الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جـــامعـــة محمد الصديق بن يحيى - جـيـــجـــل -
Université Mohammed Seddik Ben Yahia - Jijel -

Faculté : Sciences de la Nature et de la Vie
Département : Microbiologie Appliquée et Sciences Alimentaires

كليـة عـــلوم الطـــبيعـة و الحـــياة
قســـم : الميكروبيولوجيا التطبيقية وعلوم التغذية

Mémoire de Fin Cycle

En vue de l'obtention du diplôme : **Master Académique en Sciences de la Nature et de la Vie**

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Appliquée

Thème

Identification des bactéries lactiques isolées à partir du lait de chèvre et évaluation de leurs caractéristiques technologiques

Membres de Jury

Présidente : Mme. BENHAMADA W
Examinatrice : Dr. ALIOUA S
Encadreur : Mr. RAHMOUNE Y

Présenté par

M ^{elle} : BOUSEBTA Khouloud
M ^{elle} : BOUDEKHANE Khadidja
M ^{elle} : BOULHOULOU Mouna

جامعة محمد الصديق بن يحيى
مكتبة الكلية
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Année Universitaire 2021-2022

Numéro d'ordre (bibliothèque) : .....

Remerciements

Avant tout nous remercions "Allah" qui nous 'a donné le courage, la volonté et la force pour accomplir ce modeste travail, merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

Nous remercions très sincèrement et très chaleureusement notre encadreur ***Mr.Rahmoune Yazid*** *pour avoir accepté de nous encadrer et de nous accompagner, pas à pas à travers sa disponibilité, ses orientations et ses conseils pertinents qui ont grandement facilité ce travail.*

Nous tenons à remercier également l'ensemble des membres du jury ***Mme Benhamada Wahiba*** *et* ***Dr. Alioua Souad*** *examinatrice qui ont accepté d'évaluer notre travail.*

Enfin toute notre sympathie et nos remerciements vont également à tous ceux et celles, qui de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce mémoire.

Dédicace

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon coeur : Mes parents **Yazid** et **zahra** qui je ne pourrai pas à toute ma vie de rendre une partie de leur labour.*

*A mes frères **Zakaria** et **Abd nour**, A mes belles sœurs **Assia**, **Fatima** et **Imen**.*

A toutes ma famille.

*A **Khadidja Boudekhane** et **Mouna boulhoulou** chères amies avant d'être trinôme.*

*A mes chères amies **Zineb Lafza** et **Khawla Boussiada**.*

A tous ceux qui m'ont soutenu pour devenir qui je suis.

A mes collègues : promotion de Microbiologie appliquée 2022.

Khouloud

Dédicace

J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail.

A Celui qui ma toujours encouragé et soutenu durant toutes mes

années d'études. Merci pour ton amour et ta confiance totale...

*A Mon cher papa **Youcef**.*

A Celle qui matant bercé, tant donné et tant enseigné, toi qui ma guidé

Dans le droit chemin, toi qui ma appris que rien est impossible...

*A Ma chère maman **Dahbia**.*

*A Ma chère grande mère **Fatma** et grand père **Ahmed.***

*A Ma chère soeurs : **Noura, Sarra,Amina, Roumiassa,hind ,khawla et Oumiama.***

*A Mon cher frère : **Haroun, Abd El Alli, Adnan etIbrahim.***

*A Ma chère tant : **Wafa Bouab** et **Khawla Boussiada.***

*A Ma chère trinôme **Khouloud Bousebta** et **Mouna boulhoulou** pour tous les BON*

moments que nous

avons partagés que je remercie vivement.

A mes collègues : promotion de Microbiologie appliquée 2022.

Khadidja

Dédicace

Avant tout, je remercie dieu le tout puissant de m'avoir donné le privilège et la chance d'étudier et de suivre le chemin de science et de la connaissance, aussi le courage et la volonté pour mener à bien ce travail.
Je dédie ce mémoire qui est le fruit de tout un long chemin d'études :

*A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de ma force, celui qui a fourni l'effort pour m'élever à son statut, mon cher père **Hacen**.*

*A celle qui m'a mis au monde et qui a toujours éclairé mon chemin par son amour, sa grande générosité, sa bonté et une constante disponibilité, ma merveilleuse mère **Asma** que j'aime beaucoup.*

"que dieu les garde pour moi"

*A mes adorables sœurs **Ikram** et **Samah**, pour l'amour qu'elles me réservent, je vous souhaite une vie pleine du bonheur et de succès.*

*A mon petite Frère **Abd El Wdoud** qui sait toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille.*

A toute ma famille.

*A mes copines qui étaient à côté de moi **Kholoud et Khadija ,** merci pour le beau temps qu'on a passé ensemble durant ces années , et pendant la réalisation de ce travail, je vous souhaite beaucoup de réussite dans tout ce que vous entreprenez et plein de bonheur dans votre vie.*

*A mes amies **Nesrine, Sara, Amina, Kholoud , Khadija , Aicha ,Madjda, Maria , Nouria** , pour tous les moments formidables qu'on a passés ensemble, à tous nos souvenirs ! Je vous souhaite à tous pleine de bonheur et de prospérité et tous mes camarades de la promotion microbiologie appliquée (2021/2022).*

Mouna

Sommaire

Liste des figures
Liste des tableaux
Liste des abréviations
Introduction 1

I. Synthèse Bibliographique

Chapitre 1. Le lait de chèvre

1.1. Définition 3

1.2. Composition du lait de chèvre 3

1.2.1. Composition biochimique 3

1.2.2. Composition microbiologiques du lait. 4

Chapitre 2. Les bactéries lactiques

2.1. Définition et généralités sur les bactéries lactiques. 6
2.2. Habitats 6
2.3. Morphologie 6
2.4. Caractéristiques générales des génomes des bactéries lactiques 7
2.5. Classification et taxonomie 8
2.5.1. Méthodes d'identification et classification 8
2.5.2. Classification des bactéries lactique 9
2.5.3. Principaux genre des BL 10
Lactobacillus 10
Streptococcus 11
Bifidobacterium 12
Enterococcus 12
Lactococcus 13
Leuconostoc 13
2.6. Principale voies métaboliques des BL 14
2.6.1. Métabolisme des glucides 15

2.6.2. Métabolisme du Citrate et malate....15
2.6.3. Métabolisme protéolytique....16
2.6.4. Métabolisme lipolytiques....16
2.7. Propriétés technologiques des bactéries lactiques....17
2.7.1. Activité acidifiante....17
2.7.2. Activité protéolytique....17
2.7.3. Activité lipolytiques....18
2.7.4. Activité aromatisante....18

II. Partie expérimentale

1. Matériel et méthodes

1.1. Matériel....19
1.1.1. Milieux de culture....19
1.1.2. Produits chimiques et réactifs....19
1.2. Échantillonnage....20
1.3. Isolement....20
1.4. Purification....20
1.4.1. Caractères macroscopiques....20
1.5. Pré-identification....21
1.5.1. Caractères microscopiques....21
1.5.2. Test de catalase....21
1.5.3. Test d'oxydase....21
1.6. Conservation des isolats....21
1.7. Identification....21
1.7.1. Caractères physiologiques et biochimiques....22
1.7.1.1. Croissance à différent températures....22
1.7.1.2. Croissance à différent concentration NaCl....22
1.7.1.3. Croissance à différent pH....22
1.7.1.4. Etude de thermorésistantes....22
1.7.1.5. Type fermentaire....22
1.7.1.6. Croissance sur le lait au bleu de sherman....23
1.7.1.7. Hydrolyse de l'arginine....23
1.7.1.8. Test de Voge proskauer....23
1.8. Evaluation des propriétés technologiques....23
1.8.1. Pouvoir acidifiante....24

1.8.2. Pouvoir lipolytique 24
1.8.3. Pouvoir protéolytique 24
1.8.4. Production d'arômes 24

2. Résultats et discussion

2.1. Isolement des bactéries lactiques 25
2.2. Observation macroscopique 25
2.3. Observation microscopique.....26
2.4. Test de catalase et de l'oxydase 26
2.5. Identification des isolats.....27
2.5.1. *Lactococcus* 30
2.5.2. *Pediococcus*.....30
2.5.3. *Streptococcus* 30
2.5.4. *Leuconostoc* 31
2.5.5. *Enterococcus* 31
2.5.6. *Lactobacillus* 31
2.6. Distribution des bactéries lactiques.....32
2.7. Evaluation des propriétés technologiques 33
2.7.1. Pouvoir acidifiante 33
2.7.2. Pouvoir lipolytique 34
2.7.3. Pouvoir protéolytique 36
2.7.4. Pouvoir aromatique 38
2.8. Sélection des genres 39

Conclusion

Conclusion 40

Références bibliographiques 41
Annexe

N°	Titre	Page
Figure 01	Arbre phylogénétique des bactéries lactiques et des genres apparentés.	10
Figure 02	Principales voies métaboliques biochimiques des bactéries lactiques.	14
Figure 03	Observation macroscopique des colonies lactiques sur gélose MRS.	25
Figure 04	Observation macroscopique des isolats lactiques (S1 et S6) après purification.	25
Figure 05	Observation microscopique (Objectif X100) d'une souche lactique, isolée du lait, après coloration de Gram.	26
Figure 06	Distribution de pourcentage des genres de bactéries lactiques.	32
Figure 07	Evaluation de l´activité protéolytique des bactéries lactiques.	37
Figure 08	Schémas des souches ayant un fort avantage technologique.	39

جامعة محمد الصديق بن يحيى
مكتبة الكلية
كلية علوم الطبيعة و الحياة

N°	Titre	Page
Tableau 1	Composition nutritionnelle moyenne de 3 laits (pour 100 g).	4
Tableau 2	Principaux genres des bactéries lactiques.	7
Tableau 3	Liste des techniques utilisées pour l'identification des bactéries lactiques.	9
Tableau 4	Résultats des tests de catalase, des tests de l'oxydase et de la coloration de Gram des souches isolées.	27
Tableau 5	Résultats des caractéristiques physiologiques et biochimiques des isolats.	28
Tableau 6	Résultats du pouvoir acidifiante.	33
Tableau 7	Résultats de l'activité lipolytique.	35
Tableau 8	Résultats de l'activité protéolytique.	36
Tableau 9	Résultats de l'activité aromatique.	38

ADNr: ADN ribosomal

ADH : Arginine déhydrolase

B : *Bifidobacterium*

BL : Bactéries lactiques

BM : Bleu de méthylène

°C: Degré celsus

°D: Degré Dornic

DO : Densité Optique

***En* :** *Enterococcus*

G+C : Guanine-+Cytosine

Hcl : Chlorure d'hydrogène

H_2O_2: Peroxyde d'hydrogène

IDF: International Dairy Federation

L: *Lactobacillus*

Lb : *Lactobacillus*

Lc: *Lactococcus*

MRS: Man Rogosa Sharpe

MRS-BCP: milieu MRS additionne de pourpre de promocresol

NaCl : Chlorure de Sodium

NaOH : Hydroxyde de sodium

Pc : *Pediococcus*

PCR: Polymerase Chain Reaction

PFGE : Pulsed Field Gel Electrophoresis

pH: potentiel Hydrogène

RAPD-PCR: PCR Randorn Amplified Polymorphic

Rep-PCR: PCR Palindromique Extragénique Répétitive

RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism

St: *Streptococcus*

***Subsp* :** Sous espèce

V/V : Volume par volume

Introduction

Le lait est un aliment de base pour tous les consommateurs. Dans la plupart des cas, le terme "lait" fait référence au lait de vache et de nombreuses personnes supposent qu'il est bon. Cependant, le lait de chèvre est encore plus riche et plus bénéfique. Le lait de chèvre est particulièrement attractif en raison de sa composition unique, qui l'a amené à être considéré comme une matière première de haute qualité que pour la fabrication d'aliments destinés à certains segments de la population ayant des besoins spécifiques (les personnes âgés et les nourrissons) **(Rai *et al*., 2022)**.

La présence d'une variété de micro-organismes (bactéries, moisissures et levures) dans le lait de chèvre crée un écosystème microbien compliqué. Parmi ces micro-organismes figurent les bactéries lactiques, qui jouent un rôle essentiel dans le développement des propriétés organoleptiques des produits laitiers fermentés. Ainsi que la conservation des aliments **(Jamet, 2009)**.

Les bactéries lactiques constituent un groupe d'espèces hétérogènes de coques et de bacilles, qui a pour essentielle particularité la fabrication d'acide lactique à travers la fermentation des sucres **(Solanki *et* Hati, 2018)**.

Un large éventail d'activités et de propriétés métaboliques sont étudiées chez ces bactéries en vue d'une utilisation dans les industries alimentaires et pharmaceutiques et plus particulièrement dans l'industrie laitière (yaourts, laits fermentés, fromages frais et affinés). Leurs contributions utiles consistent à affecter la qualité finale des produits. Il s'agit notamment des caractéristiques qui sont l'activité aromatique et acidifiante, les propriétés enzymatiques, l'activité protéolytique et l'activité lipolytique et peptidase **(Casaburi *et al.*, 2007)**.

Notre travail, s'inscrit dans ce cadre précis et consiste en une contribution à la connaissance de la flore lactique du lait de chèvre, isolement, identification phénotypique et sélection de souches lactiques aux propriétés acidifiante, protéolytique et lipolytique.

Pour mieux cerner l'objectif dans lequel s'inscrit ce mémoire, nous avons subdivisé notre travail en trois parties, la première est consacrée à une synthèse bibliographique articulée autour de deux chapitres, le premier présente un aperçu sur le lait de chèvre, leurs principales caractéristiques. Le deuxième chapitre décrit les principales caractéristiques des bactéries lactiques, leur taxonomie, les méthodes d'identification et les principales activités métaboliques. En seconde partie nous avons rassemblé et énuméré les différentes méthodes

et techniques utilisées dans cette étude. La troisième partie est consacrée à la présentation des résultats expérimentaux obtenus et leurs discussions, suivi d'une conclusion.

I. Synthèse bibliographique

Chapitre 1

Le lait de chèvre

1.1. Définition

Le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir du colostrum. C'est un liquide blanc, opaque, de saveur légèrement sucrée, constituant un aliment complet et équilibré avec un pH situé entre 6,6 à 6,8. Il est sécrété par les glandes mammaires des mammifères femelles, pour la nutrition de leurs progénitures. C'est est un aliment riche en protéines de haute valeur biologique, en calcium, en vitamines et oligo-éléments **(Kassa *et al*., 2016)**.

Le lait de chèvre est un liquide blanc composé de lipides en émulsion sous forme de globules, de caséines en suspension colloïdale, de protéines du sérum en solution colloïdale, de lactose et de minéraux en solution. Comparé au lait de vache, il est légèrement plus blanc suite à l'absence de carotène **(Milewski *et al*., 2018).**

1.2. Composition du lait de chèvre

1.2.1. Composition biochimique

Dans l'ensemble, le lait de chèvre se rapproche plus du lait de vache que de celui de femme. La composition moyenne du lait de chèvre en comparaison à celle du lait de vache et du lait humain est présentée dans **le tableau 1**. Il faut toutefois noter qu'une analyse plus détaillée de la composition chimique fait apparaître certaines particularités du lait de chèvre **(Claeys *et al*., 2014)**.

Tableau 1: Composition nutritionnelle moyenne de 3 laits (pour 100 g) **(Claeys *et al*., 2014)**.

Nutriments	Unité	Chèvre	Vache	Humain
Eau	g	87,5	87,7	87,1
Energie	KJ Kcal	296 71	272 65	289 69
Protéines	g	3,3	3,3	1,3
Caséines/lactalbumine	-	83/17	82/18	40/60
Lipides	g	4,5	3,8	4,1
Glucides	g	4,6	4,7	7,2
Na	mg	40	50	14
K	mg	180	150	58
Ca	mg	130	120	34
Mg	mg	20	12	3
P	mg	110	95	12
Fe	mg	0,04	0,05	0,07
Cu	mg	0,05	0,02	0,04
Zn	mg	0,30	0,35	0,28

1.2.2. Composition microbiologique

Selon **pradal (2012)**, le lait contient trois catégories de micro-organismes :

- **Les bactéries :** Elles agissent par l'intermédiaire des enzymes qu'elles sécrètent. Certaines sont utiles et nécessaires (bactéries lactiques) alors que d'autres sont nuisibles et dangereuses (bactéries pathogènes).

- **Les moisissures :** Elles ont besoin d'air (milieu aérobie) et se rencontrent surtout en phase d'acidification du lait. Elles secrètent essentiellement des lipases et des protéases qui dégradent les constituants du lait et posent des problèmes d'affinage.
- **Les levures :** Elles transforment les sucres en alcools ce qui peut provoquer des gonflements des fromages ou des problèmes de gout notamment lors de la phase d'affinage.

Chapitre 2

Les bactéries lactiques

2.1. Définition et généralités sur les bactéries lactiques

La première monographie, sur les bactéries lactiques, écrite par Orla-Jensen en 1919 à principalement influencer la systématique des bactéries lactiques **(Badis *et al.,* 2005)**. Ces dernières constituent un groupe hétérogène de micro-organismes aux caractéristiques morphologiques, métaboliques et physiologiques variées **(Solanki *et* Hati, 2018)**.

Ce sont des bactéries à Gram positif qui sont habituellement immobiles, asporulées, anaérobies mais aérotolérantes, en forme de coque ou de bâtonnet et qui produisent de l'acide lactique comme principal produit final pendant la fermentation des glucides **(Axelsson, 2004)**.

Communément reconnues comme GRAS (Generally Recognized As Safe), non pathogènes a fait que leur utilisation dans le domaine alimentaire est sûre et même bénéfiques pour l'Homme **(Buron *et al.,* 2019)**, sauf quelques espèces des genre *streptococcus* et *Enterococcus* qui peuvent être pathogènes et responsables de plusieurs problèmes sanitaires pouvant aller de caries dentaires jusqu'aux septicémies, pneumonies et d'autres maladies plus graves (**Papadimitriou *et al.,* 2016)**.

2.2. Habitats

Les Bactéries lactique occupent de nombreuses niches diversifiées ayant des conditions déférentes et des facteurs extrêmes intrinsèques et extrinsèques **(Holzapfel *et al.,* 2014)**. Elles se trouvent dans les aliments (produits laitiers, viande fermentée, pâte acidulé, légumes fermentés, ensilage, boissons), sur des plantes, dans des eaux usées, mais aussi dans les tractus génitaux, intestinaux et respiratoires de l'Homme et des animaux **(Tamime *et al.,* 1996)**.

2.3. Morphologie

Les bactéries lactiques forment un groupe diversifié de bactéries hétérogène de cocci ou de bacilles à Gram positive, non sporulés. Elles sont soit des anaérobies facultatives, micro-aérophiles ou aérotolérantes, généralement immobiles et la division cellulaire se produit dans un seul plan, sauf chez les pédiocoques **(Mokoena, 2017)**. Elles sont dépourvues de cytochromes, d'oxydase, et de catalase. Cependant, certains cas de pseudo-catalase peuvent être rarement observés. Elles sont chimioorganotrophes et ne poussent que dans milieux complexes. Elles sont caractérisées principalement, par la production de l'acide lactique, ainsi

que d'autres métabolites secondaires à propriétés antimicrobiennes, immunitaires, organoleptiques…etc **(Kalbaza, 2018)**, et se trouvent naturellement dans plusieurs systèmes alimentaires **(Moraes, *et al*., 2013)**.

Les bactéries lactiques sont généralement mésophiles mais peuvent pousser dans des températures aussi basses que 5°C ou aussi élevées que 45°C. De même, alors que le pH optimum de croissance est 5,5–5,8, certaines sont actives à pH 9,6 et d'autres à pH 3,2 **(Mokoena, 2017)**.

Tableau 2: Principaux genres des bactéries lactiques (**Adam *et* Martin, 2008 ; König *et* Fröhlich, 2017)**.

Genre	Morphologie	GC%	Fermentation des glucides
Lactobacillus	Bâtonnets, coccobacilles, isolé ou en chaine	32-53	Homo- ou hétérofermentaire, hétérofermentation facultative
Leuconostoc, Oenococcus	Sphérique ou lenticulaire, en paire ou en chaînes	38-41	Hétérofermontaire
Pediococcus	Sphériques, paires ou tétrades	24-42	Homo –ou hétérofermontation facultative
Lactococcus	Cocci en chaine	33-37	Homofermentaire
Weissella	Sphérique, lenticulaire irrégulières		Hétérofermontaire
Streptococcus	Cocci en chaine	40	Homofermentaire

2.4. Caractéristiques générales des génomes des bactéries lactiques

La génétique moléculaire des bactéries lactiques a commencé assez tard en 1972, lorsque le groupe MCKAY'S a obtenu la première preuve de la présence de plasmides chez les lactocoques **(Teuber, 1993)**.

Plus de 20 séquences complètes du génome des bactéries lactiques et des bifidobactéries appartenant à 15 espèces sont disponibles. Le génome des bactéries lactique est composé d'un élément essentiel (chromosome unique) et d'élément non essentiels

(prophage, plasmides, transposons...)**.** Le chromosome porte tous les gènes essentiels permettant son adaptation, multiplication dans déférent environnements **(Flahaut, 2015)**.

Les bactéries lactiques ont des génomes homogènes de faibles teneur GC%, avec des tailles génomiques relativement petites et varient entre 1,8 et 3,4 selon les espèces **(Pfeiler *et* Klaenhammer, 2007 ; Georges, 2008)**.

De nombreuses bactéries lactiques hébergent des plasmides, des molécules d'ADN autonomes et des séquences de transposon/insertion, qui s'ajoutent au génome. Ils portent des gènes coudant pour des voies métaboliques, transport membranaire et production de bactériocine. La contribution des gènes codés par plasmide chez les bactéries lactiques varie de 0 à 4,8 % du contenu total de gènes **(Wood *et* Warner, 2003 ; Makarova *et al*., 2006)**.

2.5. Classification et taxonomie

La classification des bactéries lactiques est encore à l'étude et restera probablement un sujet important pour les taxonomistes. La première taxonomique donnée par Orla-Jensen (1919) sur la base des caractéristiques morphologiques et physiologiques (types fermentaires, températures de croissance et utilisation des sucres) **(Pot *et al*., 1994)**.

2.5.1. Méthodes d'identification et classification

Les bactéries lactiques ont une importance capitale et de nombreuses techniques d'identification sont disponibles **(tableau 3)**, et affichent des différences majeures dans le pouvoir discriminant, la reproductibilité et la charge de travail **(Temmerman *et al*., 2004 ; Ghazi *et al*., 2009)**. Parmi ces techniques d'identification : le séquençage d'ARNr 16S, le ribotypage, le profilage des protéines, électrophotographie sur gel à champ pulsé resis (PFGE), PCR, RFLP, RAPD-PCR… etc **(Ben Amor *et al*., 2007 ; Adiguzel *et al*., 2009)**.

Tableau 3: Liste des techniques utilisées pour l'identification des bactéries lactiques (**Temmerman *et al*., 2004**).

Quelques méthodes phénotypiques et leurs principes	
Analyse morphologique	Analyse microscopique
Analyse physiologique	Caractéristiques de croissance, tests simples.
Caractérisation biochimique	Patron d'assimilation et de fermentation (API, BIOLOG,…).
Profilage des protéines	Dodécylsulfate de sodium. Gel de polyAcrylamide . Electrophorèse des protéines cellulaires.

Quelques méthodes génotypiques et leurs principes	
Amorce spécifiques	PCR avec des amorces spécifiques au groupe.
Séquencage	Détermination de séquences de gènes (ADNr 16S).
RFLP	Analyse des enzymes de restriction (REA).
RAPD-PCR	PCR amorcée au hasard.
Rep-PCR	PCR ciblant des séquences intercalées répétitives.
PFGE	REA et électrophorèse sur gel en champ pulsé.
Ribotypage.	Détection de REA et de sondes oligonucléotidiques.
Sondes d'hybridation	Hybridation ADN-ADN à l'aide de sondes marquées.

2.5.2. Classification des bactéries lactiques

Dans une première approche, Orla-Jensen a subdivisé les BL en genres : *Betabacterium, Thermobacterium, Streptobacterium, Streptococcus, Betacoccus, Tetracoccus et*

Microbacterium sur la base de leurs caractéristiques morphologiques et phénotypiques **(Orla-Jensen, 1924 ; Holzapfel *et al*., 2001)**.

Les BL appartiennent au domaine des firmicutes groupe de bactéries Gram positif, avec un taux de G+C " faible " (≤55% molaire), classe *Bacilli* et ordre *Lactobacillales*, qui comprend les familles suivantes : *Aerococcaceae, Carnobacteriaceae, Enterococcaceae, Leuconostocaceae, Lactobacillaceae* et *Streptococcaceae* **(Gaspar *et al*., 2013)**. Les genres communs de cet ordre sont *Lacbacillus, Laccoccus, Streptococcus, Leuconostoc, Pediococcus, Enterococcus, Carnobacterium, Oenococcus, Tetragenococcus, Vagococcus et Weisella* **(Daba *et al*., 2020 ; Zheng *et al*., 2020 ; Abiri *et al*., 2021)**.

Les Actinobactéries, ont un pourcentage molaire élevé de G+C (≥55%) (**Ludwig *et al*., 2009)**. Le phylum *Actinobacteria* comprenant plus de 39 familles et 130 genres Exemples : *Bifidobacterium ; Mycobacterium ; Rhodococcus ; Gardnerella. Streptomyces et* autres *actinomycètes* **(Ventura *et al*., 2007)**.

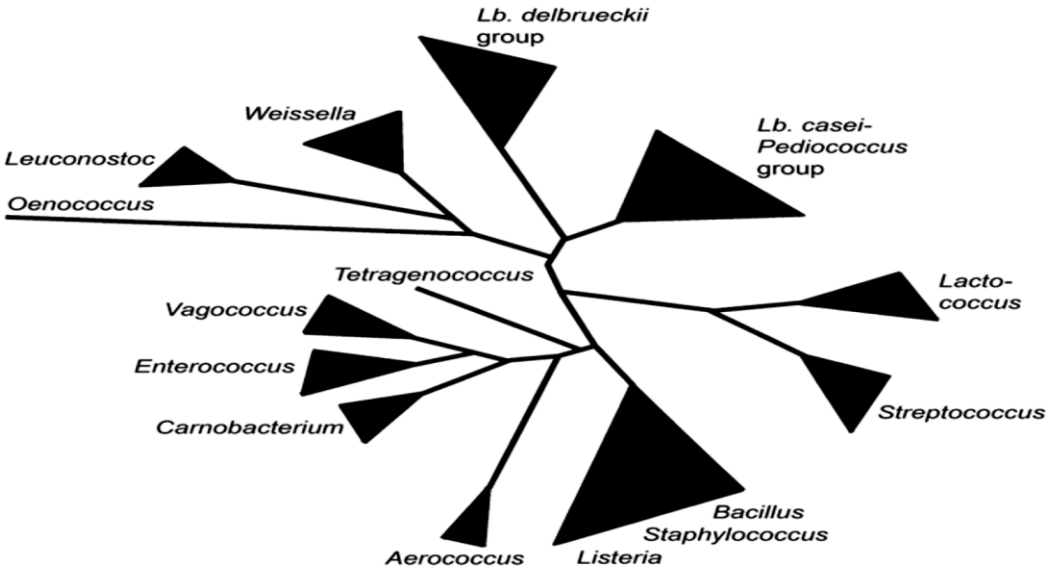


Figure 01: Arbre phylogénétique des bactéries lactiques et des genres apparentés **(König *et* Fröhlich, 2017)**.

2.5.3. Principaux genres des BL

a) Le genre *Lactobacillus*

Ce genre a été proposé par Beijerinck (1901) **(Hammes *et* Hertel, 2006)**, les espèces qu'il compose sont des bâtonnets à Gram positif, non sporulés, non mobiles ou rarement mobiles (par exemple, *Lb. mail*), dont la forme ressemble parfois à celle des coccobacilles.

Les chaînes sont couramment formées **(König *et al*., 2009).** Avec teneur des G+C variant de 32-55 % par mole **(Zhang *et al*., 2014)**.

Ce genre est l'un des plus grand et le plus diversifié parmi les BL, et comprend actuellement 158 espèces validées **(Claesson *et al*., 2008 ; Zhang *et al*., 2014)** et puissent être trouvés dans divers habitats, de produits de fermentation végétaux ou associés à des végétaux, levain, produits carnés, produits laitiers, produits vinicoles, etc. La majorité des espèces de lactobacilles sont auxotrophe et certaines à auxotrophie intermédiaire, comme *L. plantarum et L. salivarius* **(Goh *et* Klaenhammer, 2009)**.

Les lactobacilles sont subdivisés en trois groupes, et les espèces sont classées en fonction de leur relation phylogénétique **(Pot *et al*., 1994)**.

(i) Homofermentaires obligatoire : dépourvus à la fois glucose 6-phosphate-déshydrogénase et 6-phosphogluconate déshydrogénase ("*Thermobacterium"*).

(ii) Homofermentaires facultatifs : espèces, ayant les deux déshydrogénases, mais dégradant le glucose de préférence via la voie Embden-Meyerhof-Parnas ("*Streptobacterium*").

(iii) Hétérofermentaires obligatoires : espèces dépourvues de fructose 1,6-biphosphate-aldolase (*'Betabacterium '). 'Thermo bacterium'*, '*Streptobacterium*' et *'Beta bacterium*, étaient considérés comme trois sous-genres de *Lactobacillus.*

Les lactobacilles sont strictement fermentaires, aérotolérants ou anaérobies, acidosiques ou acidophiles. Les températures de croissance sont comprises entre 2°C et 53°C. Pour le pH, il est compris entre 3 et 8. La température et le pH optimaux pour la croissance sont généralement de 30 à 40 °C et de 5,5 à 6,2, respectivement **(Hammes *et* Hertel, 2006 ; Salvetti *et al*., 2012)**. Lactobacilles ont un rôle à jouer dans l'état de santé de l'écosystème gastro-intestinal en produisant des composés antibactériens (H_2O_2, bactériocines…) **(Noureldein *et al*., 2020)**.

b) Le genre *streptococcus*

Le genre *Streptococcus* comprend la majorité des espèces de streptocoques. Les cellules sont sphériques ou ovoïdes, organisées en paires ou en chaînes. Ces coques sont anaérobies facultatifs, non sporulés, dépourvues de catalase et homofermentaires, produisent

principalement de l'acide lactique et très exigeantes sur le plan nutritionnel **(Hardie *et* Whiley, 1997)**.

La taxonomie du genre *Streptococcus* est très variée. Ce genre est divisé en trois groupes :

Le groupe pyogène : la plupart de ces espèces sont pathogènes pour l'Homme et hémolytiques, comme *St. pmeumoniae*

Le groupe oral : divisé en cinq sous-groupes phylogénétiques à savoir (les *anginosus, mitis, salivarius, bovis , mutans*)

Les autres streptocoques : non pathogènes tels que l'espèce *Streptococcus thermophilus* utilisée dans technologie alimentaire. Elle varie selon son habitat. La capacité de croitre à 52°C et la teneur faible en glucides permettent de distinguer *St.thermophilus* de la plupart des autres Streptocoques **(Salminen *et* Von Wright, 2004)**.

c) Le genre *Bifidobacterium*

Le genre *Bifidobacterium* appelé anciennement "*Lactobacillus bifidus*", est un bacille à gram positif, immobile, ne forme pas de spores et ne produisent pas du gaz, catalase négative, avec un pourcentage élevé en GC (54 – 67 %). La majorité des espèces sont des anaérobies obligatoires, mais certaines espèces comme *B. infantis*, *B. breve* et *B. longum*, peuvent tolérer l'O_2 et se développer dans des conditions aérobies **(Axelsson *et al*., 2004 ; Ho *et al*., 2007)**.

Les bifidobactéries se distinguent par leur forme très irrégulière, généralement une morphologie en V ou en Y bifide, leur température optimale de croissance est comprise entre 37C° et 41 °C, le pH optimum de croissance se situe entre 6 et 7, elles sont hétérofermontaires et dégradent les hexoses par une voie métabolique particulière, la voie de la Fructose -6-phosphate phosphocétolase, en produisant plus d'acide acétique que d'acide lactique **(Gomes *et* Malcata, 1999)**.

d) Le genre *Enterococcus*

Le genre *Enterococcus* comprend les Streptocoques fécaux qui appartiennent au groupe D de Lancefield. Les espèces de ce genre se trouvent dans les aliments crus ou pasteurisés tels que le lait cru ou le lait pasteurisé et les fromages. Sont essentiellement *En. faecalis*, *En. faecium* et *En. durans*. Ce sont des bactéries homofermentaires parfois mobiles, dépourvues de catalase et d'oxydase, capables de croître dans un milieu hypersalin 6,5 % de NaCl, en

présence de 40% de bile et du pH élevées (9,6). Ils se développent à 10 et 45°C et peuvent résister 30 minutes à 60°C **(Moreno *et al*., 2006)**.

e) Le genre *Lactococcus*

Le genre *Lactococcus* représente la plupart des streptocoques du groupe N de Lancefield, qui sont liés à de nombreuses fermentations alimentaires et ne possèdent aucun caractère pathogène **(Samaržija *et al*., 2001)**. Ce genre se trouve dans le lait, les produits laitiers et les végétaux **(Doman-Pytka *et al*., 2004)**.

Lactococcus lactis est seule espèce actuellement utilisés dans la technologie laitière. Elle est subdivisée en trois sous-espèces, Lc. *lactis subsp*. *cremoris*, *Lc*. *lactis subsp*. *lactis* qui interviennent dans la production de la plupart des produits laitières et *Lc*. *lactis subsp*. *hordniaea* été découvert associée à des insectes et les produits laitier (**pu *et al*., 2002)**. Le Teneur en G+C de l'ADN des espèces incluses dans ce genre est de 30 à 40 % **(Bintsis, 2018)**.

Les lactocoques sont des bactéries anaérobies facultatives, homofermentaires avec des cellules ovoïdes qui apparaissent individuelles, par paires ou en chaines. Elles sont dépourvues de catalase, mésophiles avec une température de 10°C mais sont incapables de se développer à 45°C et jouent un rôle clé dans les fermentations laitières en transformant le lactose en acide lactique et les protéines du lait en composés aromatiques, **(Samaržija *et al*., 2001)**.

f) Le genre *Leuconostoc*

Sont des bactéries lactiques anaérobies facultatives, intervenants dans l'industrie laitière, hétérofermontaires qui produisent de l'acide lactique, du CO_2 et d'éthanol, des substances aromatiques et également du dextrane. L'espèce la plus courante dans l'industrie laitière est *Leuconostoc mesenteroides*, qui est utilisé comme starter dans la maturation du fromage **(Zarour *et al*., 2003)**.

Les cellules des leuconostocs sont des coques en paires ou en chaines, immobiles. Ce genre est caractérisé par sa température optimale de croissance qui se situe entre 20 et 30°C et son pourcentage en G et C de l'ADN qui est comprise entre 37 - 45% **(Holzapfel *et* Wood, 2014)**.

2.6. Principale des voies métaboliques

Les bactéries lactiques sont chimioorganotrophes et ne se développent que dans des milieux complexes. Ils produisent de nombreux métabolites importantes aux domaines sanitaires **(Dortu, 2009),** et alimentaire ce qui contribué au développement de l'industrie fermentaire (**Johansen, 2015 ; Bron *et al*., 2019)** et ce par la production d'une énorme quantité de composés bioactifs **(Pessione, 2016)**.

Le métabolisme des bactéries lactiques impliquées les trois principales voies métaboliques ; le métabolisme du lactose ou glycolyse, la lipolyse et la protéolyse **(Blaya *et al*., 2018** ; **Bintsis, 2018)**.

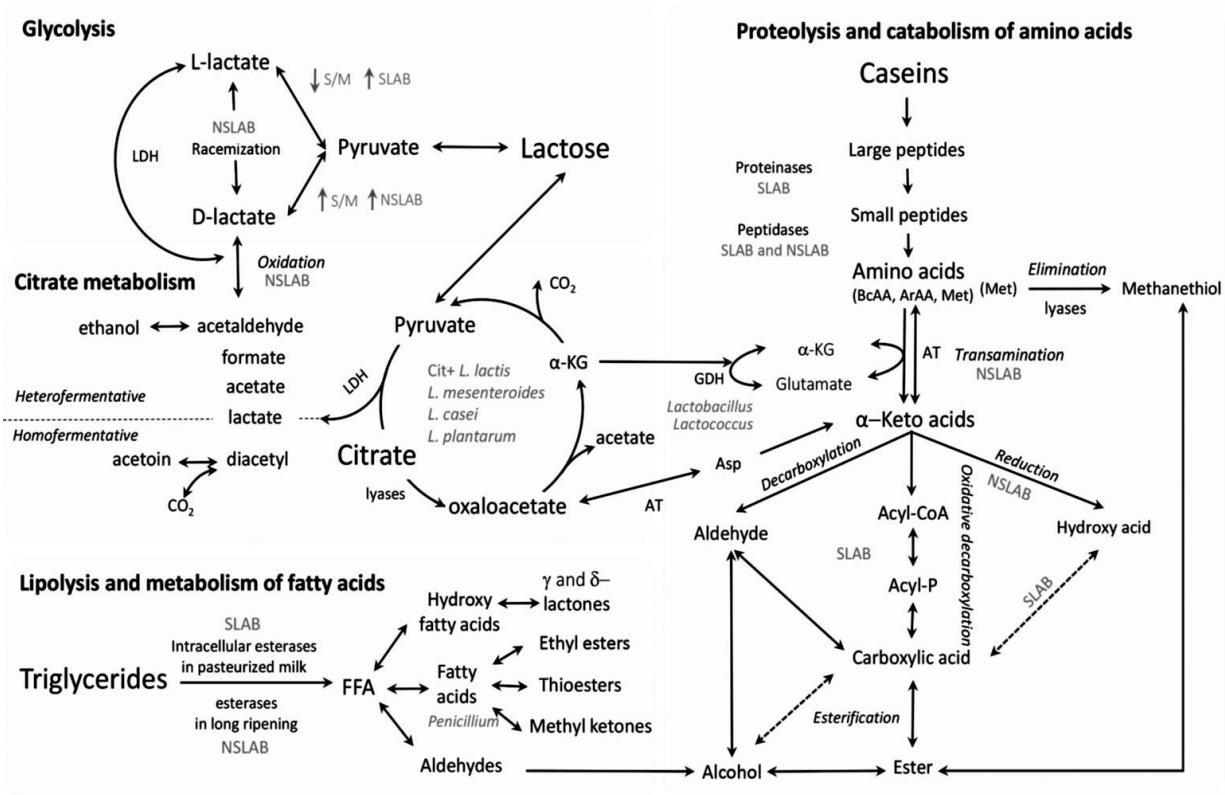


Figure 02: Principales voies métaboliques des bactéries lactiques **(Blaya *et al*., 2018)**.

2.6.1. Métabolisme des glucides

Les BL ne peuvent obtenir de l'ATP que par fermentation, généralement de sucres et génèrent de l'ATP par phosphorylation niveau de substrat **(Hatti *et al.*, 2018)**.

Le métabolisme des glucides par les BL peut être classé comme homolactique ou hétérolactique **(Buron, 2019)**. Les espèces homofermentaires : *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus* (*Enterococcus faecium*), *Pediococcus* (*Pediococcus acidilactic*) et certaines espèces de *Lactobacillus* comme *Lb.blantaruim Lb. casei* et *Lactobacillus acidophilus*, **(Chahrour,2013)**, produisent de l'acide lactique avec un rendent > 85% lors de la glycolyse **(König *et al*., 2009 ; Pessione, 2012 ; Hatti *et al.*, 2018)**, tandis que les espèces hétéro ferment (*Leuconostoc*, genres *Weissella*, *Oenococcus* et certains *Lactobacillus* comme *Lb.vrevis* , *Lb. hilgardii*) et produisent de l' acide lactique avec rendement de 50% , du CO2 et de l' éthanol/ acétate **(Pessione, 2012; Hatti *et al.*, 2018)**.

Les fermentations homolactiques suit la voie familière d'Embre-Meyerhof-Parnas et la fermentation hétérolactique suit une voie alternative appelée voie de phosphocétolase ou du phosphogluconate **(König *et al*., 2009)**, Dans cette voie, le NADPH est généré lorsque le glucose est oxydé en ribose 5-phosphate **(Hatti *et al.*, 2018)**.

Le métabolisme des bactéries du genre Bifidobacterium suite une voie particulière, la voie des bifides ou voie de la fructose-6-p phophocétolase (FPC), produisant de l'acétate et de l'acide lactique comme principaux produits finaux **(Mattarelli, 2014)**.

2.6.2. Métabolisme du Citrate et malate

Le citrate et le malate sont les acides organiques les plus abondants chez les plantes. Le métabolisme du citrate est important dans les produits laitiers fermentés, tandis que le métabolisme du malate est important dans le vin. Le citrate est hydrolysé en oxaloacétate et acétate par le citrate lyase qui est inductible chez les leuconostocs et constitutive chez les lactocoques Cit+ car le gène responsable est porté par un plasmide qui code pour le transport du citrate. L'oxaloacétate est décarboxylé en pyruvate, qui peut subir plusieurs autres transformations en diacétyle, acétoïne, 2,3-butylène glycol et CO2 **(Bintsis, 2018)**.

2.6.3. Métabolisme protéolytique des BL

Le système protéolytique des BL permet aux BL de se développer sur des sources d'acides aminés ou des peptides exogènes. Plusieurs types de gènes de protéinase sont recensés chez *Lactococcus lactis, Lactobacillus helveticus, Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus et Streptococcus thermophilus*. Ils comprennent trois composants: (1) protéases cellulaires ou membranaires (principalement PrtP et CEP), hydrolysant les protéines en oligopeptides; (2) protéines de transport membranaire (transporteurs de cassettes de liaison Opp, Dtp et DppATP) catalysant l'absorption intracellulaire d'oligopeptides, de di/tripeptides, et dipeptides, respectivement; (3) peptidases intracellulaires, qui clive les peptides en acides aminés libres **(Holzapfel *et* Wood, 2014)**.

Chez les lactocoques les protéases sont principalement ancrées dans l'enveloppe cellulaire (CEP protéases), à l'exception de *Lactococcus lactis subsp. cremoris* qui les secrète dans l'espace extracellulaire **(Holzapfel *et* Wood, 2014)**.

Le système protéolytique de BL est très efficace pour libérer des molécules à partir de plusieurs protéines présentes dans différentes matrices alimentaires **(Mayo *et al*., 2010)**.

2.6.4. Métabolisme lipolytique

Le développement de la saveur des produits laitiers lors de l'affinage des fromages est basé sur lipolyse. Les BL, y compris *Enterococcus faecalis, En. faecium, En. durans, Lb. casei, Lb. plantarum et Lb. rhamnosus,* ont une activité lipolytique produite généralement via les systèmes estérase/lipase, qui libère des acides gras libres (FFA) et du glycérol à partir des tri-de di- et de monoacylglycérols **(Holzapfel *et* Wood, 2014 ; Bintsis, 2018)**.

Les acides gras libres peuvent également être transformés par des micro-organismes en d'autres composés aromatiques, y compris méthylcétones, lactones, esters, alcools secondaires et aldéhydes **(Abeijón *et al*., 2009)**.

L'activité estérase a été détectée dans divers lactobacilles, et les esters libérés contribuent à la saveur caractéristique du fromage de type suisse **(Bintsis, 2018)**.

2.7. Propriétés technologiques des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques se composent de genres et des espèces présentant diverses caractéristiques morphologiques et physiologiques, ce qui se traduit par l'existence de nombreuses souches possédant des propriétés fonctionnelles et technologiques très importantes telles que l'acidification, la protéolyse, la lipolyse, la production de composés aromatiques et l'amélioration de la texture au sein de l'espèce **(Casaburi *et al*., 2008)**.

2.7.1. Activité acidifiante

Le pouvoir acidifiant des bactéries lactiques permet au lait de coaguler (en facilitant l'action de la présure pendant la production du fromage), ce qui augmente la synérèse du caillé, développe les propriétés rhéologiques du produit final et inhibe la croissance des bactéries pathogènes **(Papamanoli *et al*., 2003 ; Huang *et al*., 2004 ; Sumarsih *et al*., 2012)**.

Selon **Zadi (1998)**, la capacité des bactéries lactiques à produire de l'acide lactique, caractéristique importante intervenant dans la préparation du caillé et la maturation du fromage, est fréquemment utilisée pour sélectionner les bactéries lactiques pour la production de fromage.

Les bactéries du genre *Loconostoc* **(Badis *et al*., 2004 ; Sumarsih *et al*., 2012)**, *L. lactis subsp. lactis , subsp. cremoris et le biovar. diacetylactis* sont les plus fréquemment citées dans la bibliographie en raison de leurs rôles cruciaux dans l'acidification **(Lafarge *et al*., 2004)**.

2.7.2. Activité protéolytique

Les bactéries lactiques produisent une variété de protéases, notamment des aminopeptidases, des dipeptidases et des tripeptidases, situées dans la membrane plasmique ou dans le cytoplasme et sont nécessaires à la décomposition des protéines du lait en peptides et en acides aminés, qui peuvent ensuite être convertis en alcools et en acides **(Ho *et al*., 2007; Atlan *et al*., 2008)**. En comparaison avec les genres *Enterococcus, Lactobacillus, Pediococcus, et Leuconostoc, Lactococcus* est hautement protéolytique **(Dahou *et al*., 2015)**.

Lactococcus intervient durant toute la durée de l'affinage et contribue à l'amélioration de la saveur typique du fromage ainsi qu'à l'acquisition d'une texture particulière de la pâte. Il permet la dégradation des caséines du lait pour garantir leur nutrition azotée vu que certains

acides aminés essentiels comme l'arginine et la leucine ne sont pas synthétisés par des bactéries lactiques et leur taux dans le lait est trop faible pour garantir la croissance **(Eck *et al.*,1997)**.

2.7.3. Activité lipolytique

Les bactéries lactiques ont généralement de mauvaises propriétés lipolytiques bien qu'elles contiennent un grand nombre d'enzymes lipolytiques capables d'hydrolyser de nombreux substrats d'esters d'acides gras, de tri-, de di- et de monoacylglycérols **(Holzapfel *et* Wood, 2014).** Cependant, Les bactéries lactiques peuvent toutefois présenter un intérêt pour certaines applications fromagères **(Béal *et al.*, 2008)**.

Les lactocoques sont plus lipolytiques que *Streptococcus thermophilus* et *lactobacillus*. Cette lipolyse est due à des enzymes intracellulaires, des lipases et des estérases qui sont activées lors de l'autolyse des bactéries au cours du processus de fabrication ainsi les lipases hydrolysent principalement les triglycérides, tandis que l'estérase hydrolyse principalement l'alcool, le phénol et les esters d'acides gras **(Atlan *et al.*, 2008)**.

2.7.4. Activité aromatisante

En plus de l'acide lactique, les bactéries lactiques produisent de nombreux métabolites secondaires (composés aromatiques) dont: l'éthanol, l'acetoine, le CO_2, l'acétate l'acetaldehyde, l'alfa-acétolactate, le diacetyle et 2-3 butanodiol…etc **(Monnet *et al.*, 2008)**.

La majorité de ces composés aromatiques dérivent du métabolisme du citrate. La fermentation du citrate par les lactobacilles (*Lb. bulgaricus, Lb. helveticus*) contribue à la synthétise de l'acétaldéhyde qui est généralement liée à la production de diacétyle **(Vignola *et al.*, 2002)**.

Cette fonctionnalité est principalement essentielle dans la fabrication de laits fermentés, de crème et de beurre, fromages frais, dont l'arôme est lié à l'activité microbienne **(Cholet, 2006)**.

Les Leuconostocs hétérofermentaires sont souvent apparentés aux lactocoques dans la fabrication de composés aromatiques : tels que l'éthanol, acétone, diacétyle et acide acétique **(Mahaut *et al.*, 2000)**.

II. Partie expérimentale

1. Matériel et méthodes

La partie pratique de notre travail a été réalisée au niveau du « Laboratoire de Microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Mohammed Seddik Ben yahia- Jijel », durant la période Mai- Juillet 2022.

- Les objectifs de cette étude s'articulent autour des points suivants :

- Isolement, purification et identification des bactéries lactiques à partir de lait de la chèvre.

- Étude de quelques caractéristiques technologiques des bactéries lactiques.

1.1. Matériel

1.1.1 Milieux de cultures

Plusieurs milieux de culture ont été utilisés au cours de cette étude expérimentale, il s'agit des milieux suivants :

- **Le lait écrémé:** Le lait écrémé liquide (Candia) a été utilisé pour quelques tests biochimiques, pour l'étude du pouvoir acidifiant et protéolytique des bactéries lactiques.
- **Les géloses :** MRS (de Man-Rogosa et Sharp).
- **Les bouillons :** MRS, MRS hypersalé à 2%, 4% et à 9% de NaCl, MRS différents pH 2, 4 ,6 et 9.6.
- **Autre milieux :** Clark et Lubs, lait de Sherman à 0,1% à 0,3% de bleu de méthylène.

1.1.2. Produits chimiques et réactifs

Les produits chimiques et réactifs utilisés au cours de cette étude sont les suivants :

- **Les réactifs pour coloration de Gram :** Violet de Gentiane, fuschine, cristal violet, bleu de méthylène, Phénolphtaléine.
- **Les acides et bases :** NaOH, HCl , NaCl .
- **Alcool et autres :** Éthanol, eau oxygénée, citrate de sodium, eau distillée stérile, eau physiologique.

1.2. Échantillonnage

Un échantillon du lait de chèvre ont été collectés dans des fermes laitières et choisis au hasard dans la région de Jijel (El hadada). Le échantillon du lait ont été transportés jusqu'au laboratoire dans une glacière isotherme, maintenus approximativement à 4°C.

1.3. Isolement

L'isolement des bactéries lactiques à partir d'échantillon du lait de chèvre est réalisé comme suite :

10 ml du lait de chèvre est pipeté dans 90 ml d'eau physiologiques stérile puis homogénéisé pour avoir la solution mère. Cette dernière va servir à la préparation des délutions décimales. 1 ml des dilutions 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6} et 10^{-7} est ensemencé en masse dans des boites de Pétri puis inondé avec le milieu MRS. Les boites sont incubées à 37 °C pendant 48 heures **(Kacem *et* karam, 2006 ; Wang *et* Zang, 2014 ; Bai et *al.*, 2016)**.

1.4. Purification

La purification consiste à réaliser des repiquages successifs sur gélose et bouillon MRS, avec une incubation à 37°C pendant 24h, jusqu'à l'obtention de colonies de même taille, de même forme et de même couleur renseignant sur la pureté des souches **(Idoui *et al.*, 2009)**.

Dans ce présent travail 12 colonies caractéristiques de bactéries lactiques sont choisies au hasard et repiquées sur bouillons MRS. Après une incubation à 37 °C pendant 48 heures, les colonies sont reprises du bouillon MRS puis repiquées sur des boites de Pétri contenant une gélose MRS préalablement coulées puis incubées à 37 °C durant 48 h.

1.4.1. Caractères macroscopiques

Consiste à observer les caractères culturaux des bactéries isolées à partir des cultures obtenues sur la gélose MRS par l'œil nu. Les colonies se différencient par leur aspect, leur forme, leur couleur, leur taille ainsi que par leur odeur dégagée **(Bekhouche *et* Boulahrouf, 2005)**.

1.5. Pré-identification

1.5.1. Caractères microscopiques

L'observation microscopique a été réalisée à l'aide d'un microscope optique au grossissement (G×100). Elle consiste à étudier le Gram, la forme des cellules et le mode de regroupent en faisant la coloration de Gram **(Zantar *et al*., 2013)**.

1.5.2. Test de la catalase

La catalase permet la transformation de l'eau oxygénée en oxygène et en eau selon la réaction suivante.

$$\mathbf{2H_2O_2 \xrightarrow{\text{Catalase}} 2H_2O + O_2}$$

Une colonie isolée de la souche a été placée sur une lame de verre propre puis une goutte de H_2O_2 a été ajoutée, mélangée et observée. La présence de dégagement gazeux (O2) signifie que la souche est capable de décomposer le H_2O_2, donc Catalase (+), alors que l'absence de dégagement gazeux (O2) indique qu'elle est catalase (-) **(Ahirwar *et al*., 2017)**.

1.5.3. Teste d'oxydase

Ce test permet de détecter la présence de cytochrome oxydase, une enzyme présente dans le métabolisme respiratoire aérobie et responsable de la réduction de l'oxygène moléculaire. Il est généralement effectué à l'aide d'un disque de papier qui a été trempé dans une solution de réactif de Kovacs. On utilise ensuite une boucle métallique pour étaler la matière bactérienne sur le disque. En 10 secondes, les bactéries positives à l'oxydase rendent le disque violet **(Denis *et al*., 2007)**.

1.6. Conservation des isolats

La conservation à court terme des souches pures est effectuée sur milieu solide incliné. Après croissance à la température optimale, les cultures sont maintenues à 4°C et le renouvellement des souches se fait par repiquage toutes les 4 semaines (**Badis *et al*., 2004)**.

1.7. Identification

Les cellules isolées subissent uniquement une identification phénotypique jusqu'au stade du genre ainsi les tests macroscopiques, microscopiques et physiologiques sont effectués. Tous

les souches qui donnent des résultats de Gram positive et catalase est négative sont susceptibles d'être identifiées.

1.7.1. Caractères physiologiques et biochimique

Les souches sélectionnées ont fait l'objet d'une caractérisation physiologique et biochimique selon les clés dichotomiques proposées par **Guiraud**, **(2003) et Holzapfel *et* Wood**, **(2014)**.

1.7.1.1. Croissance à différent température

Le test de croissance à différent température consiste à ensemencer (50 µl) des isolats dans des tubes à essais contenant le bouillon MRS, puis à les incuber à 5°C, 10°C, 30°C, 40°C et 45°C pendant 72 heures pour la différenciation entre les souches lactiques mésophiles et les souches thermophiles. La turbidité du milieu indique une croissance **(Bennani *et al.*, 2017)**.

1.7.1.2 Croissance à différentes concentrations de NaCl

La Croissance sur milieux salés a été effectuée par l'ensemencement les isolats lactiques dans des bouillons MRS contenant différentes concentrations de NaCl : 2%, 4%, 6% et 9%, puis incubés à 37°C/ 24h à 48h. La turbidité du milieu révèle la croissance **(Ammor *et al*., 2005)**.

1.7.1.3. Croissance à différent pH

Ce paramètre à été réalisée par l'ensemencement des souches à tester dans des bouillons MRS ayant les pH suivants pH 2, 4, 6, et 9.6, puis incubés à 37°C/ 24h à 48h. L'apparition de troubles permet de mesurer la croissance.

1.7.1.4. Etude de la thermorésistantes

Ce test a été réalisée dans tubes à essais de 5 ml du bouillon MRS, inoculés avec les souches à tester, chauffés au bain marie à 63.5°C pendant 30 minutes puis incubés à 30°C/24h à 48h. Ces tests sont utilisés pour différencier entre les souches mésophiles et thermophiles ainsi que les genres de *Streptococcus, Lactococcus et Pediococcus* **(Guiraud, 1998)**.

1.7.1.5. Type fermentaire

Ce test permet d'évaluer le métabolisme (homofermentaire ou hétérofermentaire) des isolats. Il est réalisé dans des tubes contenant du bouillon MRS (5ml) et une cloche de Durham. Les souches sont ensemencées dans ces tubes et incubées pendant 24 à 48 heures à 37°C. Le type fermentaire est indiqué par la présence ou l'absence de gaz dans la cloche. L'accumulation de

gaz dans la cloche est interprétée comme la preuve que les bactéries hétérofermentaires donc produit du CO_2 (**Badis *et al*., 2004)**.

1.7.1.6. Croissance sur le lait au bleu de Sherman

Les isolats purifiés sur milieu MRS liquide, sont ensemencés dans des tubes à essais de 9ml de lait écrémé stérilisé additionné à 0,1% de bleu de méthylène est ensemencé par des cultures pures puis incubés durant une période de 24 à 48 heures à 30°C. Les *lactocoques*, *Leuconostoc et Pediocoques* réduisent le bleu de méthylène avec coagulation **(Badis *et al*., 2004)**.

1.7.1.7. Recherche de l'arginine Di-hydrolase (ADH)

Cette enzyme est intéressante pour la caractérisation des bactéries lactiques. Le rôle de cette enzyme libère l'ammoniac à partir de l'arginine. Le test consiste à réaliser sur un milieu de Moëller, pour chaque souche isolée ensemencé, un tube de bouillon Moëller arginine et un tube témoin (Moëller sans arginine) ensuite, une incubation à 30°C pendant 48h, la culture dans le tube témoin se manifeste par le virage du milieu au jaune dû au métabolisme du glucose. La dégradation de l'arginine et l'aboutissant à la formation d'ammoniaque est révélée par alcalinisation du milieu qui devient violet **(Carr *et al*., 2002)**.

1.7.1.8. Test de Voges proskauer

La production d'acetoine est testée sur nos souches qui ensemencer sur milieu Clack et Lubs, Après l'ensemencement de souches pures dans 10 ml de ce milieu et après une incubation à 30C° pendant 24 à 48h, on ajoute 5 gouttes du réactif VP1 (solution de soude NaOH à 16% dans l'eau distillée) puis 5 gouttes du réactif VP2 (alpha-naphtol à 6% dans l'alcool à 95%). On agite soigneusement les tubes et on laisse pendant 5 à 10 min à température ambiante. Un résultat positif se traduit par l'apparition d'un anneau rose à rouge à la surface du tube **(Facklam *et* Elliott, 1995)**.

1.8. Evaluation des propriétés technologiques

Les propriétés technologiques des 12 souches de bactéries lactiques isolées sont évaluées. Cette dernière est basée sur la détermination de l'activité acidifiante, protéolytique, lipolytique et aromatique.

1.8.1. Pouvoir acidifiante

Le pouvoir acidifiante de chaque souche a été testé en inoculant avec (1 %, v/v) de culture 18h du lait écrémé stérile (Candia) à 37 °C. Ensuite on prend 10 ml de lait incubé et on mesure le pH après 6h et 24h d'incubation. Le pH déterminé par un pH-mètre **(Özkalp *et al*., 2007)**. Le taux d'acidification a été calculé comme ΔpH ($\Delta pH = pHt - Ph_0$).

1.8.2. Pouvoir lipolytique

La lipolyse est mise en évidence sur gélose MRS à 1% de tween 80. Cette dernière à été coulée et solidifiée, puis des disques de papier Wattman stérile ont été déposés en surface, chaque disque est ensemencé par 10 µl d'une souche. Après incubation à 37C° pendent 24/48h. La lipolyse est révélée par une zone d'éclaircissement entourée d'un dépôt autour des disques **(Zantar *et al*., 2013)**.

1.8.3. Pouvoir protéolytique

L'activité protéolytique des souches a été mesurée par la méthode de **Citti *et al*., (1963).** Des cultures actives des souches ont été inoculées (3 %, v/v) dans du lait écrémé reconstitué 11% et incubées à 30°C pendant 24h. Après incubation, l'activité protéolytique des cultures se traduit par libération des acides aminés tryptophanes et la tyrosine du substrat laitier, qui réagir ensuite avec le réactif phénol pour former une coloration bleue mesurée à 650 nm (résultats exprimés en µg tyrosine. ml^{-1}) **(Özkalp *et al*., 2007)**.

Une autre méthode utilise la gélose modifie (gélose MRS additionnée 10% p/v a lait écrème sériel (Candia) pour obtenir un bouillon MRS-Lait à 2% et un milieu MRS-Agar-Lait à 10%). La gélose MRS modifié a été coulée, solidifiée et puis des disques de papier Wattman stériles ont été déposés en surface de la gélose auxquels 20 µl de la culture bactérienne sont ajoutées puis incubées à 37C° pendant 24h. La protéolyse se traduit par des zones claires autour des disques **(Veuillemard, 1986)**.

1.8.4. Production d'arômes

Pour déterminer ce pouvoir, 100µl de la culture jeune ont été ensemencé dans 10 ml de lait écrémé à 10%. Les tubes ont été incubés à 30°C durant 48h ou jusqu'à coagulation du lait par la souche lactique. La production de l'acétoine a été révélée par l'apparition d'un anneau rouge à la périphérie des tubes après ajout de deux réactifs VP1 et VP2 sans agitation et tubes non serrés **(Voges *et* Proskauer, 1898)**.

2. Résultats et discussion

2.1. Isolement des bactéries lactiques

A partir des échantillons du lait de chèvre et après dénombrement par un comptage des colonies nous avons obtenu 207 isolats à dilution 10^{-4}, 191 isolats à 10^{-5}, 48 isolats à 10^{-6} et à partir de dilution 10^{-7} obtenu 27 colonies. A partir de ces biotes 12 colonies différentes ont été repiquées sur le boillon MRS pour des tests ultérieurs.

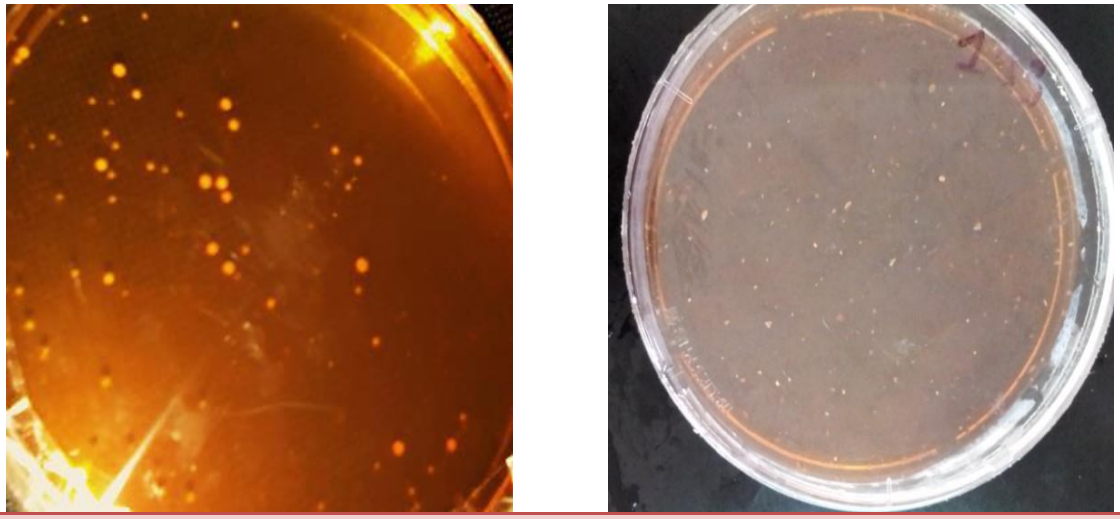


Figure 03 : Observation macroscopique des colonies lactiques sur gélose MRS.

2.2. Observation macroscopique

L'observation macroscopique des boites a indiqué la présence d'ensembles déférents des colonies. Elles sont rondes, lisses, légèrement arrondis, à contour régulier, translucides ou opaques, de taille petite ou grande, de couleur blanche, crémeuses, en profondeur et en surface des géloses.

Figure 04: Observation macroscopique des isolats lactiques (S1 et S6) après Purification.

2.3. Observation microscopique

- ✓ **Coloration des Gram**

L'étude microscopique des bactéries lactiques après la coloration de Gram, nous a révélé que les souches isolées sont de Gram positif.

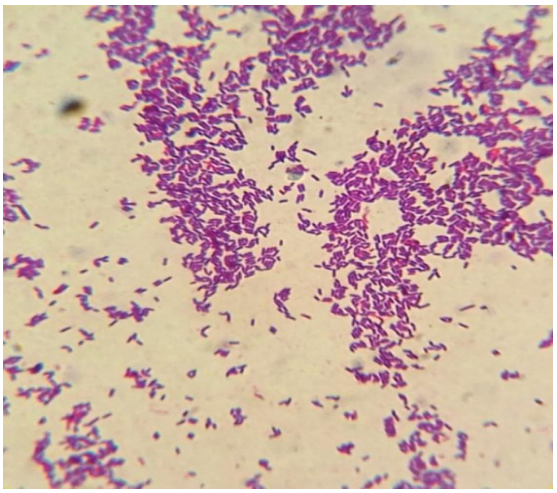


Figure 05: Observation microscopique (Objectif X100) d'une souche lactique, isolée du lait, après coloration de Gram.

2.4. Test de la catalase et d'oxydase

Lors de test de catalase, aucune formation des bulles n'est observée pour tous les isolats de BL, donc elles ne produisent pas de catalase pour hydrolyser le peroxyde d'hydrogène. On a remarqué que les disques de l'oxydase n'avaient pas changé de couleur en violet lorsqu'ils sont imbibés par les isolats de BL. Donc ce test est négatif pour tous les isolats.

Les résultats des tests de catalase, des tests de l'oxydase ainsi que de l'observation microscopique des souches isolées sont montrés dans le **tableau 4.**

Tableau 4 : Résultats des tests de catalase, des tests de l'oxydase et de la coloration de Gram des souches isolées.

Souches	Gram	Forme	Mode de regroupement	catalase	Oxydase
S1	+	Cocci	Tétrades	-	-
S2	+	Cocci	Diplocoque, chaînettes	-	-
S3	+	Cocci	Diplocoque, chainettes	-	-
S4	+	Cocci	Tétrades	-	-
S5	+	Bacille	Bâtonnets longs enroulés ou filamenteux	-	-
S6	+	Cocci	Diplocoque	-	-
S7	+	Cocci	Diplocoque, chainettes	-	-
S8	+	Cocci	Diplocoque, chaînettes	-	-
S9	+	Cocci	Diplocoque, isolée, chainettes	-	-
S10	+	Bacille	Petite, Bâtonnets, isolée	-	-
S11	+	Bacille	Petite, Bâtonnets, isolée	-	-
S12	+	Cocci	Diplocoque, isolée, chainettes	-	-

(-) : Négatif, (+) : Positif

Le **tableau 4** montre que les 12 isolats sont à Gram positif, oxydase négatif et catalase négatif, ce qui est caractéristique des bactéries lactiques **(Dahou *et al*., 2015)**.

Les résultats de la coloration de Gram montrent que 09 isolats sont des coques et 03 isolats sont des bacilles. Parmi les coques on peut distinguer entre *les Lactocoques, Streptocoques, Pédiocoques, Entérocoque* et *Leuconostoc.*

2.5. Identification des isolats

Les résultats des caractéristiques physiologiques et biochimiques des isolats sont montrés dans le **tableau 5**.

Tableau 5: Résultats des caractéristiques physiologiques et biochimiques des isolats.

Souches	Observation macroscopique	Observation microscopique	pH				NaCl %				T °C					Gaz	ADH	Vp	BM	63,5°C /30min	Genre plus probable
			2	4	6	9.6	2	4	6	9	5	10	30	40	45						
S1	Colonies lisses arrondies, grisâtres ou blanchâtres	Cocci en tétrades	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	*Pediococcus*
S2	Colonies blanches, rondes ou lenticulaires	Cocci, diplocoques et	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	*Enterococcus*
S3	Colonies blanches, rondes ou lenticulaires	Cocci, diplocoques et en chaînette	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	*Streptococcus*
S4	Colonies lisses arrondies, grisâtres ou blanchâtres	Cocci en Tétrades	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	*Pediococcus*
S5	Petites colonies blanches à centre marron et bombées	Bâtonnets longs enroulés ou filamenteux,	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	*Lactobacillus*
S6	Colonies blanches, rondes ou lenticulaires	Cocci, diplocoques et	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	*Enterococcus*
S7	Colonies blanches, rondes ou lenticulaires	Cocci, diplocoques et en chaînette	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-	*Lactococcus*

Souches	Observation macroscopique	Observation microscopique	pH				NaCl %				T °C					Gaz	ADH	Vp	BM	63,5°C /30min	Genre plus probable
			2	4	6	9.6	2	4	6	9	5	10	30	40	45						
S8	Colonies blanches, rondes ou lenticulaires	Cocci, diplocoques et en chaînette	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-	*Lactococcus*
S9	Colonies transparentes, très petites, rondes	Cocci, ovales en chaînette	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	*Leuconostoc*
S10	Petites colonies blanches, rondes ou lenticulaires	Petits bâtonnets en chaînettes	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	*Lactobacillus*
S11	Petites colonies blanches, rondes ou lenticulaires	Petits bâtonnets en chaînettes	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	*Lactobacillus*
S12	Colonies blanches, rondes ou lenticulaires	Cocci, diplocoques et en chaînette	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	*Lactococcus*

(-) : Négatif, (+) : Positif

1.5.1. *Lactococcus*

Le tableau montre que les isolats (S7, S8, S12) appartiennent au genre *Lactococcus.* En effet ils sont des coques à Gram positif qui se regroupent en paire et en chaînette. Ces souches sont capables de pousser à 10°C et à 40°C mais pas à 45°C. Elles présentent une croissance à 2% NaCl, une croissance sur bleu de Sherman et même à pH 6, homofermentaires et sans thermorésistance à 63°C durant 30 minute. Ces isolats ont été apparentés au *Lactococcus* par rapport au test de l'ADH et à la production d'acetoîne **(tableau 5).**

D'après ces résultats la souche S7 se développe aux concentrations de 2 % de NaCl et de 4 % de NaCl, ainsi qu'à 10°C et à 40°C. Elle est capable de dégrader l'arginine et ne produit pas de l'acétoine. Il s'agit probablement de l'espèce *Lactococcus lactis* . **(Chahrour *et al.*, 2013)**.

La souche S8 montre une croissance à 2% NaCl mais pas à 4% NaCl et une croissance à 10°C et à 40°C. Elle est capable de dégrader l'arginine et produit pas de l'acétoine. Il s'agit probablement de l'espèce *Lactococcus lactis* **(Badis *et al*., 2005)**.

La souche S12 montre une croissance à 2% et 4% NaCl, une croissance à 10°C et à 40°C. Produit de l'acétoine mais ne dégrader pas l'arginine. Il s'agit probablement de l'espèce *Lactococcus lactis* **(Idoui *et al*., 2009)**.

1.5.2. *Pediococcus*

Les souches présumées appartenant au genre *Pediococcus* sont les isolats Gram positif qui se regroupent en en tétrades. Elles présentent une croissance à une large gamme de températures 30, 40 et 45°C, à pH 4 et 9.6, à concentrations de NaCl de 4% et une croissance sur bleu de Sherman, mais présentent une poussée négative à pH 2 et à 6% NaCl. D'après les résultats présentés dans le **tableau 5,** 02 isolats (S1, S4) sont présumés être des *Pédiocoques.*

D'après ces résultats les 02 isolats poussent bien à 40°C et à 45°C. Elles présentent une croissance à pH 4 et à pH 9.6 avec une croissance en présence de 4% de NaCl, elle produit de l'acétoine et dégrader l'arginine de ce fait elles peuvent être classées parmi les *Pediococcus acidilactic* **(Adjoudj *et al.*, 2020)**.

2.5.3. *Streptococcus*

Les résultats des caractéristiques obtenus pour le genre *Streptococcus* sont présentés dans le **tableau 5**. Sur la base des résultats de coloration de Gram (cocci à gram + en chainette), la

catalase qui est négative, la thermorésistantes à 63,5°C durant 30 minutes, l'habilité à la croissance à 40°C et à 45°C, seul l'isolat (S3) est attribuée au genre *Streptococcus.*

D'après les résultats la souche S3 montre une croissance à pH 6, présente un développement négatif à 6% et 4% de NaCl, mais elle peut croitre lentement en présences de 2% de NaCl. Elle a une croissance négative sur bleu de Sherman et ne dégrader pas l'arginine mais produit de l'acétoine. Elle présente une croissance à 40°C et à 45°C. Il s'agit probablement de l'espèce *Streptococcus thermophilus* **(Badis *et al*., 2005)**.

2.5.4. *Leuconostoc*

Les résultats obtenus montrent la souche 9 appartient au genre *Leuconostoc* (**tableau 5)**. D'après ces résultats, cette souche montre une croissance à différentes températures (5°C, 10°C et 40°C), à de NaCl 4% et à pH 6. Elle est hétérofermentaire et présentent une croissance positif sur bleu de Sherman, produit de l'acétoine et ne dégrader pas l'arginine. Il s'agit probablement de l'espèce *Leuconostoc mesenteroïdes* **(Chahrour *et al.*, 2013)**.

2.5.5. *Enterococcus*

Les isolats (S2, S6) sont considérés comme étant des *Entérocoques* selon les caractéristiques présentées dans le **tableau 5**.

Ces souches présentent une thermorésistante à 63,5°C durant 30 minutes, un développement à 45°C et dans un milieu hypersalins à 6% NaCl et peuvent croitre et se développer dans le milieu alcalin à pH 9,6. Elles sont capables de dégrader l'arginine et ne produit pas de l'cétoine avec croissance négatif sur le bleu Sherman. Il s'agit probablement de l'espèce *Enterococcus faecium* **(Bekhouche *et* Boulahrouf, 2005)**.

2.5.6. *Lactobacillus*

Trois isolats (S5, S10, S11) sont des bacilles à Gram + **(tableau 5)**. Ces isolats **s**ont rattachés au genre *Lactobacillus* en se basant sur la coloration de Gram. Ces souches sont capables de se développer à 45°C et présentent un développement positif à 2% NaCl, à pH 4 et 6 et une croissance négative sur le bleu Sherman et à 10°C.

D'après ces résultats, tous les *Lactobacilles* isolés sont homofermentaires toutes ces souches poussent à 45°C et peuvent être classées dans le groupe des lactobacilles thermophiles homofermentaire.

La souche S5 montre une croissance à 2% NaCl mais pas à 4% et se développent aussi à pH 6 et 4 avec une croissance à 45°C. Il s'agit probablement de l'espèce *Lactobacillus acidophilus* **(Ghazi *et al.*, 2006)**.

La souche S10 montre une croissance à 2% NaCl et à 4% NaCl et se développent aussi à pH 4 et 6 avec une croissance à 45°C. Il s'agit probablement de l'espèce *Lactobacillus rhamnosus* **(Badis *et al.*, 2005)**.

La souche S11 montre une croissance à 2% NaCl mais pas à 4% et se développent aussi à pH 4 et 6, une croissance à 45°C. Elle est capable de dégrader l'arginine et présentent une thermorésistante à 63,5°C durant 30 minutes. Il s'agit probablement de l'espèce *Lactobacillus animalis* **(Ghazi *et al.*, 2006)**.

2.6. Distribution des bactéries lactiques

La distribution des genres dans le lait de chèvre est rapportée dans la **Figure 09**, basés sur les résultats d'un seul échantillon.

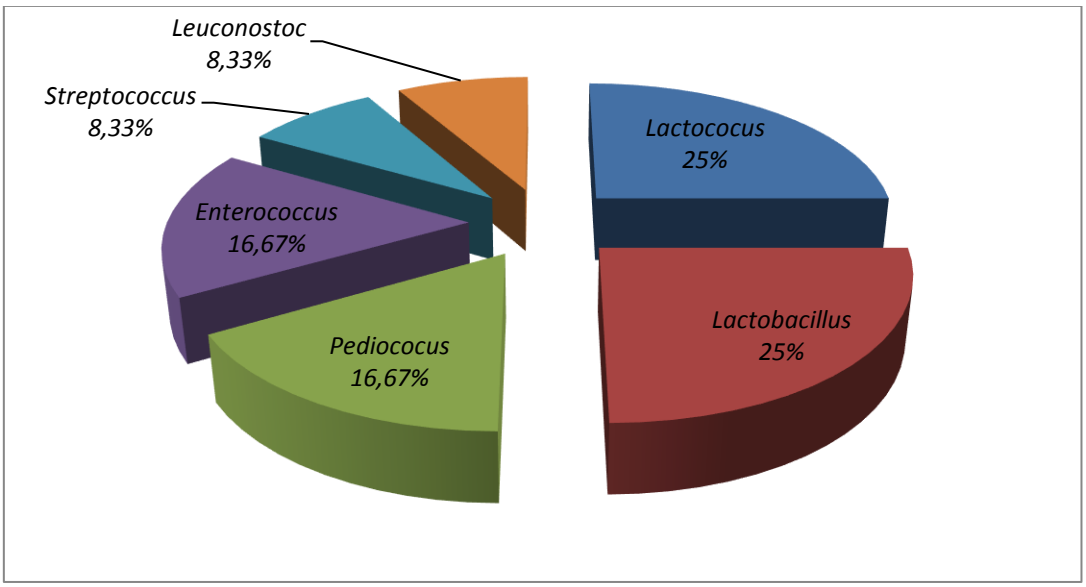


Figure 06: Distribution de pourcentage des genres de bactéries lactiques.

La distribution des genres de bactéries lactiques dans notre travail montre que les genres *Lactococcus* et *Lactobacillus* ont nette une prédominance avec un pourcentage de 25%, suivis par *Pediococus* et *Enterococus* avec un pourcentage de 16,67%, et les genres *Streptococcus* et *Leuconostoc* avec un pourcentage plus petite de 8,33%.

Cette variation des bactéries lactiques peut être influencée par la race, la zone, la qualité et la quantité de lait de chèvre **(Badis *et al*., 2005)**.

2.7. Evaluation des propriétés technologiques

L'évaluation des propriétés technologiques (activités acidifiante, protéolytique, lypolitique et aromatique) des bactéries lactiques isolées a été effectuée.

2.7.1. Pouvoir acidifiant

L'activité acidifiante des 12 souches a été déterminée en mesurant le ΔpH après 6 h et 24 h d'incubation du lait écrémé reconstitué et les résultats sont illustrés dans le **tableau 6**.

Dans cette expérimentation, les conditions d'incubation étaient les mêmes pour tous les isolats. Par conséquent, les différences des propriétés acidifiantes dépendent de la spécificité de chaque souche, comme il a été rapporté dans plusieurs études **(Larini *et al*.,2014)**.

Tableau 6: Résultats du pouvoir acidifiante.

Souches	Les genres	ΔpH_{6h}	Qualité d'acidification	ΔpH_{24h}	Qualité d'acidification
S1	*Pediococcus*	1,18	Moyenne	1,31	Moyenne
S2	*Enterococcus*	0.59	Faible	1.32	Moyenne
S3	*Streptococcus*	0.74	Faible	1.96	Rapide
S4	*Pediococcus*	0,55	Faible	1,31	Moyenne
S5	*Lactobacillus*	1,18	Moyenne	1,49	Moyenne
S6	*Enterococcus*	0.88	Faible	0.67	Faible
S7	*Lactococcus*	0,52	Faible	1,22	Moyenne
S8	*Lactococcus*	0,58	Faible	0,91	Faible
S9	*Leuconostoc*	0.11	Faible	0.43	Faible
S10	*Lactobacillus*	0,54	Faible	1,32	Moyenne
S11	*Lactobacillus*	0,51	Faible	1,43	Moyenne
S12	*Lactococcus*	0.89	Faible	1.87	Rapide

Les bactéries lactiques sont classées comme acidifiantes rapides lorsque le ΔpH est supérieur à 1,5, moyennes lorsque le ΔpH est entre [1,00–1,50] ou faiblement acidifiantes lorsque le ΔpH est inférieur à 1 **(Özkalp *et al*., 2007)**.

Dans cette étude, les genres *Streptococus* et *Lactococcus* ont montré une forte activité acidifiante peuvent diminuer le pH du lait jusqu'à 5- 5.5.
Selon **Cogan *et al* (1997)** les bonnes bactéries lactiques acidifiantes sont celles qui sont capables de réduire le pH du lait de sa valeur initiale d'environ 6.6 à 5.5 sur une durée de 6 heures. Sur cette base, les souches de *Lactobacillus* (S5) et *Pediococcus* (S1) sur l'ensemble des isolats peuvent être considérée comme des bonnes souches acidifiantes.

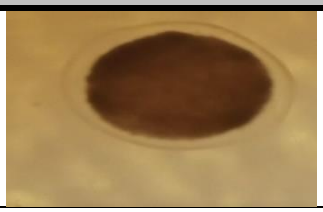
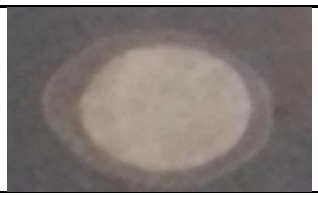
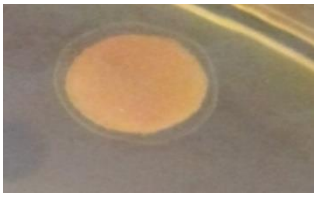
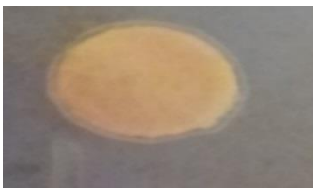
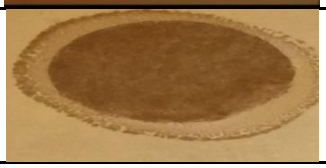
Toutefois, la technique de variation de pH (ΔpH) appliquée à notre étude nous a permis de classer les isolats en souches rapidement acidifiantes, à vitesse moyenne d'acidification et à faible vitesse d'acidification. Les deux genres rapidement acidifiants appartiennent au genre *Streptococcus* (S3) et *Lactococcus (*S12) et celles à faible vitesse d'acidification appartiennent au *Leuconostoc* (9), *Enterococcus* (S6) et *Lactococcus* (S8).

2.7.2. Pouvoir lypolitique

Les résultats de l'activité lipolytique des souches lactique isolées sont présentés dans le **tableau 7**.

D'après ces résultats, il apparait que l'ensemble des bactéries lactiques ne présente pas une activité lipolytique sur milieu MRS additionné par Tween 80, sauf quelques souches qui sont révélées positives en forment des dépôts autour des disques de croissance, il s'agit de *Lactobacillus* (S5) et (S11) ; *Pediococcus* (S1 et S4) et *Lactococcus* (S8) et (S12). Les bactéries lactiques sont considérées comme faiblement lipolytique; cette activité est presque absente sur milieux MRS additionné de Tween 80 comme substrat lipidique. Ces résultats en accordant avec ceux de **De Roissart *et* Luquet (1994)**.

Tableau 7: Résultats de l'activité lipolytique.

Les souches	Les genres	Observation	Lipolyse
S1	*Pediococcus*		+
S2	*Enterococcus*		-
S3	*Streptococcus*		-
S4	*Pediococcus*		+
S5	*Lactobacillus*		+
S6	*Enterococcus*		-
S7	*Lactococcus*		-
S8	*Lactococcus*		+
S9	*Leuconostoc*		-
S10	*Lactobacillus*		-
S11	*Lactobacillus*		+
S12	*Lactococcus*		+

2.7.3. Pouvoir protéolytique

L'activité protéolytique est également une caractéristique technologique importante chez les bactéries lactiques puisqu'elle leurs confère la capacité de croître efficacement dans le lait **(Jamet, 2009)** ce milieu étant déficient en sources azotées disponibles.

Les résultats d'hydrolyse des protéines par les souches lactiques isolés et cultivé sur le milieu MRS additionné du lait écrémé sont représentés dans le **tableau 8**.

La lecture des résultats consiste à mesurer le diamètre des halos clairs autour des colonies bactériennes, la mesure de la dimension des halos permet de quantifier d'une manière relative l'activité protéolytique des souches les unes par rapport aux autre.

Selon **Saidi (2002)**, le diamètre du halo d'hydrolyse inférieur à 10 mm indique l'absence d'activité protéolytique, ce qui est évident dans nos résultats, tandis qu´un diamètre du halo d'hydrolyse égal à 20mm indique une activité significative.

Tableau 8 : Résultats de l'activité protéolytique.

Souches	Diamètre (mm)	Les genres
S1	11	*Pediococcus*
S2	-	*Enterococcus*
S3	8	*Steptococcus*
S4	9	*Pediococcus*
S5	20	*Lactobacillus*
S6	10	*Enterococcus*
S7	22	*Lactococcus*
S8	21	*Lactococcus*
S9	-	*Leuconostoc*
S10	7	*Lactobacillus*
S11	12	*Lactobacillus*
S12	19-20	*Lactococcus*

Le tableau montre que les genres *Enterococcus* (S2), *Leuconostoc* (S9) respectivement sont dépourvues d'activité protéolytique**.** Une fiable activité protéolytique a été notée chez

Pediococcus (S4), *Lactobacllus* (S10) *et Streptococcus* (S3). Une forte activité protéolytique a été notée chez les genres *Lactobacillus*(S5), *Lactococcus* (S7), *Lactococcus* (S8) et *Lactococcus* (S12).

La capacité protéolytique des différentes souches est suivie pendant 120 heures sur du lait écrémé reconstitué à 11% inoculé avec 3% (v/v) en suivant la Do à 650 nm en se référant au dosage de la tyrosine selon la technique IDF (1997) standard 149A, et les résultats sont rapporté en **Figure 07**.

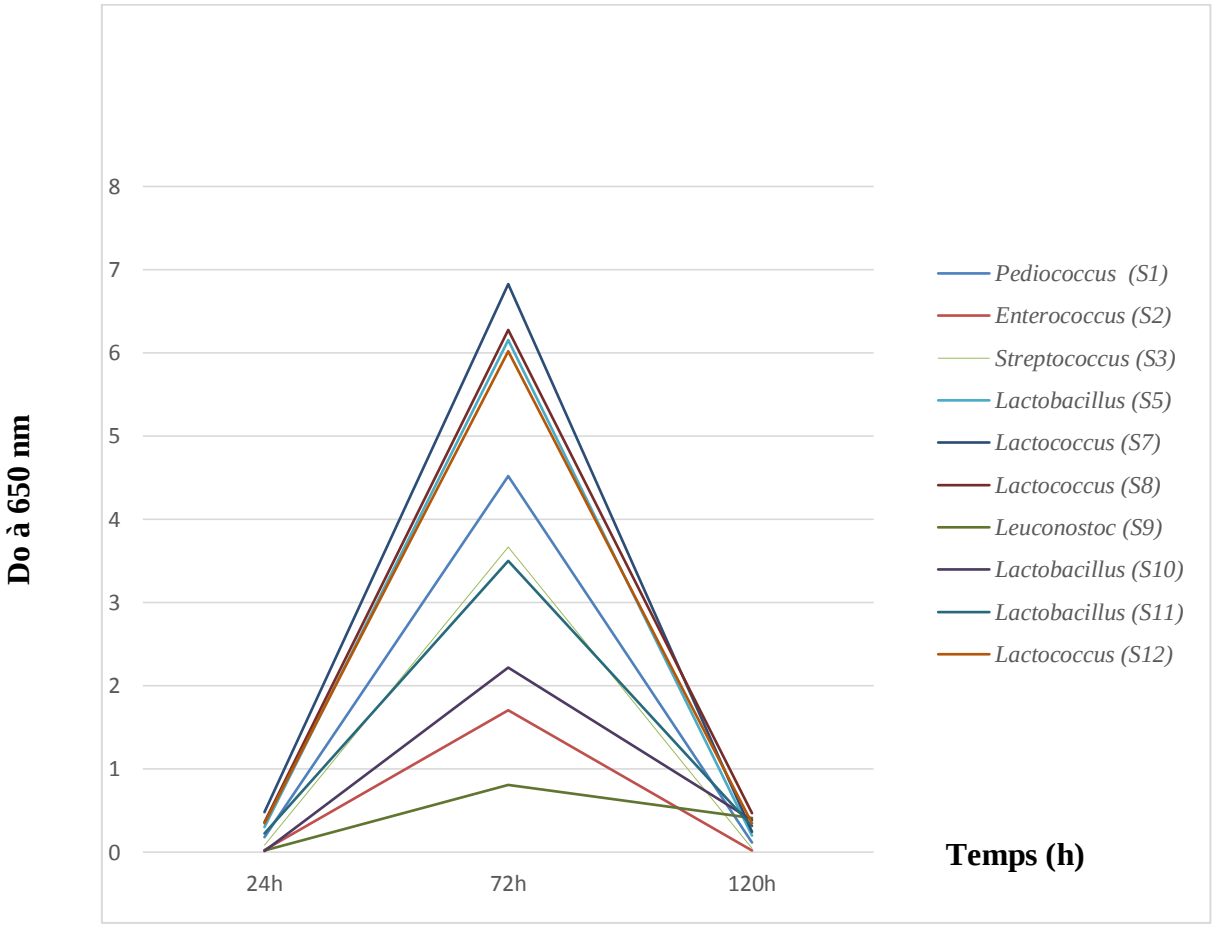


Figure 07: Evaluation de l´activité protéolytique des bactéries lactiques.

On observe une faible activité protéolytique (≤4mg l^{-1}/72h) chez les genres *Enterococcus* (S2), *Leuconostoc* (S9), *Pediococcus* (S4), *Lactobacillus* (S7) *et Streptococcus* (S3) et une forte activité protéolytique (tyrosine >6mg l^{-1}/72h) chez les genres : *Lactobacillus* (S5), *Lactococcus* S7, S8 et S12). Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par **Frey *et al.*, (1986) *et* Lopez et Mayo, (1989)**.

Ces résultats montrent que la majorité des souches testées présentent une activité protéolytique différente d'un genre à un autre. Ces résultats sont en accord avec **Dahou *et al.,* (2015)** qui stipulent que le genre *Lactococcus* est fortement protéolytique par comparaison aux genres : *Enterococcus, Leuconostoc, Lactobacillus, Pediococcus* et *Streptococcus.*

2.7.4. Pouvoir aromatique

Le pouvoir aromatique sur le lait écrémé reconstitué 1%inoculé à (v/v) a été suivie pendant 24 heures et est présentée dans le **tableau 9**. La production de diacetyle et d'acetoine a été déterminée par l'apparition d'un anneau rouge sur la surface de coagulum, ce qui confirme la production d'acétone et permet de déterminer la production de diacétyl et d'acétone (**Raynaud *et al.*, 2003)**.

Tableau 9: Résultats de l'activité aromatique.

Souches	**Espèces**	**Production d'arome**
S1	*Pediococcus*	–
S2	*Enterococcus*	-
S3	*Streptococcus*	-
S4	*Pediococcus*	-
S5	*Lactobacillus*	-
S6	*Enterococcus*	-
S7	*Lactococcus*	-
S8	*Lactococcus*	-
S9	*Leuconostoc*	+
S10	*Lactobacillus*	+
S11	*Lactobacillus*	--
S12	*Lactococcus*	+

Parmi l'ensemble des souches testées, seulement les souches *Leuconostoc* (S9), *Lactobacillus* (S10) et *Lactococcus* (S12) sont capables de produire l'arôme.

2. 8. Sélection des genres

En se basant sur l'habilité à l'acidification, le pouvoir protéolytique , lipolytique et la production d' arôme le choix s'est porté sur les genres du **Figure 08**. Ces souches ont un bon atout technologique.

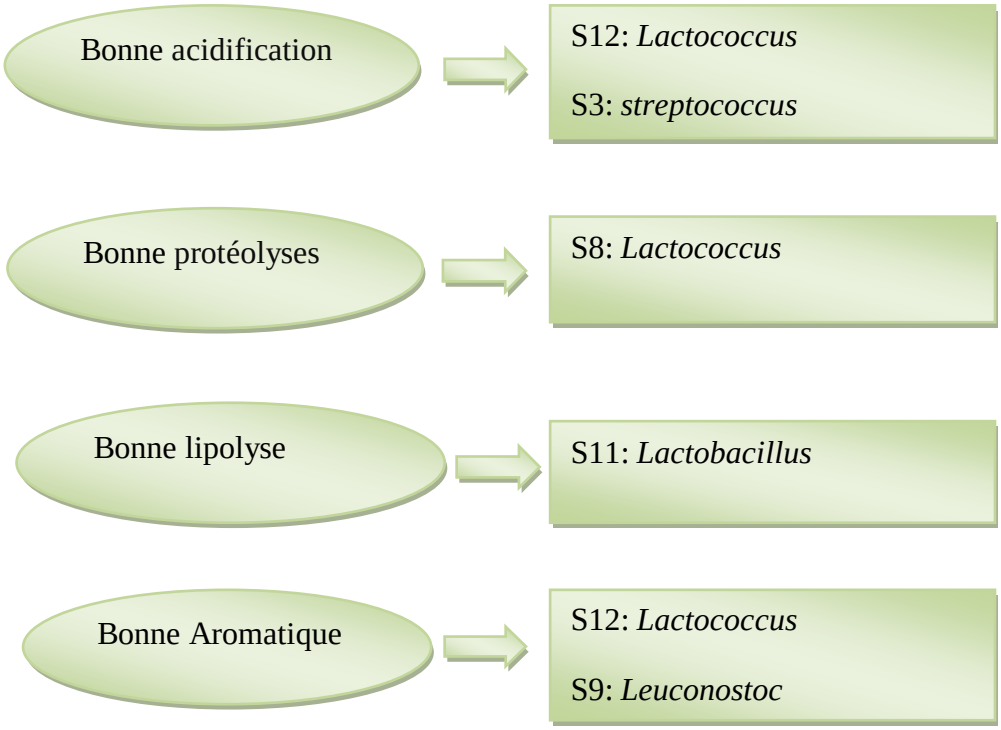


Figure 08: Schémas des souches ayant un fort avantage technologique.

Conclusion

Au terme de cette étude, qui avait pour objectif d'isoler, purifier et identifier des bactéries lactiques à partir du lait cru de chèvre de la wilaya de Jijel et d'évaluer leurs propriétés technologiques, 12 souches ont été identifiées.

L'identification de ces 12 souches isolées a été réalisée par la détermination des quelques caractéristiques morphologiques, physiologiques et biochimiques, qui ont révélé que la majorité des isolats sont des coques appartenant aux cinq genres : *Lactococcus* légèrement prédominant avec un pourcentage du (25%), *Pediococcus* et *Enterococcus* (16.67%) *Streptococcus* et *Leuconostoc* avec un pourcentage plus petit de (8.33%) et le genre *Lactobacillus* avec un pourcentage du (25%).

Selon les résultats de l'étude des propriétés technologiques, tous les genres de *lactocoques* semblent avoir une bonne activité protéolytique avec le genre *Lactobacillus*(S5). Cependant, par rapport aux autres genres de bactéries lactiques, il manque une capacité lypolytique.

D'après les résultats *Lactococcus* (S12) présente une une forte activité acidifiante peuvent diminuer le pH du lait jusqu'à 5,15 sur une durée de 24 heure et d'autres souches (S7 et S8) présentent une faible activité acidifiante. Finalement *Lactococcus* (S12) présente aussi une bonne activité aromatique.

Nos résultats assez intéressants ouvrent les perspectives :

- Essayer de fabriquer un lait fermenté à l'aide des souches lactiques testées.
- Etudier les caractères biotechnologiques des souches isolées.
- Identification moléculaire des isolats.
- Etudier les cinétiques de croissances et de l'acidité des souches.

Références bibliographique

A

Abeijon Mukdsi, M. C., Medina, R. B., Katz, M. B., Pivotto, R., Gatti, P., & Gonzalez, S. N. (2009). Contribution of lactic acid bacteria esterases to the release of fatty acids in miniature ewe's milk cheese models. *Journal of agricultural and Food Chemistry*, *57*(3), 1036-1044.

Abiri, R., Aliabadi, M., Kadivarian, S., Borji, S., Moradi, J., & Alvandi, A. (2021). Potentially Probiotic Bacteria Isolated from Preparation Stages of Kermanshahi Traditional Fat. *Iranian Journal of Medical Microbiology*, *15*(3), 352-360.

Adams, M. R. M. (2008). Food microbiology, Martin R. Adams, Maurice O. Moss.

Adiguzel, G., & Atasever, M. (2009). Phenotypic and genotypic characterization of lactic acid bacteria isolated from Turkish dry fermented sausage. *Romanian Biotechnological Letters*, *14*(1), 4130-4138.

Adjoudj, F., Guessas, B., Spano, G., Capozzi, V., & Kihal, M. (2020). Caractérisation phénotypique et génotypique des lactobacilles et pédiocoques isolés à partir des produits de fermentation traditionnels algériens. *Journal sud-asiatique de biologie expérimentale*, *10* (2), 95-103.

Ahirwar, SS, Gupta, MK, Gupta, G., & Singh, V. (2017). Dépistage, isolement et identification des espèces de lactobacilles des caries dentaires des enfants. *International Journal Of Current Microbiology and Applied Sciences*, *6* (1), 497-503.

Ammor, S., Rachman, C., Chaillou, S., Prévost, H., Dousset, X., Zagorec, M., & Chevallier, I. (2005). Identification phénotypique et génotypique de bactéries lactiques isolées d'une petite structure de production de saucissons secs traditionnels. *Microbiologie alimentaire*, *22* (5), 373-382.

Atlan, D., Béal, C., Champonier-Vergès, M.C., Chapot-Chartier, M.P., Chouayekh H., Cocaign- Bousquet, M., Deghorain, M., Gadu, P., et al. (2008). Métabolisme et ingénierie métabolique. In : Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu ,G., Luquet F-M.). Tec & Doc, *Lavoisier*. Paris, 271-447.

Axelsson, L. (2004). Lactic acid bacteria: classification and physiology. *Food Science and Technology*. New York-Marcel Dekker, 139, 1-66.

B

Badis, A., Guetarni, D., Boudjema, BM, Henni, DE., & Kihal, M. (2004). Identification et propriétés technologiques des bactéries lactiques isolées du lait cru de chèvre de quatre races algériennes. *Microbiologie alimentaire*, *21* (5), 579-588.

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

Bai, L.J., Wang, L., & Ji, S.J. (2016). Élucidation structurelle et activités antioxydantes de l'exopolysaccharide de L. helveticus SMN2-1. *Transactions de génie chimique*, *55*, 61-66.

Béal, C., Marin, M., Fontaine, E., Fonseca, F., & Obert, J. P. (2008). Production et conservation des ferments lactiques et probiotiques.

Bekhouche, F., & Boulahrouf, A. (2005). Etudes quantitative et qualitative des bactéries lactiques de lait cru produits par des vaches locales appartenant à six stations d'élevage de Constantine. *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies*, 38-45.

Ben Amor, K., Vaughan, E.E., & de Vos, W.M. (2007). **.** Outils moléculaires avancés pour l'identification des bactéries lactiques. *Le Journal de la nutrition*, *137* (3), 741S-747S.

Bennani, S., Mchiouer, K., Rokni, Y., & Meziane, M. (2017). Caractérisation et identification des bactéries lactiques isolées du lait cru de vache marocain. *Journal plus vert des sciences biologiques*, *25*, 4934-4944.

Bintsis, T. (2018). Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics. *AIMS microbiology*, *4*(4), 665.

Blaya, J., Barzideh, Z., & LaPointe, G. (2018). Symposium review: Interaction of starter cultures and nonstarter lactic acid bacteria in the cheese environment. *Journal of Dairy Science*, *101*(4), 3611-3629.

Bron, P.A., Marcelli, B., Mulder, J., van der Els, S., Morawska, L.P., Kuipers, O.P., & Kleerebezem, M. (2019). **.** Renaissance des stratégies traditionnelles de transfert d'ADN pour l'amélioration des bactéries lactiques industrielles. *Opinion actuelle en biotechnologie*, *56*(1), 61-68.

Buron-Moles, G., Chailyan, A., Dolejs, I., Forster, J., & Mikš, M. H. (2019). Uncovering carbohydrate metabolism through a genotype-phenotype association study of 56 lactic acid bacteria genomes. *Applied microbiology and biotechnology*, *103*(7), 3135-3152.

C

Caplice, E., & Fitzgerald, G.F. (1999). Fermentations alimentaires : rôle des micro-organismes dans la production et la conservation des aliments. *Journal international de microbiologie alimentaire*, *50* (1-2), 131-149.

Casaburi, A., Di Monaco, R., Cavella, S., Toldrá, F., Ercolini, D., & Villani, F. (2008). Proteolytic and lipolytic starter cultures and their effect on traditional fermented sausages ripening and sensory traits. *Food Microbiology*, *25*(2), 335-347.

Casalta, E., Vassal, Y., Desmazeaud, M. J., & Casabianca, F. (1995). Comparaison de l'activité acidifiante de souches de Lactococcus lactis isolées de lait et de fromage de Corse. *LWT-Food Science and Technology*, *28*(3), 291-299.

Chahrour, W., Merzouk, Y., Henni, J. E., Haddaji, M., & Kihal, M. (2013). Screening and identification of lactic acid bacteria isolated from sorghum silage processes in west Algeria. *African Journal of Biotechnology*, 12(14), 1703-1709.

Carr F.J., Chill, D., & Maida, N. (2002). The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey. *Critical Reviews in Microbiology*, *28*, 281-370.

Cholet, O. (2006). Etude de l'écosystème fromager par une approche biochimique et moléculaire (Doctoral dissertation, INAPG (AgroParisTech).

Claeys LW, Verraes C, Cardoen S, De Block J, Huyghebaert A, Raes K, Dewettinck K, Herman L (2014). Consumption of raw or heated milk from different species: An evaluation of the nutritional and potential health benefits. *Food Control*, *42*, 188-201.

Christensen, J.E., Dudley, E.G., Pederson, J.A., & Steele, J.L. (1999). Peptidases et catabolisme des acides aminés chez les bactéries lactiques. *Antoine van Leeuwenhoek*, *76* (1), 217-246.

Citti, J.E., Sandine, W.E., & Elliker, R.P (1963). Some observation on the Hull method for measurement of proteolysis in milk, *Journal of Dairy Science*, *46*, 337–345.

Claesson, M. J., van Sinderen, D., & O'Toole, P. W. (2008). Lactobacillus phylogenomics–towards a reclassification of the genus. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *58*(12), 2945-2954.

D

Daba, G. M., & Elkhateeb, W. A. (2020). Bacteriocins of lactic acid bacteria as biotechnological tools in food and pharmaceuticals: Current applications and future prospects. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *28*, 101750.

Dahou, A., Homrani, A., Bensaleh, F., & Medjahed, M. (2015). La microflore lactique d'un fromage traditionnel Algérien « type j'ben »: connaissance des écosystèmes microbiens laitiers locaux et de leurs rôles dans la fabrication des fromages. *Afrique Science*, *11*(6), 1-13.

De Roissart, H.B. (1986). Les bactéries lactiques. Dans : le lait et les produits laitiers. Luquet F. M., 3, Ed. *Techniques et Documentations Lavoisier*. Paris, 343- 407.

De Roissart, H., & Luquet, F.M. (1994). Les bactéries lactiques. *Uriage, Lorica*, France, 1,1-286.

De Roissart, H.B., & Luquet, M. (1994). Bactéries lactiques.*VolI.Lorica*, 605.

Desjeux, J. F. (1993). Valeur nutritionnelle du lait de chèvre. *Le lait*, *73*(5-6), 573-580.

Doman-Pytka, M., Renault, P., & Bardowski, J. (2004). Gene-cassette for adaptation of Lactococcus lactis to a plant environment. *Le Lait*, *84*(1-2), 33-37.

Dortu, C., & Thonart, P. (2009). Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, *13* (1), 143-154.

E

Eck, A., & Gillis, J. C. (Eds.). (1997). Le fromage: de la science à l'assurance-qualité.

F

Facklam, R., & Elliott, J. A. (1995). Identification, classification, and clinical relevance of catalase-negative, gram-positive cocci, excluding the streptococci and enterococci. *Clinical microbiology reviews*, *8*(4), 479-495.

Flahaut, NAL., & De Vos, W.M. (2015). Biologie des systèmes et ingénierie métabolique des bactéries lactiques pour l'amélioration des aliments fermentés. Dans *Advances in Fermented Foods and Beverages* , 177-196.

Freund, G. (1997). Intérêts nutritionnel et diététique du lait de chèvre: Niort (France), 7 novembre 1996. *Intérêts nutritionnel et diététique du lait de chèvre*, 1-200.

G

Gaspar, P., Carvalho, A. L., Vinga, S., Santos, H., & Neves, A. R. (2013). From physiology to systems metabolic engineering for the production of biochemicals by lactic acid bacteria. *Biotechnology advances*, *31*(6), 764-788.

Ghazi, F., Henni, D. E., Benmechernene, Z., & Kihal, M. (2009). Phenotypic and whole cell protein analysis by SDS-PAGE for identification of dominants lactic acid bacteria isolated from Algerian raw milk. *World Journal of Dairy Food Science*, *4*(1), 78-87.

Goh, Y. J., & Klaenhammer, T. R. (2009). Genomic features of Lactobacillus species. *Front Biology science*, *14*, 1362-1386.

Gomes, A. M., & Malcata, F. X. (1999). Bifidobacterium spp. and Lactobacillus acidophilus: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trends in Food Science & Technology*, *10*(4-5), 139-15.

Guiraud, J.P., (1998). Microbiologie alimentaire. *1e Edition., Dunod*. Paris,136-144.

Guiraud, J-P., (2003). Microbiologie Alimentaire. *Technology* and *Documentation, Dunod.* Paris, 90-292.

H

Haenlein, G. F. W. (1996). Nutritional value of dairy products of ewes and goats milk. *Sheep Dairy News*, *13*(1), 10-16.

Hammes, W.P., & Hertel, CHRÉTIEN. (2006). Les genres lactobacillus et carnobacterium. *Prokaryotes*, *4*, 320-403.

Hardie, J. M., & Whiley, R. A. (1997). Classification and overview of the genera Streptococcus and Enterococcus. *Journal of applied microbiology*, *83*(S1), 1S-11S.

Hatti-Kaul, R., Chen, L., Dishisha, T., & Enshasy, H. E. (2018). Lactic acid bacteria: From starter cultures to producers of chemicals. *FEMS microbiology letters*, 365(20).

Ho, T. N. T., Tuan, N., Deschamps, A., & Caubet, R. (2007). Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) of the New chua fermented meat product of Vietnam. *In International. Workshop on Food Safety and Processing Thechnology*,*142*, 134.

Holzapfel, W. H., & Wood, B. J. (Eds.). (2014). *Lactic acid bacteria: biodiversity and taxonomy*. John Wiley and Sons.

Holzapfel, W. H., Haberer, P., Geisen, R., Björkroth, J., & Schillinger, U. (2001). Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *The American journal of clinical nutrition*, *73*(2), 365s-373s.

Huang, M. K., Choi, Y. J., Houde, R., Lee, J. W., Lee, B., & Zhao, X. (2004). Effects of Lactobacilli and an acidophilic fungus on the production performance and immune responses in broiler chickens. *Poultry Science*, *83*(5), 788-795.

I

Idoui, T., Boudjerda, J., Leghouchi, E., & Karam, N. E. (2009). Lactic acid bacteria from" Sheep's Dhan", a traditional butter: Isolation, identification and major technological traits. *Grasas y aceites*, *60*(2), 177-183.

J

Jamet, E. (2009). Application alimentaire : produits fermentes. Les bacteries lactiques : une composante de l'ecosysteme microbien des fromages. *In :* Bactéries lactiques : physiologie, metabolisme, genomique et application industrielles. (Drider, D., Prevost, H). *Economica.* Paris, 319-327.

Johansen, E., Øregaard, G., Sørensen, K.I., & Derkx, P.M.F. (2015). Approches modernes pour l'isolement, la sélection et l'amélioration des souches bactériennes pour les applications de fermentation. Dans *Avancées dans les aliments et boissons fermentés*. Édition Woodhead, 227-248.

K

Kacem, M., & Karam, N. (2006). Etude physicochimique et microbiologique du « shmen », beurre traditionnel à base de lait de chamelle au Sahara (Algérie) : isolement et identification des bactéries lactiques et des levures. *Grasas y Aceites* , *57* (2), 198-204.

Kalbaza, K., Halima, Z.K., & Karam, N.E. (2018). Identification et principales caractéristiques technologiques des souches de Lactococcus et Lactobacillus isolées du hamoum, un blé fermenté algérien. *Journal africain de biotechnologie*, *17* (5), 108-117.

Kassa, T., Meshesha, B., Haji, Y., & Ebrahim, J. (2016). Appropriate complementary feeding practices and associated factors among mothers of children age 6–23 months in Southern Ethiopia, 2015. *BMC pediatrics*, *16*(1), 1-10.

König, H., & Fröhlich, J. (2017). Lactic acid bacteria. In *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*, Springer, 3-41.

König, H., Unden, G., & Fröhlich, J. (Eds.). (2009). *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*, Springer, 3-30.

L

Lafarge, V., Ogier, J. C., Girard, V., Maladen, V., Leveau, J. Y., Gruss, A., & Delacroix-Buchet, A. (2004). Raw cow milk bacterial population shifts attributable to refrigeration. *Applied and environmental microbiology*, *70*(9), 5644-5650.

Lairini, S., Beqqali, N., Bouslamti, R., Belkhou, R., & Zerrouq, F. (2014). Isolement des bactéries lactiques à partir des produits laitiers traditionnels Marocains et formulation d'un lait fermenté proche du Kéfir. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, *10*(4), 267-277.

Larpent, J-P., & Larpent-Gourgaud, M. (1990). Mémento technique de Microbiologie.Technique et documentation-*Lavoisier*. Paris, 417.

Larpent,J-P., (1997). Microbiologie alimentaire. Technique et documentation, *Lavoisier*. Paris, 10-72.

Lopez, S., Mayo, B., (1994). Identification and characterization of homofermentative mesophilic Lactobacillus strains isolated from artisan starter-free cheeses. *Letters in Applied Microbiology*. *25*, 233–238.

Ludwig, W., Schleifer, K.H., & Whitman, W.B (2009). Feuille de route révisée vers le phylum des Firmicutes. *Manuel de bactériologie systématique de Bergey* , *2* (3), 1-8.

M

Mahaut, M., Jeantet, R., & Brulé, G. (2000). Initiation à la technologie fromagère. Editions Tec & Doc. *24*(1), 181-185.

Makarova, K., Slesarev, A., Wolf, Y., Sorokin, A., Mirkin, B., Koonin, E., & Mills, D. (2006). Génomique comparée des bactéries lactiques. *Actes de l'Académie nationale des sciences*, *103* (42), 15611-15616.

Mattarelli, P., Holzapfel, W., Franz, C.M., Endo, A., Felis, G.E., Hammes, W., & Dellaglio, F. (2014). Normes minimales recommandées pour la description des nouveaux taxons des genres Bifidobacterium, Lactobacillus et genres apparentés. *Journal international de microbiologie systématique et évolutive*, *64* (Pt_4), 1434-1451.

Mayo, B., Aleksandrzak-Piekarczyk, T., Fernndez, M., Kowalczyk, M., lvarez-Martn, P., & Bardowski, J. (2010). *Updates in the Metabolism of Lactic Acid Bacteria*. 3-33.

Moeller, V. (1955). Simplified tests of some amino acid decarboxylases and for the arginine hydrolase system.*Acta. Pathol. Microbiol.Scand*, *36*, 158-172.

Milewski, S., Zabek, K., Antoszkiewicz, Z., Tanski, Z., & Sobczak, A. (2018). Impact of production season on the chemical composition and health properties of goat milk and rennet cheese. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, *30*(2), 107-114.

Mokoena, M. P. (2017). Lactic acid bacteria and their bacteriocins: classification, biosynthesis and applications against uropathogens: a mini-review. *Molecules*, *22*(8), 1255.43**.**

Monnet,C-H., Latrille, E., Beal, C., & Corrieu, G. (2008). Croissance et propriétés fonctionnelles des bactéries lactiques. *In :* Bactéries lactiques de la génétique aux ferments. *Tec & Doc, Lavoisier*. Paris, 512-592.

Moraes, P. M., Perin, L. M., Silva Júnior, A., & Nero, L. A. (2013). Comparison of phenotypic and molecular tests to identify lactic acid bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*, *44*(1), 109-112.

Moreno, M. F., Sarantinopoulos, P., Tsakalidou, E., & De Vuyst, L. (2006). The role and application of enterococci in food and health. *International journal of food microbiology*, *106*(1), 1-24.

O

O'sullivan, L., Ross, R. P., & Hill, C. (2002). Potential of bacteriocin-producing lactic acid bacteria for improvements in food safety and quality. *Biochimie*, *84*(5-6), 593-604.

Orla-Jensen, S. (1924). La classification des bactéries lactiques. *Le Lait*, *4*(36), 468-474.

Özkalp, B., Özden, B., Tuncer, Y., Şanlibaba, P., & Akçelik, M. (2007). Technological characterization of wild-type Lactococcus lactis strains isolated from raw milk and traditional fermented milk products in Turkey. *Le Lait*, *87*(6), 521-534.

P

Papadimitriou, K., Alegría, Á., Bron, P. A., Angelis, M. De, Gobbetti, M., Kleerebezem, M., & Kok, J. (2016). Stress physiology of lactic acid bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, *80* (3), 837-890.

Papamanoli, E., Tzanetakis, N., Litopoulou-Tzanetaki, E., & Kotzekidou, P. (2003). Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Greek dry-fermented sausage in respect of their technological and probiotic properties. *Meat science*, *65*(2), 859-867.

Park, Y. W. (1991). Relative buffering capacity of goat milk, cow milk, soy-based infant formulas, and commercial nonprescription antacid drugs. *Journal of Dairy Science*, *74*(10), 3326-3333.

Pessione, E. (2012). Lactic acid bacteria contribution to gut microbiota complexity: lights and shadows. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, *86* (2), 1-15.

Pessione, E., & Cirrincione, S. (2016). Bioactive molecules released in food by lactic acid bacteria: encrypted peptides and biogenic amines. *Frontiers in microbiology*, *876* (7), 1-19.

Pfeiler, E.A., & Klaenhammer, T.R. (2007). La génomique des bactéries lactiques. *Tendances en microbiologie*, *15* (12), 546-553.

Pot, B., Ludwig, W., Kersters, K., & Schleifer, K. H. (1994). Taxonomy of lactic acid bacteria. *In Bacteriocins of lactic acid bacteria*, *978 (*1), 13-90.

Pradal, M. (2012). *La transformation fromagère caprine fermière: Bien fabriquer pour mieux valoriser ses fromages de chèvre*. *Ed Lvoisier, Paris*, 285.

Pu, Z. Y., Dobos, M., Limsowtin, G. K. Y., & Powell, I. B. (2002). Integrated polymerase chain reaction-based procedures for the detection and identification of species and subspecies of the Gram-positive bacterial genus Lactococcus. *Journal of Applied Microbiology*, *93*(2), 353-361.

R

Rai, D. C., Rathaur, A., & Yadav, A. K. (2022). Nutritional and nutraceutical properties of goat milk for human health :A review. *Indian Journal of Dairy Science*, *75*(1).

Raynaud S., Perrin R., Cocaign-Bousquet M., Loubière P., (2003). Metabolic and transcriptomic adaptation of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* in response to autoacidification and temperature downshift in skim milk. *Applied and Environmental Microbiology*, *71*(12), 8016- 8023.

S

Saidi, N., Guessas, B., Bensalah, F., Badis, A., Hadadji, M., Henni, D. E., & Kihal, M. (2002). Caractérisation des bactéries lactiques isolées du lait cru de chèvre des régions arides. *Journal Algérien des Régions Arides*, *1*, 1-11.

Samaržija, D., Antunac, N., & Havranek, J. L. (2001). Taxonomy, physiology and growth of Lactococcus lactis: a review. *Mljekarstvo*, *51*(1), 35-48.

Singleton, P. (1999). Bactériologie, Edition Duonod 4ème édition Paris. P.415.

Solanki, D., & Hati, S. (2018). Fermented camel milk: A Review on its bio-functional properties. *Emirates Journal of Food and Agiculture*, *30*(4), 268-274.

Sumarsih, S., Sulistiyanto, B., & Sutrisno, C. I. (2012). Characteristics, Stability and Antimicrobial Activity of Lactic Acid Bacteria (Leuconostoc SP) Isolated From Broiler's Caecum During Storage. *Journal of Indonesian Tropical Animal Agriculture*, *37*(1), 70-76.

T

Tamime, A. Y. (1996). The Genera of Lactic Acid Bacteria. Edited by BJB Wood and WH Holzapfel, *49* (2), 65-65.

Temmerman, R., Huys, G., & Swings, J. (2004). Identification des bactéries lactiques : méthodes dépendantes et indépendantes de la culture. *Tendances en science et technologie alimentaires*, *15* (7-8), 348-359.

Teuber, M. (1993). Bactéries lactiques. *Biotechnologie : Fondements biologiques*, *1*, 325-366.

V

Ventura, M., Canchaya, C., Tauch, A., Chandra, G., Fitzgerald, G. F., Chater, K. F., & van Sinderen, D. (2007). Genomics of Actinobacteria: tracing the evolutionary history of an ancient phylum. *Microbiology and molecular biology reviews*, *71*(3), 495-548.

Vignola, C-L., MICHEL, J., & PAQUIN, P. (2002). Science et technologie du lait: transformation du lait. *Ed Lvoisier,* Paris, 608.

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

W

Wang, X., & Zang, S. (2014). Caractéristiques de distribution et évaluation des risques écologiques des métaux lourds et métalloïdes toxiques dans les eaux de surface des lacs de la province de Daqing Heilongjiang, Chine. *Ecotoxicologie*, *23* (4), 609-617.

Z

Zadi Karam, H. (1998). Bactéries lactiques isolées de lait de Camelus dromedarius: Etude microbiologique et biochimique, Caractéristiques technologiques, Elaboration de ferments lactiques mésophiles et fabrication de fromages. Thèse de Doctorat d'Etat. Université de Constantine, Algérie, 205.

Zantar, S., El Galiou, O., Zerrouk, H. M., & Laglaoui, A. (2013). Elaboration d'un fromage de chèvre semi-affiné à partir d'une sélection de souches lactiques autochtones isolées du lait de chèvres du Nord du Maroc. *Options Méditerranéennes A, 108*(1) ,191-197.

Zhang, S., Zhang, L., Jiao, Y., Luo, X., Li, H., Xin, L., Xue, C., Zhang, Y., Yi, H., & Han, X. (2014). Technological characterization of lactic acid bacteria protease isolated from traditional Chinese fermented milk. *Journal of Food Quality*, *37*, 395-402.

Zarour, K., Benmechernene, Z., Hadadji, M., Moussa-Boudjemaa, B., Henni, J. E., & Kihal, M. (2013). Caractérisation microbiologique et technologique des espèces de Leuconostoc mesenteroïdes isolées du lait cru de chèvre et de chamelle d'Algérie. *Nature & Technology*, *(8)*, 39A.

Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C.M., Harris, H.M., Mattarelli, P., & Lebeer, S. (2020). Une note taxonomique sur le genre Lactobacillus : Description de 23 nouveaux

genres, description modifiée du genre Lactobacillus Beijerinck 1901, et union de Lactobacillaceae et Leuconostocaceae. *Journal international de microbiologie systématique et évolutive*, *70* (4), 2782-2858.

Annexes

Annexe I. Composition des milieux de culture

La composition des différents milieux est exprimée (g/l). Tous les milieux sont stérilisés à 120°C pendant 20 min.

Eau physiologie

Composant	g/l
NaCl	9 g
Eau distillée	1 l

pH=7

De Man-Rogosa Sharp (MRS bouillon et agar)

Composant	g/l
Peptone	10g
Extrait de levure	04g
Extrait de viande	08g
Glucose	20g
Phosphate Dipotassique	02g
Acétate de sodium	05g
Citrate d'ammonium	02g
Sulfate de manganèse	0.05g
Sulfate de magnésium	0.2g
Tween 80	1ml
Agar	15g
Eau distillée	1l

pH = 6.2

- Préparation des milieux

Gélose MRS : Préparation de la gélose MRS : dissoudre 52.25g de gélose MRS déshydraté dans 1L d'eau distillée et ajouté 1ml de Tween 80%. L'ajustement de pH (6±2). Autoclavage 120°C/ 20min.

Bouillon MRS : Préparation du bouillon MRS : dissoudre 52.25g de milieu MRS déshydraté dans 1L d'eau distillée. L'ajustement de pH (6±2). Autoclavage 120°C/ 20min.

Clark et Lubs

Composant	g/l
Peptone	5g
Phosphate dipotassique	5g
Glucose	5g
Eau distillée	950ml

pH=7.4

Lait de Sherman

Composant	g/l
Lait écrémé	10g
Extrait de levure	0.5g
Eau distillée	950ml

pH=6.8

Annexes II. Réactifs et tampon

Réactif VP1 et VP2

Réactif VP1 : solution de soude (NaOH) à 16% (p/v) dans l'eau distillée.

Réactif VP2 : α-naphtol à 6% (p/v) dans l'alcool.

Annexe III. Protocole de coloration de Gram

La coloration de Gram a été réalisée selon la technique suivante :

1. Fixation du frottis de la suspension bactérienne par séchage à la chaleur douce sur une lame porte objet en verre, après son étalement préalable.
2. Coloration primaire au violet de gentiane par la couverture totale de la lame pendant 1 minute.
3. Lavage à l'eau sans éponger.
4. Stabilisation de la coloration au lugol (qualifié d'agent mordant) par la couverture totale de la lame pendant 1 minute.
5. Lavage à l'eau pour éliminer l'excédent d'iode sans éponger.
6. Décoloration au goutte à goutte à l'éthanol à 95° avec une légère agitation jusqu'à l'élimination du colorant (30S)
7. Contre coloration pendant 20 à 30 minutes par la couverture totale de la lame par une solution de la safranine à 2,5% dans d'éthanol à 95% ou la fuschine diluée à 10%
8. Lavage à l'eau
9. La lame une fois séchée, peut être observée au microscope optique avec un objectif à immersion (Gx100). Les bactéries à Gram positif apparaissent en violet et les bactéries à Gram négatif en rose.

جامعة محمد الصديق بن يحيى
مكتبة الكلية
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Président : Mme. BENHAMADA W
Examinatrice : Dr. ALIOUA S
Encadreur : Mr. RAHMOUNE Y

Présenté par :
M ^{elle} : BOUSEBTA Khouloud
M ^{elle} : BOULHOULOU Mouna
M ^{elle} : BOUDEKHANE khadidja

Identification des bactéries lactiques isolées à partir du lait de chèvre et évaluation de leurs caractéristiques technologiques

Résumé

Le présent travail est une contribution à l'identification et à l'évaluation des propriétés technologiques des bactéries lactiques isolées à partir du lait cru de chèvre originaire de a région de Jijel. L'isolement s'est effectué sur milieu MRS et 12 isolats ont été sélectionnées par l'utilisation des tests morphologiques, physiologique et biochimique. L'identification phénotypique des isolats a révélé la présence des genres suivants (*Lactococcus, Pediococcus, Steptococcus, Enterococcus, Leuconostoc, et Lactobacillus*).

Les résultats de l'évaluation des aptitudes technologiques indiquant que la plus part des isolats présentent un bon pouvoir acidifiant, protéolytique, mais un faible pouvoir lipolytique.

Mots-clés : Aptitudes technologiques, Bactéries lactiques, Lait de chèvre, MRS, Tests biochimique.

Abstract

The present work is a contribution to the identification and evaluation of the technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk from the Jijel region. The isolation was carried out on MRS medium and 12 isolates were selected by using morphological, physiological and biochemical tests. The phenotypic identification of the isolates revealed the presence of the following genera (Lactococcus, Pediococcus, Steptococcus, Enterococcus, Leuconostoc, and Lactobacillus).

The results of the evaluation of the technological aptitudes indicate that most of the isolates present a good acidifying and proteolytic power, but a weak lipolytic power.

Keywords: Biochemical tests, Lactic acid bacteria, MRS, Goat's milk, Technological skills.

الملخص

العمل الحالي هو مساهمة في تحديد وتقييم الخصائص التكنولوجية لبكتيريا حمض اللاكتيك المعزولة من حليب الماعز الخام من منطقة جيجل. أجري العزل على وسط MRS وتم اختيار 12 عزلة باستخدام الاختبارات المورفولوجية والفسيولوجية والكيميائية الحيوية. كشف التعرف المظهرى للعزلات عن وجود الأنواع التالية (*Lactococcus, Pediococcus, Steptococcus, Enterococcus, Leuconostoc, et Lactobacillus*).

تشير نتائج تقييم القدرات التكنولوجية إلى أن معظم السلالات تقدم قدرة جيدة على التحميض، والتحلل للبروتين ، ولكن قوة تحلل دهون ضعيفة.

الكلمات المفتاحية: حليب الماعز ، MRS ، بكتيريا حمض اللاكتيك ، الاختبارات البيوكيميائية ، المهارات التكنولوجية.