partir du lactose, du citrate, des acides aminés et des matières grasses. Cette fonctionnalité est particulièrement importante lors de l'élaboration des laits fermentés, des fromages frais, crèmes et beurre, dont l'arôme principal est lié à cette activité microbienne. (Bourgeois et Larpent, 1996 ; Gerrit et *al.*, 2005 ; Cholet, 2006).

Certaines bactéries lactiques sont capables de produire des composés d'arômes qui participent aux qualités organoleptiques des fromages. La plupart des composés d'arôme sont issus du métabolisme du citrate, l'acétoïne et le diacétyle sont les plus importants. (Georgalaki et *al.*, 2002).

## II.5) Pouvoir texturant

L'acidification du lait provoque la formation d'un caillé plus ou moins ferme selon les bactéries lactiques présentes. Selon les produits, la texture recherchée est ferme (yaourt ferme) ou onctueuse (yaourt brassé ; kéfir). Pour obtenir une consistance déterminée ; l'utilisation des souches plus ou moins acidifiantes peut être couplée à celle des souches productrices de polysaccharides. (Satura et Federighi, 1998).

La capacité des bactéries lactiques à synthétiser des exopolysaccharides (EPS) joue un rôle important pour la consistance et la rhéologie des produits transformés. Les *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* produisant des EPS sont utilisés dans la

fabrication des yaourts, ceci afin d'améliorer la texture, éviter la synérèse et augmenter la viscosité des produits finis. L'utilisation des EPS produits par les souches *Lc. lactis* ssp. *cremoris* est très prometteuse pour la structure et la viscosité des produits laitiers fermentés (Leroy et De Vuyst, 2004 ; Ho et *al.*, 2007).

## **I) Matériel et méthodes**

### **I.1) Lieu d'étude**

Notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie (N° 1) bloc 9 de la faculté des sciences de la nature et de la vie (Université Abderrahmane Mira de Bejaïa), sous la direction du Dr. FARADJI-HAMMA S.

### **I.2) Objectif de travail**

L'objectif portera sur l'étude de quelques propriétés technologiques de souches de bactéries lactiques isolées de l'ben traditionnel.

### **I.3) L'origine des souches tests**

Nous avons utilisé 34 souches lactiques (17 de Lb, 4 de P, 4 de Lc, 1 de St, 8 de Ln) pour la réalisation de cette étude, qui font partie de la collection de souches du laboratoire de microbiologie appliquée (laboratoire de microbiologie du lait et des probiotiques) de l'université d'Abderrahmane Mira de Bejaïa, elles ont été isolées à partir du l'ben traditionnel et identifiées par le Docteur FARADJI puis conservées sur bouillon MRS à 4°C. (**Voir tableau I, l'annexe IV**).

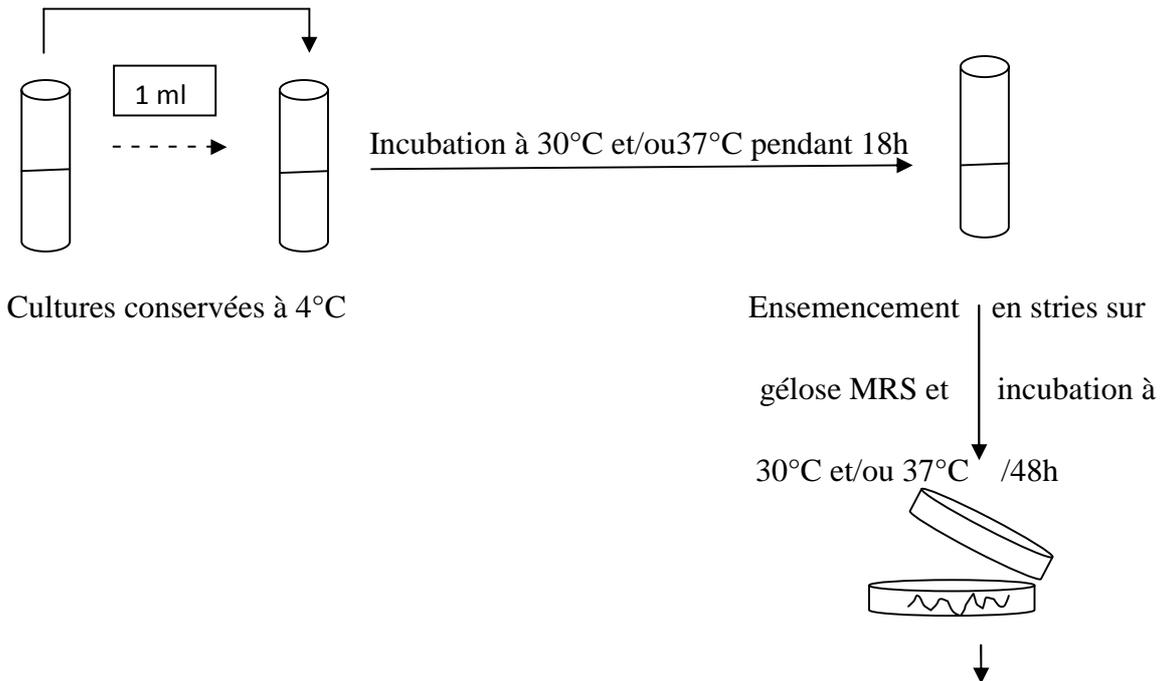
### **I.4) Milieux de culture, appareils et réactifs**

- Les milieux de culture ainsi que leur composition sont décrits dans l'Annexe I ;
- Le matériel et appareillages utilisés dans la présente étude sont cités dans l'Annexe II ;
- Les réactifs chimiques et solutions de titrage dans l'Annexe I.

### **I.5) Revivification et vérification des souches utilisées**

La revivification et la pureté des souches lactiques étudiées consiste à réaliser des repiquages successifs sur 9ml de bouillon MRS jusqu'à l'obtention des colonies bien distinctes et homogènes (**Figure 01**). La vérification de la pureté des souches sur milieu gélosé se fait par la méthode de stries. (Guiraud ,2003).

Repiquages successifs dans 9ml de bouillon MRS



Vérification de la pureté des souches (Aspect des colonies et des cellules, mode de regroupement, catalase)

**Figure 01 :** Revivification et vérification des souches test.

La pureté des souches est confirmée par des tests morphologiques et physiologiques selon (Guiraud, 2003). Ces différents tests sont résumés dans le (tableau II).

**Tableau II :** Tests de vérification de la pureté des souches utilisées.

Test
Aspect des colonies
Aspect des cellules
Mode de regroupement
Gram
catalase

### I.6) Préparation de l'*inoculum* standard des souches de LAB

Afin de pouvoir étudier les propriétés technologiques des bactéries lactiques isolées de l'ben traditionnel, une standardisation des *inocula* est indispensable.

Les *inocula* des souches de LAB (17 de Lb, 4 de P, 4 de Lc, 1 de St, 8 de Ln) sont revivifiés par ensemencement en stries sur gélose MRS. Après incubation à 30°C, 37°C (selon la température de croissance des souches utilisées) pendant 48 h, six colonies bien isolées sont repiquées dans 9 ml du bouillon MRS, puis incubées à 30°C et/ou à 37°C pendant 18 h.

Au terme de l'incubation, des dilutions décimales sont réalisées dans de l'eau physiologique ( $10^{-1}$  jusqu'à  $10^{-10}$  pour 0h, 2h et 4h), ( $10^{-1}$  jusqu'à  $10^{-11}$  pour 6h, 24h et 48h), 1 ml de chaque dilution ( $10^{-9}$  jusqu'à  $10^{-10}$  pour 0h, 2h et 4h), ( $10^{-9}$  jusqu'à  $10^{-11}$  pour 6h, 24h et 48h) est ensemencé en masse dans une gélose MRS. Un dénombrement est effectué après incubation à 30°C et/ou 37°C pendant 48 h. La (**figure 02**) récapitule les étapes de la standardisation des souches utilisées sur milieu MRS.

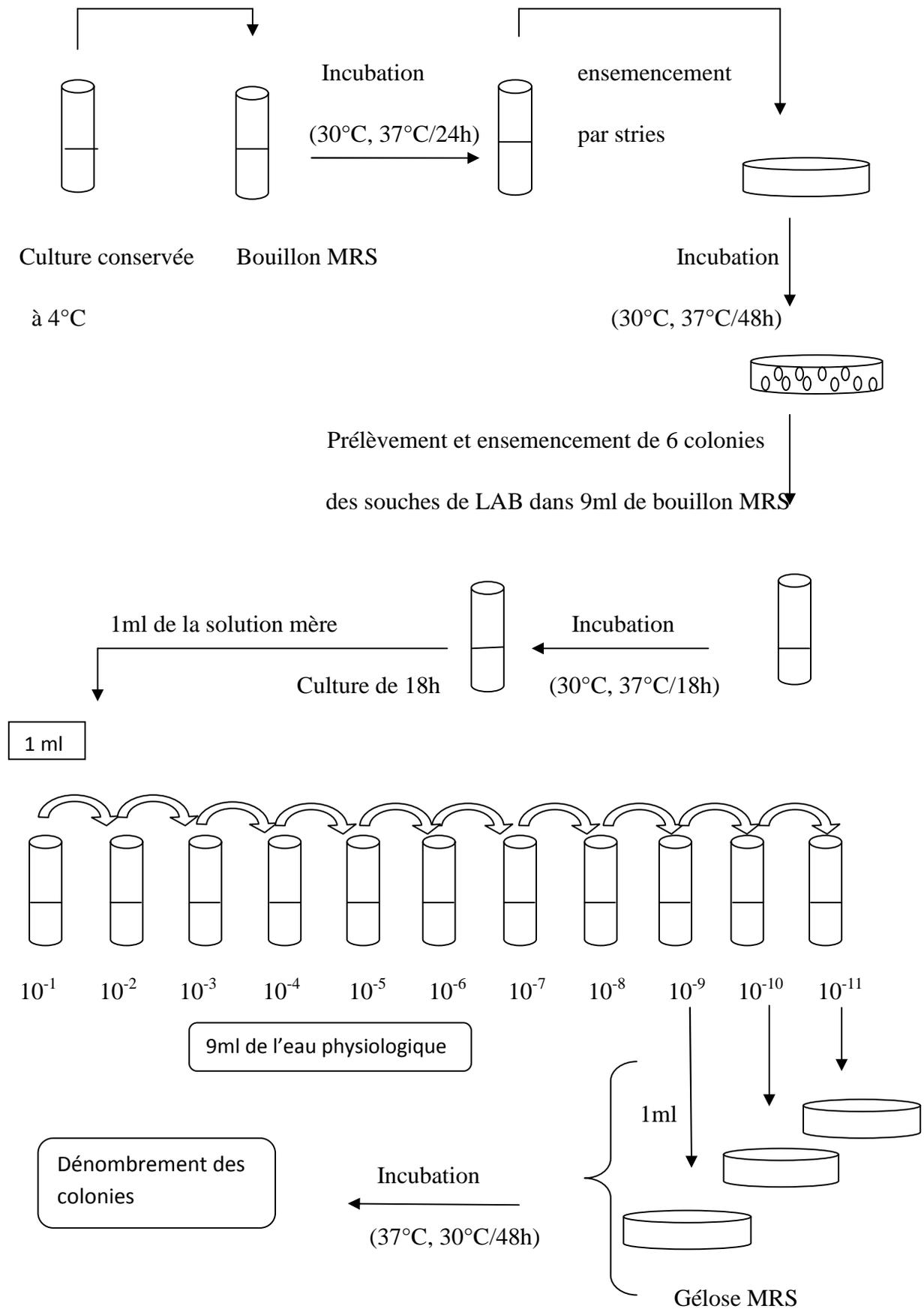
Formule de dénombrements :  $\frac{\text{le nombre des cellules}}{(n_1(0,1) + n_2) d}$

$$(n_1(0,1) + n_2) d$$

$n_1$  : nombre des boîtes de la première dilution

$n_2$  : nombre des boîtes de la deuxième dilution

$d$  : la première dilution



**Figure 02** : Standardisation des *inocula* de LAB.

## I.7) Etude du pouvoir acidifiant des souches de LAB

L'un des caractères technologiques essentiels des bactéries lactiques est leur aptitude à l'acidification du lait qui dépend de l'aptitude à la fermentation du lactose et de la résistance à l'acide développé dans le lait écrémé stérile.

La mesure de l'activité acidifiante consiste à suivre d'une part l'évolution du pH des différentes cultures en fonction du temps et d'autre part à doser simultanément l'acidité Dornic (Hadef, 2012).

Le pH produit par les souches isolées est mesuré à l'aide d'un pH mètre puis titré par le NaOH 1/9 N en présence d'un indicateur de pH (la phénolphthaléine 1%). Cette acidité est exprimée en degré Dornic (D°).

Un degré Dornic correspond à l'acidité apportée par 0,1g d'acide lactique dans un litre de lait.

Les cultures fraîches de 18 h des 34 souches de LAB ont été préparées à des taux de  $10^9$  UFC/ml.

Des séries de tubes de 9 ml du milieu MRS et de lait écrémé stérile (UHT) sont préparées. Chaque tube a étéensemencé par 1 ml de la culture fraîche des souches de BL. Ces séries serviront au suivi de l'acidification du milieu par mesure du pH ; La mesure a été prise après une attente de deux minutes afin de permettre la stabilisation de l'électrode et de l'acidité titrable titré jusqu'à l'apparition d'une couleur rose pâle persistante au moins 10 secondes. Ces dernières sont effectuées à 0 h, 2 h, 4 h, 6h, 24h et 48 h (Larpen, 1997).

L'acidité est déterminée par la formule : **Acidité (°D) = V NaOH x 10**

**V NaOH:** Volume de NaOH utilisé pour titrer l'acide lactique contenu dans les 10ml de lait.

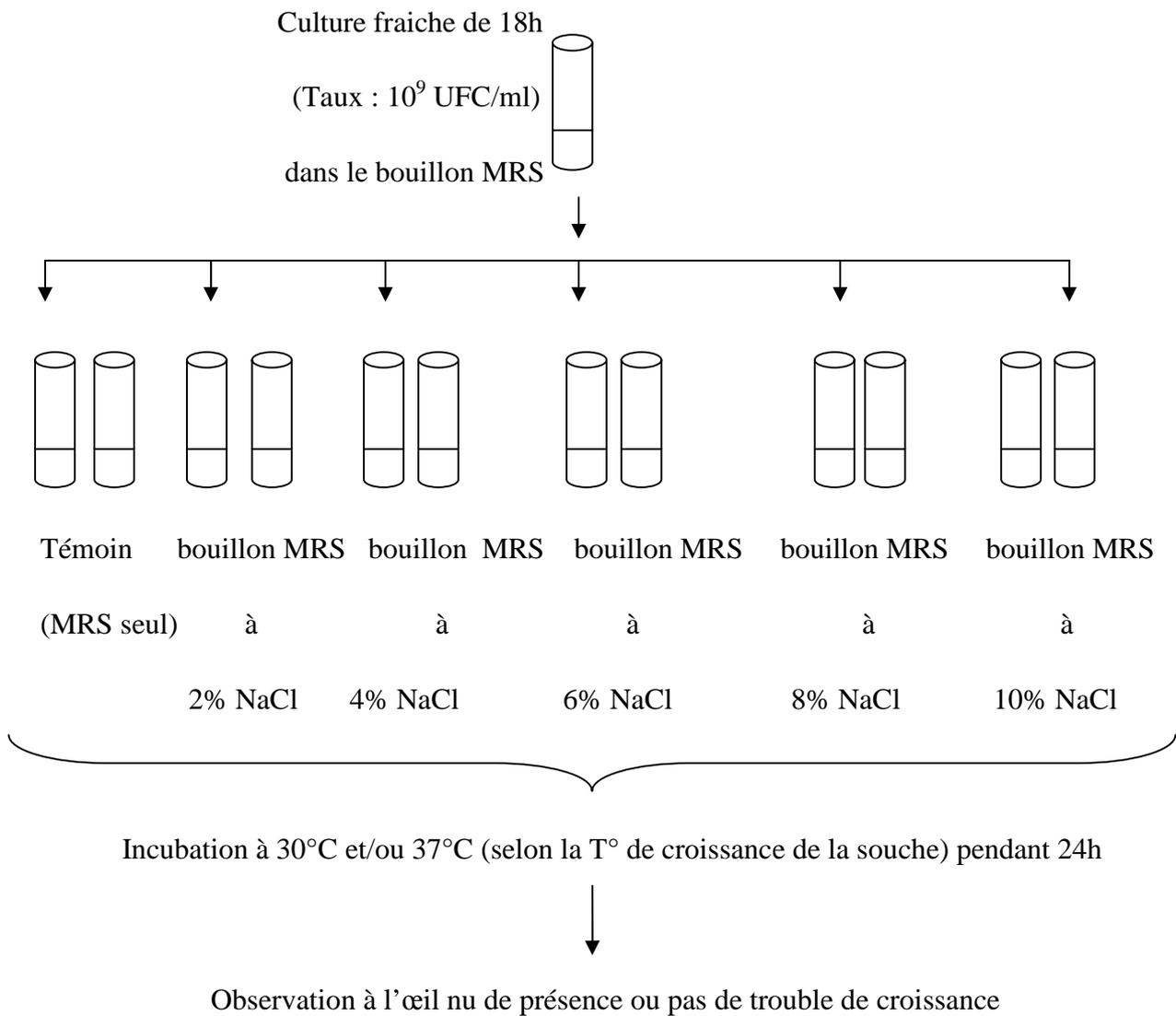
## I.8) Effet de la salinité (NaCl) sur la croissance des LAB

Préparation de Cinq flacons de 250 ml à raison de 100 ml du bouillon MRS et dont chacun est additionné respectivement par (2% ; 4% ; 6% ; 8% ; 10%) du NaCl puis chacun est ajusté à pH 6,5. (Badis et al., 2005).

Les cultures fraîches sontensemencées dans des tubes du bouillon MRS avec des concentrations du NaCl précédemment ajusté respectivement à 2%, 4%, 6% ; 8% et 10%. En

parallèle, des témoins de chaque souche (MRS sans NaCl) sont préparés dans les mêmes conditions.

Les tubes ensemencés sont incubés à 30°C et/ou 37°C (selon la T° de croissance de la souche) pendant 24 h, en terme de l'incubation, une observation à l'œil nu est effectuée afin d'estimer l'intensité du trouble de croissance puis comparer aux témoins. **(Figure 03).**

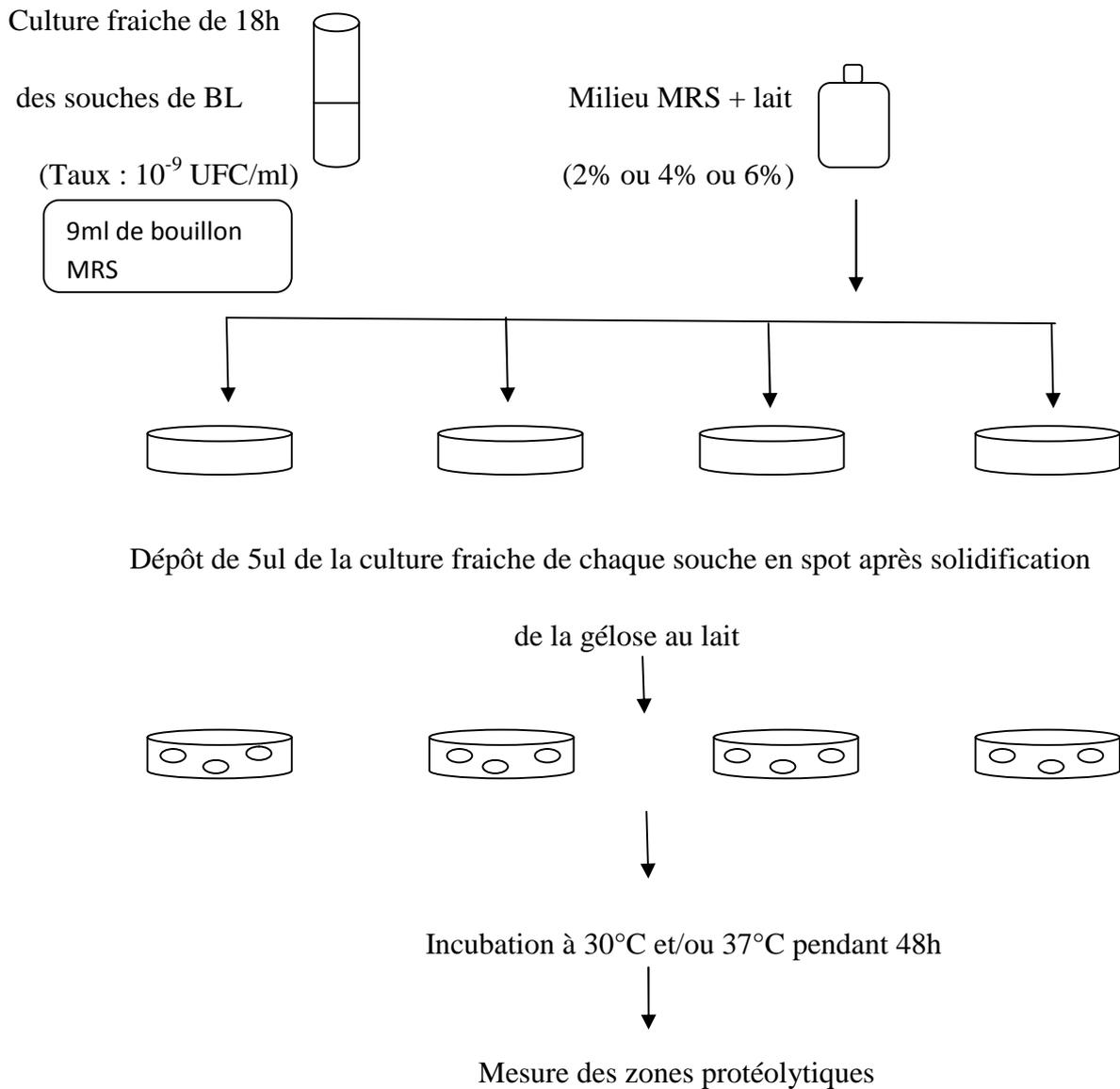


**Figure 03 :** Etude de l'effet du sel (NaCl) sur la croissance des LAB.

### I.9) Etude du pouvoir protéolytique

Afin d'évaluer l'activité protéolytique des 34 souches lactiques utilisées, 5ul de la culture fraîche de chaque souche ont été déposés en spot sur des géloses MRS préparées à 1%, 2% et 6% de lait écrémé. En termes d'une incubation à 30°C et/ou 37°C (selon la souche

utilisée) pendant 48h, les zones protéolytiques ont été mesurées (Veuillemard, 1986). (**Figure 04**).



**Figure 04** : Etude du pouvoir protéolytique.

### I.10) Etude du pouvoir lipolytique

Pour étudier le pouvoir lipolytique des 34 souches de LAB des cultures fraîches de 18h de ces dernières ont été préparées ;

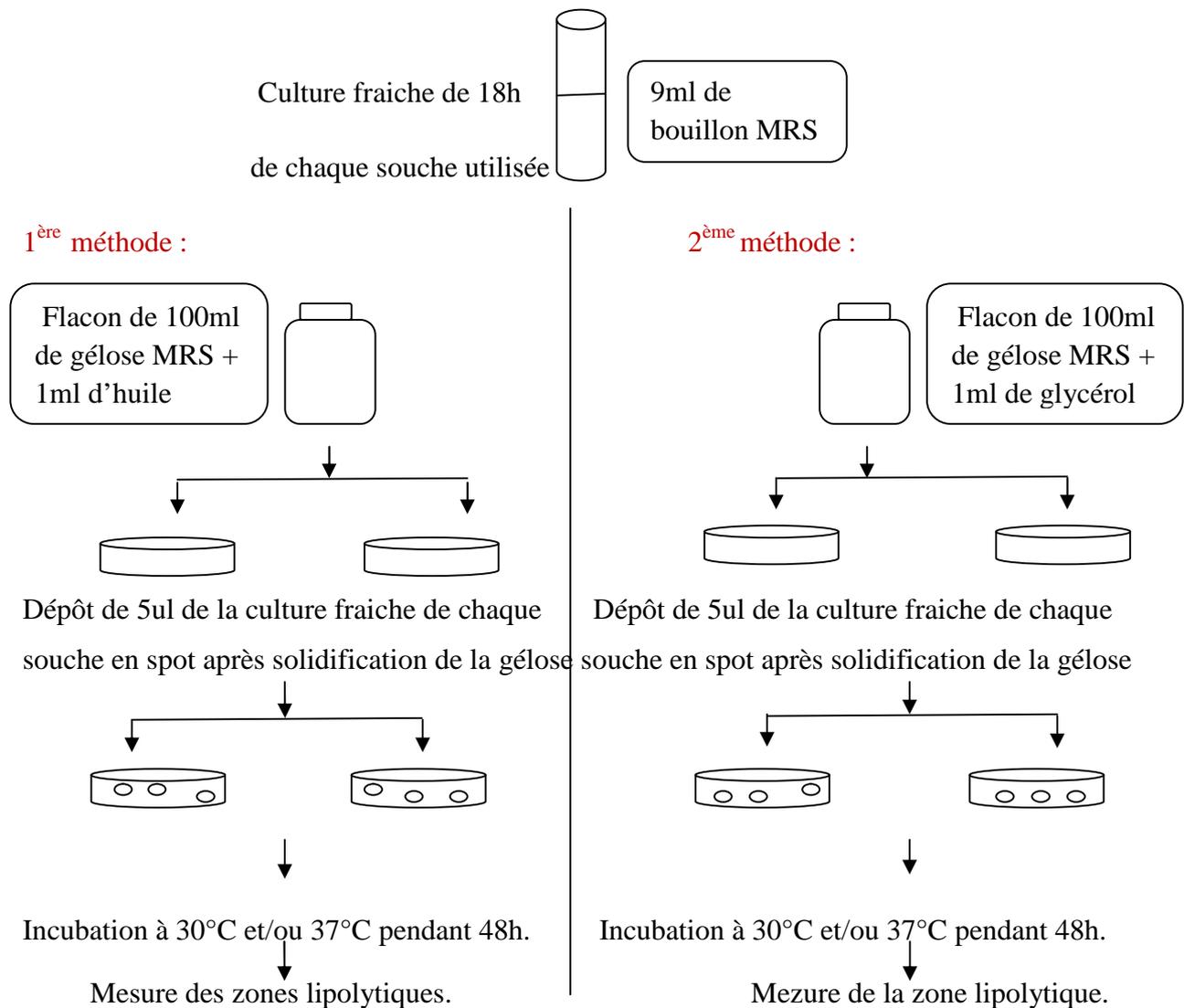
Nous avons utilisées pour ce test deux méthodes :

- La première méthode consiste à mettre en évidence la lipolyse sur gélose à l'huile d'olive (**annexe1**). Cette dernière a été coulée et solidifiée. 5ul de la culture fraîche de

chaque souche ont été déposés en spot sur des géloses MRS préparées à 1% d'huile d'olive. Après une incubation à 30°C et/ou à 37°C (selon la température de croissance des souches utilisées) pendant 48h, la lipolyse est révélée par une zone d'éclaircissement autour de souches testées. (Guiraud et Galzy, 1980). Afin de confirmer les résultats obtenus par cette méthode, un deuxième protocole est utilisé :

- La deuxième méthode consiste à utiliser une gélose au glycérol. Cette dernière a été coulée et solidifiée. 5ul de la culture fraîche de chaque souche ont été déposés en spot sur des géloses MRS préparées à 1% de glycérol. Une incubation à 30°C et/ou à 37°C a été effectuée pendant deux jours, l'existence de la lipolyse se traduit par la formation d'une zone transparente autour du spot des souches testées.

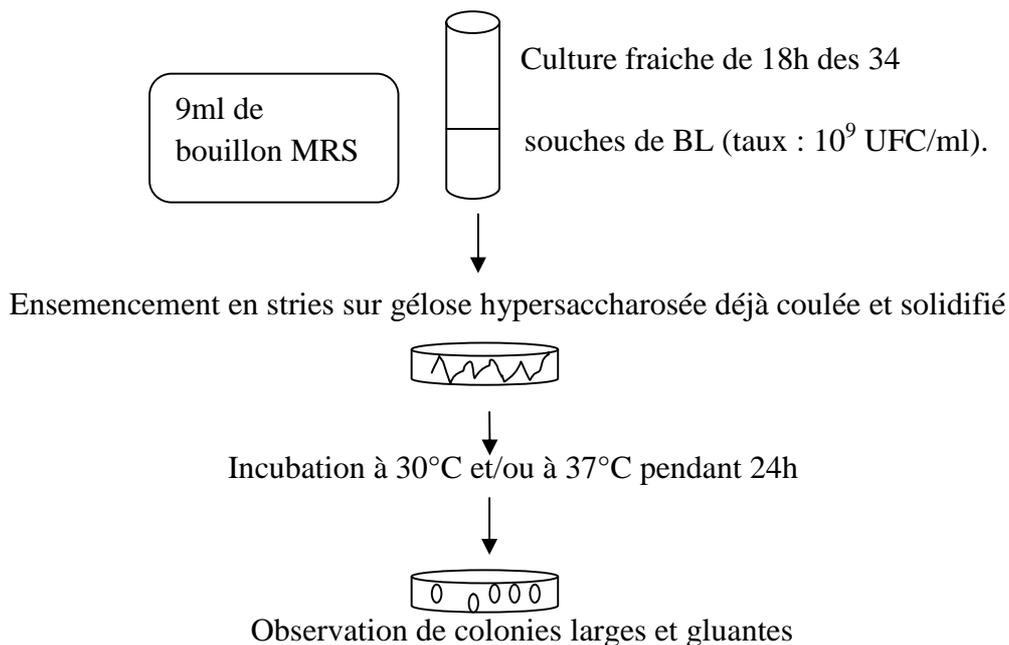
La (figure 05) montre les étapes des deux méthodes utilisées.



**Figure 05 :** Etude du pouvoir lipolytique.

### I.11) Etude du pouvoir texturant

- L'étude du pouvoir texturant nécessite à préparer des cultures fraîches des 34 souches de LAB.
- Les souches à tester ont étéensemencées en stries sur gélose hypersaccharosée (annexe 2) déjà coulée et solidifiée. Après incubation à 30°C et/ou à 37°C pendant 24h, la production des exopolysaccharides se manifeste par l'apparition de colonies larges et gluantes. (Leveau et al. 1991). La (figure 06) montre les étapes de test.



**Figure 06 :** Etude du pouvoir texturant.

### I.12) Etude du pouvoir aromatisant

Pour l'étude du pouvoir aromatisant nous avons utilisé deux méthodes distinctes, des cultures fraîches ont été préparées, un ensemencement de 1ml de culture fraîche dans des tubes de 9ml de lait écrémé stérile (Candia) a été effectué.

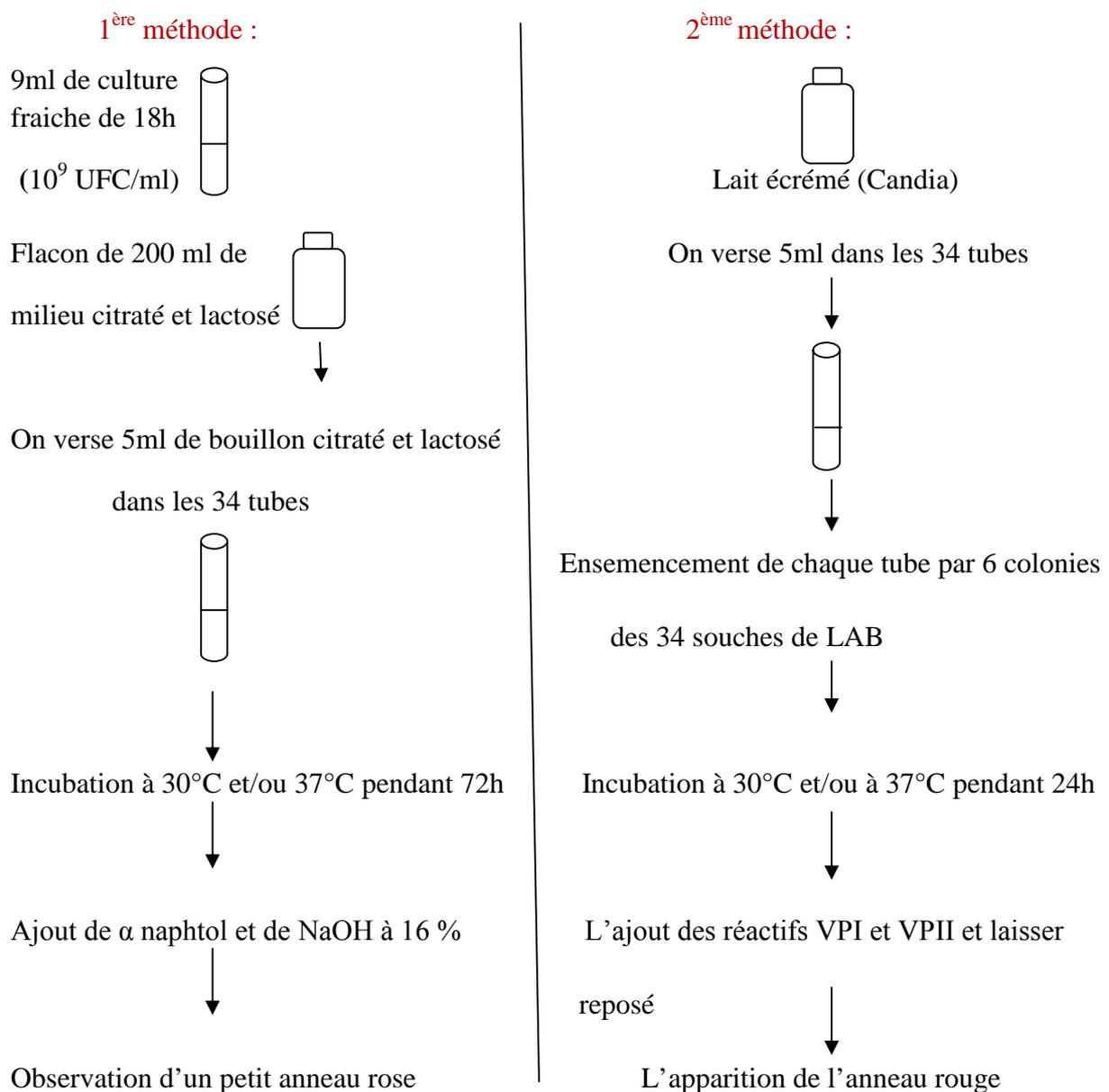
- Pour la première méthode, le pouvoir aromatisant a été détectée par la réaction de Voges Proskawer sur le bouillon lactosé et citraté. La mise en évidence de l'acétylméthylcarbinol (ou acétoine) est obtenue après une culture de 72 h à 30°C et/ou à 37°C. 1 ml de culture est additionné de 0,5 ml de réactif à l'α naphthol et 1 ml de NaOH à 16 % et laissés reposer. La présence de l'arome est mis en évidence par la

formation d'un petit anneau rouge. (Boumediene, 2013). Afin de confirmer les résultats obtenus par cette méthode, un deuxième protocole est utilisé :

- La deuxième méthode consiste à mettre en évidence l'activité aromatisante sur le lait écrémé. Pour ce faire, chaque tube contenant 5ml du lait écrémé stérile a étéensemencé par la culture fraîche d'une des souches utilisées.

Après incubation pendant 24h et coagulation du lait, les réactifs de Vogues-Proskaeur VPI et VPII ont été ajoutés et laissés reposer 1 minute. La présence d'arôme est révélée par l'apparition d'un anneau rouge. (HadeF, 2012).

La (figure 07) montre les étapes des deux méthodes.



**Figure 07 :** Etude du pouvoir aromatisant.

## II) Résultats et discussion

### II.1) Revivification et confirmation des souches bactériennes

#### II.1.1) Examen macroscopique

La revivification des 34 souches lactiques des 5 genres (*Lactobacillus (Lb)*, *Streptococcus (St)*, *Leuconostoc (Ln)*, *Pediococcus (P)*, *Lactococcus (Lc)*) a été réalisée sur bouillon et gélose MRS. Sur Bouillon, les souches ont présenté un trouble homogène. Après repiquage sur gélose et incubation à 37°C et 30°C (selon la T° de croissance de la souche) pendant 48h, l'aspect macroscopique des colonies a montré l'absence de contaminants avec la présence des colonies de forme circulaire, à pourtour régulier et de couleur blanche crème (**figure 08**).



**Figure 08** : Aspect macroscopique de LAB sur gélose et bouillon MRS.

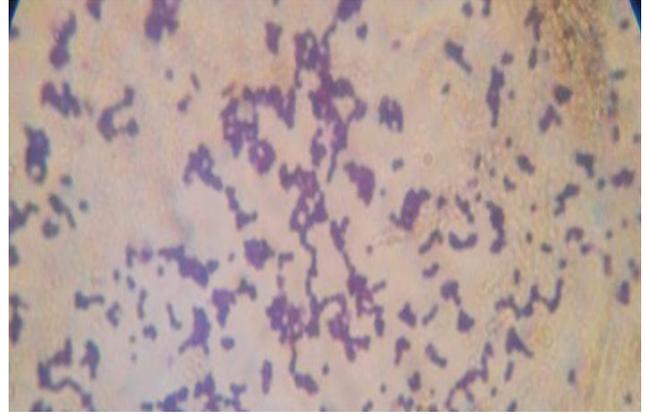
#### II.1.2) Examen microscopique

L'observation microscopique a révélé deux formes des cellules qui sont la forme de cocci pour les genres (*Pediococcus (P)*, *Leuconostoc (Ln)*, *Lactococcus (Lc)*, *Streptococcus (St)*) (Raynaud et al., 2003), la forme bâtonné pour le genre *Lactobacillus (Lb)* (**figure 09**). Sont disposées en paires, en chaînettes plus au moins longues ou isolés. Les résultats obtenus par la coloration de Gram confirment les observations macroscopiques. Les photos (A et B) montrent l'aspect des souches codées par Lb, P, Ln, Lc, St. L'observation microscopique des 34 souches de bactéries lactiques isolées sur milieu MRS est résumée dans (**tableau III ; Annexe IV**).

Les bactéries lactiques constituent un groupe de bactérie Gram positives, taxonomiquement hétérogène, anaérobie, aérobie, de forme coccoïde, bacillaire ou coccobacillaire, immobiles, dépourvues de catalase (Axelsson, 2004).



(A)



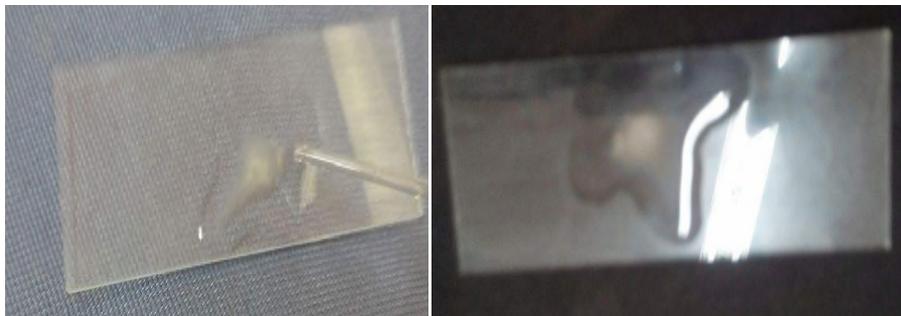
(B)

**Figure 09 :** Aspect microscopique des 34 souches de LAB. (A) la forme bâtonné, (B) la forme cocci (Gx100).

### **II.1.3) Test de catalase :**

L'activité catalytique permet la dégradation de l'eau oxygénée en oxygène et en eau, par la mise en contact des colonies avec quelques gouttes d'eau oxygénée (Guiraud, 2003). Un dégagement gazeux abondant sous forme de mousse, traduit la décomposition de l'eau oxygénée (Guiraud, 2003).

Le test est réalisé pour les 34 souches de BL des cinq genres. Les résultats montrent que toutes les souches testées se sont avérés à Gram positif et catalase négative ce qui est caractéristique des bactéries lactiques (**Figure 10**).



**Figure 10 :** résultat négative du test de catalase.

### **II.2) Standardisation des inocula**

Le but de la standardisation de l'inoculum, est d'avoir le même taux de cellules bactériennes vivantes dans 1ml de culture durant toute l'expérimentation.

Afin de pouvoir étudier les propriétés technologiques des 34 souches de bactéries lactiques, une standardisation des inocula de ces derniers est effectuée.

Après un dénombrements effectués pour les 34 souches de LAB, Les résultats sont regroupés selon les genres (*Lactobacillus (Lb)*,*Pediococcus (P)*,*Leuconostoc (Ln)*,*Lactococcus (Lc)*,*Streptococcus (St)*) dans le (tableau IV, Annexe V).

Les résultats de la standardisation des 34 souches montrent qu'à partir de 6 colonies, incubées à 30°C et/ou 37°C selon la T° de croissance des souches utilisées dans le bouillon MRS pendant 18 h, un inoculum de 10<sup>9</sup> UFC /ml est obtenu.

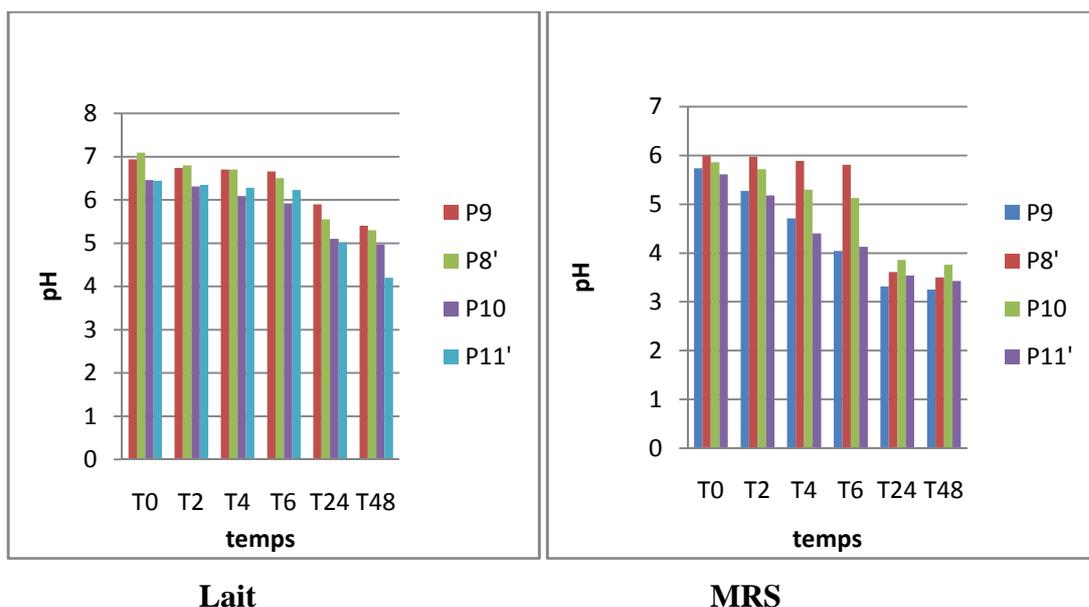
## II.3) Étude de quelques aptitudes technologiques des souches lactiques

### II.3.1) Pouvoir acidifiant et la cinétique de croissance

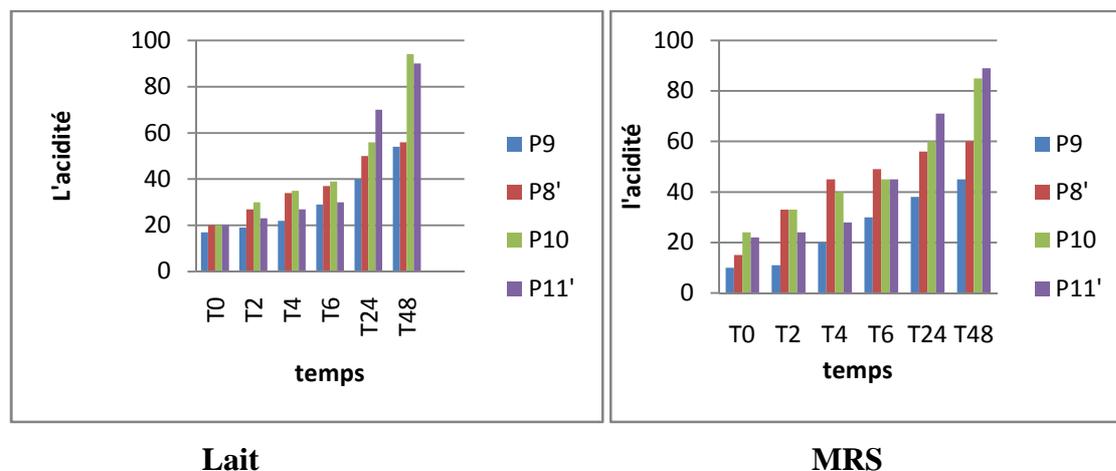
#### a) Le pouvoir acidifiant

L'activité acidifiante est l'une des principales fonctions des bactéries lactiques (Béal *et al.*, 2008). Elle a été déterminée en mesurant la quantité d'acide lactique produite et le pH du milieu chaque 2h (0h, 2h, 4h, 6 h) et à 24 h et après 48h. Les résultats obtenus sont illustrés dans les figures (11 à 22) qui montrent le suivi du pH et l'acidité des 34souches de BL par genres dans le lait et le bouillon MRS. Les résultats chiffrés de l'évolution du pH et de l'acidité dans le lait et le bouillon MRS sont résumés dans les (tableaux V, VI, VII, VIII ; Annexe VI).

Pour le genre *Pediococcus (P)* les figures (11,12) caractérisent l'évaluation de pH et d'acidité dans le lait et le bouillon MRS.



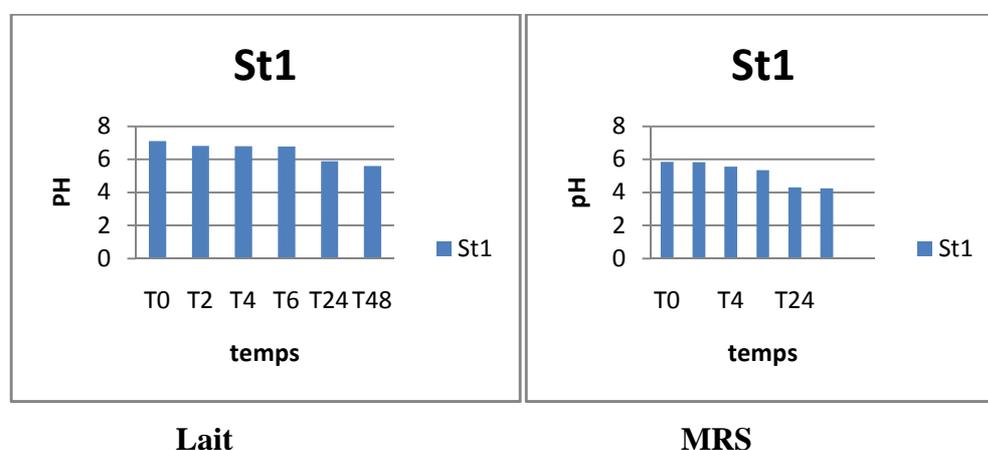
**Figure 11 :** Évolution du pH des souches de LAB du genre *Pediococcus* (*P*) dans le lait et le bouillon MRS selon le temps.



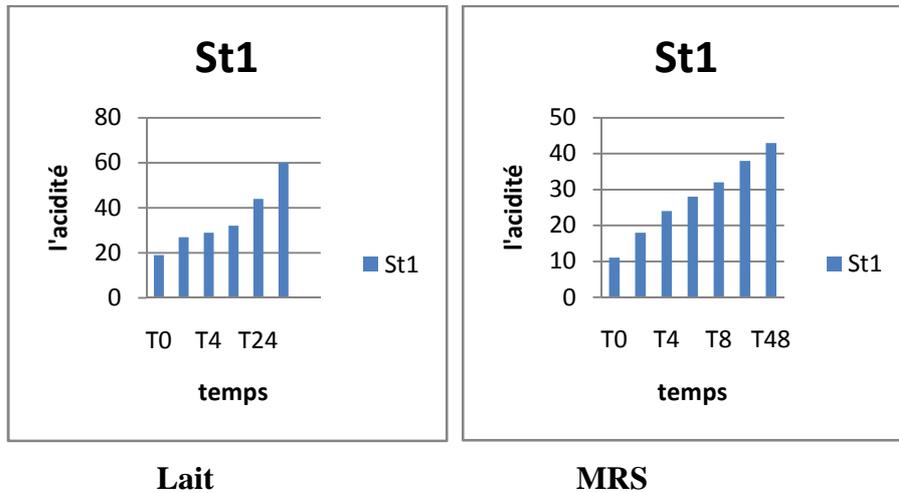
**Figure 12:** Évolution d'acidité des souches de LAB du genre *Pediococcus* (*P*) dans le lait et le bouillon MRS selon le temps.

Toutes les souches passent par une phase de stabilité (entre 0 et 6h) et durant cette phase les valeurs de pH se situent entre pH 7,09 et pH 5,92 dans le lait, entre pH 5,99 et pH 4,04 dans le bouillon MRS. Cependant les valeurs de l'acidité Dornic se situent entre 17°D et 39°D dans le lait, entre 10°D et 49°D dans le bouillon MRS. Néanmoins, une diminution progressive des valeurs de pH jusqu'au pH 4,2 dans le lait inoculé par la souche P<sub>11</sub>'. Un pH de 3,25 est obtenu dans le bouillon MRS ensemencé par la souche P<sub>9</sub>. Cependant une augmentation des valeurs de l'acidité Dornic, des valeurs de 94°D enregistré dans le lait inoculé par la souche (P<sub>10</sub>) et de 89°D dans le bouillon MRS obtenu par la souche (P<sub>11</sub>').

Pour le genre *Streptococcus* (*St*) les figures (13,14) caractérisent l'évolution de pH et d'acidité dans le lait et le bouillon MRS.



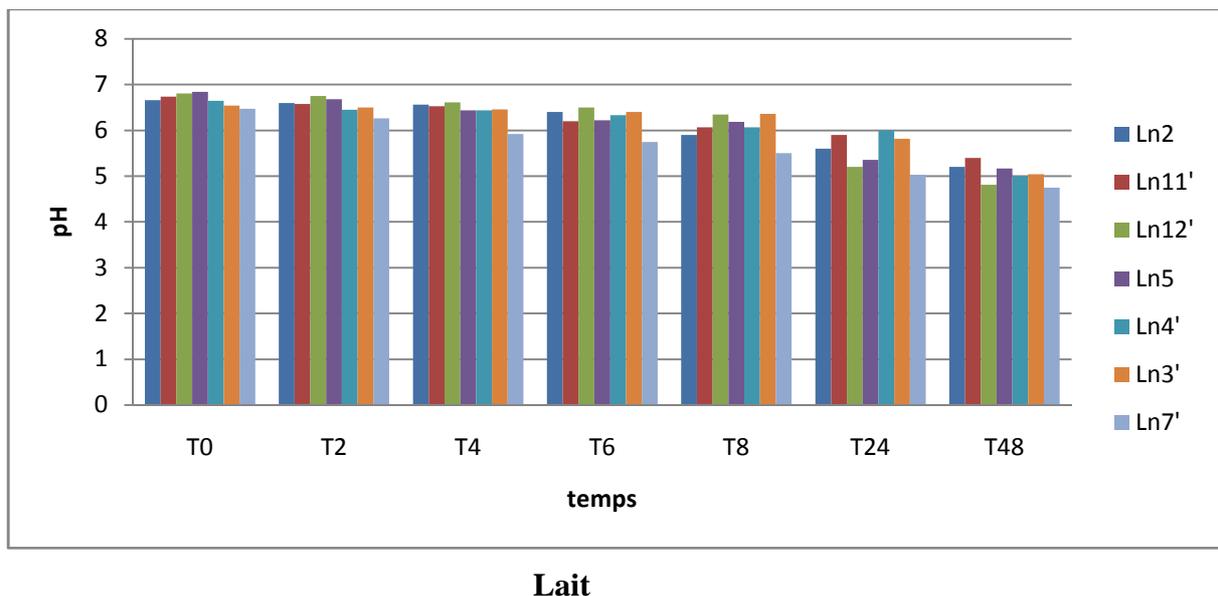
**Figure 13:** Évolution du pH des souches de LAB de genre *Streptococcus* (*St*) dans le lait et le bouillon MRS selon le temps.

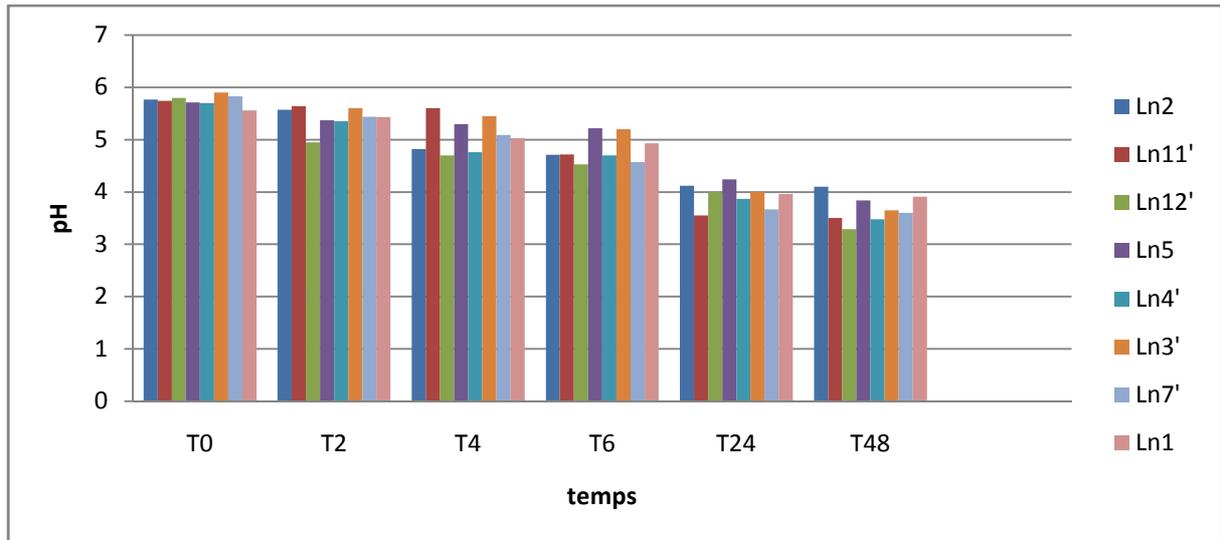


**Figure 14 :** Évolution d'acidité des souches de LAB de genre *Streptococcus* (*St*) dans le lait et le bouillon MRS selon le temps.

Les souches passent par une phase de stabilité (entre 0 et 6h) et durant cette phase les valeurs de pH se situent entre pH 7,11 et 6,46 dans le lait, entre pH 5,85 et 4,56 dans le bouillon MRS. Cependant les valeurs de l'acidité Dornic se situent entre 19°D et 30°D dans le lait, entre 11°D et 28°D dans le bouillon MRS. Néanmoins, une diminution progressive des valeurs de pH jusqu'au pH 5,6 dans le lait, pH 4,26 dans le bouillon MRS. Cependant une augmentation des valeurs de l'acidité Dornic jusqu'à 60°D dans le lait et 43°D dans le bouillon MRS.

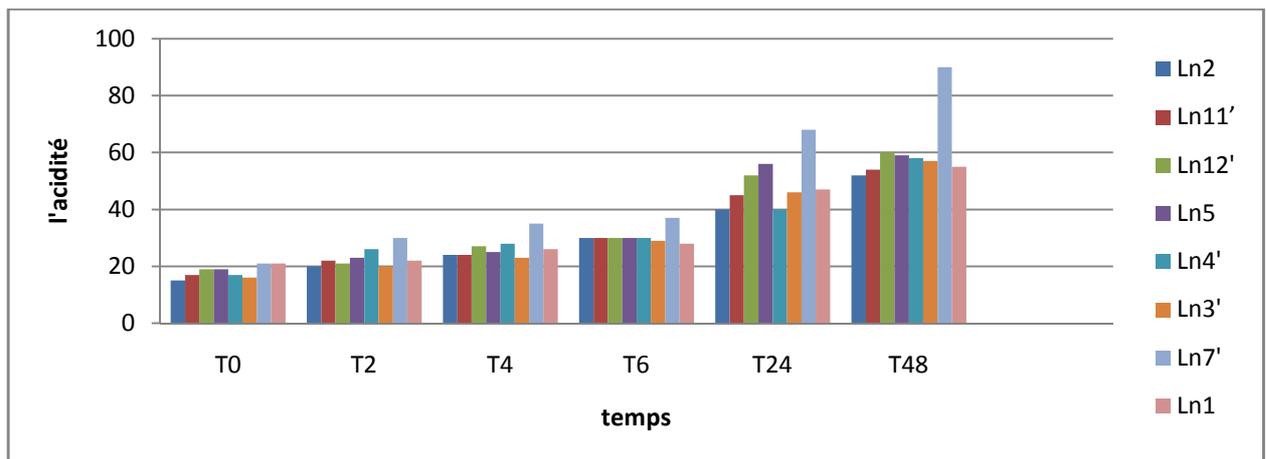
Pour le genre *Leuconostoc* (*Ln*) les figures (15,16) caractérisé l'évaluation de pH et d'acidité dans le lait et le bouillon MRS.



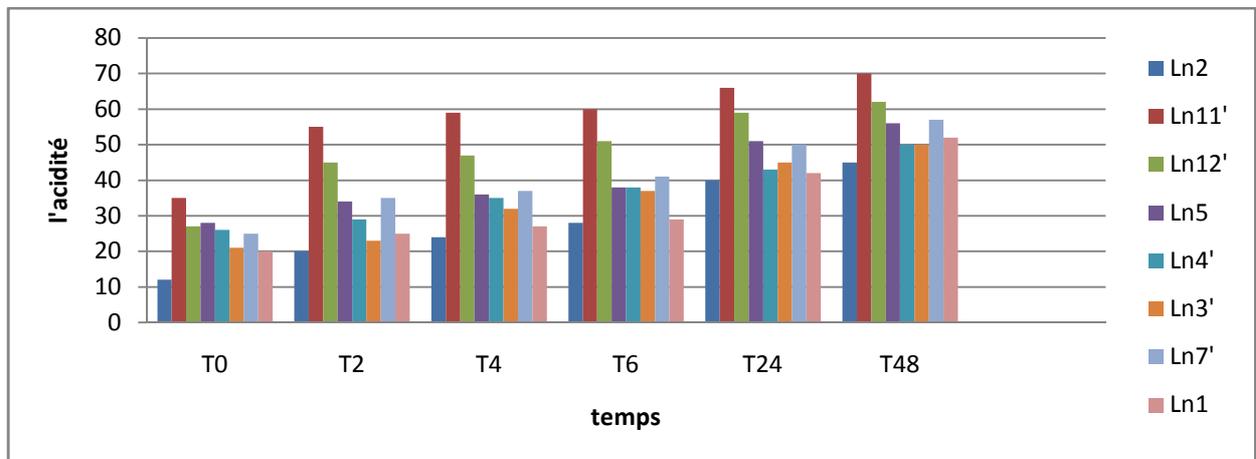


MRS

**Figure 15:** Évolution du pH des souches de LAB du genre *Leuconostoc* (*Ln*) dans le lait et le bouillon MRS selon le temps.



Lait

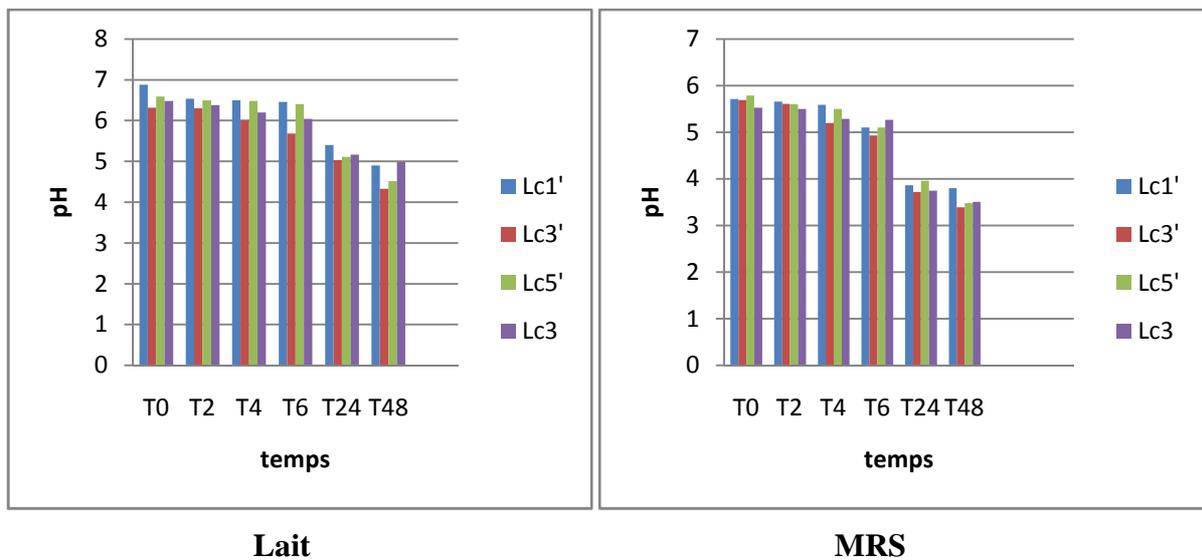


MRS

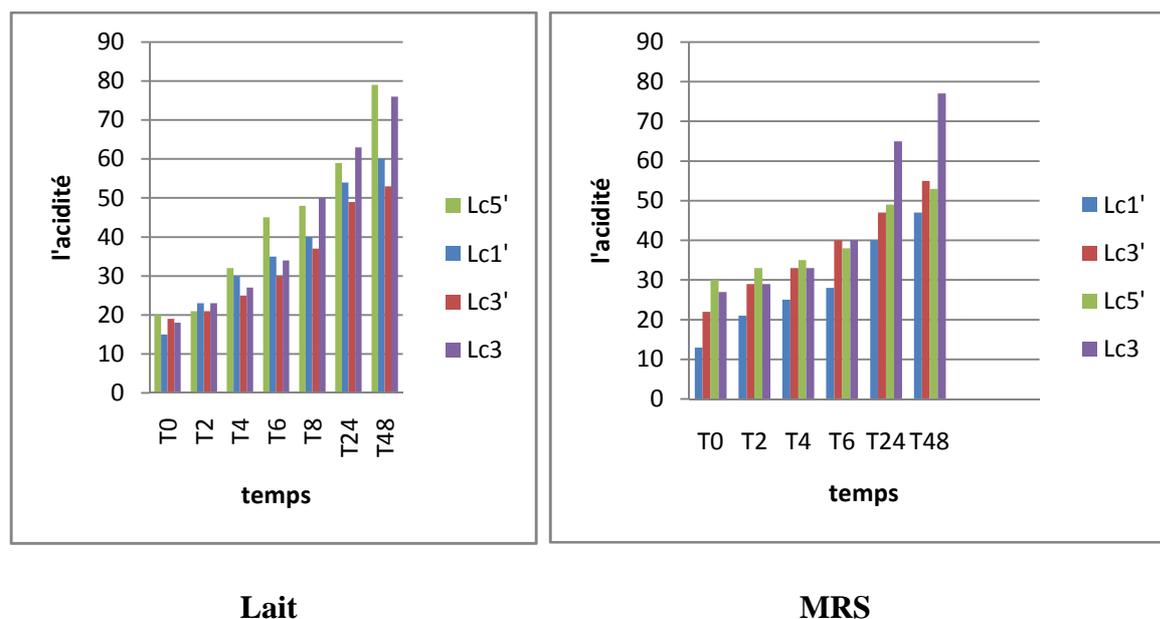
**Figure 16:** Évolution d'acidité des souches de LAB du genre *Leuconostoc* (*Ln*) dans le lait et le bouillon MRS selon le temps.

Les souches passent par une phase de stabilité (entre 0 et 6h) et durant cette phase les valeurs de pH se situent entre pH 6,47 et pH 5,75 dans le lait et de pH 5,56 à pH 4,57 dans le bouillon MRS. Cependant les valeurs de l'acidité Dornic se situent entre 15°D et 37°D dans le lait, entre 12°D et 60°D dans le bouillon MRS. Une diminution progressive des valeurs de pH jusqu'au pH 4,75 inoculé par la souche (*Ln*<sub>7</sub>') dans le lait. Cependant un pH de 3,29 et 3,5 sont obtenues dans le bouillon MRS pour les deux souches (*Ln*<sub>12</sub>', *Ln*<sub>11</sub>') respectivement. En parallèle, une augmentation des valeurs de l'acidité Dornic jusqu'à 90°D sont enregistré par la souche (*Ln*<sub>7</sub>') dans le lait et 62°D et 70°D sont enregistré par les deux souches (*Ln*<sub>12</sub>', *Ln*<sub>11</sub>') dans le bouillon MRS.

Pour le genre *Lactococcus* (*Lc*) les figures (17,18) montrent l'évaluation de pH et d'acidité dans le lait et le bouillon MRS.



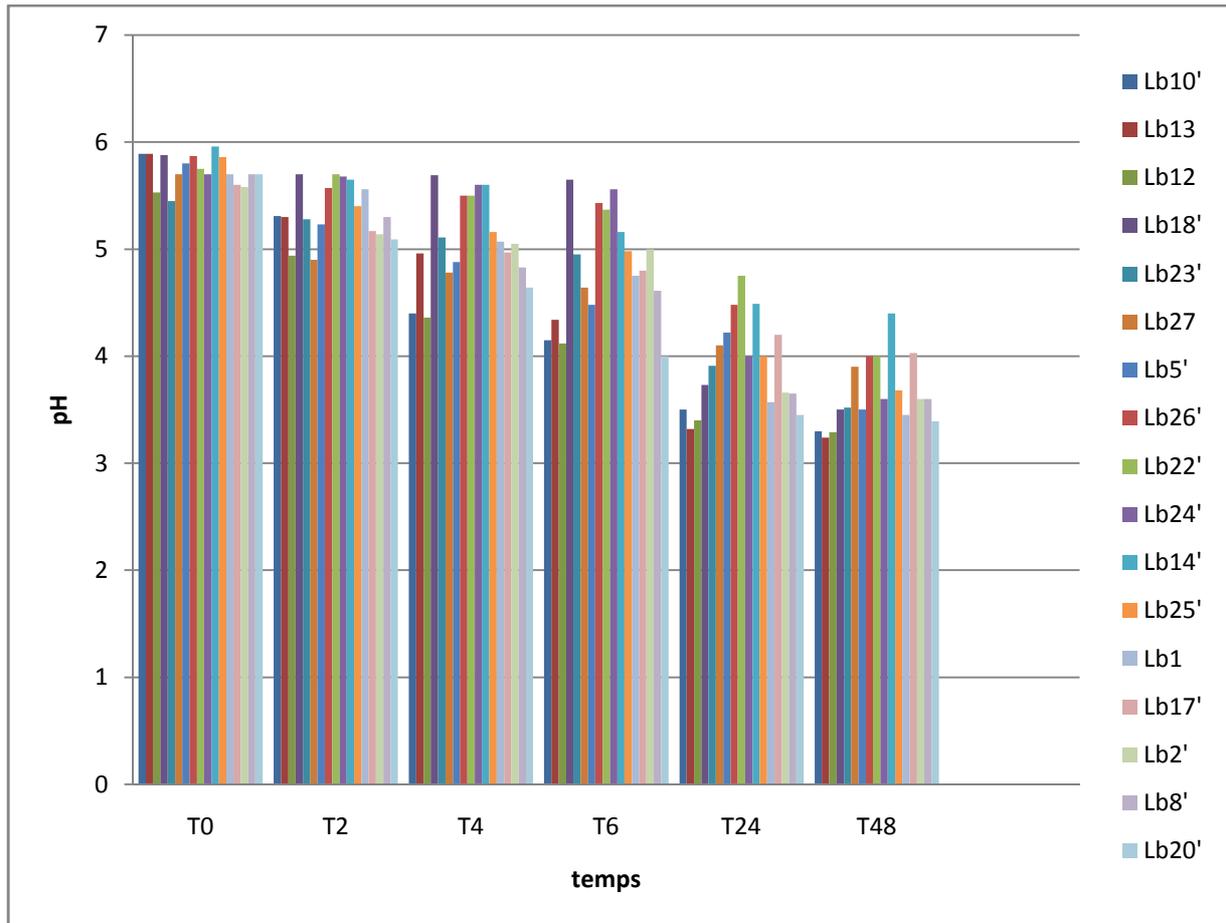
**Figure 17 :** Évolution du pH des souches de BL du genre *Lactococcus* (*Lc*) sur le lait et MRS selon le temps.



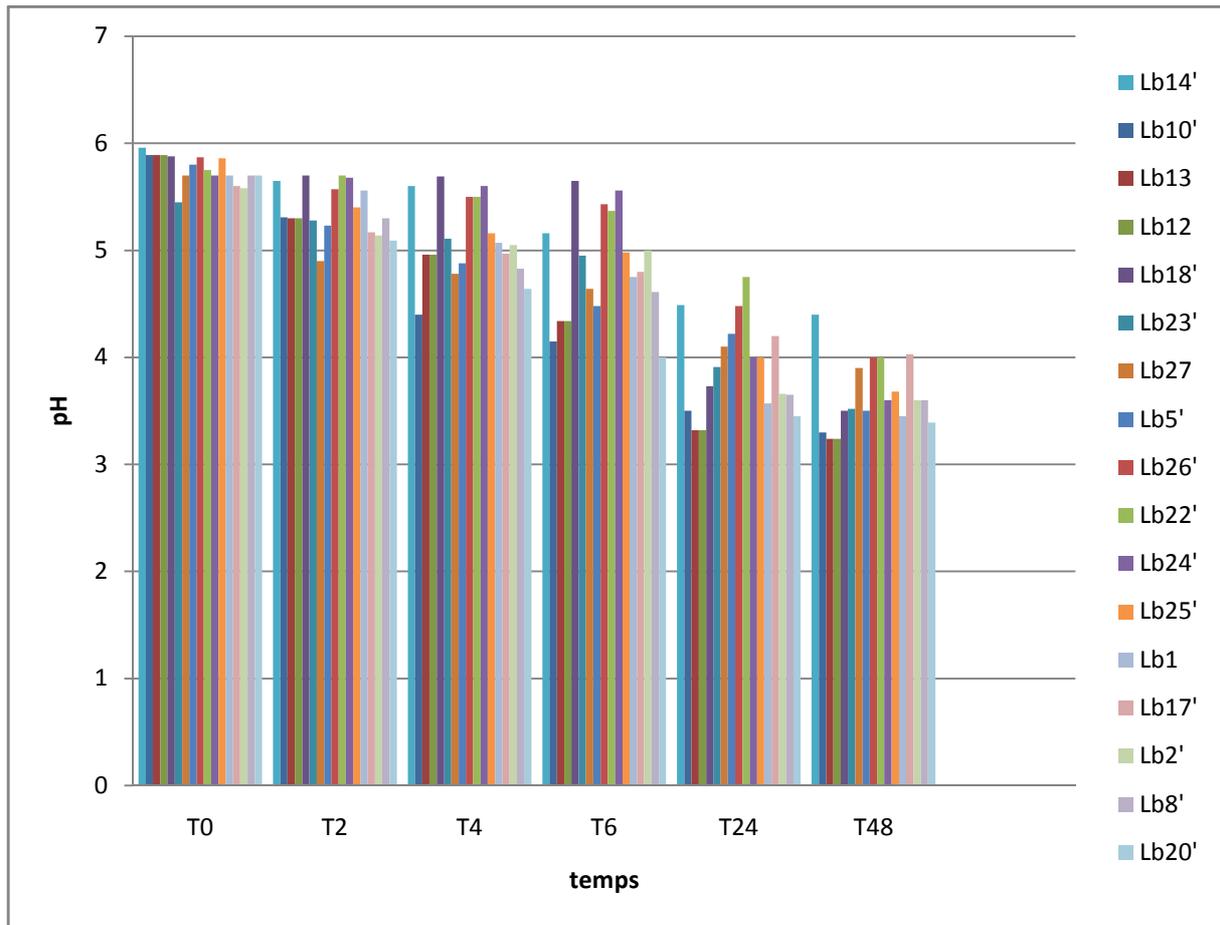
**Figure 18:** Évolution d'acidité des souches de LAB du genre *Lactococcus* (*Lc*) sur le lait et MRS selon le temps.

Toutes les souches passent par une phase de stabilité (entre 0 et 6h) et durant cette phase les valeurs de pH se situent entre pH 6,32 et pH 5,68 dans le lait, entre pH 5,53 et pH 4,93 dans le bouillon MRS. Cependant les valeurs de l'acidité Dornic se situent entre 15°D et 45°D dans le lait, entre 13°D et 40°D dans le bouillon MRS. A partir de 24h, des valeurs de pH allant jusqu'au pH 4,33 dans le lait et pH 3,39 dans le bouillon MRS sont obtenues par la souche (Lc<sub>3</sub>'). En parallèle, une augmentation des valeurs de l'acidité Dornic jusqu'au 76°D et 77°D sont notés par les deux souches (Lc<sub>3</sub>, Lc<sub>5</sub>') respectivement dans le lait. pour la souche Lc<sub>3</sub> l'acidité à atteint 77°D dans le bouillon MRS.

Pour le genre *Lactobacillus* (*Lb*) les figures (19,20) caractérisent l'évaluation de pH et d'acidité dans le lait et le bouillon MRS.



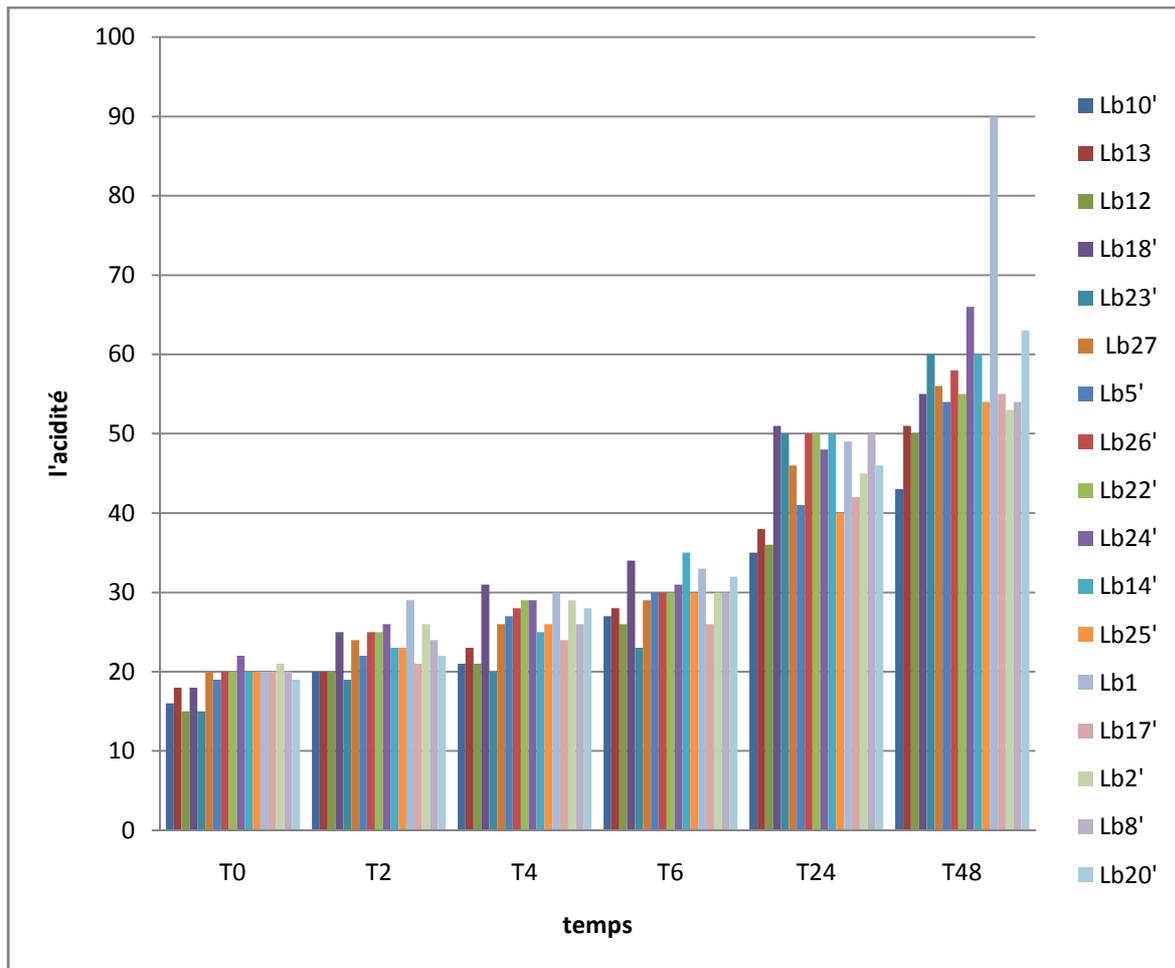
Lait



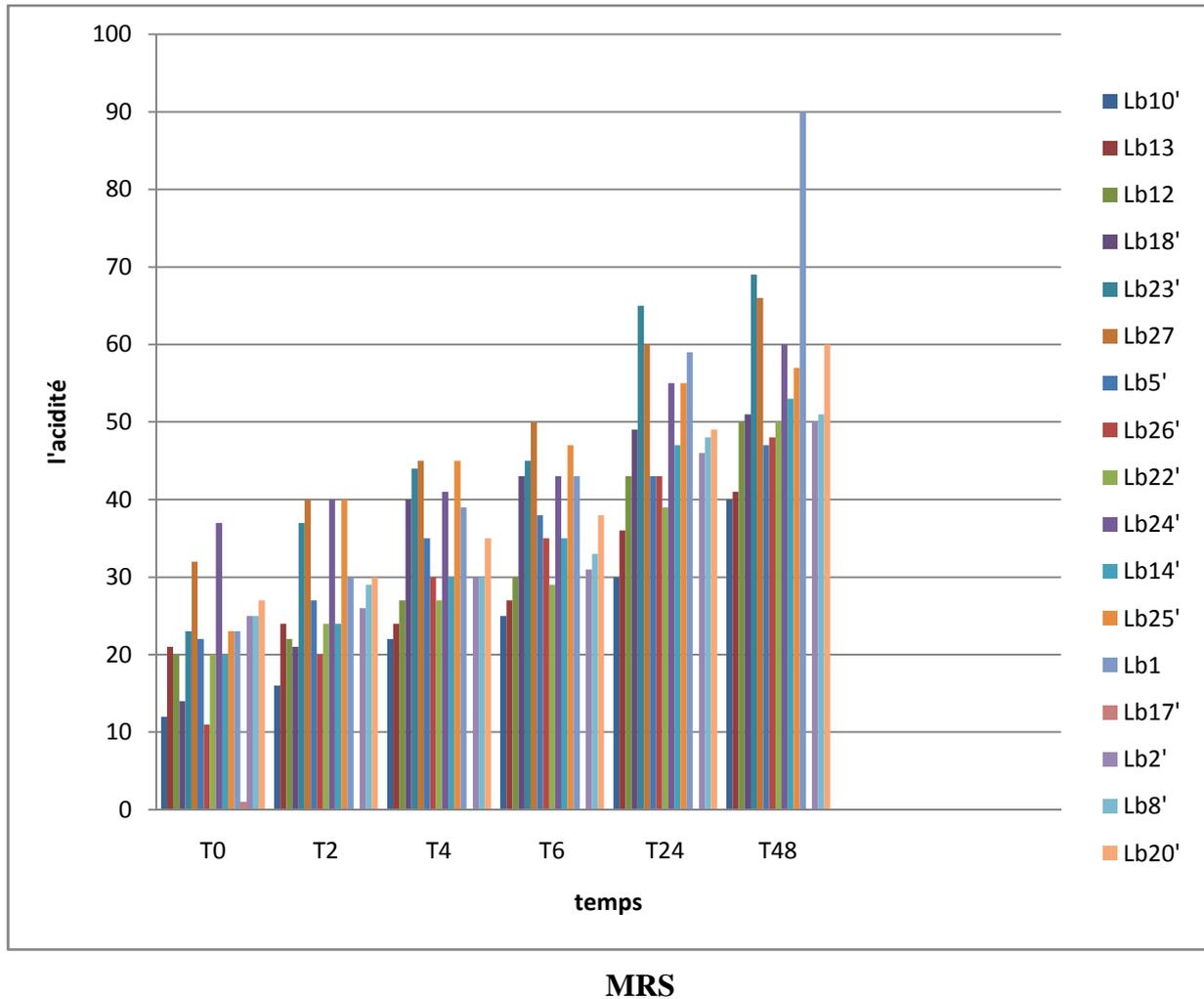
### MRS

**Figure 19 :** Évaluation du pH des souches de LAB du genre *Lactobacillus* (*Lb*) sur le lait et MRS selon le temps.

Toutes les souches de ce genre passent par une phase de stabilité (entre 0 et 6h) et durant cette phase les valeurs de pH de milieuensemencé par les souches de ce genre se situent entre pH 6,49 et pH 5,89 dans le lait, entre pH 5,45 et pH 4 dans le bouillon MRS. Cependant, les valeurs de l'acidité Dornic se situent entre 15°D et 34°D dans le lait, entre 11°D et 50°D dans le bouillon MRS. A partir de 24h, une diminution des valeurs de pH milieu varient entre pH 4,83 et 4,11 sont obtenues pour les souches (Lb<sub>8</sub>' , Lb<sub>24</sub>' , Lb<sub>14</sub>' , Lb<sub>26</sub>' , Lb<sub>17</sub>') respectivement dans le lait. Dans le bouillon MRS des pH plus bas sont notés allant de pH 3,24 à 3,45 pour les souches (Lb<sub>1</sub> , Lb<sub>20</sub>' , Lb<sub>13</sub>) respectivement dans le bouillon MRS. En parallèles, le taux de l'acidité Dornic montant progressivement jusqu'à 90°D dans le lait et même dans le bouillon MRS sont enregistrés par la souche (Lb<sub>1</sub>).



Lait



**Figure 20 :** Évaluation d'acidité des souches de BL du genre *Lactobacillus* (*Lb*) sur le lait et MRS selon le temps.

D'après ces résultats, nous remarquons que la totalité des 34 souches de BL testées présentent une production progressive en acide lactique. Cette dernière est accompagnée d'un abaissement du pH du milieu.

Nous remarquons d'après les 34 souches de BL des cinq genres qu'on a étudié que les souches qui sont fortement acidifiantes dans le lait après 48 heures d'incubation sont St1(60°D) (*Streptococcus*), Lc<sub>1</sub>'(60°D), Lc<sub>3</sub> (76°D), Lc<sub>5</sub>' (79°D) (*Lactococcus*), Lb<sub>23</sub>', Lb<sub>14</sub>' (60°D), Lb<sub>24</sub>' (66°D), Lb<sub>20</sub>' (63°D), Lb<sub>1</sub> (90°D), (*Lactobacillus*), Ln<sub>12</sub>' (60°D), Ln<sub>7</sub>' (90°D), (*Leuconostoc*), P<sub>11</sub>' (90°D) et P<sub>10</sub> (94°D) (*Pediococcus*).

Les souches qui sont fortement acidifiantes dans le MRS après 48 heures d'incubation sont P<sub>8</sub>' (60°D), P<sub>10</sub> (85°D), P<sub>11</sub>' (89°D) (*Pediococcus*), Ln<sub>12</sub>' (62°D), Ln<sub>11</sub>' (70°D) (*Leuconostoc*), Lc<sub>3</sub> (77°D) (*Lactococcus*), Lb<sub>20</sub>' (60), Lb<sub>27</sub> (66°D), Lb<sub>23</sub>' (69°D), Lb<sub>1</sub> (90°D) (*Lactobacillus*).

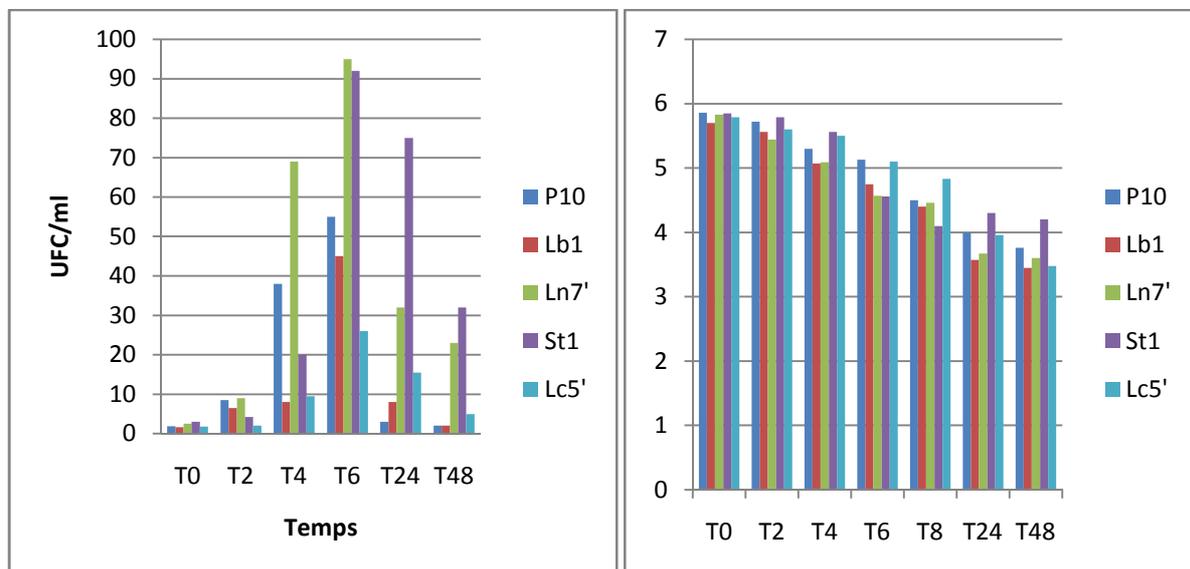
Soustre, (2009), a rapporté que la vitesse d'acidification est l'un des critères important dans la sélection des souches rapidement acidifiantes dont l'abaissement du pH inhibe la croissance

de la plupart des germes non-lactiques. Herreros et *al.*, (2003) ont rapporté également que les Lactobacilles métabolisent le lactose plus lentement que les Lactocoques, mais la production finale d'acide lactique peut être égale ou même supérieure à celle des espèces du genre *Lactococcus*. Par ailleurs, les Lactocoques qui fermentent lentement le lactose contiennent la  $\beta$ -galactosidase et la phospho- $\beta$ - galactosidase, alors que ceux qui le fermentent rapidement possèdent seulement l'enzyme phospho- $\beta$ -galactosidase (Cogan et *al.*, 1997).

Nos résultats ne se concordent pas et ceux de Idoui et *al.*, (2009), qui ont trouvé que les *Lc. Lactis* ssp. *lactis*, *Ln. lactis* et *Lc. lactis* ssp. *cremoris* produisent des quantités en acide lactique supérieures à 8,5g/l (80°D) après 24h d'incubation. Néanmoins Cheriguene et *al.*, (2006) ont rapporté une activité acidifiante plus faible des espèces de *Lc. lactis* ssp. *cremoris*, isolées à partir du lait de chèvre, de l'ordre de 6g/l d'acide lactique (60°D) et pour *Lc. lactis* ssp. *Lactis* une moyenne de 7,5g/l (75°D) après 24h d'incubation.

### b) l'acidité et la cinétique de la croissance

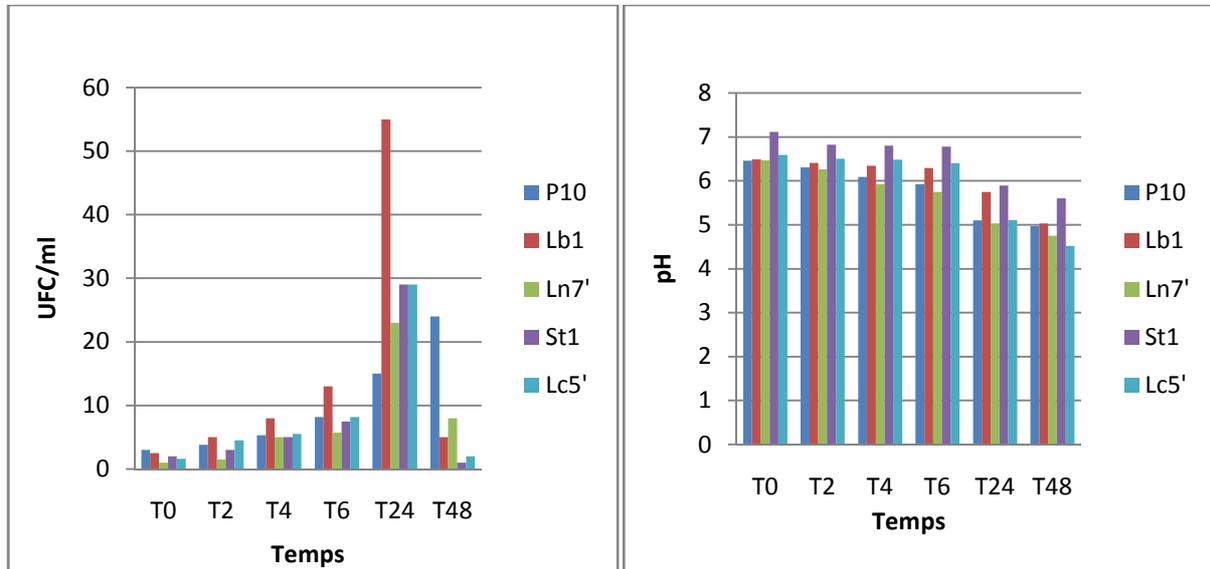
Les cultures fraîches de 18h sont préparées pour la souche la plus acidifiante de chaque genre. La croissance est évaluée périodiquement (toute les 2 h, 4h, 6 h, 24 et après 48 h) par un dénombrement donnant les résultats présentés dans les figures (21 et 22), (tableau X, XI ; Annexe VII).



**Figure 21** : Suivi de la croissance et pH des 5 souches les plus acidifiantes de chaque genre dans le bouillon MRS.

La croissance des souches étudiés est estimée par UFC/ml en fonction du temps. L'allure de l'histogramme (**figure 21**) après 48 h d'incubation dans le bouillon MRS, indique deux phases exponentielles caractérisées par une croissance continue puis une diminution. Durant les 4 premières heures d'incubation, la croissance des souches est semblable dont le

pH se situé entre pH 5,86 et pH 5,07. De 4 à 6 h, la croissance des deux souches ( $Ln_7'$ ,  $St_1$ ) est plus importante ( $95 \cdot 10^9$ ,  $92 \cdot 10^9$  UFC/ml) avec des pH 5,36 et 4,57 respectivement par rapport aux autres souches qui présentent presque le même taux de croissance. Après 24h, les souches subits un ralentissement de croissance.



**Figure 22 :** Suivi de la croissance et pH des 5 souches les plus acidifiantes de chaque genre dans le lait.

L'allure de l'historgramme (**figure 22**) après 48 h d'incubation dans le lait, indique deux phases exponentielles caractérisés par une croissance continue puis une diminution. Durant les 6 premières heures d'incubation, la croissance des souches est semblable avec pH se situé entre pH 7,11 et pH 5,75. De 6 à 24 h, La croissance de la souche ( $Lb_1$ ) est plus rapide ( $55 \cdot 10^9$  UFC/ml) avec pH de 5,75 par rapport à les autres souches qui présentent presque le même taux de croissance. Après 24h, les souches subirent un ralentissement de croissance.

Nos résultats sont d'accord avec Zadi-Karam H, Kalbaza K, N-E. Karam, (2006) qui trouve que les *leuconostoc* peuvent croître à pH 4,8 et avec Dacosta, (2000) qui trouve que les lactococcus peuvent croître ont pH 6,3, 6,5.

Nos résultats ne sont pas d'accord avec Wang et al., (2010) qui montre que les lactobacilles isolés à partir des matières fécales sont résistantes à faible pH de 3,0 et que ces bactéries sont acidifiants.

### II. 3.2) Effet de NaCl

Dans ce test on aensemencé 34 souches lactique dans un milieu MRS de différent pourcentages de NaCl (2%,4%,6%,8%,10%) incube pendent 48h. La croissance dans le

bouillon MRS à différents pourcentage de NaCl est présentée par une bonne densité de trouble dans le tube.

Les résultats de ce test sont résumés dans le (**tableau XII ; Annexe VIII**) selon les genres. Selon le (**tableau XII**), La majorité des 34 souches des cinq genres testés présentent une croissance positive (une bonne densité de trouble) dans le bouillon MRS à des concentrations 2% ,4% et 6% à par les souches (Lc<sub>3</sub>' du genre *Lactococcus*, Lb<sub>27</sub> du genre *Lactobacillus*, Ln<sub>12</sub>' , Ln<sub>5</sub>, Ln<sub>4</sub>' , Ln<sub>3</sub>' du genre *Leuconostoc*) qui présentent une faible croissance à 6% de NaCl.

La majorité des 34 souches de LAB des cinq genres présentent à 8% une faible croissance et 10% de NaCl. Cependant, aucune croissance à 8% n'est notée pour les deux souches (Lb<sub>27</sub> du genre *Lactobacillus* et (Ln<sub>5</sub>) du genre *Leuconostoc* et à 10% pour les souches (Lc<sub>3</sub>') du genre *Lactococcus*, (Lb<sub>22</sub>, Lb<sub>25</sub>') du genre *Lactobacillus*, (Ln<sub>12</sub>' , Ln<sub>4</sub>') du genre *Leuconostoc*.

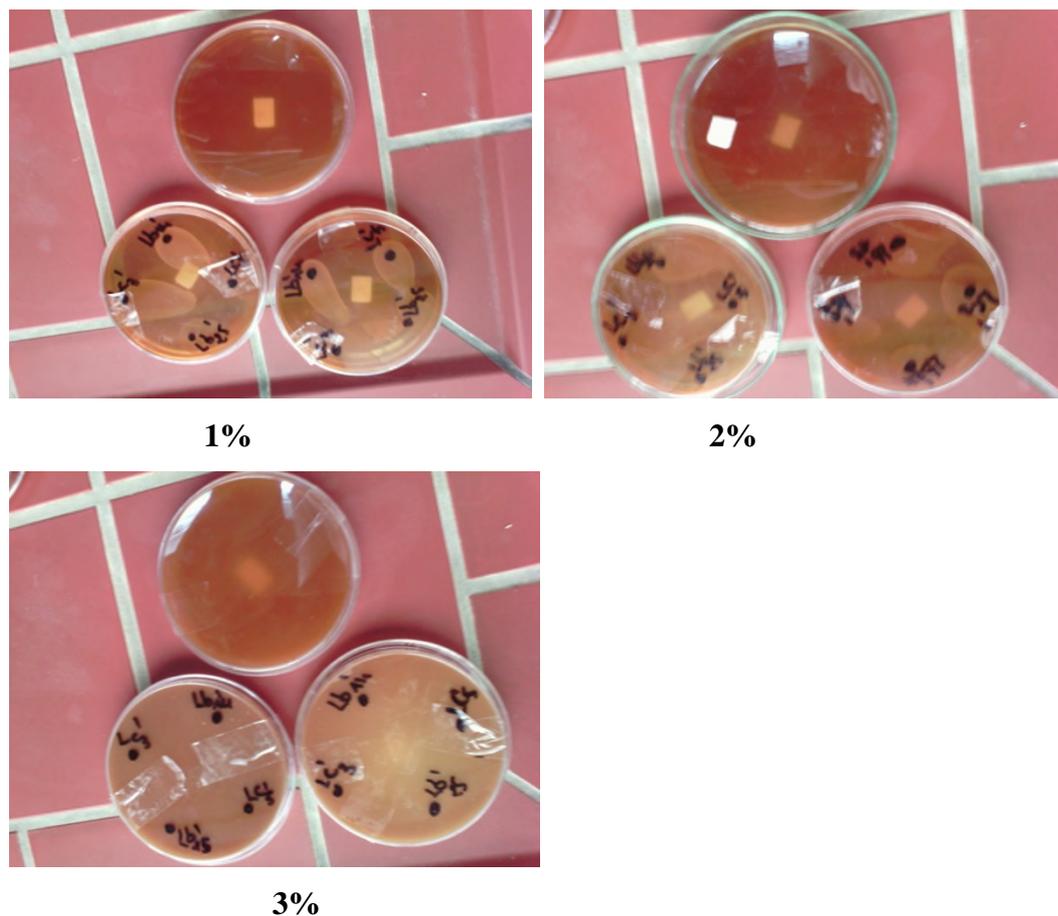
Par contre, La souche St<sub>1</sub> de genre *Streptococcus* montre une bonne croissance dans toutes les concentrations de NaCl 2%, 4%, 6%, 8% et 10%.

### II.3.3) Pouvoir protéolytique

La protéolyse est l'un des processus biochimiques les plus importants impliqués dans la fabrication de beaucoup de produits laitiers fermentés. La capacité de produire des protéinases extracellulaires est une caractéristique très importante des bactéries lactiques. Ces enzymes hydrolysent les protéines du lait, en fournissant les acides aminés essentiels pour la croissance. Il est connu que le système protéolytique des bactéries lactiques dégrade les protéines et par conséquent, change la texture, le goût et les arômes des produits fermentés (El-Ghaish et *al.*, 2011).

Selon Vuillemand, (1986), la souche est dite protéolytique si elle présente une zone de lyse de diamètre compris entre 5 et 15 mm. Par comparaison à cette donnée, nos souches peuvent être considérées comme protéolytique (**tableau XV ; Annexe X**).

Dans ce test des 34 souches de BL des différentes genres sur des géloses MRS au lait à différents pourcentages 1% ,2% ,6%. (**Figure 23**)



**Figure 23** : Exemple de résultats obtenus pour le pouvoir protéolytique.

Les diamètres des zones de protéolyse étaient défrancisées selon les pourcentages de lait, selon les genres des 34 souches qu'on a utilisé.

Dans le MRS à 1% de lait le diamètre de zones de lyse était compris entre 22 et 30mm chez le genre *Pediococcus* (*P*), 44mm chez *Streptococcus* (*St*), 23 et 33mm pour le genre *Lactococcus* (*Lc*), 11 et 40mm pour *Leuconostoc*(*Ln*) et enfin 11 et 50mm chez *Lactobacillus*(*Lb*).

Dans MRS à 2% de lait le diamètre des zones de lyse était compris entre 10 et 25mm chez le genre *Pediococcus* (*P*), 40mm chez *Streptococcus* (*St*), 10 et 16mm pour *Lactococcus* (*Lc*), 10 et 21mm chez *Leuconostoc*(*Ln*).Soule la souche (*Ln*<sub>7</sub>' ) qui ne présente aucune zone de lyse. 10 à 28mm sont enregistrées pour le genre *Lactobacillus*(*Lb*), il ya trois souches (*Lb*<sub>2</sub>' , *Lb*<sub>8</sub>' , *Lb*<sub>20</sub>' ) qu'ils ne présentent aucune activité protéolytique dans ce pourcentage.

Dans MRS à 6% de lait la majorité des 34souches BL des différents genres ne présentent aucune zone de lyse à part deux souches (*P*<sub>10</sub>, *P*<sub>11</sub>' ) de *Pediococcus* montrent une zone de lyse de 4mm, la souche *Lc*<sub>3</sub> du genre *Lactococcus* (*Lc*) présente une zone de lyse de 2mm. La majorité des souches du genre *Leuconostoc* ont un diamètre de lyse de 4mm, seule la souche

Ln<sub>12</sub>'2mm. Les souches du genre *Lactobacillus*(Lb) présentent une zone de lyse variant entre 2 et 10mm. Néanmoins, 7 souches (Lb<sub>13</sub>, Lb<sub>12</sub>, Lb<sub>23</sub>', Lb<sub>17</sub>', Lb<sub>2</sub>, Lb<sub>8</sub>', Lb<sub>20</sub>') présentent aucune zone de lyse.

Les résultats obtenus montrant que la majorité des souches (29 souches) ont une activité protéolytique dans la gélose MRS à 1%,2% de lait écrémé. Un nombre limité (19) de souches présentent une zone de lyse à 6%.

D'après Kawai et *al.*, (1999) et Vasiljevic et *al.*, (2005), les bactéries lactiques possèdent un système protéolytique complexe qui assure leur croissance dans des milieux à faibles concentrations en acides aminés libres et oligopeptides.

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par Idoui et Karam (2008) et Hadeif (2012) qui ont trouvé que les bactéries lactiques, isolées à partir du beurre de vache traditionnel et le beurre de chèvre de la région de Jijel, présentaient un caractère protéolytique.

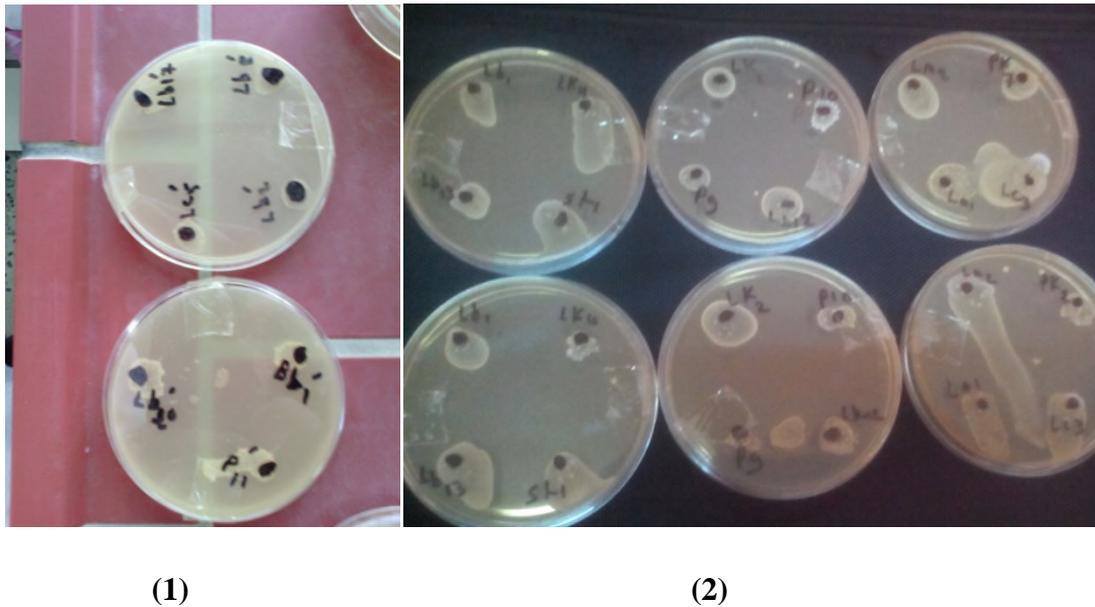
Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par (Christine et *al.*, 2016) qui trouve que les souches ( *Lactobacillus fermentum*; *Lactobacillus casei*; *Leuconostoc mesenteroides*; *Streptococcus thermophilus*) sont révélés être protéolytiques avec des diamètres de protéolyse variable ( $24 \pm 5,30$  mm à  $27,5 \pm 10,61$  mm).

L'activité protéolytique des bactéries lactiques est essentielle pour leur croissance dans les produits fermentés et pour le développement des propriétés organoleptiques de différents produits (Savoy et Hébert, 2001; Hassaïne et *al.*, 2007). Ainsi, les protéases hydrolysent les protéines, en fournissant essentiellement les acides aminés pour la croissance des bactéries. Il est connu que le système protéolytique de bactéries lactiques décompose les protéines et modifie donc la texture, le goût et l'arôme des produits fermentés (El-Ghaish et *al.*, 2011 ; El-Jenia et *al.*, 2015).

#### **II.3.4) Pouvoir lipolytique**

Pour étudier le pouvoir lipolytique, les cultures fraîches de 18h des 34 souches de BL été préparé puis déposées en spot et incubées 48h à température de croissance de ces derniers. Nous avons utilisées pour ce test deux méthodes ; la première méthode consiste à mettre en évidence la lioplyse sur gélose MRS à 1% de l'huile d'olive, afin de confirmer les résultats obtenus par cette méthode un deuxième protocole est utilisé qui consiste à utiliser une gélose MRS à 1% de glycerol.

Nos résultats montrent que les 34 souches de LAB des cinq genres n'ont présenté aucune activité lipolytique avec les deux protocoles. (**Figure 24**).



**Figure 24** : Résultat négatif du pouvoir lipolytique. (1) test lipolytique avec MRS+lait, (2) test lipolytique avec MRS+Glycérol.

En effet, Les bactéries lactiques sont considérées comme faiblement lipolytiques Molimard et Spinnler, (1996). Selon Béal et *al.*, (2008), les propriétés lipolytiques sont généralement faible chez les bactéries lactiques, les lactocoques sont considérés plus lipolytiques que *St. thermophilus* et les lactobacilles. Les travaux de Fernandez et *al.* (2000) ont montré que l'activité estérasique n'était pas nécessaire à la croissance des bactéries lactiques ni dans un milieu synthétique, ni dans du lait écrémé ou entier.

Nos résultats sont d'accord avec Boussaid, (2015)

### II.3.5) Pouvoir texturant

Dans ce test les 34 souches de BL des cinq genres ont étéensemencées en stries sur gélose hypersaccharosée et incubées 48h à température de croissance correspondante. L'ensemble des résultats montrent que quelques souches (8) parmi les 34 souches de BL sont capables de se développer sur gélose hypersaccharosée en formant des colonies larges et gluantes avec aspect brillant témoignant une production d'un agent épaississant (**Figure 25**).

Les souches de BL qui sont capable de se développer sur la gélose hypersaccharosée sont la souche (P<sub>9</sub>) du genre *Pediococcus*, (St<sub>1</sub>) du genre *Streptococcus*, (Ln<sub>1</sub>) du genre *Leuconostoc*, (Lc<sub>3</sub>) du genre *Lactococcus*, (Lb<sub>27</sub>, Lb<sub>26</sub>' , Lb<sub>24</sub>' , Lb<sub>20</sub>' ) du genre *Lactobacillus*.

D'après les résultats obtenus, ont noté que la majorité des souches qu'ils ont des activités texturant sont des souches du genre *Lactobacillus*.



**Figure 25 :** Pouvoir texturant sur milieux hypersaccharosés.

Selon Sodini, (2004) les propriétés texturant des bactéries lactiques sont principalement utilisées pour améliorer les qualités organoleptiques des produits laitiers frais fermentés. Ainsi, la production d'exopolysaccharides par les bactéries lors de leur développement dans le lait, évite d'augmenter le taux protéiques du produit ou d'avoir recours à l'ajout d'additifs.

Nos résultats sont en accord et ceux de Christine et *al.*, (2016) qui montrent que *Lactobacillus casei* a produit la plus grande quantité d'EPS (1,13 g / l), puis par *Streptococcus thermophilus* (0,75 g / l) et *Lactobacillus fermentum* (0,70 g / l). Le principal avantage de l'utilisation d'EPS des bactéries productrices d'acide lactique dans les ferments lactiques au cours de la production de produits de fermentation est d'améliorer la texture et la viscosité.

### **II.3.6) Pouvoir aromatisant**

La production de composés d'arômes est une fonctionnalité technologique importante des produits laitiers fermentés donc les souches productrices sont importantes pour contribuer aux caractéristiques organoleptiques du produit fini.

Divers composés aromatiques interviennent dans la saveur, c'est principalement le lactose qui intervient dans la formation de ces composés. Chez les bactéries lactiques, la détection d'acétate dans le milieu de propagation est généralement associée à l'utilisation du citrate (Hugenholtz, 1993).

Pour cette étude, nous avons utilisé deux méthodes distinctes. Dans la première méthode le pouvoir aromatisant est détectée par la réaction de Voges Proskawer sur le bouillon lactosé et citraté incubé 72h à température de croissance (30°C et 37°C) selon les souches. Les résultats obtenus sont confirmés avec une deuxième méthode qui consiste à mettre en évidence l'activité aromatisant sur le lait écrémé. La présence de l'arome est présentée par la

formation d'un petit anneau rose dans la première méthode et un anneau rouge dans la deuxième méthode.

Les résultats obtenus sont illustrés par la **(figure 26)**. La majorité des 34 souches de BL de cinq genres ne présentent aucune activité aromatisant sauf St<sub>1</sub> pour *Streptococcus (St)*, Lc<sub>1</sub>' pour le genre *Lactococcus (Lc)*, Ln<sub>12</sub>' et Ln<sub>3</sub>' pour *Leuconostoc (Ln)*, Lb<sub>24</sub>', Lb<sub>14</sub>', Lb<sub>2</sub>, Lb<sub>20</sub>', Lb<sub>8</sub>', Lb<sub>23</sub>', Lb<sub>27</sub> pour le genre *Lactobacillus (Lb)*.

On a remarqué que les souches qui présentent le plus grand pouvoir aromatisant appartiennent au genre *Lactobacillus*.



(1)

(2)

**Figure 26 :** Pouvoir aromatisant. (1) tube positive de lait, (2) tube positive de bouillon citraté et lactosé.

Certaines espèces de bactéries lactiques utilisées dans l'industrie laitière, *Lc. lactis* ssp et *Ln. mesenteroides* ssp. *cremoris*, sont dites aromatiques puisqu'elles sont capables, à partir du pyruvate, de synthétiser divers composés responsables des arômes des produits laitiers: diacétyl, acétoïne, 2,3 -butanediol et  $\alpha$ -acétolactate (Raynaud et al., 2003 ; Leroy et De Vuyst, 2004).

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par Christine et al., (2016) qui ont trouvé que toutes les souches de bactéries lactiques testées dans leur étude de (*Lactobacillus fermentum* ; *Lactobacillus casei*; *Leuconostoc mesenteroides*; *Streptococcus thermophilus*) ont un très bon pouvoir texturant, aromatisant et un pouvoir coagulant. Ces résultats confirment ceux de plusieurs auteurs qui ont montré que les bactéries lactiques sont capables, à partir du pyruvate, de synthétiser différents composés (diacétyl, acétoïne, le 2,3-butanediol et acétolactate  $\alpha$ -) responsables de l'arôme des produits fermentés (Raynaud et al., 2003; Leroy et De Vuyst, 2004). En effet,  $\alpha$ -acétolactate est un composé instable qui peut être

spontanément transformé en diacétyl et / ou acétoïne (molécules aromatiques) lors de la fermentation lactique (Monnet et *al.*, 2008).

Les bactéries lactiques qui métabolisent le citrate jouent un rôle important dans de nombreux processus laitiers parce que, dans ces bactéries, le métabolisme du citrate et du lactose aboutit à la production de diacétyl, acétoïne et le CO<sub>2</sub>, en participant à l'aromatisation et qualités texturants des produits (Raynaud et *al.*, 2003).

## Conclusion

Les bactéries lactiques sont largement utilisées dans les procédés de fermentation agroindustrielle et présentent une parfaite innocuité. La découverte de leur action sur le lait fut probablement accidentelle mais leur utilisation fut perpétuée sous forme de ferments et elle est en développement continu.

C'est dans ce sens que s'inscrit l'objectif de notre travail qui consiste à étudier l'activité technologique des bactéries lactiques.

Nous avons réalisé, tout d'abord, une revivification et purification de 34 souches de LAB isolées de l'ben traditionnel, elle est effectuée sur bouillon et gélose MRS où on a obtenu un trouble homogène avec une pastille blanche au fond du tube sur le bouillon et la présence de colonies blanchâtres rondes lisses et de formes lenticulaires de petite taille sur la gélose.

La confirmation de la pureté des souches lactiques locales a été réalisée, après une revivification, par une coloration de Gram. L'examen microscopique a montré deux formes de cellules qui sont la forme de cocci (*Pediococcus (P)*, *Leuconostoc (Ln)*, *Lactococcus (Lc)*, *Streptococcus (St)*) et la forme bâtonnet (*Lactobacillus (Lb)*).

Notre étude s'est ensuite développée autour de ces souches en examinant certaines caractéristiques d'intérêt technologique afin d'évaluer leurs potentiels pour un éventuel usage industriel. Dans cette partie, nous nous sommes intéressés spécialement à leur activité acidifiante, l'activité protéolytique, l'activité lipolytique, l'activité texturant et l'activité aromatisant.

D'après les résultats de l'étude des aptitudes technologiques, nous avons pu déduire que, même au sein d'un même genre, il existe des variations entre les souches autant au niveau de l'activité acidifiante que l'activité protéolytique et texturante. Cependant, les souches avaient de bonnes fonctionnalités technologiques.

Les souches testées, sont fortement acidifiantes, ayant un bon pouvoir protéolytique, texturant et une capacité à produire des composés aromatiques, sont dépourvues d'une activité lipolytique. Les souches de genre *Lactobacillus* présentent les meilleures propriétés technologiques par rapport aux autres souches de différents genres étudiés.

Il reste à dire que la connaissance approfondie des bactéries lactiques, impliquées dans les procédés industriels, est indispensable à la bonne maîtrise de ces derniers et permettra également la sélection de souches adaptées ayant des aptitudes technologiques intéressantes.

## Perspectives :

Afin de compléter ce travail, nous proposons :

- D'étudier la cinétique de croissance et d'acidification pour toutes les souches ;
- Faire plusieurs essayées afin de confirmer les résultats obtenus ;
- Quantifier les exopolysaccharides produits ;
- Mettre en point les produits fermentés traditionnellement ;

L'industrie de transformation nationale demeure fortement dépendante des importations. Cette dépendance tient essentiellement à la faiblesse de la production nationale et la faible insertion de la recherche scientifique dans l'activité économique. A titre d'exemple, si la production de ferments locaux est sérieusement prise en charge, il peut donner un sérieux coup de fouet au domaine des industries agroalimentaires.

**A**

Accolas J.P Hemmed, Desmazeaud M.J, Vassel I, Bouillance C et Veaux MC. (1980). Les levains lactiques thermophiles : propriétés et comportement en thechnologie laitière. *Lait*, **60**, 487.

Axelsson L, (2004). Classification and physiology. *In: Lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects* ((Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A.). 3e Ed., Marcel Dekker, Inc. New York. 1- 66.

**B**

Badis A, Laouabdia-Sellami N, Guetarni D, Kihal M et Ouzrout R. (2005). Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales « Arabia et Kabyle ». *Sci. Technol.* **23**, 30-37.

Béal C, Marin M, Fontaine E, Fonseca F et Obert J.P, (2008). Production et conservation des ferments lactiques et probiotiques. *In : Bactéries lactiques, de la génétique aux ferments* (Corrieu G. Et Luquet F.M.). Tec et Doc, Lavoisier. Paris. 661-765.

Bissonnette F, Labrie S, Deveau H, Lamoureux et Moinneau S, (2000). Characterization of mesophilic mixed starter cultures used for the manufacture of aged Cheddar cheese. *J. Dairy Sci.* **83**, 620-627.

Boumdiene K. (2013). Recherche des bactéries lactiques productrices des bactériocines et l'étude de leur effet sur des bactéries néfastes. Mémoire de Magister de Biologie. Université Abou Bekr Belkaïd-Tlemcen, Faculté des SNV/STU, 66p.

Bourgeois C M et Larpent J P. (1996). Aliments fermentés et fermentation alimentaire, *Microbiologie alimentaires*. Tome 2. Ed : Lavoisier Technique Documentation Lavoisier.

Bourgeois C.M et Leveau J.Y. (1991). Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires. Le contrôle microbiologique. Edition TEC et DOC Lavoisier, Paris, volume 3, 499P.

Boussaid Omar, Mahfoud Bala, Oussama Mokeddem, Zaia Alimazighi. (2015). Une Plateforme ETL parallèle et distribuée pour l'intégration de données massives

Branger. A. (1990). Le contrôle des ferments lactique. Process. 1054 : 84.

Buist G, Venema G, kok J. (1998). Autolysis of *Lactococcus lactis* influenced by proteolysis. Journal of biotechnology. N° 22, 5974-5953.

### C

Carr F. J, Cill D et Maida N. (2002). The lactic acid bacteria: A literature survey Critical Rev. Microbiol. **28**, 281-370.

Cheriguene A, Chougrani F et Bensoltane A. (2006). Identification and characterization of lactic acid bacteria isolated from goat's Algerian milk. Pakistan J. Biol. Sci. **9**, 1242-1249.

Cholet O, (2006). Etude de l'écosystème fromager par une approche biochimique et moléculaire. Institut National Agronomique Paris-Grignon. Ecole Doctorale ABIES. UMR de Génie et Microbiologie des Procédés Alimentaires INRA, INA.16.

Christine N'tcha, Sina Haziz1, Pélagie Agbobatinkpo, Générose Vieira-Dalodé, Bawa Boya, Jean T Claude Codjia, Polycarpe AP Kayodé, Lamine Baba-Moussa, (2016). Probiotique properties of lactic acid bacteria isolated from a beninese traditional beer's ferment, Volume-7, Issue-2, 314-330.

Cogan T.M, Barbosa M, Beuvier E, Bianchi S.B, Coccon-Celli P.S, Fernandez I, Gomez M.J, Gomez R, Kalantzopoulos G, Ledda, A, Medina M, Rea M.R et Rodriguez E. (1997). Characterization of the lactic acid bacteria in artisanal dairy products. *J. Dairy Res.* **64**, 409-421.

*D*

Dacosta N. C. A. (2000). Logiques Classiques Et Non Classiques: Essai Sur Les Fondements De La Logique. *Studia Logica* .64 (3):435-443

Dellaglio F, de Roissard H, Torriani S, Curk M.C et Janssens D, (1994). Caractéristiques générales des bactéries lactiques. *In : Bactéries lactiques (De Roissard H. et Luquet F.M.)*. Lorica, Uriage. **1**, 25-116.

Dellaglio. F. (1984). Les bactéries lactiques thermophiles. *Bulletin FIL.* **179**, 65.

Desmazeaud M. (1992). Les bactéries lactiques *In : les groupes microbiens d'intérêt laitier.*

Donkor O.N, Henriksson A, Vasiljevic T et Shaha N.P, (2007). Proteolytic activity of dairy lactic acid bacteria and probiotics as determinant of growth and in vitro angiotensin converting enzyme inhibitory activity in fermented milk. *INRA, EDP Sciences.* **86**, 21-38.

Drouault S et Corthier G. (2000). Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés sur la santé. *France .pp .* 101-117.

*E*

El-Ghaish S, Ahmadova A, Hadji-Sfaxi I, E Mecherfi KE et Bazukyane I. (2011). Potential use of lactic acid bacteria for reduction of allergenicity and for longer conservation of fermented foods. *Tre Food Sci Technol.* 1-8.

El-Jenia R, El Boura M, Calo-Mata P, Bohme K et Fernandez-No IC. (2015). In-vitro probiotic profiling of novel *Enterococcus faecium* and *Leuconostoc mesenteroides* from Tunisian freshwater fishes. *Canadian Journal of Microbiology*. 1-33.

**F**

Fernandez L, Beerthuyzen M.M, Brown J, Coolbear T, Holland R et Kuipers O.P. (2000). Cloning, characterization, controlled overexpression and inactivation of major tributyrin esterase gene of *Lactococcus lactis*. *App. Env. Microbiol.* **66**, 1360-1368.

François Patrice , My-Van La, Clarisse Roverly, Sylvianne Robineau, Pascal Barbry, Jacques Schrenzel, Didier Raoult, Patricia Renesto. Development of a method for recovering rickettsial RNA from infected cells to analyze gene expression profiling of obligate intracellular bacteria.

**G**

Georgalaki M.D, Papadelli, M, Anastasiou, R, Kalantzopoulos G et Tsakalidou E. (2002). Purification and characterization of the X-prolyl-dipeptidyl aminopeptidase (PepX) from *Streptococcus macedonicus* and cloning of the pepX gene. *Le Lait*. **82**, 657–671.

Gerrit S, Bart A.S et Wim J.M.E, (2005). Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. *FEMS. Microbiol. Rev.* **29**, 591-610.

Givry S. (2006). Optimisation de procédés de fermentation lactique sur sirop de son de blé et purification et caractérisation d'une arabinose isomérase de *Lactobacillus bif fermentans*. 18p.

Gobbetti M, Folkertsma B, Fox P. F, Coretti A, Smacchi E, De Angelis M, Rossi J, Kilcawley K et Cortini M. (1996). Microbiology and biochemistry of Fossa (pit) cheese. *International Dairy Journal* **9**.763-773.

Guiraud J.P. (2003). Microbiologie Alimentaire. Tec et Doc, Dunod. Paris. 90-417.

Guiraud J.P et Galzy P, (1980). L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Les éditions de l'usine nouvelle. 1-239.

*H*

Haddie J.M, (1986). Other streptococci. In : Bergey's manual of systematic bacteriology (Sneath P.H.A, Mair N.S, Sharpe M.E, Holt J.G.W. et Baltimore W). **1**, 1070.

Hadef S. (2012). Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales. Mémoire de Magister de Microbiologie Appliqué. Université Kasdi Merbah-Ouargla, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers, 87p.

Hassaine O, Zadi-Karam H et Karam NE. (2007). Technologically important properties of lactic acid bacteria isolated from raw milk of three breeds of Algerian dromedary (*Camelus dromedarius*). African Journal of Biotechnology **6**, 1720-1727.

Hassan A.N et Frank J.F. (2001). Starter cultures and their use. In: Applied Dairy Microbiology (Marth E.H et Steele J.L.) 2e Ed., Marcel Dekker. New York. 151- 205.

Herreros M.A, Fresno J.M, González Prieto M.J et Tornadijo M.E. (2003). Technological characterization of lactic acid bacteria isolated from Armada cheese (a Spanish goat's milk cheese). Int. Dairy J. **13**, 469-479.

Hikmate Abriouel, Nabil Benomar, Antonio Cobo, Natacha Caballero, Miguel Ángel Fernández Fuentes, Rubén Pérez-Pulido, Antonio Gálvez. (2012). Characterization of lactic acid bacteria from naturally-fermented Manzanilla Aloreña green table olives.

Ho T.N.T, N. Tuan N, Deschamps A et Caubet R. (2007). Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) of the Nem Chua fermented meat product of Vietnam. Int. Workshop on Food Safety and Processing Technology. 134-142.

Hogg T. (2005). Essential microbiology. John Wiley et Sons, Ltd. 188-190.

Holzappel W. H, Geisen, R et Schillinger U. (1995). Biological preservation of foods with reference to protective cultures, bacteriocins and food-grade enzymes. Int J Food Microbiol. **24**,343-362.

Hughenoltz J. (1993). Citrate metabolism in lactic acid bacteria. FEMS Microbiol. Rev. **12**,165- 178.

### *I*

Idoui T et Karam N.E. (2008). Lactic acid bacteria from Jijel 'butter: isolation, identification and major technological traits. Gr. Y. Aceites. **59**, 361-367.

Idoui T, Boudjerda J, Leghouchi E et Karam N.E. (2009). Lactic acid bacteria from "Sheep's Dhan", a traditional butter from sheep's milk: Isolation, identification and major technological traits. Gr. Y. Aceites. **60**, 177-183.

### *J*

Jozala, A. F, de Lencastre Novaes L. C, Cholewa O, Moraes D et Penna, T. C. V. (2005). Increase of nisin production By *Lactococcus lactis* in different media. Afr. J. Biotechnol. **4**, 262-265.

### *K*

Kawai Y, Tadokoro K, Konomi R, Itoh K, Saito T, Kitazawa H et Itoh T. (1999). A novel method for the detection of protease and the development of extracellular protease in early growth stages of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. J. Dairy Sci. **82**, 481-485.

Khalid N.M et Marth E.H. (1990). Lactobacilli, their enzymes and role. In: Ripening and spoilage of cheese. Rev. Dairy Sci. **73**, 158-167.

Klein G, Pack A, Bonaparte C et Reuter G. (1998). Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *Int J Food Microbiol.* **41**, 103-125.

*L*

Law Barry A, Jens Kolstad. (1983). Proteolytic systems in lactic acid bacteria

Law J et Haandrikman A, (1997). Proteolytic enzymes of lactic acid bacteria. *Int. Dairy J.* 1-11.

Leclerc H, Gailillard F L et Simonet M. (1994). Les grands groupes de bactéries. *In : Microbiologie générale : la bactérie et le monde microbien.* DOIN. Paris. 445.

Leroy F et De Vuyst L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Treat. Food Sci. Technol.* **15**, 67-78.

Leveau J.Y, Boiux M et De Roissart H.B, (1991). La flore lactique : technique d'analyse et de contrôle dans les industries agro alimentaires. 2e Ed., Tec et Doc, Lavoisier. Paris. **3**, 2-40.

*M*

Mäyrä-Mäkinen A et Bigret M. (2004). Industrial use and production of lactic acid bacteria. *In: Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects* (Salminen S, Wright A.V et Ouwehand A). 3e Ed. Marcel Dekker. New York. 73-102.

Molimard P et Spinnler H.E. (1996). Review: compounds involved in the flavor of surface mold-ripened cheeses: Origins and properties. *J. Dairy Sci.* **79**, 169-184.

Monnet V, Latrille E, Béal C et Corrieu G. (2008). Croissance et propriétés fonctionnelles des bactéries lactiques. In: Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. & Luquet F.M.). Technology and Document, Lavoisier. Paris: 512-592.

Mozzi F, Raya R.R et Vignolo G.M. (2010). Biotechnology of lactic acid bacteria: Novel applications. Blackwell. Publishing. 13p.

### *N*

Nielsen D.S, Jacobsen T, Jespersen L, Koch A.G et Arneborg N. (2008) Occurrence and growth of yeasts in processed meat products - Implications for potential spoilage. Meat Science. Vol 9. **80**, 19-926.

### *O*

Ogier J.C, Casalta E, Farrokh C et Saïhi A. (2008). Safety assessment of dairy microorganisms: The *Leuconostoc* genus. Int. J. Food Microbiol. **126**, 286-290.

### *P*

Papamanoli, E, Tzanetakis, N, Litopoulou-Tzanetaki, E et Kotzekidou, P. (2003). Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Greek dry-fermented sausage in respect of their technological and probiotic properties. Meat Sci. **65**,859– 867.

Pilet M.F, Magras C, Federighi M. (2005). Bactéries lactiques. In : Bactériologie alimentaire (Federighi M.). 2e Ed., Economica. Paris. 219-240.

Pilet M.F, Magras C, Federighi M, (1998). Bactéries lactiques. In : Manuel de bactériologie alimentaire (Sutra L, Federighi M, Jouve J.L). Polytechnica. Paris. 235-260.

### *R*

Randazzo C.L, Torriani S, Akkermans A.D.L, de Vos W.M et Vaughan E.E. (2009). Diversity, dynamics, and activity of bacterial communities during production of an artisanal Sicilian cheese as evaluated by 16S rRNA analysis. *Appl. Env. Microbiol.* **68**, 1882–1892.

Raynaud S, Perrin R, Cocaign-Bousquet M, Loubière P. (2003). Metabolic and transcriptomic adaptation of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* in response to auto acidification and temperature downshift in skim milk. *Applied and Environmental Microbiology* .**71**, 8016- 8023.

Rigaux P. (2008). Evaluation des propriétés immunomodulatrices de la bactérie lactique *Lactobacillus plantarum* NCIMB8826 dans le cadre de l'allergie aux acariens. Thèse de doctorat d'état. Université Libre de Bruxelles.

Roissard, Luquet, 1985. Les bactéries lactiques édition Lorisa, volume 1, Luquet F. M, lait et produits laitiers, *Tec et Doc*, édition Lavoisier, Paris, p362-400-402.

Roudj S, Belkheir K, Zadi-Karam H et Karam N.E, (2009). Protéolyse et autolyse chez deux lactobacilles isolés de lait camelin du Sud Ouest Algérien. *European. J. Sci. Res.* **34**, 218-227.

## S

Savoy de Giori G et Hébert M, (2001). Methods to determine proteolytic activity of lactic acid bacteria. *Methods in biotechnology, Food Microbiology and protocols.* Humana Press Totowa .**14**, 197-202.

Serhan M, Cailliez-Grimal C, Borges F, Revol-Junelles A.M, Hosri C et Fanni J. (2009). Bacterial diversity of Darfiyeh, a Lebanese artisanal raw goat's milk cheese. *Food Microbiol.* **26**, 645-652.

Sodini I, Remenf F, Haddad S et Corrieu. (2004). The relative effect of milk base, starter and process on yogurt texture: A review. *Critical Rev. Food Sci. Nutri.* **44**, 113-137.

Soustre Y. (2009). Les bactéries lactiques. Humana Press. Totowa. **30**, 1-6.

Stiles M.E et Holzapfl w.H. (1997), *Int.J.food Microbiol.* **36**, 1-29.

Stuart B, Federighi D, Thayer White, Robert A. Lewis, Edward Nudelman. (1998). High-Resolution Separation and Quantification of Neutral Lipid and Phospholipid Species in Mammalian Cells and Sera by Multi-One-Dimensional Thin-Layer Chromatography Author links open the overlay panel. Numbers correspond to the affiliation list which can be exposed by using the show more link.

## V

Vasiljevic T, Shah N.P et Jelen P. (2005). Growth characteristics of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ATCC .11842 as affected by different neutralizers. *Australia J. Dairy Technol.* **60**, 3-9.

Vuillemard J.C. (1986). Microbiologie des aliments. Evolution de l'activité protéolytique des bactéries lactiques. Tec et Doc, Lavoisier. Paris. **3**, 1-65.

**W**

Wang CY, Lin PR, Ng CC et Shyu YT. (2010). Probiotic properties of *Lactobacillus* strains isolated from the feces of breastfed infants and Taiwanese pickled cabbage. *Anaerobe*. **16**, 578-585.

**Z**

Zadi Karam H., Karam NE. (2006). Bactéries lactiques du lait de chamelle d'Algérie : mise en évidence de souches de *Lactococcus* résistantes au sel. *Tropicultura*. **24**, 153-156.

---

**Annexe I : Composition des milieux de culture, réactifs chimiques**
**1. Les milieux de cultures**➤ **Bouillon MRS**

Extrait de levure .....	05g
Extrait de viande.....	05g
Peptone.....	10g
Acétate de sodium.....	05g
Citrate de sodium.....	02g
Glucose.....	20g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	0,1g
MgSO <sub>4</sub> .....	0,1g
MnSO <sub>4</sub> .....	0,05g
Tween80.....	1ml
Eau distillée.....	1000ml

Ph=6,5 plus ou moins 0,2, Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min.

➤ **Gélose hypersaccharosée**

Extrait de viande .....	10g
Extrait de levure .....	3g
Peptone.....	2.5g
Saccharose .....	150g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	2g
NaCl .....	1g
MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O .....	0.2g
Agar .....	15g
Eau distillée... ..	1000ml

pH 6.8 Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min.

➤ **Huile d'olive de la région de Bejaia**

➤ **Lait écrémé (Candia)**

Eau, poudre de lait écrémé, matière grasse laitière, vitamines B1, B2, B3, B5, B6, B8, B9, B12, E, D.

➤ **MRS agar ( Lan Rogossa et Sharpe, 1960)**

Extrait de levure .....	05g
Extrait de viande.....	05g
Peptone.....	10g
Acétate de sodium.....	05g
Citrate de sodium.....	02g
Glucose.....	20g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	0,1g
MgSO <sub>4</sub> .....	0,1g
MnSO <sub>4</sub> .....	0,05g
Agar.....	12g
Tween80.....	1ml
Eau distillée.....	1000ml

Ph=6,5 plus ou moins 0,2, Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min.

**2. Solutions de titrage :**

➤ **Solution NaOH**

Eau distillé.....	1000ml
NaOH.....	40g

➤ **Eau physiologique peptone**

---

Peptone .....	1g
Chlorure de sodium.....	8g
Eau distillé.....	1000ml

## 2. Les réactifs chimiques

### ➤ Alpha naphthol

Alpha naphthol.....	50g
Alcool éthylique.....	1000g

### ➤ Phénolphtaléine a 1%

Phénolphtaléine.....	1g
Alcool 95°C.....	100ml

### ➤ Réactif de Vosges Proskauer (VP)

#### VPI:

Hydroxyde de potassium .....	40g
Eau distillée.....	100ml

#### VPII:

Alpha naphthol.....	6g
Ethanol .....	100ml

## *Annexe II : Matériels et Appareillages*

L'appareillage utilisé est le suivant :

- Agitateur électrique (Bunsen) ;
- Autoclave (Shiavax Electronic) ;
- Bain Marie (Memmert) ;
- Balance (Denver) ;
- Etuves (Memmert) ;
- Four Pasteur (Controls) ;
- Micropipettes (Microlit) ;
- Microscope optique (Motic) ;
- pH mètre (Hanna) ;

- Réfrigérateur (Condor) ;
- Vortex électrique (MS2 Minishaker).

### *Annexe III : Origine des souches*

**Tableau I :** Les origines des 34 souches de BL des cinq genres :

<b>Code et origine</b>	<b>Genre</b>
1) St <sub>1</sub> S : 02MRS PK7	<i>Streptococcus (St aglateae)</i>
2) P' <sub>8</sub> S : 01 MRS Adekar	<i>Pediococcus</i>
3) P' <sub>9</sub> S : 07 MRS Tichy	
4) P <sub>10</sub> S : 01 M17 PK7	
5) P' <sub>11</sub> BL S : 04 MRS	
6) Lc' <sub>1</sub> S : 04 MRS Tizi	
7) Lc <sub>3</sub> S : 03 MRS PK7	
8) Lc' <sub>3</sub> AMZ S : 02MRS	
9) Lc' <sub>5</sub> S : 03 MRS Tizi	
10) Ln' <sub>1</sub> S : 05 MRS pk7	<i>Leuconostoc</i>
11) Ln <sub>2</sub> S : 01 MRS Kendira	
12) Ln' <sub>3</sub> S : 02 Tizi MR	
13) Ln' <sub>4</sub> S : 02 MRS	
14) Ln <sub>5</sub> S : 03 M17 LK	
15) Ln' <sub>7</sub> BL S : 01 MRS	
16) Ln' <sub>11</sub> S : 01MRS LK	
17) Ln' <sub>12</sub> S : 05LK	
18) Lb <sub>1</sub> S : 02 MRS Tichy	<i>Lactobacillus</i>
19) Lb' <sub>1</sub> AMZ : D MRS	
20) Lb' <sub>2</sub> : AMZ S: D MRS	
21) Lb <sub>5</sub> S : 03Kendira MRS	
22) Lb' <sub>8</sub> S : 09 MRS Tichy	
23) Lb' <sub>10</sub> S :C MRS Amizour	
24) Lb <sub>12</sub> S : 03 MRS Tichy	
25) Lb <sub>13</sub> S : 01 MRS Tichy	

26) Lb' <sub>14</sub> S : 04 MRS Tichy	
27) Lb' <sub>17</sub> S : 05 MRS Adekar	
28) Lb' <sub>18</sub> S : 06 MRS Adekar	
29) Lb' <sub>20</sub> S : B MRS	
30) Lb' <sub>22</sub> S : 07 Adekar MRS	
31) Lb' <sub>24</sub> S : 02 Tichy MRS	
32) Lb' <sub>25</sub> S : 06 Tichy MRS	
33) Lb' <sub>26</sub> S : 01 MRS Tichy	
34) Lb' <sub>27</sub> S : 06MRS PK7	

#### **Annexe IV : Observation microscopique**

**Tableau III** : Résumé de l'observation microscopique des 34 souches de BL des cinq genres isolées dans le bouillon MRS.

<b>Code de la souche</b>	<b>Gram</b>	<b>Forme</b>	<b>Mode d'association</b>
<b>Lb 1</b>	+	Petit bâtonnet	Chainettes
<b>Lb 2'</b>	+	Petit bâtonnet	Chainettes
<b>Lb 5</b>	+	Petit bâtonnet	Chainettes
<b>Lb 8'</b>	+	Longue bacille	Isolées, petites chainettes
<b>Lb 10'</b>	+	Petit gros bacille	Chainettes
<b>Lb 12</b>	+	Bacille	Chainettes
<b>Lb 13</b>	+	Bacille	Chainettes
<b>Lb 14'</b>	+	Petit gros bacille	Chainettes
<b>Lb 17'</b>	+	Petit bâtonnet	Chainettes
<b>Lb 18'</b>	+	Petit bâtonnet	Chainettes
<b>Lb 20'</b>	+	Bacille	Chainettes
<b>Lb 22'</b>	+	Bacille	Chainettes
<b>Lb 23'</b>	+	Bacille	Chainettes
<b>Lb 24'</b>	+	Petit bâtonnet	Chainettes
<b>Lb 25'</b>	+	Petit bâtonnet	Chainettes

<b>Lb 26'</b>	+	Petit bâtonnet	Chainettes
<b>Lb 27</b>	+	Coccobacille	Chainettes
<b>Ln 1</b>	+	Cocci (ronde)	Diplocoques, chainettes
<b>Ln 2</b>	+	Cocci	Diplocoques
<b>Ln 3'</b>	+	Cocci	Diplocoques, chainettes
<b>Ln 4'</b>	+	Cocci (ronde)	Diplocoques
<b>Ln 5</b>	+	Cocci	Diplocoques
<b>Ln 7'</b>	+	Cocci (ovoïde)	Diplocoques
<b>Ln 11'</b>	+	Cocci (ovoïde)	Diplocoques
<b>Ln 12'</b>	+	Cocci	Diplocoques
<b>Lc 1'</b>	+	Cocci	Chainettes
<b>Lc 3</b>	+	Cocci	Chainettes, Diplocoques
<b>Lc 3'</b>	+	Cocci	Chainettes
<b>Lc 5'</b>	+	Cocci	Chainettes
<b>St1</b>	+	Cocci	Amas
<b>P8'</b>	+	Cocci	Diplocoques, en tétrade
<b>P9</b>	+	Cocci	Diplocoques, en tétrade
<b>P10</b>	+	Cocci	Diplocoques
<b>P11'</b>	+	Cocci	Diplocoques

### Annexe V : Standardisation

**Tableau IV:** Inocula standard de 18h 10<sup>9</sup> de 34 souches de BL de cinq genres.

Les souche	Inocula standard de 18h 10 <sup>9</sup>
<i>genre Pediococcus</i>	
P8'	3
P9	2,2
P10	3,25

P11'	3,25
<i>genre Lactococcus</i>	
Lc1'	3,25
Lc5'	1,5
Lc3'	2,5
Lc3	1,45
<i>genre Streptococcus</i>	
St1	2
<i>genre Lactobacillus</i>	
Lb10	4,3
Lb13	3,7
Lb12	1
Lb18'	6
Lb23'	3,25
Lb27	1,2
Lb5'	5,1
Lb26'	4,6
Lb22'	2,4
Lb24'	2,3
Lb14'	1,6
Lb25'	2,5
Lb1	1
Lb17	4,2
Lb2'	3
Lb8'	2,5
Lb20'	1,8
<i>genre Leuconostoc</i>	
Ln1	1,8
Ln11'	2,6
Ln12'	3
Ln5	2,7
Ln4'	3,1

Ln3'	3,5
Ln7'	2,7
Ln2	1,2

### Annexe VI: Pouvoir acidifiant

**Tableau V** : Evaluation du pH des 34 souches de LB des cinq genres dans le lait au cours du temps.

Les souches	T0	T2	T4	T6	T24	T48
Lb10'	6,94	6,84	6,8	6,7	5,9	5,6
Lb13	6,98	6,71	6,68	6,6	5,6	5,1
Lb12	7,02	6,89	6,84	6,8	6	5,6
P9	6,94	6,74	6,7	6,66	5,9	5,4
Ln2	6,66	6,6	6,56	6,4	5,6	5,2
St1	7,11	6,82	6,8	6,78	5,89	5,6
Lc1'	6,88	6,54	6,5	6,46	5,4	4,9
Lb18'	7,1	6,7	6,68	6,5	5,3	5
P8'	7,09	6,8	6,7	6,5	5,55	5,3
Lb23'	6,81	6,77	6,71	6,63	5,3	5,03
Ln11'	6,74	6,58	6,53	6,2	5,9	5,4
Ln12'	6,81	6,75	6,61	6,5	5,2	4,81
Lb27	6,7	6,53	6,46	6,28	5,3	4,72
Ln5	6,84	6,68	6,44	6,22	5,36	5,17
Ln4'	6,65	6,45	6,44	6,33	6	5
Lb5'	6,58	6,45	6,38	6,32	6,04	5,4
Ln3'	6,54	6,5	6,46	6,4	5,82	5,04
Lb26'	6,69	6,58	6,56	6,49	5,53	4,45
Lb22'	6,64	6,66	6,56	6,47	5	4,54
Lb24'	6,56	6,5	6,38	6,28	5,75	4,78
Lb14'	6,54	6,49	6,39	6,33	5,82	4,68
Lc3'	6,32	6,3	6	5,68	5,03	4,33

Lb25'	6,58	6,58	6,52	6,5	5,6	5,32
Lc5'	6,59	6,5	6,48	6,4	5,11	4,52
Lb1	6,49	6,41	6,34	6,29	5,75	5,03
Ln7'	6,47	6,26	5,92	5,75	5,03	4,75
P10	6,46	6,31	6,09	5,92	5,1	4,97
Lc3	6,48	6,38	6,2	6,04	5,17	4,99
P11'	6,44	6,35	6,28	6,23	5,02	4,2
Lb17'	6,62	6,14	5,96	5,9	4,2	4,1
Lb2'	6,56	6,08	5,95	5,9	5,62	4,82
Lb8'	6,65	6,09	5,95	5,89	5,65	4,83
Lb20'	6,55	6,09	6,03	5,95	5,46	4,44
Ln1	6,62	6,07	5,9	5,8	5,41	4,86

**Tableau VI :** Evaluation de l'acidité de 34 souches des cinq genres dans le lait au cours du temps.

Les souches	T0	T2	T4	T6	T24	T48
Lb10'	16	20	21	27	35	43
Lb13	18	20	23	28	38	51
Lb12	15	20	21	26	36	50
P9	17	19	22	29	40	54
Ln2	15	20	24	30	40	52
St1	19	27	29	32	44	60
Lc1'	15	23	30	35	54	60
Lb18'	18	25	31	34	51	55
P8'	20	27	34	37	50	56
Lb23'	15	19	20	23	50	60
Ln11'	17	22	24	30	45	54
Ln12'	19	21	27	30	52	60
Lb27	20	24	26	29	46	56
Ln5	19	23	25	30	56	59

Ln4'	17	26	28	30	40	58
Lb5'	19	22	27	30	41	54
Ln3'	16	20	23	29	46	57
Lb26'	20	25	28	30	50	58
Lb22'	20	25	29	30	50	55
Lb24'	22	26	29	31	48	66
Lb14'	20	23	25	35	50	60
Lc3'	19	21	25	30	49	53
Lb25'	20	23	26	30	40	54
Lc5'	20	21	32	45	59	79
Lb1	20	29	30	33	49	90
Ln7'	21	30	35	37	68	90
P10	20	30	35	39	56	94
Lc3	18	23	27	34	63	76
P11'	20	23	27	30	70	90
Lb17'	20	21	24	26	42	55
Lb2'	21	26	29	30	45	53
Lb8'	20	24	26	30	50	54
Lb20'	19	22	28	32	46	63
Ln1	21	22	26	28	47	55

**Tableau VII :** Evaluation du pH des 34 souches de LB des cinq genres dans le bouillon MRS au cours du temps.

les souches	T0	T2	T4	T6	T24	T48
P1'	6,36	5,37	4,32	4,09	3,38	3,26
Lb10'	5,89	5,31	4,4	4,15	3,5	3,3
Lb13	5,89	5,3	4,96	4,34	3,32	3,24
Lb12	5,53	4,94	4,36	4,12	3,4	3,29
P9	5,74	5,27	4,71	4,04	3,32	3,25
Ln2	5,77	5,57	4,82	4,71	4,12	4,1

St1	5,85	5,79	5,56	5,36	4,3	4,2
Lc1'	5,71	5,66	5,59	5,1	3,86	3,8
Lb18'	5,88	5,7	5,69	5,65	3,73	3,5
P8'	5,99	5,97	5,89	5,81	3,61	3,5
Lb23'	5,45	5,28	5,11	4,95	3,91	3,52
Ln11'	5,74	5,64	5,6	4,72	3,55	3,5
Ln12'	5,8	4,95	4,7	4,53	4	3,29
Lb27	5,7	4,9	4,78	4,64	4,1	3,9
Ln5	6,63	5,37	5,3	5,22	4,24	3,84
Ln4'	5,7	5,35	4,76	4,7	3,87	3,48
Lb5'	5,8	5,23	4,88	4,48	4,22	3,5
Ln3'	5,9	5,6	5,45	5,2	4	3,65
Lb26'	5,87	5,57	5,5	5,43	4,48	4
Lb22'	5,75	5,7	5,5	5,37	4,75	4
Lb24'	5,7	5,68	5,6	5,56	4	3,6
Lb14'	5,96	5,65	5,6	5,16	4,49	4,4
Lc3'	5,69	5,61	5,2	4,93	3,72	3,39
Lb25'	5,86	5,4	5,16	4,98	4	3,68
Lc5'	5,79	5,6	5,5	5,1	3,96	3,48
Lb1	5,7	5,56	5,07	4,75	3,57	3,45
Ln7'	5,83	5,44	5,09	4,57	3,67	3,6
P10	5,86	5,72	5,3	5,13	4	3,76
Lc3	5,53	5,5	5,29	5,27	3,75	3,51
P11'	5,61	5,18	4,4	4,13	3,54	3,43
Lb17'	5,6	5,17	4,97	4,8	4,2	4,03
Lb2'	5,58	5,14	5,05	5	3,66	3,6
Lb8'	5,7	5,3	4,83	4,61	3,65	3,6
Lb20'	5,7	5,09	4,64	4	3,45	3,39
Ln1	5,56	5,43	5,03	4,93	3,96	3,91

**Tableau VIII :** Evaluation du l'acidité de 34 souches des cinq genres dans le bouillon au cours du temps.

les souches	T0	T2	T4	T6	T24	T48
P1'	14	23	25	26	31	40
Lb10'	12	16	22	25	30	40
Lb13	21	24	24	27	36	41
Lb12	20	22	27	30	43	50
P9	10	11	20	30	38	45
Ln2	12	20	24	28	40	45
St1	11	18	24	28	38	43
Lc1'	13	21	25	28	40	47
Lb18'	14	21	40	43	49	51
P8'	15	33	45	49	56	60
Lb23'	23	37	44	45	65	69
Ln11'	35	55	59	60	66	70
Ln12'	27	45	47	51	59	62
Lb27	32	40	45	50	60	66
Ln5	28	34	36	38	51	56
Ln4'	26	29	35	38	43	50
Lb5'	22	27	35	38	43	47
Ln3'	21	23	32	37	45	50
Lb26'	11	20	30	35	43	48
Lb22'	20	24	27	29	39	50
Lb24'	37	40	41	43	55	60
Lb14'	20	24	30	35	47	53
Lc3'	22	29	33	40	47	55
Lb25'	23	40	45	47	55	57
Lc5'	30	33	35	38	49	53
Lb1	23	30	39	43	59	90
Ln7'	25	35	37	41	50	57
P10	24	33	40	45	60	85
Lc3	27	29	33	40	65	77
P11'	22	24	28	45	71	89
Lb17'	20	22	30	33	44	56

---

Lb2'	25	26	30	31	46	50
Lb8'	25	29	30	33	48	51
Lb20'	27	30	35	38	49	60
Ln1	20	25	27	29	42	52

### Annexe VII: Croissance bactérienne

**Tableau X** : Dénombrement des 34 souches de BL sur le lait ( $10^9$ UFC/ml).

les souches	T0	T2	T4	T6	T24	T48
P10	3	3,8	5,3	8,2	15	24
Lb1	2,5	5	8	13	55	5
Ln7'	1	1,5	5	5,7	23	8
St1	2	3	5	7,5	29	1
Lc5'	1,6	4,5	5,5	8,2	29	2

**Tableau XI** : Dénombrement des 34 souches de BL sur gélose MRS ( $10^9$ UFC/ml).

les souches	T0	T2	T4	T6	T24	T48
P10	1,88	8,5	38	55	3	2
Lb1	1,59	6,5	8	45	8	2
Ln7'	2,5	9	69	95	32	23
St1	3	4,2	20	92	75	32
Lc5'	1,8	2	9,5	26	15,5	4,9

## Annexe VIII : Test de salinité

**Tableau XII** : test de la tolérance à salinité (différent pourcentages de NaCl) des 34 souches selon les genres.

Les souche	2%	4%	6%	8%	10%
<i>genre Pediococcus</i>					
P8'	+++	+++	+++	+++	++
P9	+++	+++	+++	+++	++
P10	+++	+++	+++	++	+
P11'	+++	+++	+++	++	+
<i>genre Lactococcus</i>					
Lc1'	+++	+++	+++	+++	++
Lc5'	+++	+++	+++	++	+
Lc3'	+++	+++	++	+	-
Lc3	+++	+++	+++	++	+
<i>genre Streptococcus</i>					
St1	+++	+++	+++	+++	+++
<i>genre Lactobacillus</i>					
Lb10'	+++	+++	+++	+++	++
Lb13	+++	+++	+++	+++	++
Lb12	+++	+++	+++	+++	++
Lb18'	+++	+++	+++	+++	++
Lb23'	+++	+++	+++	+++	++
Lb27	+++	+++	+++	-	-
Lb26'	+++	+++	++	++	+
Lb5'	+++	+++	+++	+++	++
Lb22'	+++	+++	++	+	-
Lb24'	+++	+++	+++	+++	++
Lb14'	+++	+++	+++	+++	++
Lb25'	+++	+++	+++	++	-
Lb1	+++	+++	+++	+++	+
Lb17	+++	+++	+++	++	+
Lb2'	+++	+++	+++	++	+

Lb8'	+++	+++	+++	++	+
Lb20'	+++	+++	+++	+++	++
<i>genre Leuconostoc</i>					
Ln1	+++	+++	+++	++	+
Ln11'	+++	+++	+++	++	+
Ln12'	+++	+++	++	+	-
Ln5	+++	+++	++	-	-
Ln4'	+++	+++	++	+	-
Ln3'	+++	+++	++	++	+
Ln7'	+++	+++	+++	++	+
Ln2	+++	+++	+++	+++	++

(-) Pas de croissance, (+) faible, (++) bonne, (+++) très bonne croissance (trouble d'intensité semblable au témoin sans NaCl)

### Annexe X : Activité protéolytique

**Le Tableau XIV** : Activité protéolytique des 34 souches lactiques selon les genres.

Les souche	1%	2%	6%
<i>genre Pediococcus</i>			
P8'	30	10	0
P9	24	20	0
P10	28	25	4
P11'	22	18	4
<i>genre Lactococcus</i>			
Lc1'	30	10	0
Lc5'	24	10	0
Lc3'	23	11	0
Lc3	28	16	2
<i>genre Streptococcus</i>			
St1	44	40	0
<i>genre Lactobacillus</i>			
Lb10	30	20	4
Lb13	30	20	0
Lb12	50	20	0
Lb18'	30	10	2
Lb23'	30	0	0
Lb27	27	14	4
Lb5'	12	8	2
Lb26'	22	10	5
Lb22'	22	12	8
Lb24'	11	7	10
Lb14'	23	15	2
Lb25'	24	10	6
Lb1	27	8	2
Lb17	30	28	0
Lb2'	40	0	0
Lb8'	40	0	0
Lb20'	30	0	0
<i>genre Leuconostoc</i>			
Ln1	30	10	0
Ln11'	16	10	4
Ln12'	10	6	2
Ln5	30	10	4
Ln4'	17	8	4

Ln3'	11	10	4
Ln7'	28	21	4
Ln2	40	0	0

## **Résumé :**

Une collection de 34 souches de bactéries lactiques isolées de l'ben traditionnel revivifiées et purifiées a été mise au point. A partir de la, un dénombrement de ces dernières a été fait, les résultats obtenus montrent que le nombre moyen de ces bactéries lactiques, varie de  $10^9$  à  $5,1 \cdot 10^9$  UFC/ml.

Nous avons par la suite examiné chez ces souches certaines caractéristiques d'intérêts technologiques afin d'évaluer leurs potentiels pour un éventuel usage industriel. Nous nous sommes intéressés spécialement à l'évaluation de l'activité acidifiante, l'activité protéolytique, l'activité lipolytique, l'activité texturante et l'activité aromatisante.

Les résultats de l'évaluation des aptitudes technologiques indiquent que l'ensemble des souches ont présentée un bon pouvoir acidifiant, protéolytique, texturant, mais dépourvus de pouvoir lipolytique. Cependant, ces bactéries sont capables de synthétiser des composés aromatiques. En général les souches de BL utilisées dans cette étude présentent de bonne propriétés fonctionnelles (acidifiante, protéolytique, texturante, et aromatisante) qui peuvent être exploitées. Ces caractères ont un intérêt essentiel dans l'industrie.

**Mots clés :** Propriétés technologiques, bactéries lactiques, pouvoir acidifiant, pouvoir protéolytique, pouvoir lipolytique, pouvoir texturant, pouvoir aromatisant.

## **Summary:**

A collection of 34 isolated strains of lactic bacteria of traditional l' ben revived and purified has been developed. From the count of these has been made, the results obtained show that the average number of lactic acid bacteria, varies from  $10^9$  to  $5.1 \cdot 10^9$  CFU / ml.

We subsequently examined in these strains some technological interest's characteristics to assess their potential for possible industrial use. We focused specifically on assessing the acidifying activity, proteolytic activity, lipolytic activity, the activity texturing and flavoring activity.

The results of the evaluation of technological skills indicate that all strains have shown good power acidifying, proteolytic, texturing, but devoid of lipolytic power. However, these bacteria are capable of synthesizing aromatic compounds. Generally BL strains used in this study have good functional properties (acidifying, proteolytic, texturizing, and flavoring) that can be exploited. These characters have a vital interest in the industry.

**Keywords:** Technological properties, lactic acid bacteria, acidifying power, power proteolytic, lipolytic power, texturing power, flavoring power.