

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne démocratique et populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة أمحمد بوقرة بومرداس
Université M'hamed Bougara de Boumerdès



Faculté des sciences
Département de Biologie

Mémoire de Fin de Cycle En vue d'obtention de Diplôme MASTER

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème :

**Intérêt technologique des bactéries lactiques du lait
de chamelle**

Présenté par :

- Chekhchoukh Meriem
- Souici Nihed Rafika
- Zitouni Ahlem

Soutenue le 08 /09/2016 devant le jury :

	UMBB	Président
	UMBB	Examineur
M ^{me} BOUGUERRA Asma MAB (UMBB)	UMBB	Promoteur

Remerciements

On remercie Allah le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

Au terme de ce travail, il est agréable de présenter nos remerciements les plus sincères à madame **BOUGUERRA Asma** pour nous avoir proposé ce sujet si intéressant et avoir accepté de nous encadrer et orienter tout au long de notre travail.

Nos vifs remerciements à tous les membres de jury pour avoir accepté de juger ce travail :

Nous remercions **Madame** qui a accepté de présider ce jury dont je lui exprime notre haute considération.

Nos sincères remerciements vont à **madame**, d'avoir accepté d'examiner ce travail et on lui exprime nos profonde reconnaissance pour son aide précieuse.

On tient ensuite à remercier Monsieur : **ZIRIFI ABD el Kader, SABAOU KHALED, LAKHAL** pour leur aide technique, leur gentillesse et leur grande disponibilité et confiance.

On remercie aussi l'ensemble du personnel travaillant au laboratoire de fromagerie **ZIRIFI** ainsi que le personnel du département de Biologie université de Boumerdes qui a contribué pour mener à bien ce travail.

Nos remerciements vont également à nos enseignants qui nous ont accompagnés pendant notre cursus universitaire.

Enfin on adresse nos sincères remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

*Nous rendons grâce à Allah le tout puissant « hamdoalleh »
A Celui qui ma toujours encouragé et soutenu durant toutes mes
années d'études. Merci pour ton amour et ta confiance totale à toi
mon **cher papa**.*

*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 toi Ma **cher maman**.*

*A
Mon cher grand père que dieu lui donne une longue vie.*

*A
Mes chers soeurs : salima, abla , zineb, karima, amina.*

*A
Mes tants, Mes oncles et toutes leurs familles.*

*A
Mes cousins, mes cousines*

*A
Mes chères amies: Nihed, Aicha, Ahlem, Hadjer, Chahinez, Amira,
Ibtissam, Warda, Ilhem, Farida, Wissam, Ratiba, Zohra et aatika ,
pour tous les bonnes moments que nous avons partagées.*

*A
Tous mes enseignants.*

*A
Tout l'équipe et les travailleurs entreprise Faiz spécialement
Monsieur Zirifi A, Sabaoui K,*

*A
Tous ceux qui sont chers et que j'ai omis involontairement de citer.
Enfin à tous ceux qui aiment la science et la recherche.*

Chekhchoukh

Je dédie ce mémoire à....

A mon cher Papa Messaoud...

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous... Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuits pour mon éducation et mon bien être.

A ma chère mère Fatiha...

Affable, honorable, aimable : Tu représente le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et prier pour moi ; ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études

Ce travail est le fruit de vos sacrifices cher parents vous avez consentis pour mon éducation et ma formation.

A mon cher Khaled...

Quand je t'ai connu ; j'ai trouvé l'homme de ma vie, tes sacrifices, ton soutien moral, ta gentillesse sans égal et ton profond attachement mon permis de réussir mes études ... Que dieu réunisse nos chemin pour un long commun serein.

A mon beau père Ali et ma belle mère Ghania...

Vous m'avez accueilli à bras ouverts dans votre famille autour de ma belle sœur . En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porté pour vous je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

A Mama Khaira et ma grande mère Messaouda :

Vous avez toujours été présents pour les bons conseils... veuillez trouver dans ce travail ma reconnaissance pour tous vos efforts.

A la mémoire de la grande dame qui a tant sacrifié pour nous : Tata Zoubida .

A ma sœur Mouna et sa petite famille...

Je vous dédie le travail avec tous mes vœux de bonheur et de réussite.

*A tous ceux qui m'ont aidé dans mon parcours particulièrement :
Lekehal Fatehi ,*

*Zirifi A, Sabaoui K et Nadia aussi pour tout les membres de la
fromagerie Zirifi.*

*A notre chère et dynamique professeur assistant Mme Bouguara
Asma ...*

Un remerciement particulier et sincère pour tout votre effort fournis.

*A tous mes proches cousins et cousines, amies (meriem, ahlem, hadjar,
ibtissem et aicha, imen) et tous qui m'aiment.*

SOUCI NIHED RAFIKA

Je dédie ce modeste travail :

*À mes très chers parents qui m'ont soutenu et encouragé tout
au long de mon parcours et qui ont toujours prié pour moi et
j'espère qu'ils sont fières de moi. Je les remercie de m'avoir
encouragée*

*Et aidé à devenir ce que Je suis. Je vous aime et que dieu vous
bénisse.*

*Je prie le bon Dieu de les bénir, de veiller sur eux, en espérant
qu'ils seront toujours fiers de moi.*

Et à mes frères, ma sœur, et à toute la famille.

À notre encadreur Mme BOUGUERRA Asma

À tous mes professeurs

*Sans oublier tous mes amis et mes collègues et mes élèves et
tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à réaliser ce
travail.*

ZITOUNI AHLEM

Résumé

L'objectif de notre étude est de sélectionner des *Bactéries lactiques* isolées de lait de chamelle avec des *caractéristiques technologiques* intéressantes et pouvant être utilisées au tant que Starters pour la fabrication des produits laitiers améliorées.

Nous avons choisis 14 souches isolées et purifiées de lait de chamelle puis étudiées chez ces isolats quelques aptitudes technologiques afin d'évaluer leurs capacités pour un éventuels usage industriel. Alors, nous nous sommes basés particulièrement à l'évaluation de l'activité protéolytique mise en évidence sur milieu GN au lait écrémé, l'activité lipolytique, pouvoir aromatisant et pouvoir acidifiant ainsi que la production des EPS sur milieu hypersaccharosé.

Les résultats de l'évaluation des aptitudes technologiques ont montré ces activités d'intérêts sont exprimées d'une manière très hétérogène. L'ensemble des souches présentent un pouvoir acidifiant, protéolyse, une aptitude de produire des composés aromatisant pouvoir texturant intéressant, mais absence de pouvoir Lipolytique.

Mots clés : bactéries lactiques, activité acidifiant, protéolyse, lipolyse, pouvoir aromatisant, production des EPS, Intérêt technologique, lait de chamelle.

Abstract

The aim of our study is to select lactic bacteria isolated from camel milk with interesting technological features that can be used in as starters for the manufacture of dairy products improved.

We selected 14 strains isolated and purified from camel milk then studied in these isolates some technological skills to assess their capacity for potential industrial use. So we were particularly based on the assessment of proteolytic activity highlighted on middle GN skimmed milk, lipase activity, flavoring and acidifying power and the production of EPS on hypersaccharosé environment.

The results of the assessment of technological skills have shown such interest activities are expressed in a very heterogeneous manner . All strains have an acidifying power, proteolysis , an ability to produce flavoring compounds texturing capacity interesting, but no Lipolytic power.

Keywords: lactic acid bacteria , acid activity , proteolysis , lipolysis, flavoring power, production of EPS , technological interest , camel milk .

المخلص

الهدف من دراستنا هو تحديد البكتيريا اللبنية المعزولة من حليب الإبل التي لديها المزايا التكنولوجية المثيرة للاهتمام والتي يمكن استخدامها في تصنيع الألبان المحسنة.

اخترنا 20 سلالة حليب الإبل معزولة و تم تنقيتها ثم درس فيها بعض المهارات التكنولوجية لتقييم قدرتها على الاستخدام الصناعي. لذلك استندنا بشكل خاص على تقييم قدرتها على هدم البروتينات حيث تم دراسته في وسط GN للحليب منزوع الدسم ، قدرتها على تحليل الدهون ، القدرة العطرية ، قدرتها على رفع حموضة الوسط، بالإضافة إلى قدرتها على رفع لزوجة الوسط

نتائج الاختبارات حول القابلية التكنولوجية أظهرت هذه النشاطات ذات الفائدة بطريقة غير متجانسة جدا، حيث أن السلالات المعزولة لها قدرة جيدة على رفع حموضة الوسط ، هدم البروتينات، قدرة عطرية، قدرة على رفع الزوجة ، لكن غياب القدرة على تحليل الدهون.

الكلمات المفتاحية : البكتيريا اللبنية، القدرة على رفع الحموضة، تحليل البروتينات، تحليل الدهون، قدرة عطرية، القدرة على رفع اللزوجة، الفائدة التكنولوجية، حليب الإبل.

Abréviations

ATP	Adénosine triphosphate
C	Cytosine
CEPs	Protéases associées à l'enveloppe cellulaire
EPS	Exo-polysaccharides
G	Guanine
h	Heure
LAB	Bactéries Lactiques
<i>Lb.</i>	<i>Lactobacillus</i>
<i>Lc.</i>	<i>Lactococcus</i>
<i>Ln.</i>	<i>Leuconostoc</i>
ml	Millilitre
MRS	Man Rogosascharp
pH	Potentiel d'hydrogène
Prt	Protéase
S.	<i>Streptococcus</i>
Ssp.	Sous espèce
UHT	Ultra haute température
VP	Voges-Proskauer

Liste des Figures

Figure 01 : Représentation schématique des protéases de paroi de différentes bactéries lactiques selon le modèle proposé par Savijoki et *al.*(2006). CW : paroi cellulaire, M : membrane cytoplasmique, C : cytoplasme.

Figure 02 : exemple de résultat d'activité protéolytique sur gélose nutritive au lait des souches MR15, MR12, MR9, MR11, BR20.

Figure 03 : Exemples des souches lactiques aromatisantes et non aromatisantes.

Figure 04 : résultats de l'évaluation de pH des souches: BR12, BR17, BR 18, BR20, BR21.

Figure 05 : résultats de l'évaluation de pH des souches : BR23, BS18, BS20, MR1, MR11.

Figure 06 : résultats de l'évaluation de pH des souches : MR15, MR3, MR9, MS14.

Figure 07 : Aspect des colonies sur milieu hypersaccharosé.

Liste des Tableaux

Tableau 01 : Homo-polysaccharides produits par les bactéries lactiques.

Tableau 02 : activité protéolytique des souches lactiques.

Tableau 03 : Résultats enregistrés pour l'étude du pouvoir aromatisant des isolats lactique.

Tableau 04 : Production des exopolysaccharides par les bactéries lactiques.

Sommaire

Introduction.....	01
--------------------------	-----------

I. Synthèse Bibliographique

Chapitre I : Bactéries lactiques

I.1. Généralité sur les bactéries lactiques.	02
I.2. Habitat des bactéries lactiques.....	02
I.3. Diversité des bactéries lactiques	
I.3.1. Le genre <i>Lactococcus</i>	03
I.3.2. Le genre <i>Lactobacillus</i>	03
I.3.3. Le genre <i>Leuconostoc</i>	04
I.3.4. le genre <i>Streptococcus</i>	04
I.3.5. Le genre <i>Pediococcus</i>	04
I.3.6. Le genre <i>Enterococcus</i>	04
2. Propriétés technologiques des bactéries lactiques.....	05
2.1. Aptitude protéolytique.....	05
2.2. Aptitude aromatisante.....	08
2.3. Aptitude lipolytique.....	09
2.4. Aptitude acidifiante.....	10
2.5. Aptitude texturant.....	10

II. Matériel et Méthodes

II.1. Matériel

II.1.2. Appareillage	14
II.1.3. Verrerie.....	14
II.1.4. produit chimiques.....	14
II.1. matériels biologiques.....	14

II.2. Méthodes

2.1.Revivation des isolats Lactiques.....	15
2.2 Activité protéolytique.....	15
2.3.Pouvoir aromatisants (production d'acétoïne°	15
2.4 .Pouvoir acidifiant.....	15
2.5 .Activité lipolytique.....	16
2.6. Production d'exopolysaccharides.....	16

III. Résultats et Discussion

1. Détermination de l'activité protéolytique des bactéries lactiques.....	17
2. Pouvoir aromatisant	19
3. Activité acidifiante.....	20
4. Activité lipolytique.....	23
5. Pouvoir texturant	23

Conclusion et perspectives.....	25
--	-----------

Références bibliographiques.....	27
---	-----------

Annexe

Introduction

Depuis une dizaine d'années, un intérêt considérable est associé à l'utilisation des bactéries lactiques à effet bénéfique pour la santé ou « probiotique » (Hadeif, 2012). Ces bactéries sont généralement reconnues comme étant saines, de statut "GRAS" (Generally Recognized As Safe) et jouent un rôle important dans la fermentation et la conservation des aliments, que ce soit en tant que microflore naturelle ou comme cultures ajoutées sous des conditions contrôlées. Elles sont largement employées dans la préparation de nombreux aliments fermentés (yaourts, laits fermentés, fromages, kéfir, koumis, etc.) (Machai, 2009).

Dans la plupart des procédés industriels de transformation du lait, les bactéries lactiques qui sont détruites lors de la pasteurisation doivent être réintroduites par des ferments composés de souches sélectionnées. Ces dernières doivent présenter plusieurs propriétés technologiques et organoleptiques tels que; la dégradation des protéines et des lipides, la production des exopolysaccharides, des acides organiques et des composés aromatiques (Hassaine, 2013).

L'un des défis le plus important de l'industrie laitière est donc de choisir les espèces et les souches bactériennes les mieux adaptées aux fonctions qui leur sont imparties dans les diverses technologies de transformation des laits par fermentation (Zantar et *al.*, 2013 ; Hassaine, 2013).

Pour cela cette étude a été réalisée afin de sélectionner des souches lactiques d'intérêt technologique à partir du lait de chamelle dont sa transformation en produits dérivés est réputée difficile.

Synthèse bibliographique

1. Bactéries Lactiques

1.1. Généralités

Les bactéries lactiques constituent un groupe de bactéries bénéfiques qui produisent toutes l'acide lactique comme produit majeur du métabolisme. Elles sont des cocci ou des bâtonnets, à Gram positif, catalase négative, asporulantes, auxotrophes et généralement immobiles (Badis et *al.*, 2005).

Selon les espèces et les conditions de culture, les bactéries lactiques peuvent être aéro anaérobie facultatives ou micro-aérophiles (Baliarda., 2003). Elles sont mésophiles ou thermophiles qui peuvent se développer à des températures comprises entre 10°C et 45°C. Elles tolèrent des pH acides (entre 4 et 4.5) (Salminen et *al.*, 2004; König et Fröhlich, 2009 ; Pringsulaka et *al.*, 2011).

Selon la nature des produits du métabolisme obtenus à partir des glucides, on distingue deux groupes :

1- Les bactéries homolactiques :

Toutes les bactéries lactiques (à l'exception des genres : *Leuconstoc*, *Oenococcus*, *Weissella* et certains membres du genre *Lactobacillus*) entravent la voie de la glycolyse pour dégrader les hexoses en pyruvate qui sera réduit en acide lactique; le produit unique de la fermentation.

Dans les conditions défavorables telles la limitation du glucose, ces bactéries produisent également l'acide formique, l'acide acétique, l'éthanol et/ou le CO₂ par la voie de fermentation des acides mixtes (Mozzi et *al.*, 2010).

2- Les bactéries hétéro-lactiques :

Ce groupe de bactéries lactiques utilise la voie des pentoses phosphate (ou 6-phosphogluconate) pour transformer le glucose en CO₂, éthanol ou de l'acétate en plus de l'acide lactique (Salminen et *al.*, 2004).

1.2. Habitats

Les bactéries lactiques ont pour habitat de nombreux milieux naturels, des végétaux

(plantes et fruits), des animaux et des humains (cavités buccales et vaginales, fèces et dans le lait) mais certaines espèces semblent s'adapter à un environnement spécifique et ne sont guère trouvées ailleurs que dans leurs habitats naturels (Boumedienne., 2012).

1.3. La diversité des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques appartiennent à l'embranchement de *Clostridium* dont l'ADN contient moins de 50 moles % de C+G. Elles sont regroupées en un seul ordre (*Lactobacillales*) qui comprend six familles avec 35 genres. Douze genres renferment les bactéries lactiques principales, dont six sont liés aux produits laitiers (Corrieu et Luquet, 2008 ; Hassaine, 2013).

1.3.1. *Lactococcus*

Les lactocoques sont des cocci ou ovoïdes dont la taille varie de 0.5 à 1.5 µm en paires ou en chainettes. Elles sont des homo-fermentaires qui produisent l'acide lactique L(+) à partir de glucose.

Elles sont toutes mésophiles avec une température optimale de croissance variant de 28 à 34°C et leur pH optimal varie de 6.0-6.5 aussi elles se développent généralement à 4% de NaCl (Bouadjaib, 2013).

Le genre *Lactococcus* comprend cinq espèces : *Lc. raffinolacti*, *Lc. garviae*, *Lc. plantarum*, *Lc. piscium*, *Lc. chungangensis* et *Lactococcuslactis*. Cette dernière est la plus connue avec ses quatre sous espèces : *Lactococcus. lactis*ssp. *Lactis* (y compris le biovardiacetylactis, *Lc. lactis*ssp. *cremoris*. et *Lc. lactis*ssp. *Hordniae* et *Lc. lactis*ssp. *Tructuae* (Khemariya et al., 2016).

1.3.2. *Lactobacillus*

Lactobacillus est le genre principal de la famille des *Lactobacillaceae*. Les cellules de ce genre sont soit des bacilles longs, parfois incurvés ou des coccobacilles courts isolés, comme elles peuvent former des chaines. Elles sont généralement immobiles à l'exception de quelques espèces qui possèdent des flagelles péritriches. Les souches sont acidophiles qui peuvent croître à un pH égal à 5 ou moins avec un optimum de 5.5 à 6.2.

La température optimale de croissance est de 30°C à 40°C, mais elles peuvent croître à un intervalle de température allant de 2°C jusqu'à 53°C (Ababsa, 2012).

1.3.3. *Leuconostoc*

Les cellules de *Leuconostoc* sont des cocci, souvent allongées, en paires ou en chaînes. Elles sont toutes des hétéro-fermentaires obligatoires produisant de l'acide D(-) lactique de l'éthanol et du CO₂. Elles sont mésophiles avec une température optimale comprise entre 20-30°C (Guiraud, 2003).

En production fromagère, ces bactéries sont particulièrement utilisées pour leur capacité de formation des composés aromatiques et de production de CO₂ à partir du métabolisme du citrate. Le CO₂ produit par ces bactéries contribue à la formation des yeux typiquement retrouvés dans certains fromages. Les espèces les plus utilisées pour la fermentation des produits laitiers sont : *Ln. mesenteroides* et *Ln. lactis* (Idder, 2014).

1.3.4. *Streptococcus*

Ce genre est essentiellement constitué des espèces d'origine humaine ou animale dont certaines sont pathogènes comme *S. pyogenes* et *S. agalactiae*, d'autres sont impliquées dans la formation de la plaque dentaire (*S. mutans*) non pathogène.

L'espèce thermophile *Streptococcus thermophilus* se différencie par son habitat (lait et produits laitiers), et son caractère non pathogène. Du fait de ses propriétés technologiques, c'est la seule espèce considérée comme un streptocoque lactique (Bouadjaib, 2013).

1.3.5. *Pediococcus*

Les cellules de ce genre sont immobiles de forme sphérique parfois ovoïde. Elles sont isolées ou en paires qui se divisent dans deux directions perpendiculaires formant des tétrades. Leur température optimale de croissance se situe entre 25°C et 35°C (Ababsa, 2012). Elles sont mésophiles et le plus souvent incapables d'utiliser le lactose.

1.3.6. *Enterococcus*

Les espèces de ce genre sont des aéro-anaérobies facultatives, généralement micro aérophiiles et très exigeantes au point de vue nutritionnel (Guirand et al., 2004).

Leurs cellules sont immobiles, sphériques ou ovoïdes, qui ont un diamètre inférieur à 2µm avec une disposition en paires ou en chaînes longues. La température optimale de leur croissance est 37°C (Ababsa, 2012).

La plupart des espèces sont en général non capsulées, leur fermentation est homolactique, (Guirand et *al.*, 2004). Elles sont dépourvues de la catalase et du nitrate (Ait Abdelouahab, 2001).

Plusieurs entérocoques sont commensales ou parasites de l'homme et des animaux et certaines sont hautement pathogènes (Guirand et *al.*, 2004).

2. Propriétés technologiques des bactéries lactiques

Plusieurs espèces de bactéries lactiques possèdent des propriétés technologiques importantes qui influencent sur la qualité finale des produits alimentaires (Casaburi et *al.*, 2007).

2.1. Activité protéolytique

La protéolyse joue un rôle clé dans plusieurs processus biologiques chez les bactéries lactiques : nutrition azotée, virulence, turn-over protéique, activation et dégradation des protéines.

La machinerie protéolytique est constituée d'un ensemble d'enzymes qui se divisent en deux groupes :

Les protéases (qui hydrolysent des protéines) et **les peptidases** (qui hydrolysent des peptides). Elles peuvent être classées selon trois critères différents :

- A) La nature de leur site catalytique,
- B) la spécificité du clivage et
- C) leur besoin en ATP (adénosine triphosphate) (Lopez, 2008).

Le système protéolytique joue un rôle clé dans la fermentation du lait et permet l'obtention des acides aminés à partir des caséines, les protéines les plus abondantes dans le lait (Moussaoui, 2013).

Synthèse bibliographique

En comparant l'activité protéolytique des LAB à celle des autres genres bactériens comme *Bacillus* ou *Pseudomonas*, elle reste faible (Giraffa, 2003).

a. Protéases de la paroi (protéolyse extracellulaire)

Le départ de la protéolyse chez les souches starters commence par l'action des CEP_s qui sont des enzymes à serine, elles se lient de manière covalente à la paroi et hydrolyse les caséines en oligopeptides qui peuvent ensuite être transportés à l'intérieur de la bactérie (Hassaine, 2013).

Certaines souches de bactéries lactiques ne possèdent pas des protéases de la paroi et sont dépendantes alors de l'action de la protéase présente chez les autres souches pour se développer dans le lait (Savijoki et al., 2006).

Cinq types des protéases de la paroi de la même famille mais présentent certaines différences ont été clonées et caractérisées à partir des LAB. Il s'agit de :

- Prt P de *Lc. lactis* et *Lb. paracasei*,
- Prt H de *Lb. helveticus*
- Prt R de *Lb. rhamnosus*,
- Prt S de *S. thermophilus*
- et Prt B de *Lb. bulgaricus* (Paster et al., 2003).

Les CEPs des LAB sont synthétisées comme pré- protéines d'environ 200 résidus. Elles sont composées de plusieurs domaines fonctionnels distincts : les domaines correspondent au peptide signal (PP), un domaine catalytique des protéases à sérine (PR), un domaine d'insert (I) qui régule probablement leur spécificité, le domaine (A) de fonction inconnue, le domaine B participant probablement à la stabilité, les domaines hélix (H) qui positionne (A) et (B) à l'extérieur de la cellule et un domaine hydrophobe (W) (Hassaine, 2013).

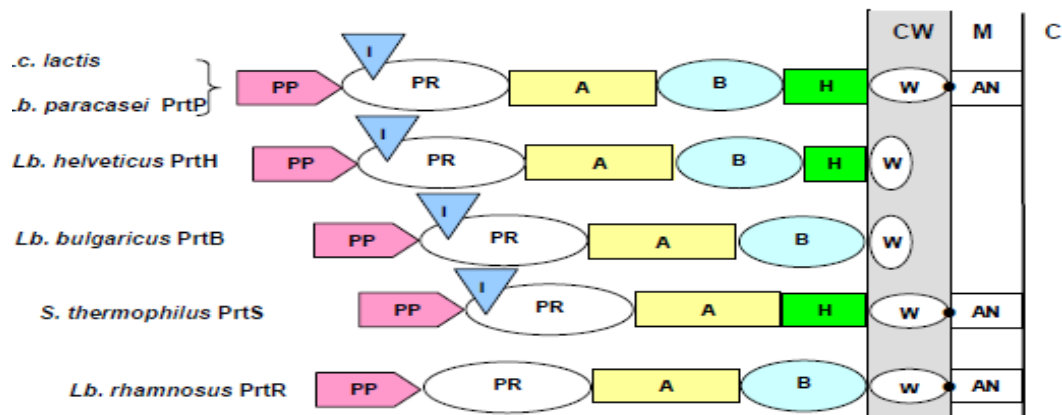


Fig. 1. Représentation schématique des protéases de paroi de différentes bactéries lactiques selon le modèle proposé par Siezien (1999) et Savijoki et al. (2006). CW : paroi cellulaire, M : membrane cytoplasmique, C : cytoplasme.

b. Peptidases

Les oligopeptides produits par l'action de la protéase constituent la source principale d'acides aminés. Ils sont transportés à l'intérieur de la cellule par trois ou quatre transporteurs selon la souche. Ils appartiennent à deux grands groupes : les PRT (peptide transport) et les ABC (ATP-binding-cassette) transporteurs.

Ces transporteurs se distinguent par leur organisation et leur spécificité (Lopez, 2008).

Sous l'action des peptidases spécifiques, les peptides internalisés sont hydrolysés en acides aminés selon les besoins optimaux des bactéries lactiques, on distingue :

- **Les amino-peptidases générales** comme PepC et PepN qui libèrent des acides aminés de l'extrémité N-terminale d'une grande quantité d'oligopeptides.

- **Les amino-peptidases PepVet PepT** ont aussi des spécificités de séquences très larges et hydrolysent des di- et tri-peptides, respectivement.

- **L'endo-peptidase PepO, ou encore PepF** qui hydrolyse des oligopeptides d'une certaine taille.

Certaines peptidases hydrolysent spécifiquement certaines séquences, ainsi par exemple PepX et PepQ sont spécialisées dans l'hydrolyse des peptides contenant la proline, très abondante dans les caséines (Hassaine, 2013).

Les bactéries lactiques répondent à la quantité d'azote disponible en régulant leur système protéolytique notamment chez les bactéries qui sont capables de se développer dans le lait.

Elles provoquent une augmentation des protéines solubles dans le milieu et l'apparition des peptides et d'acides aminés qui stimulent leur croissance. Outre la nutrition azotée, l'activité protéolytique participe au développement de la texture et de la flaveur des fromages lors de l'affinage par libération d'acides aminés qui servent comme précurseurs des composés aromatiques (Desmazeaud, 1998 ; Savijoki et *al.*, 2006).

2.2. L'activité aromatisante

Les bactéries lactiques peuvent produire de nombreux composés aromatiques tels que : l'a-acétolactate, l'acétaldéhyde, le diacétyle, l'acétoïne, le 2-3 butanediol, l'éthanol, l'acétate, le formiate...etc. (Latreche, 2016).

Les molécules aromatiques issues du catabolisme des acides aminés sont regroupées en fonction de leur nature chimique en cinq groupes de molécules : les aldéhydes, les alcools, les acides, les thiols et leurs dérivés et les autres composés divers (Corrieu et François, 2005).

On peut noter que ces molécules sont en grande partie dérivées des acides aminés aromatiques, en particulier de la phénylalanine, des acides aminés ramifiés (leucine, isoleucine, valine) et de la méthionine (Drider et Prevost ; 2009).

La plupart de ces molécules ont été identifiées comme composés d'arôme majeurs dans différents types de fromages tels que le cheddar, le camembert ou l'emmental (Christensen et Reineccius, 1995 ; Kubickova et Grosch, 1997 ; Milo et Reineccius, 1997 ; Preininger et Cottenceau, 1999), et ont été mises en évidence dans la plupart des fromages (Sablé et Cottenceau, 1999)

Pette et Lokema (1950) ont été les premiers à suggérer que l'acétaldéhyde serait le composé aromatique principal de yoghourt, leur production est d'une grande importance et variable chez les bactéries lactiques.

Certaines d'entre elles participent également à l'arôme d'autres produits fermentés tels que le vin, la bière ou le saucisson (Berdagué et *al.*, 1993).

Généralement les molécules aromatiques ont plutôt un effet bénéfique sur l'arôme des produits mais plusieurs d'entre elles ont également été associées à des défauts d'arôme lorsqu'elles sont produites en trop grande quantité (Dunn et Lindsay, 1985 ; Milo et Reineccuis, 1997 ; Mestres et *al*, 2002).

Les seuils de perception de toutes ces molécules sont généralement bas, de l'ordre de ppm, ce qui explique leur fort impact sur l'arôme final des produits même s'ils ne sont pas en grande quantité.

En pratique, certains composés d'arôme importants, tel que le diacétyle et l'acétaldéhyde, sont dosés par chromatographie en phase gazeuse après incubation dans un milieu standardisé (Xanthopoulos et *al*, 1994).

2.3. Activité lipolytique

Les activités lipolytiques jouent un rôle important dans la formation des substances aromatiques des produits transformés, bien que parfois, elles soient à l'origine d'altérations.

Cette activité est relativement faible chez les ferments lactiques, l'activité lipasique contribue à l'élaboration de la flaveur dans les produits laitiers particulièrement dans la maturation des fromages (Diane, 2006 ; Mahamedi, 2015).

La formation d'acides gras libres par lipolyse du lait et en outre la conversion des produits d'acides gras libres à méthylcétones et thioesters par les activités de lipase et d'estérase peut affecter directement la saveur globale des produits alimentaires (Idder, 2014)

Selon Giraffa (2003), les estérases peuvent être classées arbitrairement comme les enzymes qui hydrolysent des substrats dans les solutions, tandis que les lipases hydrolysent des substrats dans des émulsions.

L'addition des lipases exogènes augmente significativement et rapidement la concentration en acides gras libres des produits fermentés, réduisant de ce fait la durée de leur maturation mais sans en améliorer systématiquement leur saveur (Zalacain et *al*, 1996).

La plupart des souches lactiques ont de faibles activités lipolytiques et ont de très faibles activités estérolytiques, mais dans les fromages avec de longs temps de maturation, elles

peuvent produire des acides et esters gras libres pour modifier les saveurs (Broadbent et Steele, 2005).

2.4. Activité acidifiante

La fonction acidifiante constitue la propriété métabolique la plus recherchée chez les bactéries utilisées dans l'industrie alimentaire. Elle est étroitement associée à la croissance bactérienne après accumulation progressive d'acide lactique qui est produit à partir du lactose (Corrieu G, 2005).

L'acide lactique est l'acide qui déstabilise les micelles des caséines et induit ainsi la formation du gel résultant de la coagulation des produits du lait suite à la diminution du pH (Ozen, 1992).

L'acidité d'un produit laitier est le plus souvent exprimée en degrés dornic (0.1g acide lactique par 1g de lait), comme elle peut également être exprimée en valeur de pH (Corrieu G, 2005).

Les conséquences du phénomène d'acidité chez les bactéries lactiques d'ordre physicochimique et microbiologique peuvent se résumer ainsi :

- L'accumulation de l'acide lactique participe à la saveur des aliments fermentés.
- L'abaissement progressif du pH du milieu de culture et des matrices alimentaires.
- La limitation des risques de développement des flores pathogènes et d'altération dans les produits finaux.
- La déstabilisation des micelles des caséines et coagulation du lait.

2.5. Activité texturante

Les exopolysaccharides sont des macromolécules hautement diversifiées dont les propriétés fonctionnelles sont exploitées dans plusieurs domaines industriels. Ils peuvent être localisés à l'intérieur de la cellule, dans la paroi, ou à la surface bactérienne, avec ou sans attachement. Généralement le terme EPS réfère à tous les polysaccharides excrétés à l'extérieur de la cellule bactérienne et relâchés dans le milieu.

Les EPS sont supposés avoir un rôle dans la protection de la cellule bactérienne contre les conditions physiques, chimiques et biologiques de leur environnement. Ils sont impliqués à la fois dans la sensibilité (Clarke et al, 2000 ; Hanafling et al, 1996 ; Scholl et

al, 2001) et la résistance aux bactériophages (Forde et Fritzerald ,1999 ; Looijesteijin et *al*,2001) la prédation, ainsi que les limitations du pH et des

Nutriments et la résistance au stress (osmotique, oxydatif). Les capsules des EPS permettant aux bactéries d'éviter la phagocytose en masquant les composantes de surface qui peuvent induire les mécanismes de défense de l'hôte (Leid et *al* ,2005)

Les EPS sont constituées de longues chaînes d'unités répétitives de sucres simples et/ou de dérivés de glucides plus ou moins ramifiés (Ruas-Madiedo *et al*, 2002). Les EPS ont l'avantage d'être «naturels», requises en faibles concentrations et ne peuvent remplacer les agents stabilisants par leurs propriétés de modifier positivement la texture, la viscosité et la sensation en bouche des laits fermentés (Marshall et Rawson, 1999).

Ils peuvent alors servir d'émulsifiants ou d'agents gélifiants (Welman et *al*, 2003). La plupart des bactéries lactiques synthétisent les polysaccharides. Généralement, chez les bactéries thermophiles, la production d'EPS est associée à la croissance bactérienne (Petry et *al.*, 2003).

- Nature des EPS produits par les bactéries lactiques

Grace à l'amélioration des techniques de purification, il désormais établi que les exopolymères produits par les bactéries lactiques sont constitués de résidus monosaccharides liés par des liaisons glycosidiques α et β (Cerning et *al*, 1986 ; Cerning, 1988 ; Nakajima et *al*, 1990)

Les longues chaines de résidus saccharidiques constituant les EPS des bactéries lactiques présentent des masses moléculaires moyennes allant de 1×10^4 à 6×10^6 Da.

Les EPS peuvent être classés en fonction de leur composition chimique : en homo-polysaccharides et hétéro-polysaccharides (Georges et *al.*, 2008).

Les homo-polysaccharides

Les homo-polysaccharides sont des longues chaines saccharidiques composées d'un seul type de monomère, le glucose, le fructose ou le galactose. Selon les liaisons glycosidiques présentes, ces EPS ont été classés en différentes familles : les α -D-glucanes, les β -D-glucanes, les fructanes et les polygalactanes.

Tab. 1. Homopolysaccharides produits par les bactéries lactiques.

Homopolysaccharides	Structure du polymère	Espèces bactériennes	Références
α -D-glucanes	α - D-Glcp (1-6) α - D-Glcp (1-3) α - D-Glcp (1-3)(1-6)	<i>Ln. mesenteroides</i> <i>Lb. Spp.G-77</i> <i>Lb. reuteri</i>	(Duenas-chasco et al,1998 ;Monchois et al, 1997 ;Geel-schutten et al, 1999)
β -D-glucanes	β - D-Glcp (1-3)	<i>Pediococcus</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Spp.G-77</i>	(Duenas-chasco et al, 1998 ;Llauberes et al.,1990)
Fructose	β –D-Frup (2-6) β –D-Frup (2-1)	<i>Lactobacillus reuteri</i> <i>Lactobacillus sanfranciscensis</i>	(Korakli et al, 2002 ; Geel-schutten et al , 1999)
Polygalactane	α - D-Galp/ β - D-Galp*	<i>Lactococcus Lactis</i>	(Gruter et al, 1992)

Les hétéro-polysaccharides

La production des hétéro-polysaccharides est beaucoup plus répandue chez les bactéries lactiques du domaine agroalimentaire, les hétéro-polysaccharides sont des chaines saccharidiques qui correspondent à des polymères d'oligosaccharides avec des combinaisons de 3 à 8 saccharides (Broadbent et al., 2003 ; Laws et Marshall, 2001) de différents types de monomères: glucose, galactose, rhamnose, fructose, arabinose, mannose et les galactosamines (Cerning, 1990 ; Van den Berg et al.,1995 ; De Vuyst et Degeest, 1999 ; Ceming et Marshall, 1999).

Les hétéro-polysaccharides sont synthétisés dans la cellule au niveau de la membrane cytoplasmique par l'intermédiaire des précurseurs nucléotidiques.

Grace aux techniques de spectroscopie RMN (résonance magnétique nucléaire), ce sont aujourd'hui plus d'une trentaine de structures d'hétéro-polysaccharides qui ont été déterminées au niveau moléculaire (Broadbent et al., 2003 ; laws et Marshall, 2001).

Matériels et méthodes

1. Matériels

1.1. Appareillage

- Etuve (BINDER)
- Autoclave (MEMMERT)
- Balance de paillasse(KERN)
- pH mètre (HANNA instruments « pH 211 microprocessor pH mètre »)
- Bec bunsen.
- Bain marie (MEMMERT).
- Agitateur + plaque chauffante (STUART)

1.2. Verrerie

- Boîtes de pétri
- Tubes à essai
- Pipette Pasteur
- Eprouvettes, fioles, bécher, pipettes...

1.3. Produits chimiques

➤ Milieux de culture

Gélose nutritive, gélose hypersaccharosé, agar au tween 20, bouillon MRS, milieu Clark et Lubs (composition voir annexes)

➤ Produits chimiques et réactifs

VP (Voges-Proskauer) I et II, peptone, extrait de viande, extrait de levure, NaCl, K₂HPO₄, MgSO₄, MnSO₄....

1.4. Matériel biologique

Quatorze souches lactiques testées pour leur intérêt technologique proviennent de la collection des souches du laboratoire de Microbiologie appliquée – université Ferhat Abbas- Sétif. Elles ont été isolées après un prélèvement aseptique des chamelles de sud-est Algérien.

2. Méthodes

2.1. Revivification des isolats lactiques

Les souches lactiques conservées dans le milieu MRS qui contient 30 % de glycérol à -20°C sont réactivées par transfert aseptique d'une boucle de la culture bactérienne vers des tubes contenant le bouillon MRS stérile et qui sont incubés à 30°C pendant 18 à 24h. L'apparition du trouble indique la croissance de l'isolat qui sera utilisé dans les prochains tests.

2.2. Activité protéolytique des bactéries lactiques

L'activité protéolytique des bactéries est mise en évidence sur un milieu solide riche. Pour cela la gélose nutritive additionnée de 10% du lait écrémé a été utilisée (Van Den Berg *et al.*, 1995).

Des aliquots (2µl) de cultures bactériennes ont été déposés sur la surface sèche des boîtes de Pétri contenant la gélose au lait. Après incubation à 37°C pendant (24 -48 h), l'activité protéolytique de ces isolats se manifeste par l'apparition d'un halo clair autour des colonies.

$$\text{Le diamètre de la zone de lyse} = \text{diamètre de halo} - \text{le diamètre de centre}$$

2.3. Production d'acétoïne (arômes)

Le pouvoir aromatisant des souches lactiques a été mis en évidence sur le milieu de culture Clark et Lubs. Chaque isolat a été inoculé sur 5 ml de ce milieu puis incubé à 30°C pendant 24h. On transfère 1 ml de chaque culture bactérienne vers un tube à hémolyse et on ajoute 0.5 ml de VPI et 0.5 ml de VPII. Après une agitation vigoureuse et incubation à 30°C pendant 10 min la présence d'un anneau rouge indique la présence d'acétoïne (Moulay *et al.*, 2013)

2.4. Activité acidifiante

L'activité acidifiante des souches lactiques a été suivie par mesure des changements de pH en fonction du temps. 10 ml du lait écrémé à 0% de matière grasse stérile (UHT) a été inoculé par 200µl de chaque culture bactérienne et incubé à 35°C. Le pH du lait a été

mesuré dès l'ensemencement 0h, après 2, 4 et 6h en utilisant un pH mètre. Le taux d'acidification a été exprimé en ΔpH (Ayad et *al.*,2004).

2.5. Activité lipolytique

Le pouvoir lipolytique des 14 souches lactiques a été testé sur un milieu solide additionné de 1% de tween 20 (composition voir annexes).

Des aliquots (2 μl) de chaque souche lactique ont été déposés sur la gélose sèche. Après incubation de (24-48h) à 30°C, la lipolyse est révélée par une zone claire autour de la colonie.

2.6. Production des exopolysaccharides

La détection des exopolysaccharides produites par les souches lactiques a été testée après ensemencement en stries sur la gélose hypersaccharosé (composition voir annexes) déjà coulée et solidifiée. Après incubation à 30°C pendant 24h, la production des exopolysaccharides se manifeste par l'apparition des colonies larges et gluantes (Hadeif, 2012).

Analyse statistique des résultats

Les résultats obtenus des tests réalisés sont exprimés en moyennes $\pm$ sd de trois répétitions et traités par l'analyse de variance (Annova). Le seuil de signification de 0.05 est retenu.

Résultats et discussion

Résultats et discussion

1. Activité protéolytique

L'activité protéolytique des souches a été recherchée sur milieu gélose additionnée à 10% de lait écrémé. après incubation à 37°C pendant 48 h, cette activité est détectable par l'apparition d'un halo clair autour des spots.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau et illustrés dans la figure n°02.

Tab 2. Résultats de l'activité protéolytique des LAB.

Souche	Protéolyse
BR12	7.66 ^a ±0.57
BR17	10.00 ^a ±1
BR18	9.00 ^a ±3
BR20	10.00 ^a ±00
BR21	10.00 ^a ±2
BR23	7.33 ^a ±0.57
BS18	7.66 ^a ±0.57
BS20	8.00 ^a ±00
MR1	10.00 ^a ±3
MR11	6.00 ^a ±1
MR15	11.33 ^a ±5.50
MR3	8.33 ^a ±0.57
MR9	10.00 ^a ±4
MS14	7.66 ^a ±0.57

Les valeurs représentent la moyenne des trois essais ± sd

^a: les moyennes avec la même lettre ne sont pas significativement différentes (p<0.05) (Anova).

Les souches lactiques testées possèdent une capacité importante à dégrader les caséines trouvées dans le milieu de culture utilisé et présentent une croissance avec une activité protéolytique bien déterminée par la formation d'un halo.

L'analyse de variance des mesures d'activité protéolytique réalisée sur des souches a montré qu'il n'y a pas de différence significative au seuil de 5%. Avec une activité protéolytique dans la gamme de 6.00^a ±1 à 11.33^a ±5.50.

Résultats et discussion

Ces résultats nous permettent de confirmer le caractère protéolytique des bactéries lactiques

Comme il a été rapporté par les travaux de (Shirai *et al.*, 2001 ; François *et al.*, 2007), qui ont montré que les bactéries lactiques sont incapables de synthétiser plusieurs acides aminés, mais grâce à un système protéolytique bactérien complexe, elles sont pourtant bien adaptées à un environnement riche en protéines et pauvre en acides aminés libres comme le lait.

On constate que la souche MR15 représente l'activité la plus élevée 11.33 ± 5.50 par rapport aux autres souches alors qu'elle représente une faible activité acidifiante,

Ainsi que, la souche MR11 possède un pouvoir acidifiant la plus élevée tandis que capacité de protéolyse la plus faible, ces résultats sont en concordance avec ceux obtenus par (Hassain, 2013 ; El Soda *et al.*, 2003) qui ont conclu qu'il n'y a aucune relation entre l'activité protéolytique et l'acidification.

En fin, nos souches isolées de lait de chamelle possèdent un caractère protéolytiques ce qui est en concordance avec les travaux de (Zadi-Karam *et al.* , 2004, Hassain, 2013) développement des propriétés organoleptiques des produits laitiers fermentés (Maamri *et al.*, 2013), car elles affectent à la fois la texture et la flaveur d'où son importance industrielle (Hassaine *et al.*, 2007).

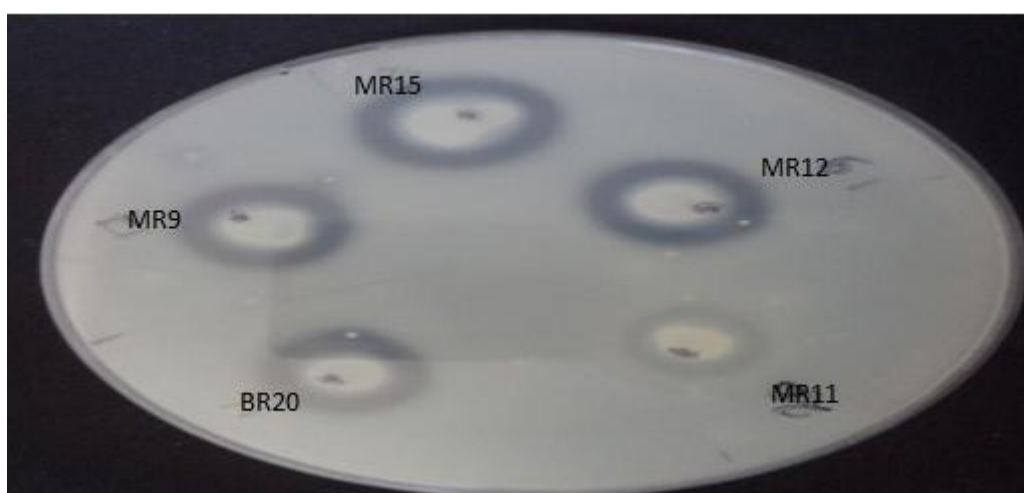


Fig2 : exemple de résultat d'activité protéolytique sur gélose nutritive au lait des souches MR15, MR12, MR9, MR11, BR20.

2. Activité aromatisante

Les bactéries lactiques sont des ferments ayant une capacité de produire à partir de différents substrats de nombreux composés aromatiques qui participent aux qualités organoleptiques des produits fermentés (Cholet 2006).

La production des composés d'arômes est une fonctionnalité technologique importante lors de l'élaboration des produits laitiers fermentés.

Après application du test VP; l'apparition d'un anneau rose ou virage du milieu vers le rose indique une réaction positive. Si le milieu reste jaune, la bactérie est incapable de produire l'acétoïne.

Selon les résultats obtenus, la plupart des souches (64.28%) testées sont aromatisantes avec production d'acétoïne par la voie butylène glycolique.

Les résultats obtenus lors de la réalisation de ce test sont résumés dans tableau (03)

Tab03.Pouvoir aromatisant des isolats lactiques

Souches	VP
MR3	VP+
BR20	VP-
MS14	VP+
BR12	VP+
BS20	VP-
BR21	VP+
MR9	VP+
BR23	VP+
MR1	VP-
BR18	VP+
BS18	VP+
MR15	VP-
MR11	VP+
BR17	VP-

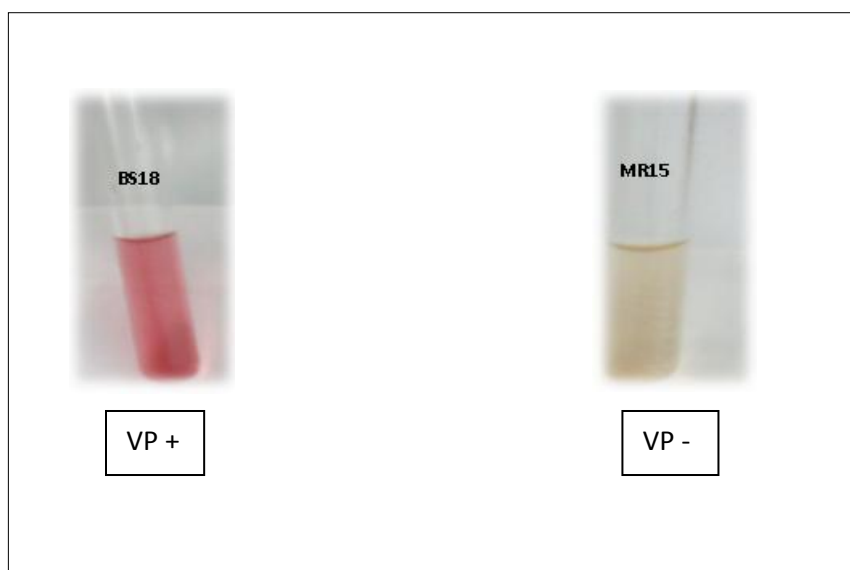


Fig.3Exemples des souches lactiques aromatisantes et non aromatisantes

Nos résultats étaient en coordination avec celles obtenus par (Latreche, 2016) qui a utilisé des bactéries lactiques isolées de beurre cru et aussi (Diane, 2006) où ce dernier a utilisé l'intensité de coloration obtenus lors du test variant de 0 à 3.

Bien qu'une valeur de 3 ait été attribuée à une intensité maximale qui revient dans notre cas à la souche BS18.

Alors selon (Diane, 2006) la production du diacétyle et l'acétoïne observée pourrait être associés à 2 phénomènes ; une activité spécifique plus élevée ou un plus grand nombre de cellules ayant des activités variables.

3. Activité acidifiante

L'activité acidifiante des ferments lactiques est l'un des caractères le plus recherché vu son intérêt technologique laitier, au temps qu'elle est l'une des principales fonctions des LAB.

La capacité acidifiante des bactéries lactiques isolées du lait de chamelle testée sur le lait écrémé a été mesurée par la variation de pH chaque 2h jusqu' à 6h d'incubation. L'évolution de pH en fonction du temps due à la production de l'acide lactique dans le milieu de culture après fermentation de lactose, qui sert à coaguler le lait, en conséquence

Résultats et discussion

le pH bas va rendre le milieu défavorable à la croissance des pathogène d'où l'importance de l'étude de pouvoir acidifiant des souches isolées dont l'intérêt industriel (Mahamedi, 2015)

Les résultats obtenus sont résumés dans illustrés par les figures () après les deux heures premiers d'incubation les valeurs de pH varient entre pH5.98 et pH=6.54.

Après six heures d'incubation les valeurs de pH diminués est se trouve situe entre pH 5.46 et 6.29.

Parmi ces résultats et d'après les courbes la souche MR11 montre l'activité la plus élevée par rapport aux autres, tandis que les souches MR3, MR15 ont montrées une faible diminution de pH au cours de 6h d'incubation, ces résultats ont permet de classer les isolats BR20, BR12, BR21, BR18, BR17, BR23, MR1, MR9, MS14, BS20, BS18 Dans la catégorie moyennement acidifiantes par rapport aux autres souches. on constate clairement que nos bactéries isolées ont un profil d'acidités mais a des niveaux différant, ces résultats sont en concordance avec ceux rapporté par Hassain(2013).

Une différence dans la réduction du pH entre les genres, les espèces et parfois entre les souches de la même espèce a été soulevée par de nombreux auteurs (Alonso-Calleja *et al.*, 2002 ; Luquet et Corrieu, 2005).

Les isolats lactiques extraits de lait de chamelles ont un pouvoir acidifiant plus élevées que ceux extraits du lait cru de chèvre, ces derniers sont prouvé par (Zeroure *et al.*, 2011)

Les souches ayant un profil d'acidification du lait rapide se révèlent comme étant de bonnes candidates pour l'industrie des aliments fermentées, et pourront être utilisées comme cultures starters. De la même manière, les souches ayant montre un pouvoir d'acidification faible sont utilisées, mais en cultures mixtes, pour d'autres propriétés importantes, par exemple l'activité protéolytique (Hassain, 2013).

Résultats et discussion

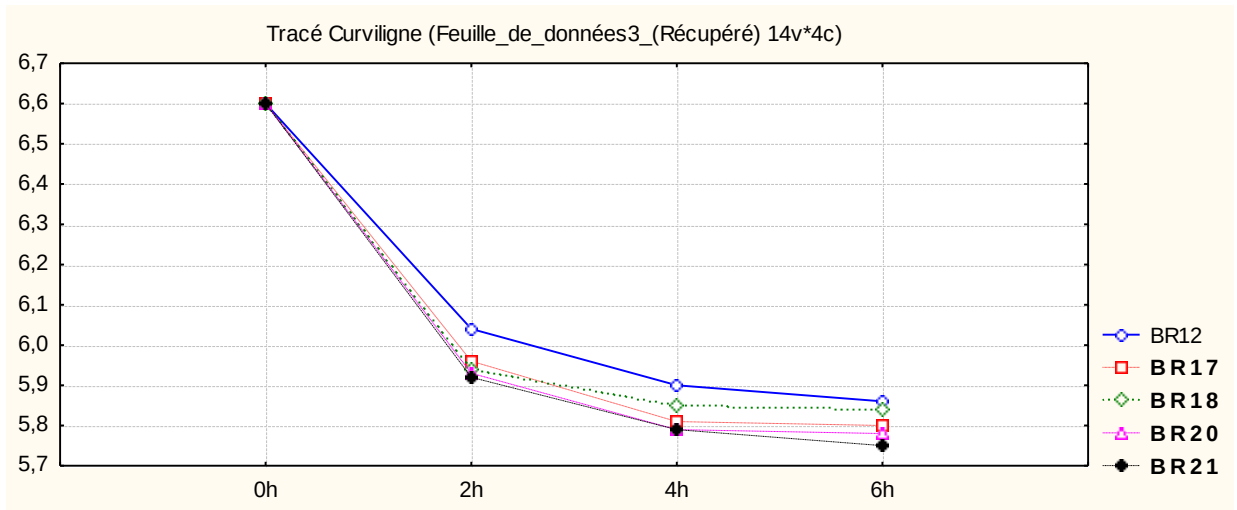


Fig4. Résultats de l'évaluation de pH des souches: BR12, BR17, BR 18, BR20, BR2

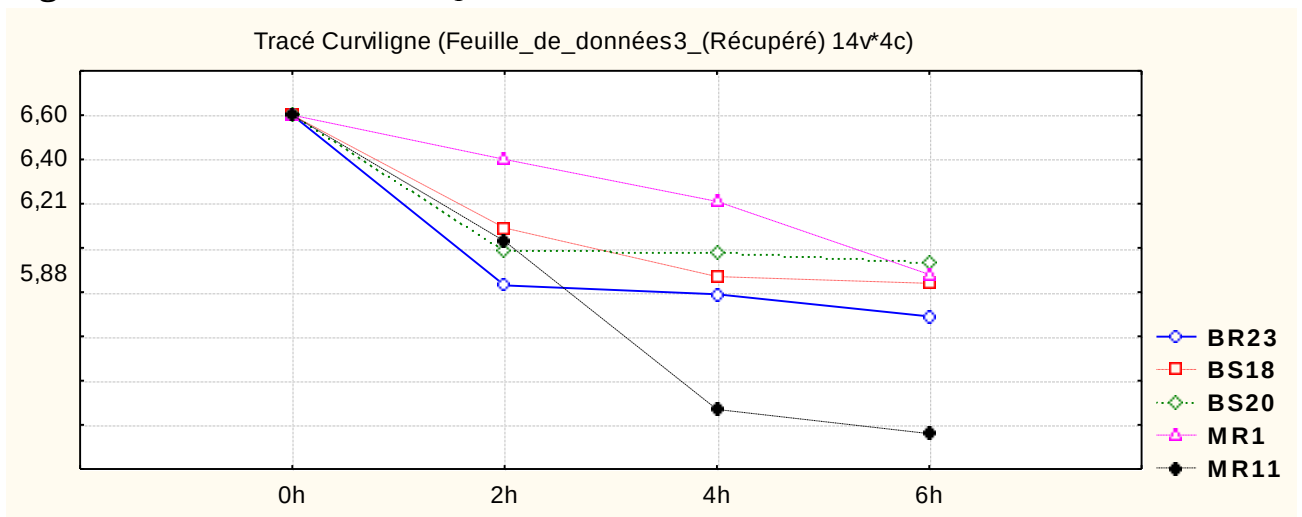


Fig5. Résultats de l'évaluation de pH des souches : BR23, BS18, BS20, MR1, MR11.

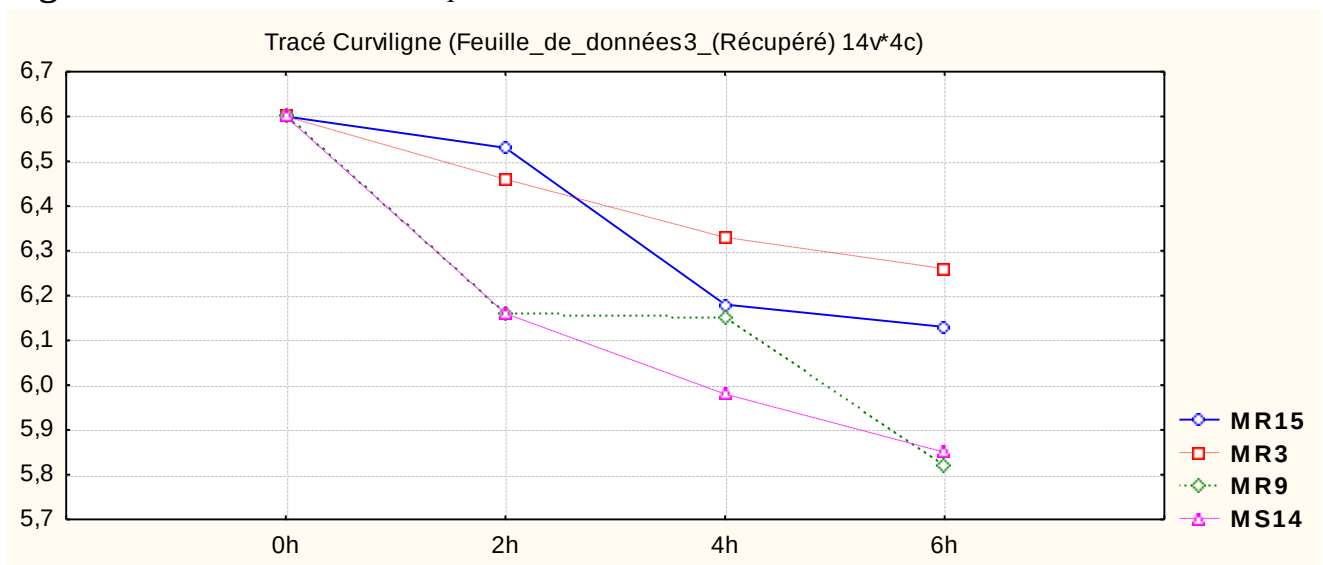


Fig6. Résultats de l'évaluation de pH des souches : MR15, MR3, MR9, MS14.

4. Activité lipolytique

Le milieu Agar au tween 20 qui est une huile artificielle a été utilisé afin de détecter le pouvoir lipolytique des isolats lactiques. Après ensemencement et incubation des boîtes, aucune souche n'a pu la dégrader.

En se référant aux résultats citées par (Mehamedi, 2015) et (Hansal, 2015) les souches partagent la propriété de ne pas avoir un pouvoir lipolytique remarquable.

Alors la lipolyse est relativement absente chez nos ferments lactiques.

Aussi pour (Belkhir et al, 2012) qui ont montré que l'activité lipolytique en milieu additionné des substrats lipidiques comme le tween était absente chez les *leucnostonc mesenteroides* Ssp isolées de lait de cru de chèvre et les *leucnostonc* isolées de lait de chamelle de Bechar par (Zadi-Karam, 2011).

5. Pouvoir texturant

Les résultats de production des exo-polysaccharides par les isolats lactiques sont illustrés dans le tableau ci-dessous(4) :

Tab. (4) Production des exopolysaccharides par les bactéries lactiques

Espèce	Observation	Evaluation du test
BS20	Colonies larges et gluantes	+
MR3	Colonies larges et gluantes	+
BR21	Colonies larges et gluantes	+
BR17	Colonies larges et gluantes	+
MR9	Colonies normales	-
MR1	Colonies larges et gluantes	+
BR18	Colonies larges et gluantes	+
BS18	Colonies larges et gluantes	+
MR15	Colonies normales	-
BR23	Colonies larges et gluantes	+
MS14	Colonies normales	-
BR20	Colonies larges et gluantes	+
BR12	Colonies larges et gluantes	+

Résultats et discussion

MR11	Colonies larges et gluantes	+
------	-----------------------------	---

Les résultats du test ont montré que toutes les souches étudiées à l'exception de MR9, MR15 et MS14 sont capables de se développer sur le milieu hypersaccharosé en formant des colonies larges et gluantes ce qui traduit leur capacité de produire les exopolysaccharides (fig.4).



Fig04. Aspect des colonies sur milieu hypersaccharosé

Le phénomène le plus favorable à des nombreux processus industriels alimentaires est la production des EPS par les bactéries lactiques (Walling et *al*, 2001).

La capacité des bactéries lactiques à synthétiser des exopolysaccharides (EPS) joue un rôle important pour les produits transformés, ceci afin d'améliorer la texture, éviter la synérèse et augmenter la viscosité des produits finis (Cerning, 1990).

Selon de nombreux auteurs, la production d'EPS dépend, principalement, de la souche, du taux de croissance, de la température d'incubation, du milieu de culture, de la vitesse d'acidification, du pH et de la quantité d'oxygène requis dans le milieu de culture (Latreche, 2016)

Conclusion et perspectives

Les bactéries lactiques sont parmi les bactéries à Gram-positif les plus étudiées, en particulier à cause de leur importance dans l'industrie agro-alimentaire, elles colonisent de nombreux produits alimentaires comme les produits laitiers, la viande, les végétaux, céréales...etc.

Les bactéries lactiques, en raison de leurs transformations principales de source de carbone lui confèrent leurs caractères nutritionnels, thérapeutiques et éventuellement technologiques. « Activité protéolytique », « activité lipolytique », « pouvoir acidifiant », « pouvoir aromatisant », « aptitude texturante ».

Le but de notre étude est de mettre en place une collection de souches lactiques extraite de lait de chamelle ayant des potentiels technologiques pour un usage industriel. Le travail a été réalisé sur 14 isolats, nous nous sommes intéressés spécialement à leurs « activité protéolytique », « activité lipolytique », « pouvoir acidifiant », « pouvoir aromatisant », « aptitude texturante ».

L'évaluation de ces aptitudes a mis en évidence l'existence de bonnes fonctionnalités technologiques chez les isolats testés. Cependant, ces pouvoirs varient selon le genre et l'espèce de la souche, même au sein d'une même espèce, qui lui confèrent les propriétés organoleptiques et rhéologiques particulières aux produits laitiers fermentés.

Ceci nous permet de conclure que nos souches testées peuvent être utilisées comme starter dans les fermentations industrielles dont le but est de produire des composés aromatiques, EPS, pour une protéolyse et dans la coagulation par leurs aptitudes de diminuer le pH de milieu.

Les résultats de notre recherche assez intéressants ouvrent de nouvelles perspectives, Donc pour compléter ce travail sur la flore lactique de lait dromadaire :

- Faire une étude sur le pouvoir antioxydant des souches.
- Il serait intéressant de tester la résistance des LAB aux antibiotiques et au bactériophage.
- Evaluation du pouvoir antimicrobien de nos isolats.
- Dosage des activités qui ont déjà été testées.

- Caractérisation de comportement des souches lors de conservation, congélation des produits finals.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Ababsa, A. (2012). Recherche de bactériocines produites par les bactéries lactiques du lait. mémoire de magister en génie microbiologie, université Ferhat Abbas Setif.
- Ait abdelouahab N. (2001). Microbiologie alimentaire. Office des Publications Universitaires. Ed N°1.04.4362.Université de Constantine. Algérie.
- Ayad E, Nashat S, El-Sedek N, Metwaly H, El-Soda M (2004). Selection of wild lactic acid bacteria isolated from traditional Egyptian dairy products according to production and technological criteria. *Food Microbiol.*, **21**: 15-725.
- 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». *Sci. Technol*, **23**: 30-37.
- Baliarda, A. (2003). Evaluation de la Réponse au stress chez les bactéries Lactiques appartenant aux genres *Pediococcus* et *tetragenococcus* approches physiques et génétiques. Thèse de doctorat, université Bordeaux, 394p
- Bouadjaib,S.(2013). Etude physico-chimique du produit laitier traditionnel du sud algérien « Jben ».Recherche du pouvoir antimicrobien des Bactéries Lactiques.
- Boumedienne, K. (2012). Recherche des bactéries lactiques productrices des bactériocines et l'étude de leur effet sur des bactéries néfastes. Thèse de Magister. Université de Tlemcen, 80p.
- Broadbent JR,McMahon DJ, Welker DL, Oberg CJ, Moineau S (2003). Biochemistry, genetics, and applications of exopolysaccharides production in streptococcus thermophilus: a review.*J Dairy Sci*,86:407-423.
- Broadbent,J., Steele J. Cheese flavour and the genomics of lactic acid bacteria. *ASM News*, 2005, v.71, p.121-128 .
- Casaburi, A., Di Monaco, R., Cavella, S., Toldra, 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** : 335-347
- Cerning J, Bouillance C, Desmazeaud MJ, Landon M (1986).Isolation and characterization of exocellular polysaccharide produced by *Lactobacillus bulgaricus*. *Biotechnol Lett*, 8:625-628.
- Cerning, J. (1990). Exocellular polysaccharide produced by lactic acid bacteria. *Microbiol. Rev*, **87**:113-130.

Références bibliographiques

- Cerning, J., and Marshall, V.M. (1999). Exopolysaccharides produced by the dairy lactic acid Bacteria. *Recent Res. Devel. Microbiol*, **3**:195-209
- Cholet, O. (2006). Etude de l'écosystème fromager par une approche biochimique et doctorale abies : umr de génie et microbiologie des procédés alimentaires inra, in a fermented milk relevant to their technological performance as starters cultures. *Biotechnol.*
- Clarke BR., Esumeh F., Roberts IS. (2000). *Journal of bacteriology*, **182**:3761-3766.
- Corrieu, G. f.-M. L. (2005). les bactéries lactiques et probiotiques. 11 rue lovoisier f_75008 Paris : Tec et DOC :26-28.
- Corriu, G, F. L. (2008). bactries lactiques de la génétiques aux ferments. 11 rue lovoisier : Tec et DOC 320:271-543
- Giraffa, (2003) G. Functionality of enterococci in dairy products. *Int.J.Food Microbiol*, **88**: 215–222.
- Desmazeaud, M. (1996). Les bactéries lactiques dans : L'alimentation humaines :utilisation et innocuité. *Cahiers Agricultures*, 5, pp: 331-343.
- De Vuyst, L., Degeest B., 1999. Heteropolysaccharides From lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol. Rel'*. 23 : 153 -1 77.
- Diane, G. (2006). Formulation et propagation de ferments Lactiques mésophiles à haut caractère aromatique. Université Laval QUEBEC.
- François, Z.N. N., Florance F.A., Paul M.F., Felicitet, M., El soda, M. (2007). Biochemical properties of some thermophilic lactic acid bacteria strains from traditional.
- Forde, A., Fitzgerald, G.F. (1999). *international Dairy journal*, **9**:465-472.
- Guiraud, J.P. (2003). *Microbiologie Alimentaire*. Tec et Doc ,Dunod. Paris .
- Guiraud, P, Rosec, P. (2004). *Pratique des normes en microbiologie alimentaire*. Ed, Afnor. p:238-241.
- Hadeif, S. (2012). Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales. Thèse de magister. Université Ouargla, 135p
- Hassaïne, O. (2013). Caractéristiques d'intérêts technologiques de souches de bactéries lactiques isolées de lait camelin du sud Algérie. Thèse de doctorat. Université d'Oran, 180p.
- Hanfling, P., Shzhdkov, A.S., Ann, B., Jann, K (1996). *Journal of bacteriology*, **178**:4747-
- Hansal, N. (2015). Isolemet, purification , Identification et étude des caractéristiques biotechnologiques de *Leucnostonc mesenteroide* isolé à partir du lait cru de chèvre .Oran

Références bibliographiques

- Idder,Z .(2014). Etude du pouvoir acidifiant des bactéries Lactiques appartenant au genre *Leucnoscoc*.
- König, H., Fröhlich, J. (2009). *Biology of microorganisms on grapes in must and in wine*. Springer-Verlag. Berlin Heidelberg.
- Latreche, B. (2016).Caractérisation des bactéries lactiques isolées du beurre cru, évaluation de leurs aptitudes technologiques et leur utilisation dans la fabrication de la crème sure, mémoire de magister, université de Constantine.
- Laws AP, Marshall VM (2001). The relevance of exopolysaccharides to the rheological properties in milk fermented withropy strains of lactic acid bacteria. *Int Dairy J*,11:709-721.
- Leid, J.G *et al* (2005).*Journal of Immunology*, **175**:7512-7518.
- Lopez Liliana Kleine,2008. Détermination du rôle de certaine peptidase Bactériennes par inférence a partir de données hétérogène et incomplètes. Thèse De Doctorat, L’Institut Des Sciences Et Industries Du Vivant Et De l’Environnement(Agro Paris Tech).
- Looijesteijn, P *et al*. (2001).*International journal of Food microbiology*, **64**:2147-2151.
- Maamri, H, Mekhloufi, S. (2013). Caractérisation des extraits gastriques coagulants issus de dromadaire non sevré. Thèse de master .université d’Ouargla, 85p.
- Mahamedi, A.E. (2015). Etude des qualités hygiéniques, physico-chimique et microbiologiques des ferments et des beurres traditionnels destinés à la consommation dans différentes régions d’Algérie. Thèse de magister. Université d’Oran, 137p.
- Moussaoui, H. (2013). Protéolyse et autolyse de souches de lactobacilles d’origine laitière, l’étude de leur aptitude à hydrolyser les caséines et les protéines de poisson. Thèse de magister. Université d’Oran, 118p.
- Marshall, V.M, Rawson, H.L (1999).Effects of exopolysaccharides-producing strains of thermophilic lactic acid bacteria on the texture of stirred yogurt. *Int Food Sci Technol*, **34**:137-143.
- Mozzi F., Raya R. R., Vignolo G.M. (2010). *Biotechnology of lactic acid bacteria: Novel applications*. Blackwell publishing. Singapore. p 3-73.
- Nakajima, H, Toyoda, S, Toba, T, Itoh, T, Mukai, T, Kitazawa, H, Adachi, S. (1990). A novel phosphopolysaccharide from slime-forming *Lactococcus lactis* subspecies *cremoris* SBT 0495. *J Dairy Science*, **73**:1472-1477.

Références bibliographiques

- Ozen, M, O. (1992). effets of substrat concentration on growth and lactic acid procuction pymired cultures of lactobacillus bulgarius and streptococcus,thermophilus.J. chem technol biotechnol;54(1):57-61.
- Pastar,I., Tonic ,I., Golic, N., Kojic, M., Van Kranenburg, R., Kleere Bezem, M.,Topisirovic, L.,Jovanovic, G. 2003. Identification And Genetic Characterization Of Anovvel Proteinase, Prtr, From The Human Isolate Lactobacillus Rhumnosus BGTIO.Appl. Environ.Microbiol.69: 5802-5811.
- Pette J, lokema. H. (1950). yaghurt,III,acide production and aroma formation in yaghurt . netherland milk and dairy jurnal,4:261,274.
- Petry, S., Furlana, S., Waghornec, E., Saulnierd, L., Cerning, J., Maguin, E. (2003). Comparison of the thickening properties of four Lactobacillus delbrueckii subsp.bulgaricus strains and physicochemical characterization of their exopolysaccharides. FEMS Microbiol Letter, vol, 221. p. 285-291
- Pringsulaka, O., Thogngam, N., Suwannasai, N., Atthakor, W., Pothivejkul, K., Rangsiruji, A. (2011). Partial characterization of bacteriocins produced by lactic acid bacteria isolated from Thai fermented meat and fish products. *Food Control*, **23**: 547-551.
- Ruas-Madiedo, P., Hugenholtz, J., Zoon, P. (2002). An overview f the functionality Of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. International Dairy J. vol. 12. n°2-3, p.163-171.
- Salminen, S., wright, A, ., Ouwehand, A. (2004). Lactic acid bacteria. microbiological and functionalaspects. Marcel Dekker. Inc., U.S.A.
- Savijokie K., Ingmer, H. Varmanen, P, (2006). Proteolytic systems of lactic acid bacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **71** : 394-406.
- Scholl, D., Rogers, S., Adhya, S., Merril, C.R. (2001).Journal of virology, **75**:2509-2515.
- Shirai, K., Guerrero, I., Huerta, S., Saucedo, G., Castillo, A.O., Gonzalez, vol.6, n°1, p. 14-21.
- Van den Berg , D. J. c., Robijn ,G. W., Janssen , A. c., Giuseppin, M. L. F., Vreeker, R.,Kamerling, J. P., Vliegenthart, J. F. G., Ledeboer A. M. andVerrips ,C. T .(1995).

Références bibliographiques

Production of a novel extracellular polysaccharide by *Lactobacillus sake* 0-1 and characterization of the polysaccharide. *Appl. Environ. Microbiol*, **61**:2840-2844.

- Welman, A.D., Maddox, I. S. (2003). Exopolysaccharides from lactic acid bacteria Perspectives and challenges. *Trends in Biotechnology*. Vol, **21**: p. 269-274.

-Walling e.g., Indreau e. et lonvaud-funel a..(2001). la biosynthèse d'exopolysaccharides par des souches de *pediococcus damnosus* isolées du vin : mise au point de d'outils moléculaires de détection. *inra*. 289-300.

Xanthopoulos V, Bassit, N, Boquien CY ,Corrieu G(1994).Methods for the determination of aroma compounds in dairy products: a comparative study *J Dairy* ,61:289-297

-Zadi-Karam,H, Hassaïne, O, Karam, N.E. (2004). Pouvoir acidifiant et activité protéolytique des souches de *Lactococcus lactis* isolées de lait de chèvres de Timimoun (Sud algérien). *Laboratoire de Biologie des Microorganismes et Biotechnologie, Université d'Oran*.

- Zalacain, I., Zapelena, M.J., Astiasaran, I., Bello, J. (1996). addition of lipase from *candida cylindracea* to a traditional formulation of a dry fermented sausage. *meat science*, **42**: 155-163.

Annexe :

Milieux de culture

- **Annexe 01 : Milieu MRS (Man Rogosa et Sharpe, 1960)**

Extrait de levure	5 g
Extrait de viande.....	10 g
Polypeptone	10 g
Citrate de sodium.....	2 g
Acétate de sodium.....	5 g
Glucose	20 g
KH ₂ PO ₄	2 g
MgSO ₄	0,25g
MnSO ₄	0,05 g
Agar-Agar.....	15 g
Eau distillée	1000 ml
Ph	6.2

Autoclavage 120°C/ 20 minutes

- **Annexe 2 : Milieu Clarck et Lubs**

Composition en g /L en eau distillé

Peptone.....	5g
Glucose.....	5g
K ₂ HPO ₄	5g
PH	7

- **Annexe 3: Milieu hypersaccharosé**

Extrait de viande.....	10g
Extrait de levure.....	3g
Peptone.....	2.5g
Saccharose	150g
K ₂ HPO ₄	2g
NaCl.....	1g
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.2g
Agar.....	15g
Eau distillé.....	1000 ml
Autoclavage 120°C/ 20 minutes	

- **Annexe 4 : Gélose nutritive 1% 5% 10%**

Extrait de levure.....	2
Extrait de viande.....	1
Peptone.....	5
NaCl.....	5
Agar.....	15
Lait écrémé	1% (1ml /100ml) 5% et 10%

- **Annex 5 : Milieu Agar au tween**

MRS.....	51g
----------	-----

Agar.....15g
Tween 20.....3%
Eau distillé.....1000ml

- ***Annexe 6: Figure de la réactivation des souches lactiques***



A

A : avant réactivation



B

B : apparition de trouble
après réactivation

