

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique
Centre Universitaire Belhadj Bouchaib d'Aïn-Témouchent



Institut des Sciences

Département des sciences de la nature et de la vie

Laboratoire de microbiologie de l'institut des sciences du centre universitaire
« Belhadj Bouchaib » à Aïn-Témouchent

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en biologie

Option: Microbiologie appliquée

Présentée par :

Melle Bekar Imen

Melle Dalaa Abir

Contribution a l'étude d'aptitudes technologique des bactéries lactique isolées a partir de lait de chèvre

Encadrant: Mr.Mouaden Riad Maitre assistant "A" à C.U.B.B.A.T.

Soutenu le 29 juin 2019.

Devant le jury composé de :

Président : Mr Benabi Farid	« MCB »	C.U.B.B.A.T.
Examinatrice : Mme. Chibani	« MAB »	C.U.B.B.A.T.
Encadrant : Mr Mouaden Riad	« MAA »	C.U.B.B.A.T.

Le lait occupe une place stratégique dans l'alimentation quotidienne de l'homme, de par ses composants nobles (protéines, glucides, lipides) et sa richesse en vitamines et en minéraux, notamment en calcium alimentaire. De nos jours, le lait joue un rôle essentiel dans la vie des communautés rurales, que ce soit sous sa forme crue ou transformée (Raïb, Lban et Jben). Dans ces produits, la fermentation est spontanée obtenue par la flore lactique naturelle (**Badis et al., 2004**).

Les bactéries lactiques appartiennent à un groupe de bactéries bénéfiques, sont largement impliquées dans la fabrication des produits laitiers fermentés du fait de leurs activités métaboliques particulières (**Labaoui et al., 2005**).

La technologie laitière utilisée dans la fabrication du produit repose essentiellement sur la fermentation avec les bactéries lactiques en particulier les lactobacilles, ces bactéries sont déjà reconnues pour la production des acides organiques qui abaissent le pH des aliments ce qui empêche la prolifération des germes nuisibles. La production de CO₂ par les lactobacilles réduit le potentiel d'oxydoréduction et inhibe les germes aérobies tels que les moisissures (**Desmazeaud, 1992**).

En agroalimentaire, les lactobacilles sont à l'origine des processus de transformation conditionnant la texture et les qualités des produits alimentaires fermentés (lait fermenté, beurre, olive, choucroute, différents types de fromage, dans certains cas de charcuteries et dans l'ensilage) (**Ganzele et al., 2000 ; Delgado et al., 2001 ; Taillez, 2001**).

Cette étude s'inscrit dans l'objectif d'étudier quelques aptitudes technologiques de certaines bactéries lactiques (**Lactobacillus**) isolées à partir de lait cru de chèvre.

Ce manuscrit est structuré en trois chapitres, le premier est consacré à une synthèse bibliographique articulée autour des généralités sur le lait de chèvre et ensemble des connaissances sur les bactéries lactiques et leurs aptitudes technologiques, le second chapitre présente le matériel et les méthodes mis en œuvre dans le cadre de la réalisation de ce travail, les résultats obtenus et leurs discussions sont rassemblés dans le troisième chapitre.

1 . Le lait

1.1 Définition de lait en générale:

Le lait est un liquide biologique comestible généralement de couleur blanchâtre produit par les glandes mammaires. il s'agit d'un fluide aqueux opaque, légèrement bleuté ou plus ou moins jaunâtre selon la teneur en β -carotène, de sa matière grasse, d'une saveur douceâtre et d'un pH (6,6 à 6,8) légèrement acide, proche de la neutralité (Alais , 1984).

1.2 Le lait de chèvre

1.2.1 Définition de lait de chèvre

Le lait est un liquide physiologique complexe sécrété par les mammifères (Mahe., 1996). il est blanc mat due à l'absence de β -carotène (Goursaud, 1985). Le lait de chèvre à un goût légèrement sucré Il est caractérisés par une odeur assez neutre (Zeller, 2005 ; Jouyandah et Abroumand, 2010).

1.2.2 Les races caprines en Algérie

L'espèce *Capra hircus* se présente en Algérie sous la forme d'une mosaïque de populations très variées appartenant toutes à des populations traditionnelles . Elle comprend en plus de ces populations locales, à sang généralement Nubien, des animaux mélangés aux sangs issus de races standardisées. La population caprine d'Algérie renferme quatre types majeurs (Shkolnik et al, 1980).

1.2.2.1 La chèvre Arabe

La plus dominante de ces populations est la chèvre Arabe dite population Arabo-maghrébine Elle se localise en zone steppique ou semi steppique et présente un format peu développé, brun foncé et dépourvue de cornes. Au niveau du phénotype elle manifeste des caractères plus homogènes : Robe noire à long poils, pattes blanches au dessus du genou, raies blanches et fauves sur le visage, tâches blanches à l'arrière des cuisses. Cet animal est parfaitement

adapté aux contraintes des parcours et semble posséder de bonnes aptitudes de reproduction. La chèvre est principalement élevée pour la viande de chevreaux même si son lait, produit en faible quantité, représente un intérêt indéniable . Elle est aussi saisonnée.

1.2.2.2 la chèvre Makati

Aux caractères assez hétérogènes, robe polychrome aux poils courts, oreilles tombantes, le type MAKATIA semble être le produit de multiples croisements réalisés à partir de races méditerranéennes. Cette race est peu résistante sur parcours et son intérêt réside dans sa production laitière et son adaptation à l'environnement. Ces animaux sont également saisonnés.

1.2.2.3 La chèvre M' zab (chèvre rouge des Oasis)

Elle se retrouve surtout dans le sud et serait un noyau de l'Ombrine qui est une bonne laitière et très fertile. Cette race est très appréciée dans l'est méditerranéen pour ses capacités laitières et fait partie du rameau Nubio Syrien.

1.2.2.4 La chèvre kabyle

C'est une chèvre autochtone qui peuple les massifs montagneux de la Kabylie et de l'Aurès. Elle est robuste et massive, de petite taille, de couleur noirâtre ou blanchâtre avec de longs poils, c'est une mauvaise laitière qui est appréciée pour sa viande (**Feliachi, 2003**).

1.2.3 Composition du lait de chèvre

Le lait est un milieu multiphasique : une phase aqueuse continue contenant essentiellement l'eau ; le lactose ; des minéraux et des éléments dispersés de nature lipidique « globule gras » et de nature protéique « micelles de caséines » (**Mahaut et al ;2000**) .de très nombreux facteurs peuvent intervenir sur la composition du lait « l'espèce ;la race ;le stade de lactation ;la saison ;l'état sanitaire ;l'alimentation ;etc

1.2.3.1 L'eau

L'eau est le constituant le plus important du lait, en proportion. La présence d'un dipôle et de doublets d'électrons libres lui confèrent un caractère polaire. Ce caractère polaire est ce qui lui permet de former une solution vraie avec les substances polaires telles que les glucides, les minéraux et une solution colloïdale avec les protéines hydrophiles de sérum. Le lait de chèvre est constitué de 87% d'eau (**Amiot et al., 2002**).

1.2.3.2 Les glucides

Le lait contient des glucides essentiellement représentés par le lactose (Mathieu . ;1999) , d'autre glucide peuvent provenir de l'hydrolyse de lactose (glucose, galactose) certains glucides peuvent se combiner aux protéines, formant de glycoprotéines ou peuvent se trouver sous forme libre (**Amiot et al., 2002**).

1.2.3.3 Les protéines

Les protéines sont des éléments essentiels au bon fonctionnement des cellules vivantes (Jean Amiot et al, 2002). Les protéines de lait de chèvre comme celle des autres espèces de mammifères, sont composé de deux fraction, l'une majoritaire dénommée caséine (représente environ 80%) (**Mahe et al., 1996**), précipite a pH 4,2 pour le lait de chèvre et pour le lait de vache (**Masle et Morgan, 2001**).

1.2.3.4 Les lipides:

Les lipides de lait de se composent principalement de triglycérides, de phospholipides et forment une émulsion. Le lait de chèvre est pauvre en carotène et donc, peu coloré par rapport aux autres laits, il est plus riche en acide gras ; il ne contient pas d'agglutinines et présenté une activité liasique plus faible que lait de vache (**Chilliard, 1987**).La matière grasse

du lait joue un rôle essentiel dans le développement du goût mais aussi de la texture du fromage

1.2.3.5 Matière minérale

Le lait de chèvre semble être plus riche en calcium, phosphore, magnésium, potassium et chlore que le lait de vache mais moins riche en sodium (Mahieu *et al.*, 1977) (Jenness, 1980, Sawaya *et al.*, 1984). La quantité des minéraux contenus dans le lait après incinération varie de 0,60 à 0,90%. Ils prennent plusieurs formes ; ce sont le plus souvent des sels, des bases, des acides.

Tableau 1 : Eléments minéraux majeurs en mg/l des laits de ruminants en comparaison avec le lait humain d'après Gueguen, 1996

	Lait de chèvre	Lait de vache	Lait de femme
Calcium	1260	1200	320
Phosphore	970	920	150
Potassium	1900	1500	550
Sodium	380	450	200
Chlore	1600	1100	450
Magnésium	130	110	40
Calcium/phosphore	1.3	1.3	2.1

1.2.3.6 Les vitamines

les vitamines sont des substances biologiquement indispensables à la vie puisqu'elles participent comme cofacteurs dans les réactions enzymatiques et dans les échanges à l'échelle des membranes cellulaires (Vignola ;2002) . L'organisme humain n'est pas capable de les synthétiser. On distingue d'une part les vitamines hydrosolubles (vitamine groupe B et

vitamine C) en quantité constantes, et d'autre part les vitamines liposolubles (A, D, E et K) (Jeantet *et al.*, 2008).

1.2.3.7 Les enzymes

Les enzymes définissent par (Pougeon, 2001), comme les substances organiques de nature protidique, produites par des cellules ou des organismes vivants, agissant comme catalyseurs dans les réactions biochimiques. Environ 60 enzymes principales ont été répertoriées dans le lait dont 20 sont des constituants natifs. Une grande partie se retrouve dans la membrane des globules gras mais le lait contient de nombreuses cellules (leucocytes, bactéries) qui élaborent des enzymes : la distinction entre éléments natifs et éléments extérieurs n'est donc pas facile.

Les enzymes du lait de chèvre sont principalement des estérases, c'est-à-dire les lipases, les phosphatases alcalines et des protéases.

Tableau 2: Composition moyen de lait en éléments minéraux majeurs de lait de chèvres (Gueguen, 1996).

Animaux	Eau%	Matières grasse %	Protéines%	Glucides %	Minéraux%
Chèvre	87	3.8	2.9	4.4	0.9

1.2.4 Microbiologie du lait

La microbiologie est intimement liée à l'industrie laitière, elle s'applique à tous ses secteurs. Ses principes, en effet, justifient le mode de production hygiénique du lait, commandent plusieurs traitements et procédés industriels lors de sa transformation à l'usine, et sont à la base des méthodes de conservation des produits laitiers. La qualité du lait et des produits laitiers en dépend en grande partie, si bien que l'on tient compte de normes microbiologiques dans son évaluation officielle.

L'application des principes généraux d'hygiène permet d'atteindre les trois

buts suivants :

- prévenir et empêcher la transmission de bactéries pathogènes par le lait et les produits laitiers et de cette façon protéger la santé des consommateurs.
- prévenir et restreindre la croissance microbienne au lait et aux produits laitiers et ainsi empêcher leur détérioration et l'apparition de défauts.
- favoriser et guider le développement des bactéries utiles dans certains produits laitiers, tels que les produits fermentés (**Guiraud, 2003**).

1.2.5 Les flore microbienne du lait

On répartit les microorganismes du lait, selon leur importance, en deux grandes classes : La flore indigène ou originelle et la flore contaminant. Cette dernière est subdivisée en deux sous classe : la flore d'altération et la flore pathogène (**Vignola, 2002**).

1.2.5.1 Flore originelle ou indigène

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, à partir d'un animal sain (moins de 10³ germes /ml). Il s'agit essentiellement des germes saprophytes de pis et des canaux galactophores : Microcoques, Streptocoques lactiques, Lactobacilles. Des germes pathogènes et dangereux du point de vue sanitaire peuvent être présents lorsque le lait est issu d'un animal malade (Streptococcus pyogène, Corynebacterium pyogènes, des Staphylococcus) qui sont des agents des mammites et peut s'agir aussi de germes d'infection générale Salmonella, Brucella, et exceptionnellement Listeria monocytogenes, Mycobacterium, Bacillus anthracis et quelques virus (**Guiraud, 2003**).

1.2.5.2 Flore de contamination

Le lait peut se contaminer par des apports microbiens divers :

- Fèces et téguments de l'animal : Coliformes, Entérocoques Clostridium, Salmonella.
- Sol : Streptomyces, Listeria, bactéries sporulés, spores fongiques.
- L'air et l'eau : Flores diverses, bactéries sporulées (**Guiraud, 2003**).

2 Les bactéries lactique

2.1 Définition et Historique

Les bactéries lactiques sont de très anciens micro-organismes (**Dridier et Prévost, 2009**). Décrites pour la première fois par Orla-Jensen au début du XXe siècle (**Leveau et Bouix, 1993 ; Pilet et al., 2005**).

Elles forment un groupe de bactéries relativement divers , mais reliées entre elles par un certain nombre de fonction métabolique et physiologiques typiques (**Schleifer et Ludwig, 1995; Law et Haandrikman, 1997; Stiles, et Holzappel, 1997; Mayra-Makinen et Bigret, 1998; Yang, 2000**).

Elles sont à Gram positif, généralement immobiles, asporulées, catalase négatives, oxydase négatives généralement nitrate réductase négative, ce sont des bactéries anaérobies facultatives. Elles ont des exigences nutritionnelles complexes pour les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels, les acides gras et les glucides fermentescibles (**Dellaglio et al., 1994 ; Hogg, 2005**).

2.2 Habitats et origines des bactéries lactique

Les bactéries lactiques sont très fréquentes dans la nature Grace a leur souplesse d'adaptation physiologique Elles sont ubiquistes, et on les trouve dans différentes niches écologiques comme le lait et les produits laitiers, les végétaux, la viande, le poisson, les muqueuses

Humaines et animales et dans le tractus digestif (**Drouault et Corthier, 2001**). (**Leveau et Bouix, 1993 ; Hassan et Frank, 2001**).

2.3 Taxonomie des bactéries lactique

Depuis la description du *Bacterium lactis* (actuellement *Lactococcus lactis*), la taxonomie des bactéries lactiques est en évolution permanente. Le nombre de nouvelles espèces a augmenté énormément au cours de ces dix dernières années. Les réorganisations effectuées ont contribué à fusionner des espèces en une seule, ou identifier une espèce comme un nouveau genre (**Pot, 2008**).

La classification des bactéries lactiques peut se faire selon des critères phylogénétiques par l'utilisation des méthodes moléculaires. Cependant, la caractérisation phénotypique /biochimique classique demeure pratique dans l'identification préliminaire des microorganismes. Certaines caractéristiques phénotypiques sont utilisées pour identifier les espèces à l'intérieur des genres comme la capacité à : fermenter les hydrates de carbone, tolérer différentes concentrations en bile, produire des polysaccharides extracellulaires, exiger des facteurs de croissance, produire de l'acétoïne et synthétiser certaines enzymes.

La composition en G+C de l'ADN, la composition en acides gras, la mobilité électrophorétique de la lactate déshydrogénase sont également d'autres critères qui peuvent être étudiés pour l'identification des espèces lactiques (**Vandamme, 1996 ; Stiles et Holzopfel, 1997 ; Ho et al., 2007**).

La morphologie est considérée comme la caractéristique clé pour décrire et classifier les genres des bactéries lactiques. De ce fait, les bactéries lactiques peuvent être divisées arbitrairement en bacilles (*Lactobacillus* et *Carnobacterium*) et coques (tous les autres genres). Le genre *Weissella*, récemment décrit, est le seul genre qui comporte à la fois des bacilles et des coques (**Collins et al., 1993 ; Ho et al., 2007**).

3 Les lactobacilles

3.1 Caractéristique générale

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

Le genre Lactobacillus a été subdivisé par Orla-Jensen en trois groupes et cette classification est encore utilisée en milieu industriel (Tamime, 2002 ; Guiraud et Rosec, 2004) :

Groupe I « Thermobacterium » : comprend les lactobacilles homofermentaires thermophiles qui se développent à 45°C mais pas à 15°C. Les espèces les plus fréquentes dans l'alimentation (lait, yaourt, fromage) sont Lb. helveticus, Lb. delbrueckii, Lb. acidophilus.

Groupe II « Streptobacterium » : regroupe les lactobacilles homofermentaires mésophiles et peuvent être occasionnellement hétérofermentaires en fonction du substrat. Les espèces les plus fréquentes dans l'alimentation sont Lb. casei, Lb. curvatus, Lb. sake et Lb. plantarum.

Groupe III « Betabacterium » : ce sont des lactobacilles hétérofermentaires. Il comporte les espèces Lb. fermentum, Lb. brevis et Lb. sanfransisco.

3.2 Intérêt technologique des lactobacilles

L'intérêt pratique des lactobacilles est considérable pour plusieurs raisons :

- La production d'acide lactique est une des principales fonctions des lactobacilles, car la quantité produite par ces derniers est supérieure à celles formée par les autres genres utilisés industriellement (**Luquet et Roissant, 1994**).
- L'activité protéolytique des lactobacilles participent à l'accélération de l'affinage des fromages avec un moindre risque de développement d'amertume, et d'être à l'origine d'une flaveur plus intense (**Bartels et al., 1987**)
- Certaines espèces du genre *Lactobacillus* comme *Lb. delbrukii* ssp. *Bulgaricus* possèdent une aptitude à produire un polysaccharide, qui confère l'épaississement du milieu dans le cas de yaourt (**Schmidt J.L. et al., 1994**).

3.3 Aptitudes technologique des lactobacilles

3.3.1 Pouvoir acidifiant

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

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

- Accumulation d'acide lactique participant à la saveur des aliments fermentés .
- Abaissement progressif du pH des milieux de culture et des matrices alimentaires .
- Limitation des risques de développement des flores pathogène et d'altération dans les produits finaux .
- Déstabilisation des micelles de caséines, coagulation des laits et participation à la synérèse.

Pour un ferment donné, il s'agit de permettre une vitesse d'acidification élevée et/ou d'atteindre un niveau d'acidité finale prédéfinie. Le niveau d'acidité dépend des spécifications du produit, lesquelles vont conditionner le choix des souches (**Monnet et al., 2008**).

3.3.2 Pouvoir protéolytique

La croissance jusqu'à des densités cellulaires permettant aux bactéries lactiques d'assurer les fonctions de fermentation repose sur un système protéolytique capable de satisfaire tous les besoins en acides aminés en hydrolysant les protéines. Les bactéries lactiques démontrent des potentialités différentes, liées à leur équipement enzymatique, pour l'utilisation de la fraction azotée. Les lactobacilles présentent généralement une activité protéolytique plus prononcée que les lactocoques (**Donkor et al., 2007 ; Monnet et al., 2008 ; Roudj et al., 2009**).

3.3.3 Pouvoir lipolytique

Les activités lipolytiques des micro-organismes sont importantes pendant la maturation du fromage, elles contribuent généralement au développement de saveur (**Ortiz de Apodaca et al., 1993**). Le genre *Lactobacillus* est faiblement lipolytique (**Papamanoli et al., 2003**). C'est à travers des publications scientifiques, que les connaissances des activités estérasique et lipolytiques des bactéries lactiques restent encore fragmentaires.

3.3.4 Pouvoir aromatisant

Les bactéries lactiques sont capables de produire de nombreux composés aromatiques (tels que : l'a-acétolactate, l'acétaldéhyde, le diacétyl, l'acétoïne et 2,3-butanediol, l'éthanol, l'acétate, le formiate, ...etc.) principalement à partir du lactose, du citrate, des acides aminés et des matières grasses. Cette fonctionnalité est particulièrement importante lors de l'élaboration des laits fermentés, des fromages frais, crèmes et beurre, dont l'arôme principal

est lié à cette activité microbienne (**Bourgeois et Larpent, 1996 ; Gerrit et al., 2005 ; Cholet, 2006**).

3.3.5 Pouvoir texturant

La capacité des bactéries lactiques à synthétiser des exopolysaccharides (EPS) joue un rôle important pour la consistance et la rhéologie des produits transformés. Les *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* et *Streptococcus* produisant des EPS sont utilisés dans la fabrication des yaourts, ceci afin d'améliorer la texture, éviter la synérèse et augmenter la viscosité des produits finis.

La plupart des bactéries lactiques synthétisent les polysaccharides. Certains se trouvent à l'intérieur de la cellule, d'autres sont des composants de la paroi. Un troisième groupe de polysaccharides est excrété à l'extérieur de la cellule d'où vient le terme "exopolysaccharides" (EPS) (**Topisirovic et al., 2006**).

3.3.6 Activité antimicrobienne

Les bactéries lactiques produisent une variété de composés antimicrobiens qui sont utilisés dans la fermentation et la bioconservation des aliments (**Labioui et al., 2005**).

Les acides organiques, comme l'acide lactique, l'acide acétique ou l'acide propionique, élaborés lors de la fermentation des glucides, peuvent inhiber des levures, des moisissures et des bactéries.

Le peroxyde d'hydrogène produit par les bactéries lactiques s'accumule dans l'environnement et peut inhiber certains microorganismes. Les bactéries lactiques hétérofermentaires synthétisent du dioxyde de carbone comme métabolite secondaire. Son accumulation dans le milieu extérieur crée une anaérobiose qui s'avère toxique pour certains microorganismes

aérobies présents dans l'aliment. Le diacétyl peut inhiber la croissance des bactéries à Gram négatif, des levures et, moisissures (**Alakomi et al., 2000 ; Ammor et al., 2006**).

Les bactériocines produites par les bactéries lactiques sont des substances antimicrobiennes de poids moléculaire variable. Elles ont une activité inhibitrice dirigée contre les bactéries proches de la souche productrice et leur spectre d'action est généralement étroit. Les plus connues sont : la nisine, la diplococcine, l'acidophiline et la bulgaricane (**Ogunbanwo et al., 2003 ; Dortu et Thonart, 2009**). La plupart des bactériocines produites par les bactéries lactiques partagent le même mode d'action, basé sur la formation de pores dans la membrane de la bactérie cible (**De Vuyst et Leroy, 2007 ; Kumari et al., 2009**).

1.1 Objectif du travail

Les objectifs de cette étude se basent autour des points suivant :

- Isolement des bactéries lactiques à partir de différents échantillons de lait de chèvre cru de la région Ouest d'Algérie (Ain temouchent) .
- L'étude des caractéristiques phénotypiques, physiologiques et biochimiques des isolats .
- Recherche des propriétés technologiques des isolats.

1.2 Lieu et période d'étude

L'intégralité de ce travail a été réalisé au laboratoire de microbiologie de l'université de Belhadj bouchaib durant une période d'un mois et demi allant du 25 mars jusqu'au 10 mai 2019.

1.3 L'échantillonnage

Les échantillons de laits ont été aseptiquement prélevés à partir des chèvres des régions de Ain temouchent (Aghouat, chentouf et sidi ben adda). Le pis et la mamelle ont été nettoyés à l'aide d'une éponge imbibé avec l'eau javellisée. La traite est réalisée après lavage soigné des mains et aseptisation. Le lait a été recueilli dans un flacon en verre de 250ml stérile, après élimination des premiers jets, conservé dans une glacière à 4°C et acheminé directement au laboratoire pour analyse. Les échantillons ont été soigneusement étiquetés (lieu et date de prélèvement...).

1.4 Isolement

Le milieu utilisé au cours de ce travail étaient soit de milieu liquide, soit de milieu solide additionnés d'agar-agar. Le milieu MRS à pH=5,4 a été utilisé pour la croissance des lactobacilles . La stérilisation des milieux est réalisée par autoclavage à 12°C pendant 20min.

1.4.1 Les dilutions :

Après homogénéisation du lait de chèvre cru, on effectue des dilutions décimales qui vont en générale de 10^{-1} jusqu'à 10^{-6} .

1.4.2 Techniques d'isolement :

L'isolement a été réalisé sur gélose MRS préalablement coulée et solidifiée dans des boîtes de Pétri, en portant 0.1ml des dilutions à la surface du milieu suivi d'un étalement. L'incubation est faite à 37°C pendant 24h à 48h dans des conditions d'anaérobiose (**Idoui et al., 2009**).

1.5 Purification :

Afin de purifier les souches, des repiquages successifs sont effectués sur les géloses MRS. La purification des souches consiste à les ensemercer en stries sur des boîtes de Pétri coulées avec des milieux MRS (solide). Les boîtes sont ainsi incubées à 37°C pendant 24 h. L'opération est répétée jusqu'à l'obtention de colonies pures, de même taille, même forme et même couleur (**Idoui et al., 2009**).

1.6 Conservation des souches

1.6.1 Conservation à court terme

La conservation des souches purifiées est réalisée par ensemencement sur gélose MRS inclinée. Après incubation à 28°C pendant 18 heures, les souches sont conservées à +4°C. Le renouvellement de la culture se fait tous les trois semaines.

1.6.2 Conservation à long terme

La conservation à long terme des isolats purifiés est réalisée dans un milieu contenant 70 % de lait écrémé (enrichi par 0,05 % d'extrait de levure et 0,05 % de glucose) et 30% de glycérol et stockés à une température de -20°C (**Samelis et al., 1994 ; Herrero et al., 1996**).

1.7 Identification des bactéries lactiques isolées

L'identification des isolats a été réalisée par l'application des techniques classiques de microbiologie, basées sur la recherche d'un certain nombre de caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques (**Larpen (1997), Idoui et Karam (2008) et Gusils et al., 2010**).

1.7.1 Étude morphologique :

Cette étude est basée sur l'observation macroscopique et microscopique.

1.7.1.1 Examen macroscopique :

Ce test consiste en une observation directe à l'œil nu des colonies obtenues sur milieux MRS solide et liquide. Il permet de nous renseigner sur l'aspect et la couleur des colonies sur milieu solide ainsi que l'aspect du trouble dans le milieu liquide (**Badis et al., 2005**).

1.7.1.2 Examen microscopique :

Cet examen permet de décrire la forme et le mode d'association des cellules des souches lactiques utilisées à l'aide d'observation au microscope optique des frottis colorés avec la coloration de Gram (voir annexe) (**Singleton, 1999**).

1.7.1.3 Coloration de Gram :

La coloration de Gram est effectuée sur frottis. Elle permet de distinguer deux types de bactéries, les bactéries Gram négatifs (G-) et les bactéries Gram positives (G+). Celles-ci diffèrent de part la composition de leur paroi, notamment par l'épaisseur du peptidoglycane, par la présence d'une membrane externe (**Larpen, 1990**).

1.7.2 L'étude physiologique et biochimique

1.7.2.1 Recherche de la catalase :

La majorité des bactéries lactiques sont des anaérobies facultatives et n'ont pas besoin de synthétiser la peroxydase (**Larpen ;1997**). Pour confirmer que les Lactobacilles utilisées sont catalase(-) une colonie de la culture bactérienne sur MRS Gélosé est mise en contact avec de l'eau oxygénée sur une lame. La catalase est une enzyme qui catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène : $2 \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2 + 2 \text{H}_2\text{O}$.

Une effervescence (dû à un dégagement de dioxygène) est le signe de la présence d'une catalase (**Larpen et al., 1990**).

1.7.2.2 Galerie Api 50 CHL

La galerie API 50 CHL est constituée de 50 micro tubes permettant l'étude de la fermentation de substrat, appartenant à la famille des hydrates de carbone et dérivés (hétérosides, polyalcools, acides uroniques). Les galeries sont inoculées par des cultures bactériennes qui réhydratent les substrats. Durant la période d'incubation, la fermentation se traduit par un changement de couleur dans les capsules dû à une production d'acide en anaérobiose révélée par l'indicateur de pH du milieu choisi. Le premier tube, sans principe actif, sert de témoin négatif.

1.8 Évaluation des aptitudes technologiques chez les lactobacilles

1.8.1 Le pouvoir acidifiant

Ce test est réalisé pour mettre en évidence la capacité d'une culture inoculée sur milieu standard (lait pasteurisé), à produire une grande quantité d'acide lactique (Larpent, 1997). Il consiste en la préparation de milieu lait écrémé à 10% dans un flacons de capacité 250ml. Après stérilisation et refroidissement à la température d'ensemencement, le flacon est ensemencé par une culture lactique. Après incubation à 37°C, à un intervalle du temps 0h, 2h, 4h, 6h, 24h ; 10ml du lait est prélevé puis titrer par la soude Dornic en présence de 3 gouttes de phénolphtaléine, jusqu'au virage de la couleur au rose pâle persistant au moins 10 secondes (Larpent et Larpent, 1990). L'acidité est déterminée par la formule : Acidité (°D) = $V_{NaOH} \times 10$

Où : V_{NaOH} : Volume de NaOH utilisé pour titrer l'acide lactique contenu dans les 10ml de lait.

La mesure de pH est faite directement par le pH-mètre, en plongeant l'électrode dans le volume du lait. Le pH a été déterminé à chaque fois qu'on procède au dosage de l'acide lactique.

1.8.2 Pouvoir protéolytique

Pour déterminer l'activité protéolytique des bactéries lactiques, la gélose du milieu protéolytique (Agar au Lait écrémé) a été coulée, solidifiée et séchée puis des disques de papier Wattman stérile ont été déposés en surface de la gélose. Chaque disque reçoit un

volume de 20µl d'une culture jeune. Après une incubation à 37° C pendant 24h, la protéolyse est révélée par des zones claires autour des disques (**Veuillemard, 1986**)

1.8.3 Le Pouvoir lipolytique

La lipolyse est mise en évidence sur milieu gélosé à l'émulsion de jaune d'oeuf , Cette dernière a été coulée et solidifiée. Des disques de papier Wattman stérile ont été déposés en surface de cette gélose, puis chaque disque reçoit 10µl d'une culture jeune. Après une incubation à 37°C pendant deux jours. la lipolyse est révélée par une zone d'éclaircissement entourée d'un dépôt autour des disques (**Guiraud, 2003**).

1.8.4 Le Pouvoir texturant

Ce test permet la détection des colonies larges et gluantes sur gélose hypersaccharosée . Les souches à tester sont ensemencées en stries sur gélose hypersaccharosée déjà coulée et solidifiée. Après incubation à 37°C pendant 24 à 48h, la production des exopolysaccharides se manifeste par l'apparition de colonies larges et gluantes (**Leveau et al., 1991**).

1.8.5 Le pouvoir aromatisant

La capacité des souches à produire des composés aromatiques au cours de processus de fermentation est mise en évidence sur milieu Clark et Lubs . Chaque tube contenant 5ml du milieu Clark et Lubs stérile est inoculé par une culture jeune de 18h de la souche lactique à tester. Après incubation pendant 24h à 37°C , les réactifs de Vogues-Proskauer VPI (NaOH à 16% d'alcool) et VPII (alpha-naphtol à 6% d'alcool) sont ajoutés sur les cultures et le mélange est maintenu pendant 10min avant de lire la réaction (**Avril et al., 1992**). La production d'acétoïne se traduit par l'apparition d'un anneau ou la diffusion de la couleur rouge à la surface du milieu.

1.8.6 Activité antibactérienne

Ce test consiste à étudier l'activité inhibitrice des bactéries lactiques vis-à-vis des souches indicatrices. Il s'agit de trois souches : *Bacillus cereus*(ATCC6633) , *Escherichia coli* (ATCC25922) et *Staphylococcus aureus* (ATCC43300) .

- Méthodes des puits (méthodes de Barefoot et Kaenhammer, 1983) :

Les bactéries lactiques sont repiquées dans du milieu MRS liquide et incubées pendant une période de 18h a 30C°. après incubation , une centrifugation réfrigérée(4°C) est réalisées a 4000tr/min pendant 15min .

Des puits de 5 mm de diamètre sont creusés stérilement a l'aide d'un emporte_piede (cloche de durham) sur la gélose nutritive inoculé par la souche indicatrice (pathogène) et seront remplies avec100µl du surnageant de culture ou d'extrait cellulaire.les boites de petri sont mises a une température de +4C° /4h pour permettre la bonne diffusion de la substance antibactérienne (**Doumandji et al.,2010**) .

les boites sont incubées a 37C° et la présence de zones d'inhibition formées autour des puits est examinée après 24h d'incubation (**Hwanhlem et al.,2011**)

1.1 Pré identification des isolats

1.1.1 Caractérisation macroscopique:

La caractérisation macroscopique, permet de décrire l'aspect des colonies obtenues sur milieu solide MRS a pH 5.4 après 48h d'incubation a 37°C (Ana Belen florez *et al.*, 2006) et de retrouver les critères relatifs aux colonies des bactéries lactiques (taille, pigmentation, contour, aspect, viscosité). Pour les souches testées On a observé sur milieu MRS solide des petites colonies d'environ 1mm de diamètre, de forme lenticulaire de couleur blanchâtres ou laiteux, avec une surface lisse et un pourtour circulaire régulier (figure 1)



Figure 1: observation macroscopique des souches lactique sur milieu MRS

1.1.2 Caractérisation microscopique :

L'observation microscopique a révélé plusieurs formes de cellules ; bâtonnets (bacille) de différentes tailles. Ces formes sont disposées en paire, ou en chaînes plus ou moins longues. La coloration de Gram a confirmé que les souches sont Gram positif et le test de catalase était négatif. Ces caractéristiques confirment l'identité des souches lactiques comme lactobacilles.

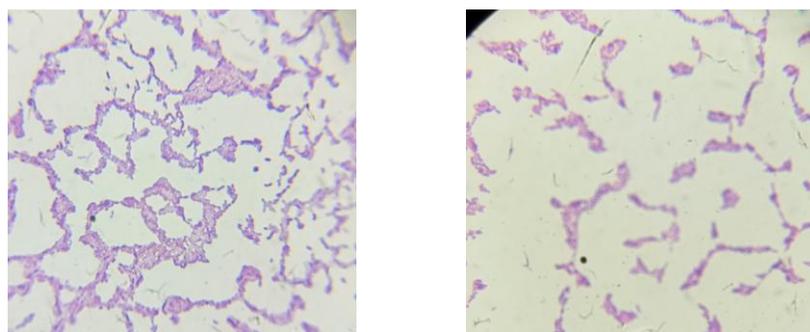


Figure 2: observation microscopique des souches lactique après coloration de gram

Tableau 3 : caractères cultureux et microscopique des bactéries lactique

Souches	Températures de croissance	Catalase	Gram
Lb1	37C°	-	+
Lb2	37C°	-	+
Lb3	37C°	-	+
Lb4	37C°	-	+
Lb5	37C°	-	+
Lb6	37C°	-	+
Lb7	37C°	-	+
Lb8	37C°	-	+

1.2 Galerie Api 50 CHL

Les résultats de l'étude fermentaire des sucres par système API 50 sont mentionnés dans le tableau 4 . La fermentation des hydrates de carbone et dérivés de la galerie (figure 3) a permis d'identifier les 5 espèces des lactobacilles testés dont la répartition est la suivante : *Lactobacillus plantarum* (3) , *Lactobacillus casei* , *Lactobacillus delbruekii* , *Lactobacillus brevis* (2) , *Lactobacillus acidophilus*.

Tableau 4 : Identification par la galerie Api 50 CHL

Test / Isolats	Plantarum 8826	Plantarum Cst110967	Plantarum Cst10952	casei alactosus 11063	delbruekii lactis 200072	acidophilus	Brevis est 11038	Brevis Cst 10931

0	Témoin	-	-	-	-	-	-	-	-
1	Glycérol	-	-	-	-	-	-	-	-
2	Erythritol	-	-	-	-	-	-	-	-
3	D-Arabinose	-	-	-	-	-	-	-	-
4	L-Arabinose	+	-	+	-	-	-	+	+
5	D-Ribose	+	+	+	+	-	-	+	+
6	D-Xylose	-	-	-	-	-	-	+	+
7	L-Xylose	-	-	-	-	-	-	-	-
8	D-Adonitol	-	-	-	-	-	-	-	-
9	Méthyl-βD- Xylopyranoside	-	-	-	-	-	-	-	-
10	D-Galactose	+	+	+	+	-	-	+	+
11	D-Glucose	+	+	+	+	+	-	+	+
12	D-Fructose	+	+	+	+	+	-	+	+
13	D-Mannose	+	+	+	+	+	+	-	+
14	L-Sorbose	-	-	-	-	-	-	-	-
15	L-Rhamnose	+	-	-	-	-	-	-	-
16	Dulcitol	-	-	-	+	-	-	-	-
17	Inositol	-	-	-	+	-	-	-	-
18	D-Mannitol	+	+	+	+	-	-	-	-
19	D-Sorbitol	+	+	+	+	-	+	-	-
20	Méthyl-αD- Mannopyranoside	-	-	+	-	-	+	-	-
21	Méthyl-αD- Glucopyranoside	-	+	-	+	-	+	+	-
22	N- Acétylglucosamine	+	+	+	+	+	+	+	+
23	Amygdaline	+	+	+	+	-	-	-	-

24	Arbutine	+	+	+	+	-	+	-	-
25	Esculine citrate de fer	+	+	+	+	-	+	-	-
26	Salicine	+	+	+	+	-	+	-	-
27	D-Cellobiose	+	+	+	+	-	+	-	-
28	D-Maltose	+	+	+	+	-	+	+	+
29	D-Lactose (origine bovine)	+	-	+	-	+	+	-	-
30	D-Melibiose	+	+	+	-	-	+	+	+
31	D-Saccharose	-	-	+	+	+	+	-	-
32	D-Tréhalose	+	-	+	+	+	+	-	-
33	Inuline	-	+	-	-	-	+	-	-
34	D-Mélezitose	+	+	+	-	-	+	-	-
35	D-Raffinose	-	-	+	-	+	+	-	-
36	Amidon	-	-	-	-	-	+	-	-
37	Glycogène	-	-	-	-	-	+	-	-
38	Xylitol	-	-	-	-	-	+	-	-
39	Gentiobiose	+	+	+	+	-	+	-	-
40	D-Turanose	-	-	-	+	-	+	-	-
41	D-Lyxose	-	-	-	+	-	+	-	-
42	D-Tagatose	-	-	-	+	-	+	-	-
43	D-Fucose	-	-	-	-	-	+	-	-
44	L-Fucose	-	-	+	-	-	+	-	-
45	D-Arabitol	+	-	-	-	-	+	-	-
46	L-Arabitol	-	-	+	-	-	+	+	+
47	Potassium Gluconate	+	+	+	+	-	+	+	+
48	Potassium 2- Cétogluconate	-	-	-	-	+	-	-	-
49	Potassium 5- Cétogluconate	-	-	-	-	-	+	+	-

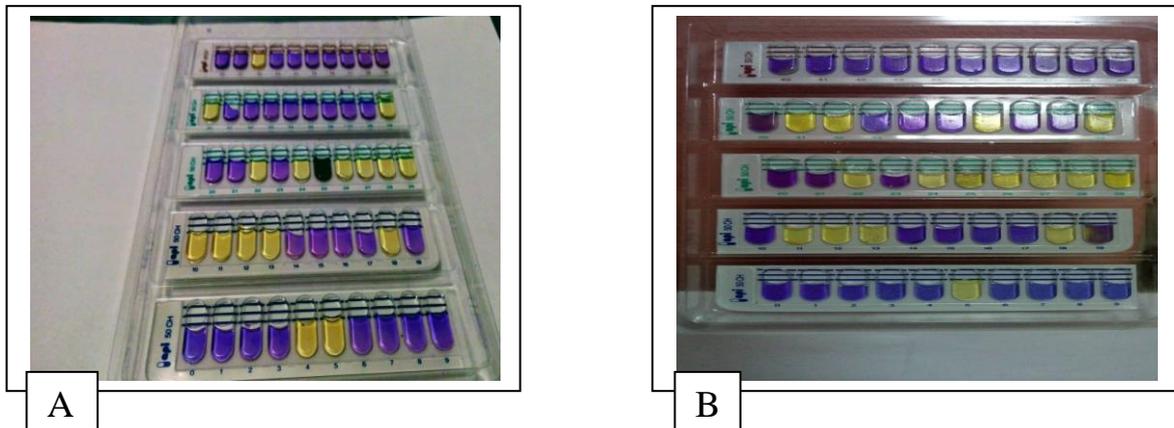


Figure 3: résultats de test biochimique de la galerie Api50CHL
A: *Lactobacillus acidophilus* ; B: *Lactobacillus lactis*

1.3 L'évaluation des aptitudes technologique

1.3.1 Pouvoir acidifiant

La fonction acidifiante constitue donc la propriété métabolique la plus recherchée des bactéries lactiques utilisées dans les industries agro-alimentaires car elle est considérée comme un critère primordial de sélection des souches à intérêt technologique.

Les résultats du suivi du pH et de l'acidité Dornic à 37°C pendant 24 heures sur milieu lait écrémé ensemencé par les souches pures, sont représentés dans le tableau 5 .

Tableau 5 : les variations de l'acidité (°D) et pH des souches isolées, durant 24h d'incubation

Souches	0h		2h		4h		6h		24h	
	pH	AC								
Lb1	6.78	18	6.65	19	6.57	19	6.46	21	5.46	40
Lb2	6.76	19	6.73	19	6.70	21	6.65	23	4.94	56
Lb3	6.76	19	6.6	20	6.49	23	6.24	25	4.81	63
Lb4	6.76	20	6.57	20	6.25	24	6.07	26	4.67	67
Lb5	6.77	19	6.66	19	6.59	20	6.52	20	5.18	50
Lb6	6.77	19	6.68	20	6.49	22	6.4	23	4.68	67
Lb7	6.75	20	6.65	21	6.57	21	6.31	23	4.65	67
Lb8	6.77	19	6.63	20	6.5	22	6.38	24	4.92	58

D'après Les résultats obtenus ont remarqué une diminution du pH du lait accompagnée d'une production progressive d'acide lactique chaque 02h (02h ,04h, 06h , 24h) pendant les 24 heures d'incubation a 37c°.

Après 02h d'incubation les valeurs de pH varient entre pH6.57 et pH6.73 et Les valeurs de l'acidité se situent entre 19D° et 21D°, en parallèle la quantité d'acide lactique produite a ce moment varient entre 1.9g et 2.1g d'acide lactique par litre de lait .

Au bout de 24h d'incubation les valeurs de pH diminuent et se trouvent situées entre pH 5.46 et pH4.65 , ainsi que les valeurs de l'acidité augmentent et se trouvent entre 40D° et 67D° qui correspond a une production d'acide lactique varient entre 4g /L et 6.7g/L .

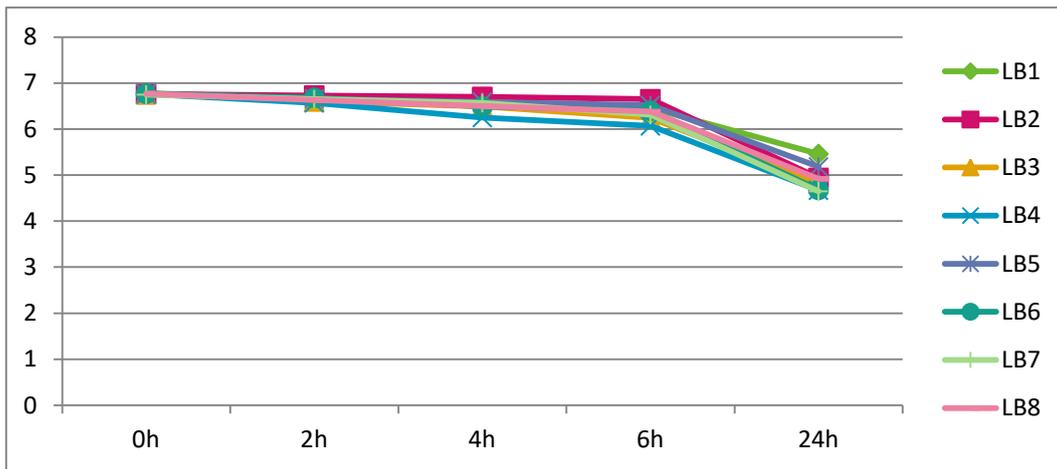


Figure 4 : Cinétique d'évaluation du pH des souches lactiques au cours du temps

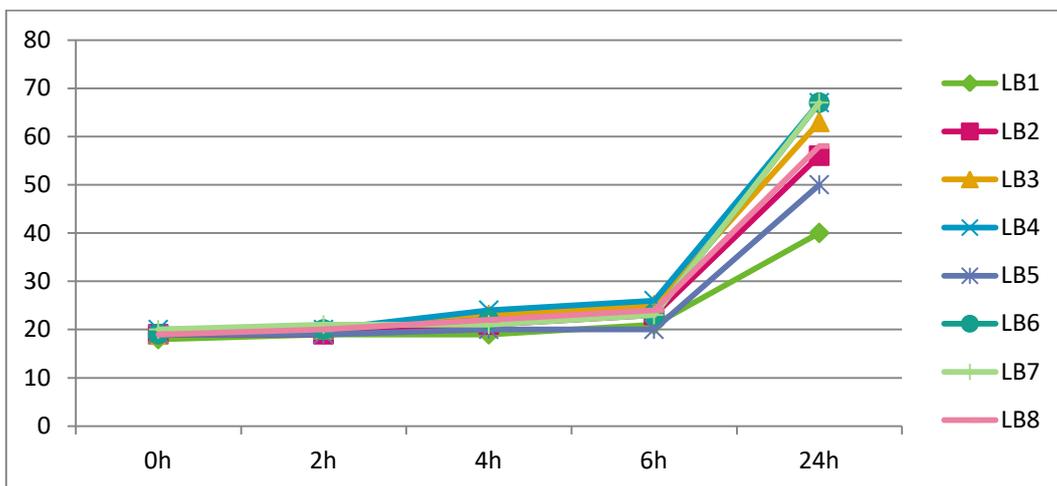


Figure 5: évaluation de l'acidité des souches lactique au cours du temps

Ces résultats révèlent une production d'acide lactique très prononcée chez nos souches qui sont classées comme souche ayant une vitesse de production d'acide lactique rapide, et sont en accord avec des résultats de plusieurs recherches qui démontrent une très importante acidification par les souches de bactéries lactiques **Cogan (1980)** ; **Novel (1993)** et **(Champagne et al., (2000))**.

Une étude de **Maghnia (2011)**, a montré un pouvoir acidifiant important des souches de lactobacilles avec une concentration d'acide lactique de 59°D et un pH de 3,99 après une incubation à 37°C pendant 24 h.

1.3.2 Pouvoir protéolytique

Les systèmes protéolytiques des bactéries lactiques sont importants dans les procédés de maturation qui donnent aux aliments leurs propriétés rhéologiques et caractéristiques organoleptiques (Law et kolstad.,1983).

Les résultats de la protéolyse réalisée sur les milieux agar additionnés du lait écrémé pour les différents isolats sont résumés dans le tableau 6 .

Tableau 6: activité protéolytique des souche isolées à partir de lait de chèvre

Souches	Protéolyse	Diamètre
Lb1	++	15mm
Lb2	+	7mm
Lb3	+++	20mm
Lb4	++	17mm
Lb5	+	9mm
Lb6	+	5mm
Lb7	+++	19mm
Lb8	++	12mm

(+++): fort; (++) : moyen; (+): faible

Il en ressort du tableau que toutes les souches étudiées présentent une activité protéolytique traduite par l'apparition d'un halo clair autour des disques (figure 6).

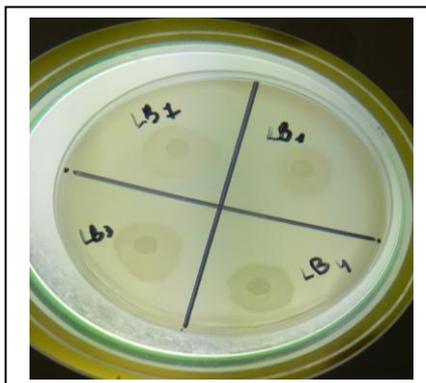


Figure 6: activité protéolytique des souches lactique sur milieu agar au lait écrémé

L'activité protéolytique est variable d'une souche à l'autre, et les meilleurs zones de protéolyse sont obtenus chez les souches LbN07 , LbN03 avec un niveau élevé de protéolyse entre (19 et 20 mm); suivi de LbN01 et LbN04 qui présente une protéolyse moyenne entre (17 et 15mm) ; comparativement a toutes ces souches, les souches (Lb02 , Lb05 , Lb06 et Lb08) ont le diamètre le plus petit qui se situe entre 5mm a 12mm .

Nos souches sont révélées protéolytiques dont les diamètres des zones de protéolyse étaient compris entre 5 et 20 mm. Par comparaison au donnée de **Vuillemard (1986)** , qui a dit (la souche est dite protéolytique si elle présente une zone de lyse de diamètre compris entre 5 et 15 mm)

Les travaux de (**Castberg et Morris., 1976**), ont montré que les lactobacilles produisent généralement des protéinases neutres actives sur le α - , β et κ - caséine mais l'intensité de leur activité est extrêmement variable d'une espèce à une autre.

L'activité protéolytique est largement dues aux lactobacilles selon **Litopoulo-Tzanetaki et Tzanetakis (2011)**.

Toutes les autres souches ont un pouvoir protéolytique, ces résultats nous permettant de confirmer d'une part le caractère protéolytique et d'autre part la présence d'une protéase de paroi, comme il a été rapporté par les travaux de (**Desmazeaud, 1990, Sanni, et al ., 2002**). Donc ces souches ont un intérêt très important dans l'industrie laitière exemple (la production de yaourt) .

1.3.3 Pouvoir lipolytique

Le pouvoir lipolytique est d'une grande importance dans le développement du flaveur et la libération des acides gras , Les résultats obtenus pour ce test sont illustrés dans la figure 7 .

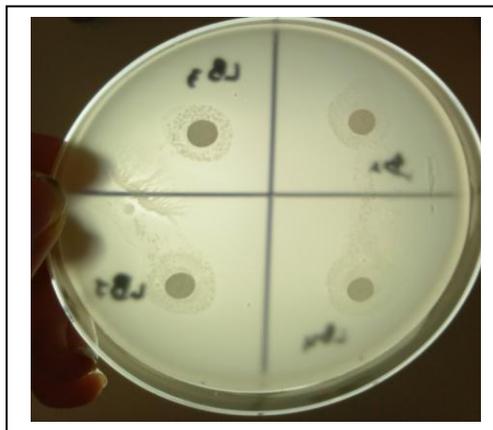


Figure 7 : activité lipolytique des souches lactique sur milieu a l'émulsion de jaune d'œuf

D'après ces résultats Il apparaît que les souches lactiques LbN03 , LbN02 , LbN01 , LbN06 présentent une activité lipolytique positive (moyenne) en formant des zones d'éclaircissement autour des disques .

Par contre les souches LbN04 , LbN05 , LbN07 , LbN08 ne présente pas une activité lipolytique .

Ces résultats sont en accord avec les travaux de **Mayers *et al.*, 1996** qui ont montrées que les lactobacilles présente une activité lipolytique moyenne .

Les bactéries lactiques sont considérées comme faiblement lipolytiques (**DeRoissart et Luquet., 1994**), par comparaison avec d'autres espèces bactériennes.

A travers les différentes publication scientifiques , les connaissances sur l'activité lipolytique des bactéries lactiques soient encore fragmentaires (**Liu *et al.* , 2001**)

1.3.4 Pouvoir texturant

Afin d'évaluer la capacité de production des EPS chez nos souches; leurs croissances sur gélose hyper-saccharosée a été mise en évidence, et la production des exopolysaccharides est traduite par l'apparition de colonies larges et gluantes. Les résultats sont illustré dans la figure 8

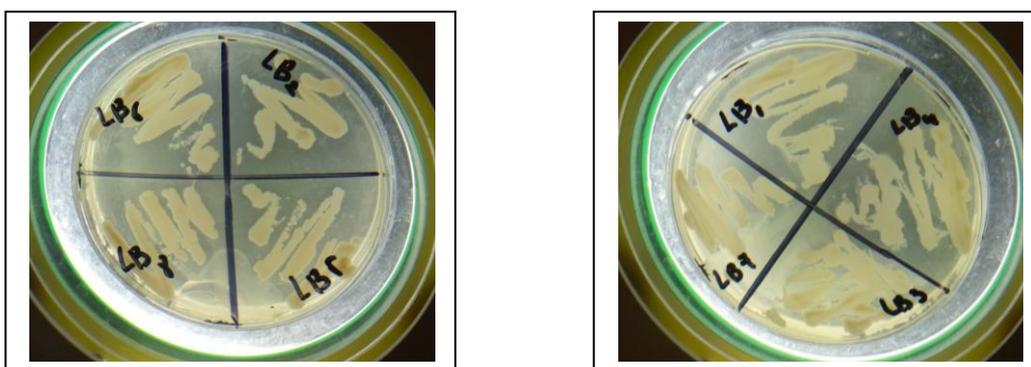


Figure 8 : aspect des colonies sur milieu hypersaccharosé

Ce test a montré que toutes les souches étudiées LbN01 , LbN02 , LbN03, LbN04, LbN05, LbN06 , LbN07 , LbN08 sont capables de se développer sur un milieu hypersaccharosé en formant des colonies à aspect plus ou moins gluant témoignant une production d'un agent épaississant, les exopolysaccharides , ces observations rejoignent celles de (**Cerning et al., 1991 ; Du vuyst et al., 2001**) qui avaient constaté que les lactobacilles sont capables de produire des EPS . **selon Walling et al., (2001)** , la production des EPS par les bactéries lactiques est un caractère à intérêt industriel .

1.3.5 Pouvoir aromatisant

La production de composés d'arômes est une fonctionnalité technologique importante lors de l'élaboration des produits laitiers fermentés. Les résultats obtenus sont montré dans la figure9.

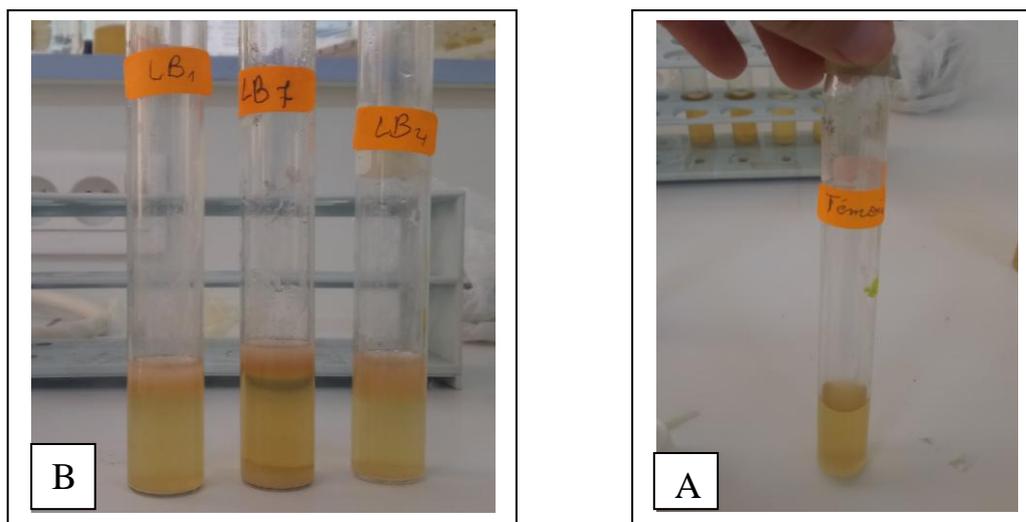


Figure 9 : production de l'acétoïne par les bactéries lactique (A : culture sans réactif , B : culture +réactif)

D'après les résultats du test de la réaction de Vogues Proskauer

Les souches LbN01 , LbN07 et LbN04 arrivent à produire des arômes comme l' acétoïne détecté par l'apparition d'anneau rose-rouge a l'interface , donc ils ont un pouvoir aromatisant qui va contribuer aux caractéristiques organoleptiques des produits fermentés. Ainsi que Les souches LbN01,et LbN15 sont incapables de produire l'acétoïne d'où l'absence de la couleur rose dans le milieu.

1.3.6 Pouvoir antibactérien

Les propriétés antimicrobiennes des bactéries lactiques sont dérivées de la concurrence pour les nutriments et la production d'un ou plusieurs métabolites antimicrobiennes actifs tels que les acides organiques (principalement l'acide lactique et l'acide acétique), le peroxyde d'hydrogène et d'autres composants tels les bactériocines et les peptides antifongiques (**Reis et al., 2012**).

Les bactéries lactique métabolisent le lactose en acide lactique , abaissant le pH et créant un environnement défavorable au développement des bactéries pathogène et des microorganismes d'altération .

L'évaluation du pouvoir antagoniste des isolats lactiques a été étudié vis-à-vis trois souches cibles, indicatrices d'altération, à savoir *Escherichia coli* (ATCC25922) , *Staphylococcus aureus* (ATCC43300) et *Bacillus cereus* (ATCC6633).

L'inhibition se traduit par la formation de zones claires, autour des souches ensemencées par puis . Les diamètres des zones d'inhibitions et leurs moyennes sont représentées dans le tableau 7 et les figure 10 ,11 ,12 .

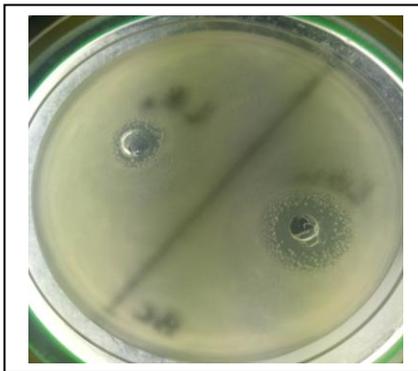


Figure 10 : activité antibactérienne des lactobacilles vis-à-vis B.cereus(ATCC6633)

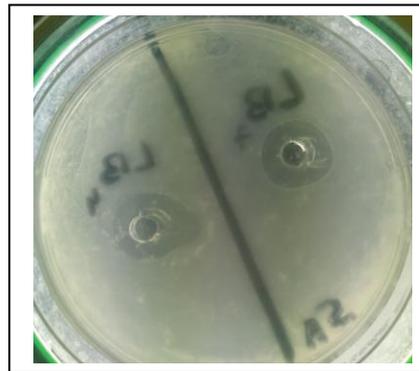


Figure 11 : activité antibactérienne des lactobacilles vis-à-vis S.aureus(ATCC43300)

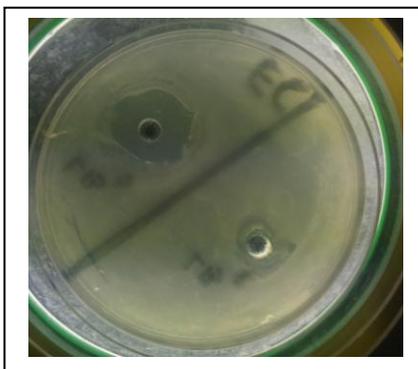


Figure 12 :activité antibactérienne des lactobacilles vis-à-vis E.coli(ATCC 25922)

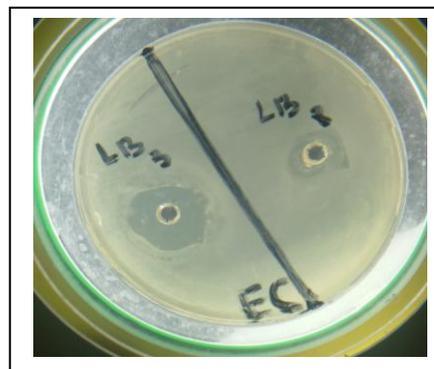


Tableau 7: les diamètre des zones d'inhibition des lactobacilles vis-à-vis des souches pathogènes

Souches	<i>E. coli</i>	<i>S . aureus</i>	<i>B. cereus</i>
LB1	10mm	0	2mm
LB2	0	0	0
LB3	7mm	0	0
LB4	3mm	9mm	8mm
LB5	0	0	0
LB6	0	0	0
LB7	0	5mm	0
LB8	4mm	0	0

L'étude du pouvoir antagoniste a révélé que les lactobacilles présentent l'activité inhibitrice la plus forte , Elle est dirigée contre *E. coli* (ATCC25922)avec une moyenne de 10mm, une activité toutefois supérieure à celle observée contre *S. aureus* (ATCC43300) (9mm) et *B. cereus* (ATCC6633) (8mm). Ces résultats sont différents de ceux obtenus par **Allouche et al, 2010** qui constate que les lactobacilles sont plus actifs contre les souches Gram positives notamment *S. aureus* et *B. subtilis* avec des zones de 12 et 22mm contre 0 et 19mm pour les souches Gram négatives représentées par *E. coli* 54127 et *E. coli* 105331.Cependant, nos résultats sont conformes aux résultats de Mameche (2008) qui a constaté que les lactobacilles ont une activité inhibitrice sur les bactéries à Gram négatif nettement supérieure à celle observée contre les pathogènes à Gram positif.

Cependant une absence d'inhibition est remarquée avec les souches lactique Lb2 , Lb5 et Lb6 vis-à-vis les trois souches pathogène .

Gudkow (1987) et Taylor (2005) ont montrés qu'*E. coli* est inhibé par l'acide lactique à pH de 5,1. Une étude **d'antonio et al., (1999)** a montré que la production d'acide lactique, d'H₂O₂, de bactériocines et d'autres substances antimicrobiennes par les lactobacilles contribuent, avec le maintien d'un pH acide inférieur à 4,5, à produire un effet barrière réduisant fortement les risques d'infection.

Conclusion

Les bactéries lactiques sont utilisées empiriquement depuis des siècles dans la fabrication de nombreux aliments fermentés comme les produits laitiers. Un intérêt industriel tout particulier a été porté pour ces bactéries, elles sont utilisées aussi pour améliorer des caractères organoleptiques de produit (le goût, la saveur, la texture, l'arôme de produits par exemple le lait fermenté, le yaourt, le fromage, le pain et les produits carnés...etc.)

A travers cette étude, nous avons tenté d'apporter une contribution à la caractérisation et l'identification des *Lactobacilles* à partir du lait cru de chèvre provenant de trois régions situées dans la wilaya de Ain temouchent (Chentouf, Aghouat et Sidi ben adda).

Un total de Trois échantillons ont été pris en considération à partir desquels 08 souches bactériennes ont été isolées. L'identification des différents isolats est basée sur les caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques.

Les résultats obtenus de l'identification révèlent que les isolats étudiés peuvent appartenir aux espèces suivantes : *Lactobacillus plantarum* (3), *Lactobacillus casei alactosus*, *Lactobacillus delbrueckii lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis* (2).

L'évaluation de quelques aptitudes technologiques ainsi que l'effet antibactérien à l'égard des bactéries pathogènes, des isolats de *Lactobacillus* a été réalisé.

L'étude des aptitudes technologiques a montré que le genre *Lactobacillus* possède un pouvoir acidifiant important avec un degré d'acidité qui se varie de 40°D à 67°D après 24 h d'incubation à 37°C.

Les résultats acquis après l'étude de l'activité protéolytique, ont permis de constater que toutes les souches ont une bonne activité protéasique et présentent des enzymes protéolytiques, alors qu'elles présentent une faible activité lipolytique.

La production des EPS utilisée pour la texturation de compositions alimentaires est une qualité technologique importante, ce caractère est présent chez toutes les souches étudiées.

Parmi les souches testées, il existe celles qui sont caractérisées par leurs capacités à produire des composés aromatiques.

L'étude de l'activité antibactérienne a montré que les isolats ont une activité inhibitrice remarquable et les diamètres des zones d'inhibition varient entre 3mm et 10mm.

Perspectives :

- ✓ Étude de propriétés probiotiques des souches isolées.
- ✓ Étude des profils biotechnologiques tels que l'activité protéolytique et antibactérienne en utilisant des techniques plus approfondies
- ✓ Identification génétique des souches de *Lactobacillus* isolées

A

Aiba Y., Suzuki N., Kabir AM., Takagi A. et Koga Y. (1998). Lactic acid-mediated suppression of *Helicobacter pylori* by the oral administration of *Lactobacillus salivarius* as a probiotic in a gnotobiotic murine model. *Am. J. Gastroenterol.* 93 : 2097-2101.

Alais, C. (1984). Sciences du lait : principes des techniques laitières, 4^{ème} Edition, Paris, 814p.

Alakomi H.L, Skytta E, Saarela M, Mattila-Sandholm T, Latva-Kala K, et Helander I.M. (2000). Lactic acid permeabilizes Gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane. *Appl. Environ. Microbiol.* 66 (5) : 2001-2005.

Amiot J., Angers P., Bazinet L., Boutonnier J.L., Britten M., Castaigne F., Champagne Amiot, J., Fournier, S., Lebeuf, Y., Paquin, P., Simpson, R et Turgeon, H.(2002) : Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait in VIGNOLA C. L, Science et technologie du lait-Transformation du lait, Ecole polytechnique de Montréal, ISBN : 3-25-29(600 pages).

Ammor S, Tauveron G, Dufor E, et Chevalier I. (2006). Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility 1- Screening and characterization of antibacterial compound. *Food Control.* 17 : 454-461.

Avril D. And Denis M. 1992. Biopreservation by lactic acid bacteria. *Antonie leeuwenhoek.* J. 70: 331-345. bacteriocins produced by *Lactobacillus acidophilus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 45:1808.

B

Badis A, Guetarni D, Moussa BB, Henni DE et Kihal M. (2004). Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. *Food Microbiol.* 21, 579-588.

Bartels H.J., Johnson M.E. et Olson N.F. (1987). *Milchwissenschaft*, 42, 83.-Bencharif A. (2001). Stratégies des acteurs de la filière lait en Algérie : états des lieux et problématique. *Options Méditerranéennes Série B. Etudes et recherches* 32 : 25-45.

Béal C, Marin M, Fontaine E, Fonseca F et Obert JP. (2008). Production et conservation des ferments lactiques et probiotiques. In : *Bactéries lactiques de la génétique aux ferments* (Carrieu G et Luquet FM). Tec & Doc. Lavoisier, Paris , 1-144.

Berefoots S.F. et Klaenhammer T.R. (1983). Detection and activity of lactacin b, a

Bourgeois CM et Larpent JP. (1996). *Microbiologie alimentaire : Aliments fermentés et fermentations alimentaires.* Tec & Doc. Lavoisier, Paris, 432-704

C

C., Dupuis C., Fliss I. et al. (2002). Science et technologie du lait transformation du lait.

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

Collins, M.D., Farrow, J.A.E., Feresu, and Jones, D. (1987) Classification of lactobacillus diverges, lactobacillus piscicola, and some catalase negative, asporogenous, rod-shaped bacteria from poultry in a new genus, carnobacterium. International journal of systematic bacteriology. 37. 310.

D

D- Roissart H, 1986, les bactéries lactiques : lait et produit laitier vache, brebis, chèvre. • Vol: III. Ed :APRIA.

De Vos P, Garrity G M, Jones D, Krieg N R, Ludwig F A, Schleifer K-H et Whitman W B. (2009). Bergey's manual De Vos P, Garrity G M, Jones D, Krieg N R, Ludwig F.

Dellaglio, F., De Roissart, H., Torriani, S., Curk, M. et Janssens, C. (1994) In : Bactéries lactiques aspects fondamentaux et technologiques, 1 : 25-114.

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

Desmazeaud MJ. (1990). Le lait milieu de culture. Microbiologie-Aliment-nutrition. 8,

Djamel Drider et Hervé Prévost coordonnateurs, Préface Dr. Alexandra GRUSS November 2009, Chapter V, Pages 459-474 ISBN 9782717856767 In "Physiologie, Métabolisme, Génomique et Applications Industrielles des bactéries lactiques"

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

Dortu C, et Thonart P. (2009). Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. Biotechnology Agronomy Society Environment. 13 (1): 143-154.

D-Roissart, H et Luquet , FM. (1994).Bactéries lactiques, I et II ; Lorica (Chemin de Drouault; S. et. Corthier, 2001. Health effects of lactic acid bacteria ingested in fermented milk. Vet. Res., 32:101-117. Edition Ecole polytechnique de Montréal.

F

Fredereghi M. (2005). Les bactéries lactiques. In : « Bactériologie alimentaire, Compendium d'hygiène des aliments ». Lavoisier éd., Paris.France. pp. 101-130.

G

Ganzele G, Michael, Alexndra Holtzel, Jens Walter, Gunther Jung, Et Walter P, génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). Tec & Doc. Lavoisier. Paris, 1-106.

Gerrit S, Bart AS et Wim JME. (2005). Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. FEMS. Microbiol. Rev. 29: 591-610.

Goursaud, J. (1985) Le lait de vache, composition et priorités physico-chimiques.in : lait et produits laitiers vache-brebis-chèvre. (Tome1).Ed. Masson, Paris, p: 25-36.

Guiraud J P,1998. Microbiologie alimentaire. Ed. Dunod, Paris.

Guiraud J.P., 2003. Microbiologie alimentaire. Tec & doc, dunod. Paris. 90-292.

H

Hammes. (2000). Characterization of Rentericyclin Product By *Lactobacillus Reuter Lth* 2584. Appl And environ, Microbiol. 4325-4333.

Hassaine O, 2013. Caractéristiques d'intérêts technologiques de souches de bactéries lactiques isolées de lait camelin du sud algérien. Thèse de doctorat en biotechnologie : l'université d'Oran-Essenia, p. 57-102.

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

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

I

Idoui T. et Karam N.E., 2008. Lactic acid bacteria from Jijel's butter: isolation, identification and major technological traits. *Gr. Y. Aceites.* **59**(4) : 361-367.

Idoui, T., Boudjerda, J., Leghouchi, E. ET Karam, N.E., (2009). Lactic acid bacteria from sheep's Dhan'', a traditional butter from sheep's milk: Isolation, identification and major technological traits. *Gr. Y. Aceites.* 60(2): 177-183

J

Jay JM. (1982). Antimicrobial properties of diacetyl. *Appl. Environ. Microbiol.* 44:525-532. *Journal of Dairy Technology*, vol. 61, n°2, pp. 89-96.

Joyandeh H et Abroumand A., 2010. Physico-chemical, nutritional, heat treatment effects and dairy product aspects of goat and sheep milks. *Words Applied Science Journal.* 11(11), 1316- 1332.

K

Khalid N.M. Et Marth E.H., 1990. Lactobacilli, their enzymes and role. In: ripening and spoilage of cheese. *Rev. Dairy sci.* 73 : 158-167.

Kihal, M. (2002). Caractérisation des bactéries lactiques isolées du lait de chèvre des régions arides. *J. Aleg. Reg. Arides.* 1: 1-11.

Kumari A, Makeen K, Garg A.P, Marotta F, Gupta C, et Divya. (2009). Effet of the bacteriocin produced by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* CCSUB202, on mode of action of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* MTCC3038. *International Journal Probiotic Prebiotic.* 4 (3): 1-6

Kunji E.R., Mierau I., Hagting A., Poolman B. And Konings W.N., 1996. The proteolytic system of lactic acid bacteria. *Antonie van leeuwenhoek* 70:187-221.

L

Labaoui H, Elmoualdi L, El yahiaoui M et Ouhssine M. (2005). Sélection de souche des bactéries lactiques antibacterienne. *Bal doc Dparm. Bordeaux,* 144, 237-250

Larpent J.P., 1997. Microbiologie alimentaire. Tec & doc, Lavoisier. Paris. 10-72. Larpent, J. P. (1990). Les fermentations alimentaires. In-Microbiologie alimentaire, Technique & Documentation, Lavoisier, Apria, 02:3-17.

Lavermicocca P., Valerio F., Lonigro S.L., Di Leo A. et Visconti A. (2008). Antagonistic activity of potential probiotic lactobacilli against the ureolytic pathogen *Yersinia enterocolitica*. *Curr. Microbiol.* 56: 175-181

Law B.A. And Kolstad J., 1983. Proteolytic systems in lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek* 49: 225-245. *Lorica, uriage.* 1 : 25-116.

Law J et Haandrikman A. (1997). Review Article: Proteolytic enzymes of lactic Acid Bacteria. *International Dairy journal.* 7: 1-11.

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

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

Leveau J.Y. Et Bouix M., 1993. Microbiologie industrielle : les microorganismes d'intérêt industriel. Tec & doc, lavoisier. Paris. 85-87.

Leveau J.Y., Boiux M. Et De Roissart H.B., 1991. La flore lactique : technique d'analyse et de contrôle dans les industries agro- alimentaires. 2ème ed., tec & doc, lavoisier. Paris. 3: 2-40.

Luquet F.M ; De Roissant, H ; 1994 : les bactéries lactiques. Vol 1,ISBN.

Luquet FM et Corrieu G. (2005). Bactéries lactiques et probiotiques. Tec & Doc.

M

Maghnia D., 2011. Etude de potentiel technologique des bactéries lactiques isolées des aliments fermentés traditionnels algériens. Mémoire de magister en microbiologie alimentaire. Université d'oran-es-senia. 126p.

Mahaut M., Jeantet R. Et Brule G., 2000. Initiation à la technologie fromagère. Tec & doc lavoisier. 194p.

Mahieu. H. 1985. Modification du lait après récolte. Dans lait et produit laitiers (Luquet F.M) tome1. Le lait de la mamelle à la laiterie. Edition : Tec et Doc. Lavoisier.

Marconi, E., Sorrentino, E., Mastrocola, E et Coppola, R (2000). Rapid detection of diaminopimelic acid in lactic acid bacteria by microwave cell wall hydrolysis. *J. Agric. Chem.* 48: 3348-3351.

Masle, I et Morgan, F. (2001). Aptitude du lait de chèvre à l'acidification par les ferments lactiques : facteurs de variation liés à la composition du lait.81 :561-569.

Mathot G. A., Béliard E. et Thuault D. (1996). Les propriétés antimicrobiennes des bactéries lactiques. in : *Microbiologie alimentaire,* Bourgeois C. M. et Larpent P. J. Tec et Doc. Ch. 2, pp. 432-447,

Mäyrä-Mäkinen A Et Bigret M. (2004). Industrial use and production of lactic acid bacteria. In : *lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects* (salminen s., wright a.v. Et ouwehand a.). 3e ed., marcel dekker, inc. New york, 73-102.

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

Morgan F., Bodin J-P. et Gaborit P. (2001). Lien entre le niveau de lipolys du lait de chèvre et la qualité sensorielle des fromages au lait cru ou pasteurisé. *Lait* , 8743-756. novembre, Paris, France. of goat and cow milk protein. *CIHEAM*, Optio Méditerranéennes, Série A, 67, 167. Paris, France.

O

Ogunbanwo S.T, Sanni A.I, et Onilude A.A. (2003). Characterization of bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* F1 and *Lactobacillus brevis* OG1. *African Journal Biotechnology*. 2 (8) : 219-227.

P

Pilet, M.F., Magras Catherine ET Federighi, M. (2005). Bactéries lactiques In Bactériologie alimentaire “compendium d’hygiène des aliments”. Federighi M. *Économico*, pp: 219-242.

Pot B. (2008). The taxonomy of lactic acid bacteria. In : Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). Tec & Doc. Lavoisier. Paris, 1-106.

Pougheon, S et Goursaud, G. (2001): Le lait caractéristique physicochimique in DEBRY G, *Lait nutrition et santé*, Tec et Doc, Paris : 6(566 pages).

R

Rammelsberg M., Muller E. et Rader F. (1990). Caseicin 80: purification and characterization of a new bacteriocin from *Lactobacillus casei*. *Arc. Microbiol.* 154(3): 249-252.

Rodriguez J.M., Martinez M.I., Horn N. Et Dodd H.M., 2003. Heterologous production of bacteriocins by lactic acid bacteria. *Int. J. Food microbiol.* 80 : 101-116. Saint Georges), F38410, France.

Roissart H. et Luquet F.M. (1994). Méthodes d’Identification des Bactéries Lactiques In : « Bactéries Lactiques ; Aspects fondamentaux et technologiques ». Vol 2. Coquand édition, Grenoble. France. p. 141-167

Roissart H.B. (1986). Les bactéries lactiques. Dans : le lait et les produits laitiers. Luquet F. M., 3, Ed. Techniques et Documentations Lavoisier. Paris, pp: 343-407.2584. *Appl And environ, Microbiol.* 4325-4333.313-325.

Roudj S, Belkheir K, Zadi-Karam H et Karam NE. (2009). Protéolyse et autolyse chez deux lactobacilles isolés de lait camelin du Sud Ouest Algérien. *European. J. Sci. Res.* 34 (2): 218-227.

S

Sawaya, W. N., Khalil JK and AL- Shalhat, AF. (1984a). Mineral and vitamin content of goat’s milk. *Journal of American Diet Association*, 84(4), 433-435.

Schmidt J.L., Tourneur C. et Lenoir J. (1994). Fonctions et choix des bactéries lactiques et technologies laitières. in : Bactéries lactiques II. De Roissart H. et Luquet F.M., Ch. IV-2, P. 39-45. Edition Lorica .

Servin AL. (2004). Antagonistic activity of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens. FEMS. Microbiol. Rev. 28: 405-440.

Stiles M E et Holzapfel W H., 1997.Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. Int.J. Food Microbiol.36: Acidification improves cryotolerance of lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus. CFII.J Biotechnol. 128: 659-667.

T

Tamime A.Y., 2002. Microbiology of starter cultures. In: Dairy microbiology handbook• (Robinson R.K.). 3e Ed., John Wiley and Sons, Inc., New York. 261-366.

Tejero-Sarinena S., Barlow SJ., Costabile A., Gibson GR., et Rowland I. (2012). In vitro evaluation of the antimicrobial activity of a range of probiotics against pathogens: Evidence for the effects of organic acids. Anaerobe. 18(5): 530-538.

Todorov SD. et Dicks LMT. (2005). Characterization of bacteriocins produced by lactic acid bacteria isolated from spoiled black olives. J. Basic. Microbiol. 45: 312-322.

V

Vandamme P., Pot B., Gillis M., Devos P., Keresters K. Et Swings J., 1996. Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematic. Microbiol. Rev. 60 : 407.

Veilleumard J.C., 1986. Microbiologie des aliments. Evolution de l'activité protéolytique des bactéries lactiques. Tec & doc, lavoisier. Paris. 3 : 1-65.

Vignola C.L., 2002. Science et technologie du lait, transformation du lait. Presses internationales polytechnique, quebec; 608p.

Z

Zadi-Karam H. 1998. Bactéries lactiques isolées de lait de camelus dromedarius: étude microbiologique et biochimique, caractéristiques technologiques, élaboration de ferments lactiques mésophiles et fabrication de fromages. Thèse de doctorat d'état : université de constantine : algérie, p. 205.

Zeller B, 2005. LE fromage de chèvre : Spécificités technologiques et économiques, thèse de Doctorat de l'universite Paul-sabatier, Toulouse, France.

Synthèse bibliographiques

Matériels et méthodes

Résultats et discussion

Références bibliographiques

Liste des abréviations

- **G+ C**: Guanine+ Cytosine
- **°C** : Degré Celsius.
- **pH** : potentiel Hydrogène.
- **ml** : millilitre.
- **l** : litre.
- **g** : gramme.
- **H** : Heure.
- **NaCl** : Chlorure de sodium.
- **MRS** : Man-Rogosa et Sharp.
- **S** : seconde.
- **min** : minute.
- **°D**: Degré Dornic.
- **µl**: microlitre.
- **BL**: bactérie lactiques.
- **GN** : gélose nutritive .
- **EPS** : exopolysaccharides .
- **H₂O₂** : peroxyde d'hydrogène
- **Lb**: Lactobacillus.
- **T°**: Température.
- **V** : volume.
- **VP** : Voges proskauer.

Résumé

Les bactéries lactiques ont acquis une grande importance par leur présence dans l'industrie agro alimentaire.

L'isolement des souches lactique a partir de trois echantillons de lait cru de chèvre provenant de trois région situées dans la wilaya d'ain temouchent , nous a permis d'obtenir huit souches à Gram positif et catalase négatif .

Le présent travail vise à la mise en évidence des aptitudes technologiques chez huit souches lactiques à savoir: Le pouvoir acidifiant, protéolytique, et lipolytique; la production d'acétoine et d'EPS; et l'activité antibactérienne .

Les résultats d'estimation de quelques aptitudes technologique indiquent que l'ensemble des souches présentent un bon pouvoir acidifiant et protéolytique ainsi que leur pouvoir de produire les EPS , même chose pour l'activité antibactérienne qui a montré l'inhibition de S.aureus , E. coli et B. cereus par les espèces du genre Lactobacillus ou les zones d'inhibition peuvent atteindre un diamètre de 10mm .

Mots clés : lactobacillus , bactéries lactique , lait cru , chèvre , aptitude technologique

Summary

the lactic bacteria have acquired a great importance by their presence in the agro-food industry. Lactic strains isolated from three samples of raw milk of goat from three region located in the wilaya of ain témouchent, enabled us to get eight strains to Gram positive and catalase negative. The present work aims to the highlighting of technological skills in eight lactic strains namely: acidifier, proteolytic and lipolytic; power the production of acetoin and EPS; and antibacterial activity. Estimation of some skills technology results indicate that all strains present a good power acidifier and proteolytic and their power to produce the EPS, same thing for the antibacterial activity which showed the inhibition of S.aureus, e. coli and b. cereus by the species of the genus Lactobacillus or areas of inhibition can reach a diameter of 10mm.

KeyWords : Lactic acid bacteria , raw milk, goat, technological abilities .

Liste des figures

Figure 1: observation macroscopique des souches lactique sur milieu MRS	20
Figure 2: observation microscopique des souches lactique après coloration de gram.....	20
Figure 3 : résultats de test biochimique de la galerie Api50CHL A: Lactobacillus acidophilus ; B: Lactobacillus lactis	23
Figure 4 :cinétique d'évaluation du ph des souches lactique au cours du temps	25
Figure 5 : évaluation de l'acidité des souches lactique au cour du temps.....	25
Figure 6: activité protéolytique des souches lactique sur milieu agar au lait écrémé	26
Figure 7 : activité lipolytique des souches lactique sur milieu a l'émulsion de jaune d'œuf....	27
Figure 8 : aspect des colonies sur milieu hypersaccharosé	28
Figure 9 : production de l'acétoine par les bactéries lactique (A : culture sans réactif , B : culture +réactif)	29
Figure 10 : activité antibactérienne des lactobacilles vis-à-vis B.cereus.....	30
Figure 11 : activité antibactérienne des lactobacilles vis-à-vis S.aureus.....	30
Figure 12:activité antibactérienne des lactobacilles vis-à-vis E.coli.....	30

Liste des tableaux

Tableau 1 : Eléments minéraux majeurs en mg/l des laits de ruminants en comparaison avec le lait humain d'après Gueguen, 1996.....	05
Tableau 2: Composition moyen de lait en élément minéraux majeurs des laits de vache et de chèvres (Gueguen, 1996).	06
Tableau 3 : caractères culturaux et microscopique des bactéries lactique.....	21
Tableau 4 : Identification des isolats par la galerie Api 50 CHL.....	21
Tableau 5 : les variation de l'acidité (°D) et pH des souches isolées, durant 24h d'incubation.....	24
Tableau 6 : activité protéolytique des souches isolées à partir de lait de chèvre.....	26
Tableau 7 : les diamètres des zones d'inhibition des lactobacilles vis-à-vis des souches pathogènes.....	30

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction.....01

Partie I : Synthèse bibliographique

1. Le lait	03
1.1 Définition de lait en générale.....	03
1.2 Le lait de chèvre	03
1.2 .1 Définition de lait de chèvre	03
1.2.2 les races caprines en algérie	03
1.2.2.1 la chèvre arabe	03
1.2.2.2 la chèvre makati.....	03
1.2.2.3 la chèvre M'ZAB.....	04
1.2.2.4 la chèvre kabyle.....	04
1.2.3 composition de lait de chèvre.....	04
1.2.3.1 L'eau.....	04
1.2.3.2 les glucides.....	04
1.2.3.3 Les protéines.....	05
1.2.3.4 les lipides	05
1.2.3.5 matière minérale	05
1.2.3.6 les vitamines	06
1.2.3.7 les enzymes	06
1.2.4 microbiologie du lait	06
1.2.5 les flores microbienne du lait	07
1.2.5.1 flore originelle ou indigène	07
1.2.5.2 flore de contamination	07
2. Les bactéries lactique.....	08
2.1 Définition et Historique	08
2.2 Habitat et origine des bactéries lactique	08
2.3 Taxonomie des bactéries lactique	08
3. Les lactobacilles	09
3.1 caractéristique générale	09
3.2 Intérêt technologique des lactobacilles.....	10
3.3 Aptitudes technologique des lactobacilles.....	10
3.3.1 pouvoir acidifiant.....	10
3.3.2 pouvoir protéolytique.....	11
3.3.3 pouvoir lipolytique	11
3.3.4 pouvoir aromatisant.....	11
3.3.5 pouvoir texturant.....	12

3.3.6 activité antibactérienne.....	12
-------------------------------------	----

Partie II : Etudes expérimentale

Matériels et méthodes

1.1 objectif du travail.....	14
1.2 lieu et période d'étude.....	14
1.3 l'échantillonnage et technique de prélèvement.....	14
1.4 isolement des bactéries lactique	14
1.4.1 les dilution.....	14
1.4.2 technique d'isolement.....	14
1.5 purification.....	15
1.6 conservation des souches.....	15
1.6.1 conservation a court terme	15
1.6.2 conservation a long terme.....	15
1.7 identification des bactéries lactique	15
1.7.1 études morphologique	15
1.7.1.1 Examen macroscopique.....	15
1.7.1.2 Examen microscopique.....	15
1.7.1.3 Coloration de gram.....	16
1.7.2 L'études physiologique et biochimique.....	16
1.7.2.1 Recherche de catalase.....	16
1.7.2.2 Galerie Api 50CHL.....	16
1.8 Evaluation des aptitudes technologiques chez les lactobacilles.....	16
1.8.1 pouvoir acidifiant.....	16
1.8.2 pouvoir protéolytique.....	17
1.8.3 pouvoir lipolytique.....	17
1.8.4 pouvoir texturant.....	17
1.8.5 pouvoir aromatisant.....	17
1.8.6 activité antibactérienne.....	18

Résultats et discussion

1. Pré identification des isolats.....	20
1.1 caractérisation macroscopique.....	20
1.2 caractérisation microscopique.....	20
2. Galerie Api 50CHL.....	21
3. L'évaluation des aptitudes technologique.....	23
3.1 pouvoir acidifiant.....	23
3.2 pouvoir protéolytique.....	26
3.3 pouvoir lipolytique.....	27
3.4 pouvoir texturant.....	28
3.5 pouvoir aromatisant.....	29
3.6 activité antibactérienne.....	29

Conclusion

Annexe I: Les milieux de culture

Le milieu MRS (de Man Rogosa et Sharpe, 1960)

Composition	g/l
Extrait de levure	5g
Extrait de viande	5g
Peptone	10 g
Acétate de sodium.....	5g
Citrate de sodium	2g
Glucose	20g
KH ₂ PO ₄	2g
MgSO ₄	0.1g
MnSO ₄	0.05 g
Agar.....	12g
Tween80	1 ml
Eau distillée q.s.p	1000 ml
pH= 6.5±0.2 à 37°C	

Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min.

Le milieu lait écrémé

Composition	g/l
Lait	100g
Extrait de levure.....	5g
Eau distillé	1000 ml

La solution NAOH pour le titrage

Composition	g/l
NaOH	40 g
Phénol phaline (indicateur de couleur : rose)	0,05ml
d'alcool	30ml
eau distillé.....	500ml

Le milieu Agar au lait écrémé

Composition	g/l
Eau distillé	97ml
Extrait de levure	0.5g
Glucose	1g
Agar agar	1.5 g
Lait écrémé	3 ml

Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min

Gélose ordinaire GN additionée d'emulsion de jaune d'oeuf

Composition	g/l
Emulsion du jaune d'oeuf.....	1/2
Peptone	15g
Extrait de viande	10g
Extrait de levure	02g
Chlorure de sodium	05g
Agar	20g
Eau distillée	1000ml
pH =6,8-7,4	

Le milieu hyper saccharosé

Composition	g/l
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 distillée qsp	1000ml
pH= 6,8	

Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min

Le milieu Clark et Lubs

Composition	g/l
Peptone tryptique ou poly peptone	5 – 7 g
Glucose	5 g
Phosphate dipotassique	5 g
Eau distillée q.s.p	1000 ml
pH =7	

Stérilisation par autoclavage à 120°C pendant 20 min

Milieu Mueller-Hinton (Mueller et Hinton, 1941)

Composition	g/l
Infusion de viande de bœuf.....	3000 cm ³
Peptone de caséine.....	17,5 g
Amidon de maïs.....	1,5g
Agar-agar.....	17g
pH=7.4	

stérilisation par Autoclavage : 120°C pendant 20 minutes

Annexe II : Les étapes de la coloration de Gram

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

- **Réaliser un frottis bactérien :**

Sur une lame propre on dépose une goutte d'eau distillée, puis à l'aide de l'anse à ensemencement on prélève un peu de la crème bactérienne (culture jeune), on sèche la lame avec la flamme bleue du bec benzène et on la fait passer deux à trois fois au sein de la flamme

- **Colorer au violet de gentiane (1 à 2 minutes):**

Le violet de gentiane est un colorant basique qui se fixe sur les composants du cytoplasme bactérien, à ce moment toutes les bactéries sont de couleur violette.

- **Mordantage au lugol (30 secondes) :**

Le lugol est un mordant qui renforce l'adhésion du violet de gentiane au niveau du cytoplasme bactérien.

- **Décoloration à l'alcool (10 secondes) :**

Les bactéries Gram- ont une paroi mince et riche en lipide, ce qui permet le passage de l'alcool qui va entraîner avec lui le violet de gentiane et les cellules vont devenir transparentes. La paroi des bactéries Gram+ par contre est épaisse et riche en muréine (ou de peptidoglycane composé de l'acide N-acétylmuramique et du N-acétyl-glucosamine), qui empêche l'alcool de pénétrer et de ce fait de décolorer les cellules.

- **Colorer avec la fushine (1 à 2 minutes) :**

Cette étape sert à colorer les bactéries (Gram-) qui se sont décolorées lors du traitement précédent, de ce fait les bactéries Gram- seront colorées en rose et les Gram+ en violet.

Annexe III : Détermination de l'acidité titrable

1. Matériels :

- Burette graduée
- Bécher de 50ml
- Pipettes de 10ml

2. Produits :

- Lait
- Solution d'Hydrolyse de sodium N/9
- Phénolphtaléine à 1%

3. Mode opératoire :

- Prendre 10 ml du lait dans un bécher de 50ml en présence 4 gouttes de phénolphtaléine
- Le titrage est effectué par la solution NaOH à N/9 jusqu'à virage de la couleur rose pale.
- Effectuer des répétitions sur le même échantillon préparé.
- La valeur de l'acidité du lait est obtenue par la formule suivante : $A=10(V/V')$ (g/l)

Où : **A** : Quantité d'acide lactique

V : Volume de la solution de NaOH utilisé

V' : Volume de l'échantillon

- La valeur en acidité titrable exprimée en degré dornic (°D), est donnée par l'expression suivante : $1^{\circ}D=0,1ml \text{ de NaOH à N/9}$

Sommaire

Remerciement

*Avant tout nous remercions Dieu, le tout puissant, de nous avoir donné,
le courage, la force, La santé et la persistance.*

*Nous adressons nos vifs remerciements à notre Encadreur Mr mouaden
Riad pour son suivi durant la période de la réalisation de ce travail
malgré ses charges professionnelles.*

*Nos vives remerciements s'adressent également à Mr Benabbi farid
d'avoir accepté d'évaluer et d'examiner ce travail.*

*Nous tenons à remercier vivement Mm Chibani
de nous avoir fait un immense honneur en acceptant de présider le jury.
Un remerciement très particulier aux Ingénieurs de laboratoire pour leurs
soutiens et leurs infini gentillesse.*

*Nos très spéciaux remerciements reviennent à nos Parents, et aux
familles: Bekar et Dalaa*

*Et à tous nos amis pour leurs encouragements et leurs compréhensions.
Enfin, nous ne pouvons pas terminer sans remercier tous nos camarades
de la promotion (2019/2020)*

Merci à tous !

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

A mon cher Papa

pour ses précieux conseils et encouragements. Aucune dédicace ne saura exprimée l'amour, l'estime et le respect que j'ai pour toi.

A ma très chère Maman

qui a œuvré pour ma réussite, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie.

A mes chères soeurs

Dalila , Hakima et Nabila, Djihene pour leurs encouragements et pour leurs aides.

A mes adorables frères issam et chawki.

A mes chères amies (es)

Khawla ,Shamsou, Sidahmed, Nadir, Rabie, Riad , qui n'ont pas cessé de m'encourager.

A mon cher binôme

Imen pour le travail que nous avons fourni.

A mon chéri Bouazza

que dieu te donne longue vie et te protège pour moi .

Et à tous mes camarades de Microbiologie Appliqué.

Dédicace

Je dédie ce travail à :

A celle qui attend mon retour a chaque jour

A ma chère maman khadidja : Affable, honorable, aimable : tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence. La source de tendresse aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner.

A mon cher papa Houari

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 nuit pour mon éducation et mon bien être et qui m'a toujours encouragée et donné en vie d'aller plus loin.

A mes très chers frères

Sif eddine et Saidou les hommes de ma vie je vous souhaite une longue vie pleine de succès , de santé et de joie

A ma seule et adorable sœur Marwa

A ma deuxième famille

Ma belle mère Karima , mon beau père Houari , ma belle sœur Imen et mon petit frère Mohamed

A mon binôme Abir

Je te souhaite tout ce que tu veux avec une vie pleine de succès

A mes chers amis

*Naziha , Sarah , Sawsen , Hakima , Nabila , Khawla , sidahmed ,
Chemsou , Nadir*

Et bien sur a mon homme Abderahim

Tes sacrifices , ton soutien , ta gentillesse sans égal et tes encouragements

*m'on permis de réussir mes études. Que dieu réunisse nos chemins pour
un long commun serein*

Imen

Conclusion

Annexe

Introduction